

CAMILA ANDRADE FIALHO

**RESPOSTAS ANTIOXIDATIVAS E FISIOLÓGICAS DE SEMENTES DE  
CULTIVARES DE SOJA À DETERIORAÇÃO EM CAMPO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de Magister Scientiae.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2019

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

F438r  
2019 Fialho, Camila Andradre, 1994-  
Respostas antioxidativas e fisiológicas de sementes de  
cultivares de soja à deterioração em campo / Camila Andradre  
Fialho. – Viçosa, MG, 2019.  
vi, 45f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.  
Referências bibliográficas: f. 38-45.

1. *Glycine max* - Semente. 2. Colheita. 3. Sementes -  
Qualidade. 4. Superóxidodismutase. 5. Catalase. 6. Peroxidase.  
7. Ascorbato peroxidase. I. Universidade Federal de Viçosa.  
Departamento de Fitotecnia. Programa de Pós-Graduação em  
Fitotecnia. II. Título.

CDD 22. ed. 633.3421

CAMILA ANDRADE FIALHO

**RESPOSTAS ANTIOXIDATIVAS E FISIOLÓGICAS DE  
SEMENTES DE CULTIVARES DE SOJA À DETERIORAÇÃO EM  
CAMPO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.


APROVADA: 20 de fevereiro de 2019.



Luiz Antônio dos Santos Dias




Ariadne Morbeck Santos Oliveira



---

Laércio Júnio da Silva



---

Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias  
(Orientadora)

Aos meus avós,  
**DEDICO.**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, a Nossa Senhora da Conceição Aparecida e ao meu Anjo da guarda por toda luz, proteção e força;

Aos meus pais, Sebastião e Rozyane, pelo amor incondicional, suporte e por sonharem os meus sonhos;

À minha família, em especial meus avós, pela confiança e incentivo;

Aos meus irmãos e à minha cunhada pelo apoio e torcida;

Às minhas irmãs de coração, Werenna e Vivian, por prezarem sempre pela minha felicidade;

Ao Felipe pela paciência, carinho e por estar sempre presente;

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia pela oportunidade de realização do Mestrado;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa;

À Professora Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias pela orientação, ensinamentos e paciência;

Ao Professor Laércio Junio da Silva pelos ensinamentos, disponibilidade e apoio;

Aos funcionários e motoristas da “Horta Nova” pelos ensinamentos e ajuda na condução do experimento;

Aos integrantes do Grupo de Estudos em Tecnologia em Sementes (GSem) pela ajuda e amizade;

Aos amigos de longa data e às novas amigas pelo incentivo, bons momentos compartilhados e por tornarem minha caminhada mais leve;

**OBRIGADA!**

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	v
<b>ABSTRACT</b> .....	vi
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	3
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	7
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	15
<b>CONCLUSÕES</b> .....	37
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	38

## RESUMO

FIALHO, Camila Andrade, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2019. **Respostas antioxidativas e fisiológicas de sementes de cultivares de soja à deterioração em campo.** Orientadora: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias.

Sementes de soja são extremamente sensíveis à deterioração durante o período em que permanecem no campo até atingirem o teor de água adequado para a colheita. A tolerância à deterioração em campo difere entre cultivares de soja. Estudos vêm sendo conduzidos buscando esclarecer os eventos relacionados a este processo, principalmente para estabelecer critérios que possam ser utilizados para seleção de genótipos para a alta qualidade de sementes. O objetivo deste trabalho foi avaliar as alterações bioquímicas e fisiológicas em sementes de cultivares de soja submetidas à deterioração em campo. Para tanto, foram utilizadas sementes de três cultivares comerciais de soja, NS 5959, BMX Potência e TMG 1175, plantadas na área experimental do Departamento de Fitotecnia, denominado Horta Nova. As sementes foram colhidas em diferentes épocas: estágio R8, quando 95% das vagens apresentaram coloração típica de vagem madura, e ainda 10, 20 e 30 dias após R8. Após a colheita, as sementes de cada tratamento foram submetidas à determinação do grau de umidade e aos testes de germinação, primeira contagem de germinação, emergência de plântulas em casa de vegetação e em campo, índice de velocidade de emergência em casa de vegetação e em campo, envelhecimento acelerado, tetrazólio e crescimento de plântulas pelo Vigor-S®. Além disto, foram determinados o teor de proteína e a atividade das enzimas do sistema de defesa antioxidativo (superóxido dismutase, catalase, peroxidase e ascorbato peroxidase). O experimento foi conduzido em DIC, com quatro repetições, em esquema fatorial 3 x 4, ou seja, três cultivares e quatro épocas de colheita. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Foi realizada ainda a análise multivariada de componentes principais. O retardamento de colheita provocou a deterioração das sementes de soja com redução na germinação e no vigor, principalmente nas colheitas realizadas em R8 + 20 e em R8 + 30 dias. As cultivares não diferiram quanto às respostas antioxidativas e fisiológicas à deterioração em campo provocada pelas colheitas em R8 + 20 e R8 + 30 dias.

## ABSTRACT

FIALHO, Camila Andrade, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2019. **Antioxidative and physiological responses of seeds of soybean cultivars to deterioration in the field.** Adviser: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias.

Soybean seeds are extremely sensitive to deterioration when remain in the field until reaching the adequate water content for harvesting. The tolerance to deterioration in the field differs among soybean cultivars. Studies have been conducted to clarify the events related to this process, mainly to establish a criterion that could be used to select genotypes for high seed quality. The objective of this study was to evaluate the biochemical and physiological changes in soybean seeds cultivars submitted to deterioration in the field. Seeds of three commercial soybean cultivars, NS 5959, BMX Potência and TMG 1175, were produced in experimental area of the Plant Science Department at University Federal of Viçosa. The seeds were harvested at different stages: R8 stage, when 95% of the pods showed a typical color of mature pod, and 10, 20 and 30 days after R8 stage. After the harvest, the seeds of each treatment were evaluated by seed moisture content and germination, first germination count, seedlings emergence and emergence speed index in greenhouse and in the field, accelerated aging, tetrazolium and seedling image analysis using Vigor-S®. In addition, the protein content and enzyme activity of the antioxidative defense system (superoxide dismutase, catalase, peroxidase and ascorbate peroxidase) were determined. The experiment was conducted in DIC, with four replications, in a factorial scheme: 3 cultivars x 4 harvesting stages. The treatments means were compared by Tukey test at 5% probability. The Principal Component Analysis was also performed. The harvest delay caused soybean seeds deterioration with reduction in germination and vigor, mainly in stages R8 + 20 and R8 + 30 days. However, the cultivars did not differ regarding the antioxidant and physiological responses to the deterioration in field caused by the harvests in R8 + 20 and R8 + 30 days.

## INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é uma cultura de grande importância alimentícia e econômica para o Brasil, que é o segundo maior produtor mundial. Na safra 2017/18, a área plantada no país foi de 35.149,2 milhões de hectares, a produção alcançou 119.281,7 milhões de toneladas e a produtividade foi de 3.394 kg/ha (CONAB, 2019).

Devido à relevância dessa cultura para o Brasil é de fundamental importância a produção e a utilização de sementes de alta qualidade no plantio, pois dados de pesquisas comprovam que lavouras originadas com tais sementes propiciam produtividades superiores. Existem relatos de que o uso de sementes de soja de alto vigor proporciona acréscimos de 20% a 35% no rendimento de grãos, em relação ao uso de sementes de baixo vigor (Kolchinski et al., 2005). A utilização de sementes de alta qualidade garante população adequada de plantas em campo, maior velocidade de emergência e desenvolvimento das plantas, culminando no fechamento das entrelinhas rapidamente.

Diversas técnicas podem ser utilizadas para a produção de sementes de melhor qualidade como, por exemplo, a localização dos campos de produção em regiões propícias para a produção de sementes, escolha de épocas de semeadura específicas e controle eficiente de pragas e doenças. Entretanto, o melhoramento genético visando cultivares com maior qualidade de sementes é, sem dúvida, o método mais eficaz para alcançar ganhos de qualidade (França-Neto; Henning, 1984).

A qualidade fisiológica das sementes de soja é influenciada diretamente pelo genótipo, sendo máxima por ocasião da maturidade fisiológica; nesta fase, o conteúdo de matéria seca, a germinação e o vigor geralmente atingem valores máximos, quando as plantas atingem o estágio R7 (Fehr; Caviness, 1977). Todavia, em razão do elevado teor de água presente nas sementes neste estágio, o ponto de colheita recomendado é o estágio R8, quando 95% das vagens apresentam coloração típica de vagem madura (Fehr; Caviness, 1977).

A partir da maturidade fisiológica, alterações degenerativas começam a ocorrer, de modo que a qualidade das sementes pode ser mantida ou decrescer, dependendo principalmente das condições ambientais no período que antecede a colheita. Sob condições climáticas favoráveis, os problemas podem não se manifestar, porém a ocorrência de chuvas ou flutuações diárias de umidade relativa do ar, especialmente se associadas a altas temperaturas, resulta na deterioração, reduzindo a qualidade das sementes à medida que a colheita é retardada. As sementes de soja são extremamente

sensíveis a tais condições e a deterioração em campo é um dos fatores que mais afeta a qualidade, principalmente nas regiões tropicais Mathias et al. (2017 e Sedyama (2016).

Há vários mecanismos envolvidos no processo de deterioração que levam à redução da germinação e do vigor das sementes. Dentre eles destaca-se a peroxidação de lipídios, que envolve uma série de alterações degenerativas iniciadas a partir da formação de espécies reativas de oxigênio – EROs (Bailly, 2004; Kumar et al., 2015). Tais moléculas geradas pela redução do oxigênio molecular, levam à formação de produtos tóxicos, resultando na inativação de enzimas ou degradação de proteínas, desestruturação do sistema de membranas celulares, perda de integridade da molécula de DNA e em danos no mecanismo de reparo celular (Ghassemi-Golezani et al., 2010; Kumar et al., 2015).

Sob condições normais, as células apresentam um complexo sistema de defesa antioxidante para proteção contra os danos causados pelos radicais livres, o qual envolve várias enzimas removedoras de radicais livres e de peróxidos tais como superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX), catalase (CAT), peroxidase (POX), ascorbato peroxidase (APX) e glutatona peroxidase (GPX) (Mittler, 2002; Rajjou; Debeaujon, 2008). As enzimas, portanto, podem ser utilizadas como marcadores bioquímicos relacionados ao processo oxidativo que acarreta na deterioração das sementes.

Em estudos com sementes de algodão (Goel; Sheoran, 2003), soja (Sung, 1996), amendoim (Sung; Jeng, 1994) e girassol (Bailly et al., 1996) foi observada redução na atividade dessas enzimas durante o processo de deterioração. Usha et al. (2016), ao avaliarem radicais livres e enzimas sequestradoras de peróxido em lotes de soja com diferentes níveis de vigor, observaram que as sementes com alto vigor apresentaram maior atividade de SOD e CAT em comparação com as sementes de médio e baixo vigor. Além disso, observaram que à medida que o período de armazenamento progrediu, a atividade das enzimas aumentou inicialmente e depois reduziu significativamente em todos os lotes.

A tolerância à deterioração em campo difere entre cultivares de soja. Estudos vêm sendo conduzidos buscando esclarecer os eventos relacionados a este processo, visando principalmente estabelecer critérios que possam ser utilizados para seleção de genótipos com características de alta qualidade das sementes. Alguns métodos têm sido empregados para esta finalidade destacando-se os que utilizam os princípios do envelhecimento acelerado, retardamento de colheita e avaliação de características do tegumento, como

permeabilidade e conteúdo de lignina (Castro et al., 2016; Lima et al., 2007; Martins et al., 2016; Pádua et al., 2017).

Neste contexto, resultados de diversos estudos comprovam que a colheita das sementes de soja após o estágio R8 contribui para a deterioração em campo, reduzindo a germinação e o vigor, podendo apresentar diferentes respostas dependendo do genótipo (Diniz et al., 2013; Gris et al., 2010; Lima et al., 2007; Mathias et al., 2017; Pádua et al., 2017; Terasawa et al., 2009; Vieira et al., 2013; Xavier et al., 2015; Zanatta et al., 2018; Zuffo et al., 2017).

Assim, o retardamento de colheita tem sido utilizado com o objetivo de selecionar genótipos de soja para sementes de alta qualidade, com base nos resultados de testes de germinação e vigor. Contudo, associar estas características a outros parâmetros relacionados ao estresse oxidativo decorrente da deterioração, pode contribuir para elucidar melhor o processo com base em biomarcadores. Zuffo et al. (2017) verificaram que sementes de soja colhidas após o estágio R8 apresentaram menor germinação, vigor e expressão das enzimas SOD, malato desidrogenase, álcool desidrogenase, esterase, isocitrato liase, especialmente aos 15 dias após R8.

Dessa forma, monitorar a atividade de enzimas pode gerar informações interessantes para uso nos programas de melhoramento que buscam selecionar linhagens mais tolerantes à deterioração das sementes em campo ou com maior tolerância às condições de altas temperaturas e umidade relativa na fase de pré-colheita, as quais são comuns na maioria das regiões produtoras de sementes de soja no Brasil. Tais condições contribuem para a deterioração em campo com reflexos negativos na germinação e, principalmente, no vigor das sementes, afetando o seu desempenho em campo e no armazenamento.

Neste contexto, o trabalho teve como objetivos avaliar a qualidade fisiológica e sanitária e monitorar alterações bioquímicas relacionadas ao sistema antioxidante em sementes de três cultivares de soja submetidas ao retardamento de colheita.

## **REFERENCIAL TEÓRICO**

O processo de deterioração, que se inicia a partir da maturidade fisiológica das sementes, envolve alterações físicas, fisiológicas, citológicas e bioquímicas que provocam a redução progressiva do seu potencial fisiológico culminando com sua morte (Jyoti; Malik, 2013)

Trata-se de um processo catabólico irreversível, que desencadeia uma sequência de eventos, representados inicialmente por alterações bioquímicas como desestruturação do sistema de membranas celulares, redução das atividades de biossíntese, alterações na atividade enzimática, redução na produção de ATP, perda de integridade do DNA e degradação cromossômica, dentre outras (Hu et al., 2012; Kumar et al., 2015; Jyoti; Malik, 2013). Tais alterações resultam em redução na velocidade de germinação, na emergência de plântulas em campo, na tolerância a condições de estresse, com aumento na ocorrência de anormalidades nas plântulas e finalmente morte da semente (Jyoti; Malik, 2013; Marcos Filho, 2015). Para Walters et al. (2010), a perda da viabilidade é decorrente de mudanças químicas e estruturais irreversíveis dos constituintes celulares.

A peroxidação de lipídeos é frequentemente citada como a principal causa da deterioração, sendo desencadeada pela ação de espécies reativas de oxigênio (EROs), moléculas resultantes da redução do oxigênio molecular, como o ânion superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e o radical hidroxila ( $\cdot OH$ ) (Bailly, 2004). Tais moléculas têm potencial para danificar membranas, DNA, enzimas, proteínas e, finalmente, mecanismos de reparo celular (Ghassemi-Golezani et al., 2010). Como resultado, as células não são capazes de manter suas condições físicas e funções normais.

Em condições normais, há um equilíbrio entre a produção de EROs e sua neutralização pelos sistemas antioxidantes. No entanto, quando tal equilíbrio tende para uma produção excessiva de EROs ou para uma deficiência dos sistemas antioxidantes, surge a condição de estresse oxidativo, a qual é prejudicial aos componentes celulares e indivíduos como um todo (Carocho; Ferreira, 2013).

Estresses ambientais, como seca, salinidade, resfriamento, toxicidade de metais e radiação UV-B, assim como ataque de patógenos e deterioração por umidade, levam a maior geração de espécies reativas de oxigênio (EROs), que são extremamente prejudiciais em altas concentrações (Shah et al., 2001; Sharma; Dubey, 2007; Gill; Tuteja, 2010; Sharma et al., 2012; Huth et al., 2016).

As células apresentam um complexo sistema de defesa antioxidante que envolve componentes não enzimáticos e enzimáticos. Os não enzimáticos são moléculas que se oxidam para neutralizar e eliminar as EROs, evitando que reajam com moléculas estruturais da célula, provocando danos Kibinza et al. (2011). Os enzimáticos incluem enzimas removedoras destas espécies reativas como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POX), ascorbato peroxidase (APX) e glutathione peroxidase (GPX) Mittler (2002).

A SOD atua realizando a dismutação do radical superóxido a peróxido de hidrogênio e oxigênio, apresentando maior atividade quando sob estresse, caracterizando uma eficiente detoxificação das EROs Demidchik (2015). O peróxido de hidrogênio, que é potencialmente tóxico às células, é decomposto em água e oxigênio pela ação da CAT, localizada nos glioxissomas e proxissomas (Sharma et al., 2012; Usha; Dadlani, 2016). As peroxidases catalisam a transferência de prótons H<sup>+</sup> de um composto reduzido para uma molécula de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, formando água, e também têm papel importante na desintoxicação celular ao eliminar o peróxido de hidrogênio. A peroxidase APX é provavelmente a mais conhecida, devido à sua capacidade de usar ácido ascórbico especificamente para remover o peróxido de hidrogênio (Usha; Dadlani, 2016).

A atividade de enzimas antioxidantes está relacionada com a peroxidação lipídica e com a deterioração de sementes durante o envelhecimento natural e acelerado Bailly et al. (1996 e Sharma et al. (2013). Além disso, estudos relatam que genótipos com diferentes respostas a estresses oxidativos apresentam alterações na atividade das enzimas. Huth et al. (2016) avaliaram a peroxidação de lipídeos, além da atividade das enzimas antioxidativas superóxido dismutase e peroxidase em sementes de soja com diferentes teores de lignina submetidas à deterioração por umidade. Estes autores observaram relações entre estes componentes e concluíram que cultivares com maiores teores de lignina apresentaram menor estresse oxidativo.

Em síntese, pode-se afirmar que o processo de deterioração das sementes é complexo e seus sintomas mais evidentes podem ser percebidos durante a germinação e o desenvolvimento inicial das plântulas, por meio dos testes de germinação e vigor. No entanto, antes da identificação destas manifestações, várias outras de caráter ultraestrutural e bioquímico já ocorreram (Marcos Filho, 2015), como alterações em compostos gerados pela peroxidação de lipídeos e atividade de enzimas, dentre outras.

A deterioração das sementes se inicia a partir da maturidade fisiológica, quando o conteúdo máximo de matéria seca é atingido, o potencial fisiológico das sementes é alto, bem como o teor de água, que encontra-se na faixa de 50% a 55%, o que inviabiliza a colheita mecanizada, em razão da quantidade excessiva de partes verdes e úmidas das plantas e da possibilidade de se causar injúrias mecânicas por amassamento (Terasawa et al., 2009).

Assim, as sementes de soja, a partir deste ponto, permanecem no campo até que atinjam teor de água adequado para a colheita mecanizada (Marcos Filho, 2015), o que ocorre quando as plantas atingem o estágio R8 (quando 95 % das vagens apresentam

coloração típica da vagem madura da cultivar ou maturidade completa) como descrito por Fehr et al. (1977). No entanto, durante este período processos degenerativos irreversíveis começam a ocorrer, cuja intensidade depende do genótipo e também das condições do ambiente (Lima et al., 2007; Gris et al., 2010; Diniz et al., 2013; Xavier et al., 2015; Zuffo et al., 2017).

O intervalo entre a maturidade fisiológica e a colheita das sementes de soja pode durar de alguns dias a várias semanas devido às situações como, quantidade de máquinas colhedoras insuficiente para o tamanho da área a ser colhida ou ocorrência de chuvas, aumentando o período de exposição das sementes às condições do ambiente (Zuffo et al., 2017). Além disso, nem sempre as condições climáticas são favoráveis para a conservação da sua qualidade, especialmente em regiões tropicais Castro et al. (2016). A exposição das sementes de soja a ciclos alternados de alta e baixa umidade antes da colheita, devido à ocorrência de chuvas frequentes, ou às flutuações diárias de umidade relativa do ar, resulta na deterioração em campo França-Neto et al. (1999). Nestas condições, podem ser visíveis os danos por umidade, tipicamente representados pelo enrugamento do tegumento das sementes na face oposta ao hilo. Assim, o processo de deterioração será mais intenso, se tais condições de alta umidade estiverem associadas com temperaturas elevadas Castro et al. (2016 e Vieira et al. (2013).

Portanto, o retardamento da colheita geralmente contribui para aumentar a deterioração e acarreta danos à qualidade fisiológica das sementes de soja, cuja intensidade depende principalmente do genótipo (Lima et al., 2007; Gris et al., 2010; Diniz et al., 2013) e das condições de ambiente, (Peluzio et al., 2003; Terasawa et al., 2009; Gris et al., 2010; Diniz et al., 2013; Vieira et al., 2013).

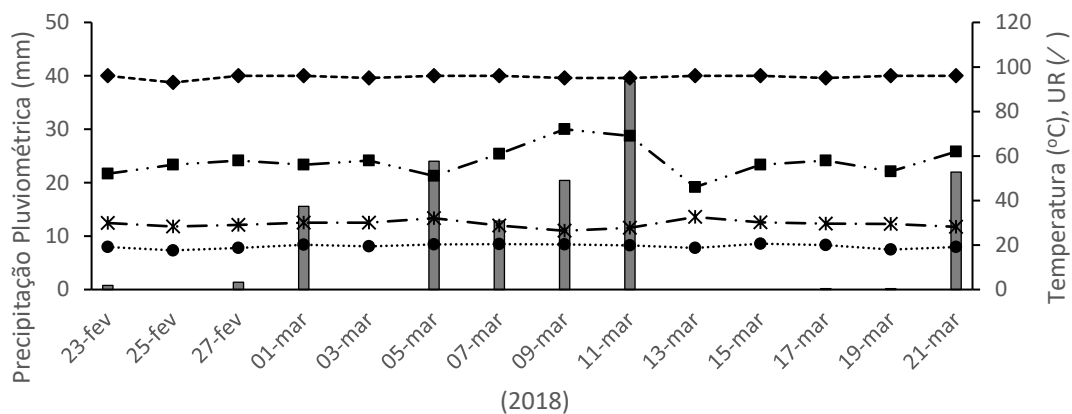
Além do genótipo e das condições do ambiente, o período de exposição das sementes em campo após o estágio R8 também tem efeito significativo no potencial fisiológico. Para Diniz et al. (2013), o retardamento da colheita por um período de 15 dias provocou redução significativa no vigor das sementes, enquanto redução na germinação foi observada aos 30 dias após R8. Vieira et al. (2013) realizaram a colheita das sementes de soja na maturidade fisiológica (R7), em R7 + 7 dias e em R7 + 15 dias, verificando que nesta última colheita houve redução no vigor e que tais sementes apresentaram danos estruturais no tegumento. Para Xavier et al. (2015), sementes colhidas no estágio R8 tiveram maior potencial fisiológico do que aquelas colhidas aos 7, 14, 21 e 28 dias após R8.

Além desses, diversos autores constataram redução na qualidade fisiológica das sementes com o atraso da colheita (Lima et al., 2007; Terasawa et al., 2009; Gris et al., 2010; Diniz et al., 2013a; Xavier et al., 2015; Mathias et al., 2017; Pádua et al. 2017; Zuffo et al., 2017; Zanatta et al., 2018).

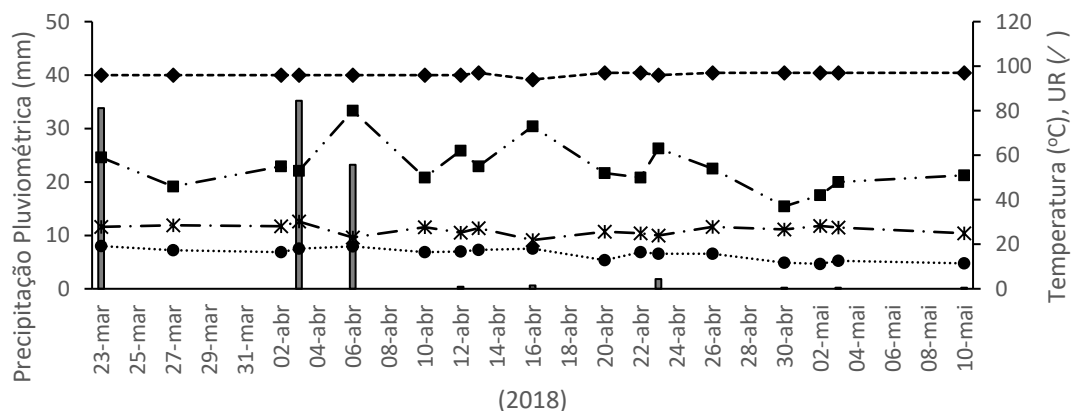
Considerando que a resposta ao estresse ocasionado pelo retardamento de colheita pode variar dependendo do cultivar, este procedimento pode ser útil para ser utilizado nos programas de melhoramento que buscam selecionar genótipos com sementes de melhor qualidade e mais tolerantes à deterioração em campo. Na literatura vários autores já relataram que cultivares e linhagens de soja comportam-se de forma diferenciada quanto ao grau de tolerância ao retardamento da colheita com reflexos na qualidade fisiológica da sementes (Lima et al., 2007; Diniz et al., 2013; Xavier et al., 2015). Lima et al. (2007) ao analisar o retardamento de colheita como método para a seleção de genótipos com alta qualidade de sementes, observaram que o retardamento realizado a partir do estágio R8+15 dias foi eficaz. Verificaram também que sementes dos genótipos sem lipoxigenases tiveram melhor qualidade fisiológica em relação àqueles com lipoxigenases. Pádua et al. (2017) observaram também que há diferenças de comportamento entre os genótipos quanto às perdas em produtividade causadas pelo retardamento da colheita, relatando que o atraso na colheita levou à redução na massa de mil sementes.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

As sementes foram produzidas na área experimental do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), denominada “Horta Nova”, localizada no distrito de Viçosa-MG, São José do Triunfo, a 689,7 m de altitude e coordenadas geográficas 20° 75’ de latitude Sul e 42° 81’67’’ de longitude Oeste (IBGE, 1991). Os dados climáticos da pré-colheita e das colheitas das sementes de soja estão apresentados na Figura 1 (A e B).



Precipitação Pluviométrica
  \* Temperatura Máxima
  UR MIN



Precipitação Pluviométrica
  \* Temperatura Máxima
  UR MIN
  \* Temperatura Mínima
  UR MAX

Figura 1. Dados meteorológicos do município de Viçosa-MG durante o período de pré-colheita (23/02/2018 a 21/03/2018) (A) e no período de colheita entre 23/03/2018 a 10/05/2018 (B). Precipitação total diária (mm), temperatura máxima e mínima diária (°C) e umidade relativa do ar máxima e mínima diária (UR%). Fonte: Estação Meteorológica 86824 localizada em Viçosa-MG. INMET (2018).

Foram utilizadas sementes de soja de três cultivares comerciais: BMX Potência, NS 5959 e TMG 1175, com maturação relativa 6,7, 5,9 e 7,5, respectivamente. Antes da semeadura, as sementes foram tratadas com fungicida Derosal Plus (carbendazin + thiram) na dose de 200 mL 100 kg<sup>-1</sup> de sementes.

Após o preparo convencional do solo, foi feita a adubação de plantio baseada nos resultados da análise de solo, seguindo-se as recomendações de Ribeiro et al. (1999).

A semeadura em campo foi realizada manualmente, com 12 sementes por metro linear, em 10 de novembro de 2017. A área útil total foi de 79,5 m<sup>2</sup>, onde foram

demarcadas 4 linhas de 53 m de comprimento, com espaçamento de 0,5 m entre linhas. Dentro de cada linha foram distribuídas as parcelas. As parcelas foram formadas por 5 m lineares e espaçadas a 1 m. Foram utilizadas três parcelas para cada cultivar, totalizando 15 m lineares por cultivar dentro de cada linha. As bordaduras externas do campo experimental foram constituídas de plantas de soja, espaçadas a 0,5 m de cada lateral da área.

Durante o ciclo da cultura, os tratos culturais foram realizados quando necessários, seguindo instruções para o manejo da cultura da soja ( EMBRAPA, 2011).

A colheita foi realizada manualmente em quatro épocas: no estágio R8, quando 95% das vagens apresentaram coloração típica de vagem madura (Fehr; Caviness, 1977), e ainda 10, 20 e 30 dias após as plantas terem atingido esse estágio. Para identificação das plantas e sua correspondente época de colheita foram utilizadas etiquetas. Toda planta que atingiu o estágio R8 foi marcada e a data de sua colheita identificada na etiqueta. As datas de colheita para cada tratamento e o grau de umidade das sementes colhidas estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Datas das colheitas realizadas no ano de 2018 e grau de umidade das sementes de três cultivares de soja em função das quatro épocas de colheita.

Cultivar	R8	Umidade (%)	R8 + 10	Umidade (%)	R8 + 20	Umidade (%)	R8 + 30	Umidade (%)
<b>NS 5959</b>	23/mar	28,2	02/abr	18,3	12/abr	17,3	22/abr	17,0
			06/abr	31,2	16/abr	19,0	26/abr	16,9
<b>BMX Potência</b>	27/mar	23,9	06/abr	24,8	16/abr	18,3	26/abr	16,3
			13/abr	17,8	23/abr	16,9	03/mai	12,9
<b>TMG 1175</b>	03/abr	23,2	20/abr	14,9	30/abr	15,0	10/mai	14,8
			02/abr	22,5	12/abr	20,1	22/abr	17,9
	10/abr	27,2	20/abr	14,7	30/abr	14,5	10/mai	15,0

Houve variação nas datas em que as plantas atingiram o estágio R8, por isso estas foram identificadas individualmente e mais de uma colheita foi necessária para cada tratamento. Todas as colheitas foram realizadas no período da manhã e as que coincidiram com dias chuvosos (Figura 1) foram realizadas previamente às chuvas.

Logo após a colheita, as plantas foram mantidas em galpão à sombra e as sementes foram retiradas das vagens manualmente. Em seguida, foi feita uma limpeza manual para retirada de impurezas e as sementes foram classificadas em peneiras de crivos circulares para uniformização do tamanho, sendo eliminadas as sementes com diâmetro inferior a 5 mm. As sementes de cada tratamento foram então colocadas para secar em condição

ambiente de laboratório por período de tempo suficiente para atingir grau de umidade próximo de 12%. Em seguida, foram submetidas aos seguintes testes e determinações realizados no Laboratório de Análise de Sementes do DFT/UFV:

**Grau de umidade:** foi determinado conforme metodologia descrita nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009), pelo método da estufa, a  $105 \pm 3^{\circ}\text{C}$ , durante 24 horas, utilizando-se quatro repetições de 30 sementes. Os resultados foram expressos em porcentagem (base úmida).

**Germinação:** foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes cada. As sementes foram semeadas em papel germitest umedecido com um volume de água equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco. Após a semeadura foram confeccionados rolos que foram mantidos em germinador a  $25^{\circ}\text{C}$ . As avaliações foram realizadas no 5º e 8º dias após a semeadura, com o registro da porcentagem de plântulas normais (Brasil, 2009).

**Primeira contagem da germinação:** foram utilizados os dados de porcentagem de plântulas normais obtidas no quinto dia após a instalação do teste de germinação.

**Emergência das plântulas em casa de vegetação:** foi conduzido com quatro repetições de 50 sementes para cada tratamento em casa de vegetação. As sementes foram colocadas para germinar em bandejas de isopor, contendo uma mistura de solo e areia na proporção 2:1 (v/v) umedecido até atingir 60% da sua capacidade de retenção de água. Durante a condução do teste as irrigações foram realizadas sempre que necessárias. Foram efetuadas contagens diárias do número de plântulas emergidas, com os cotilédones acima da superfície do substrato, até este número se manter constante. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas emergidas.

**Índice de Velocidade de Emergência (IVE):** com base nos dados obtidos na contagem diária de plântulas emergidas durante o teste de emergência em casa de vegetação, calculou-se o índice de velocidade de emergência, conforme Maguire (1962).

**Emergência das plântulas em campo:** foi conduzido com quatro repetições de 50 sementes para cada tratamento semeadas em sulcos de 1,0 m de comprimento e 0,03 m de profundidade, espaçados de 0,30 m. As irrigações foram realizadas por aspersão sempre que necessário. Foram efetuadas contagens diárias do número de plântulas emergidas até este número se manter constante. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas emergidas.

**Índice de Velocidade de Emergência (IVE):** com base nos dados obtidos pela contagem diária de plântulas emergidas durante o teste de emergência em campo foi calculado o índice de velocidade de emergência, conforme Maguire (1962).

**Envelhecimento acelerado:** Foi conduzido com quatro repetições de 50 sementes por tratamento. As sementes foram dispostas em camada única sobre telas de aço inox, inseridas no interior de caixas plásticas do tipo “gerbox” (11,0 x 11,0 x 3,0 cm), contendo ao fundo 40 mL de água. Em seguida, as caixas foram tampadas e mantidas em incubadora B.O.D., regulada para manter constante a temperatura de 41°C, por 48 horas. Após este período, as sementes foram submetidas ao teste de germinação conforme descrito acima e a avaliação realizada no quinto dia após a semeadura, computando-se as plântulas consideradas normais Marcos-Filho (1999). Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

**Tetrazólio:** para avaliar o vigor das sementes foi utilizada a metodologia descrita por França-Neto et al. (1998), utilizando-se amostras de 100 sementes, com 4 repetições de 25 sementes de cada tratamento. As sementes foram inicialmente pré-condicionadas em papel de germinação umedecido durante 16 horas, em germinador a 25 °C. Após o pré-condicionamento, as sementes foram colocadas em copos plásticos contendo solução de 2,3,5-trifenil-cloreto-de-tetrazólio, na concentração de 0,075%, onde permaneceram por 3 horas, no escuro, à temperatura de 40 °C para coloração. Em seguida, foram lavadas em água corrente e analisadas individualmente com auxílio de uma lupa conforme critérios de avaliação estabelecidos por França-Neto et al. (1998). A metodologia utilizada permite classificar a semente em classes de 1 a 8. As classes de 1 a 3 correspondem às sementes vigorosas, de 1 a 5 às sementes viáveis, 6 e 7 às sementes não viáveis e 8 às sementes mortas. Os resultados foram expressos em porcentagem de sementes obtidas nas classes 1 a 3, consideradas como vigorosas e nas classes 1 a 5, consideradas como viáveis. Foram calculadas as porcentagens de sementes com danos ocasionados por insetos e por umidade em cada tratamento.

**Análise de imagens de plântulas pelo Vigor-S@:** foram utilizadas 4 repetições de 20 sementes por tratamento. As sementes foram distribuídas, com hilo voltado para parte inferior do papel, em uma linha traçada no terço superior de duas folhas de papel germitest e cobertas com uma terceira folha. O papel foi previamente umedecido com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes o seu peso seco. Foram feitos os rolos e estes foram colocados verticalmente em germinador a 25 °C por 3 dias Wendt et al. (2017). Ao final deste período, as plântulas foram transferidas do rolo de papel para uma folha de

cartolina azul com área de 30 cm x 20 cm. A aquisição de imagens das plântulas foi obtida através da digitalização em um scanner (HP, Scanjet 200) fixado de maneira invertida no interior de uma caixa de alumínio (60 × 50 × 12 cm), ajustado para resolução de 300 dpi e acoplado a um computador. As imagens obtidas foram processadas individualmente pelo programa Vigor-S®, instalado em computador, que gerou as variáveis: comprimento de plântula, índice de uniformidade, índice de crescimento e índice de vigor.

$$IC = \min (w_h * l_h + w_r * l_r, 1000)$$

Em que: IC, o índice de crescimento;  $l_h$ , a média do comprimento do hipocótilo;  $l_r$ , a média do comprimento radicular;  $w_h$ , peso específico atribuído ao hipocótilo;  $w_r$ , peso específico atribuído a radícula.

$$IU = \left[ 1 - \frac{\sum_{i=1}^n |Xi - \bar{X}|}{n \times \bar{X}} \right] \times 1000 - \left[ n_{dead} \times \left( \frac{50}{n_{total}} \right) \right]$$

Em que: IU, o índice de uniformidade;  $X_i$ , o comprimento da plântula analisada;  $\bar{X}$ , o comprimento médio de plântulas das sementes analisadas;  $n$ , a variável número de plântulas totais avaliadas;  $n_{dead}$ , o número de sementes não germinadas ou mortas presentes na repetição avaliada; e  $n_{total}$ , o número total de plântulas.

$$IV = (IC \times 70) + (IU \times 30)$$

Em que: IV, o índice de vigor; IC, índice de crescimento; IU, índice de uniformidade.

**Sanidade:** foi utilizado o método do papel-filtro ou “blotter test”. Foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes sobre quatro folhas de papel germitest esterilizadas e umedecidas com água destilada e autoclavada em caixas plásticas do tipo “gerbox”. A incubação foi realizada em B.O.D, à temperatura de 25 °C, em regime de 12 horas de iluminação com lâmpadas fluorescentes, alternadas com 12 horas de escuro, durante sete dias. Após esse período, foram identificados os fungos presentes nas sementes, com o auxílio de lupa com iluminação e microscópio estereoscópico Goulart (1997 e Henning (1994). Os resultados foram expressos em porcentagem de sementes infectadas.

**Atividade de enzimas antioxidativas:** inicialmente foram obtidos os extratos enzimáticos brutos para as determinações das atividades da catalase (CAT), da peroxidase

(POX), da peroxidase do ascorbato (APX) e da superóxido dismutase (SOD). Aproximadamente 0,3 g de sementes foram maceradas em nitrogênio líquido e, então, adicionados 2 mL do seguinte meio de homogeneização: tampão fosfato de potássio 0,1 M e pH 6,8, ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) 0,1 mM, fluoreto de fenilmetilsulfônico (PMSF) 1 mM e polivinilpolipirrolidona (PVPP) 1% (p/v) Peixoto et al. (1999). Em seguida, o extrato foi centrifugado a 15.000 g por 15 minutos a 4° C e o sobrenadante retirado.

**Proteínas:** foi utilizada a curva padrão construída com albumina sérica bovina (BSA) como proteína de referência Bradford (1976). Foram adicionados 25 µL da solução diluída de extrato enzimático, 1 mL do reagente de Bradford e 0,975 mL de água destilada, seguido de agitação. Após 20 minutos, foi realizada a leitura da absorbância da amostra em espectrofotômetro a 595 nm.

**Superóxido dismutase:** foi determinada a atividade da SOD pela adição de 50 µL do extrato enzimático bruto e 2,95 ml do meio de reação. O meio de reação constituía-se de tampão fosfato de sódio (50 mM pH 7,8), metionina 13 mM, azul de p-nitro tetrazólio (NBT) 75 µM, EDTA 0,1 mM e riboflavina 2 µM Longo et al. (1993). A reação foi conduzida a 25 °C em câmara de reação sob iluminação de uma lâmpada fluorescente de 15 W, mantida no interior de uma caixa coberta com papel alumínio. Após 5 min de exposição à luz, a iluminação foi interrompida e a formação azul, produzida pela fotorredução do NBT, foi determinada pela medição da absorvância a 560 nm. A medição da absorvância, nesse mesmo comprimento de onda, de um meio de reação exatamente igual ao anterior, mas mantido no escuro por igual tempo, serviu de branco e foi subtraído da leitura da amostra que recebeu iluminação (Giannopolitis; Ries, 1977). Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima necessária para inibir em 50 % a fotorredução do NBT (Beauchamp; Fridovich, 1971).

**Catalase:** foi determinada pela adição de 50 µL do extrato enzimático bruto a 2,95 mL de meio de reação, constituído de tampão fosfato de potássio (50 mM pH 7,0) e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (12,5 mM). Durante o primeiro minuto de reação, mantida a 25°C, foi medida a absorvância a 240 nm. A atividade enzimática foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de 36 M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup> e expressa em µmol min<sup>-1</sup>mg<sup>-1</sup> de proteína (Havir; McHale, 1987; Anderson et al., 1995).

**Peroxidase:** a atividade da POX foi determinada pela adição de 100 µL do extrato enzimático bruto a 2,9 mL de meio de reação, constituído de tampão fosfato de potássio (25 mM pH 6,8), pirogalol (20 mM) e peróxido de hidrogênio (20 mM). O incremento da

absorvância durante o primeiro minuto de reação a 420 nm, a 25 °C, determinou a produção de purpurogalina. A atividade enzimática foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de  $2,47 \text{ M L}^{-1}\text{cm}^{-1}$  e expressa em  $\mu\text{mol min}^{-1}\text{mg}^{-1}$  de proteína (Kar; Mishra, 1976; Maehly, 2006).

**Peroxidase do ascorbato:** A atividade da APX foi determinada pela adição de 100  $\mu\text{L}$  do extrato enzimático bruto a 2,9 mL de meio de reação constituído de tampão fosfato de potássio (50 mM, pH 7,8), ácido ascórbico (0,25 mM), EDTA (0,1 mM) e  $\text{H}_2\text{O}_2$  (0,3 mM). Será observada a absorvância a 290 nm, à 25°C, durante o primeiro minuto de reação. A atividade enzimática foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de  $2,8 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  e expressa em  $\mu\text{mol min}^{-1}\text{mg}^{-1}$  de proteína (Nakano; Asada, 1981; Koshiba, 1993).

**Delineamento experimental e análise estatística:** utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 x 4 (cultivares x épocas de colheita) com quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA). Depois de confirmar a distribuição normal dos dados pelo teste de Shapiro-Wilk e a homocedasticidade pelo teste de Bartlett, as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Os dados referentes à porcentagem de sementes com danos obtidas no teste de tetrazólio não foram submetidos à análise estatística por não atenderem os pressupostos da ANOVA. Foi realizada também a análise multivariada de componentes principais. O software utilizado nas análises estatísticas foi o R (R Development Core Team, 2014). Obteve-se uma matriz “n x p”, onde “n” é o número de tratamentos ( $n = 12$ ) e “p” é o número de variáveis analisadas ( $p = 18$ ). Autovalores e autovetores foram calculados a partir das matrizes de covariância e plotados em gráficos bidimensionais (círculo de autovetores das variáveis e diagrama de ordenação das categorias) gerados usando os pacotes factoextra (Kassambara; Mundt, 2015).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observa-se na Figura 1A, referente ao período de pré-colheita, que a umidade relativa do ar variou de 46% a 96% e as temperaturas variaram de 17,6 °C a 32,6 °C. A precipitação pluviométrica máxima do período foi de 39 mm no dia 11 de março de 2018. Já na Figura 1B, referente ao período de colheita, observa-se que a umidade relativa do ar variou entre 37% e 97%, e as temperaturas variaram de 11,2 °C a 30,2 °C. A precipitação pluviométrica máxima do período foi de 35,2 mm no dia 03 de abril de 2018. As condições climáticas na fase de pré-colheita influenciam diretamente a qualidade das sementes de soja especialmente quando são submetidas ao retardamento de colheita. De acordo com Silva et al. (2016), locais de altitude elevada e temperaturas mais baixas durante o período noturno são preferenciais para a produção de semente de soja de melhor qualidade, garantindo que as sementes permaneçam no campo sem sofrerem interferências e redução de sua qualidade. Entretanto, mesmo regiões com características favoráveis para produção de sementes, como temperaturas mais baixas, clima seco e baixa umidade relativa do ar no período da colheita, o atraso de colheita pode proporcionar redução de vigor Mathias et al. (2017).

As plantas da cultivar NS 5959 (grupo de maturação 5.9) atingiram o estágio R8 em 23 de março de 2018, enquanto para as cultivares BMX Potência (grupo de maturação 6.7) e TMG 1175 (grupo de maturação 7.5) este estágio ocorreu em 27 de março e 03 de abril de 2018, e em 02 e 10 de abril de 2018 (Tabela 1), respectivamente. Como cada planta atingiu o estágio R8 em diferentes datas, devido a variações no desenvolvimento das plantas em campo, mais de uma colheita foi necessária. Além disso, as cultivares apresentam diferentes grupos de maturação, sendo a cultivar NS 5959 a mais precoce entre elas e a cultivar TMG 1175 a mais tardia.

Logo após cada colheita foi determinado o grau de umidade das sementes (Tabela 1). A partir destes valores foram obtidas as médias de cada tratamento, apresentadas na Figura 2.

Em todas as épocas de colheita houve diferença entre o grau de umidade das sementes das cultivares estudadas (Figura 2). Em R8, o grau de umidade das sementes foi menor para BMX Potência, 23,5% e maior para NS 5959, 28,2%. Esses resultados podem ser devido a cultivar BMX Potência ser a que teve mais sementes colhidas em datas nas quais não houve precipitação (27 de março e 03 de abril de 2018). Já as sementes da cultivar NS 5959 estiveram expostas à precipitação no dia 21 de março de 2018 (Tabela

1 e Figura 1). Comportamento semelhante foi observado em R8 + 10 dias, sendo que o menor grau de umidade foi de 17,2% (TMG 1175) e o maior foi de 24,7% (NS 5959), correspondentes às sementes das cultivares menos e mais expostas à precipitação, respectivamente.

Pela Figura 2, aos 20 dias após R8, o grau de umidade caiu para NS 5959 e BMX Potência (18,1% e 16,7%, respectivamente), mantendo-se semelhante ao obtido em R8 + 10 dias para TMG 1175. Em geral, menores valores foram obtidos aos 30 dias após R8, variando de 16,9 a 13,8% para as cultivares NS 5959 e TMG 1175, respectivamente. Assim, houve decréscimo gradativo do grau de umidade com o atraso da colheita das sementes de todas as cultivares estudadas. Uma vez que as sementes colhidas nos estádios R8 + 20 e R8 + 30 não foram expostas a precipitações na pré-colheita (Tabela 1 e Figura 1), o grau de umidade destas sementes foi inferior às colhidas em R8 e R8 + 10, principalmente para as sementes das cultivares NS 5959 e BMX Potência (Figura 2).

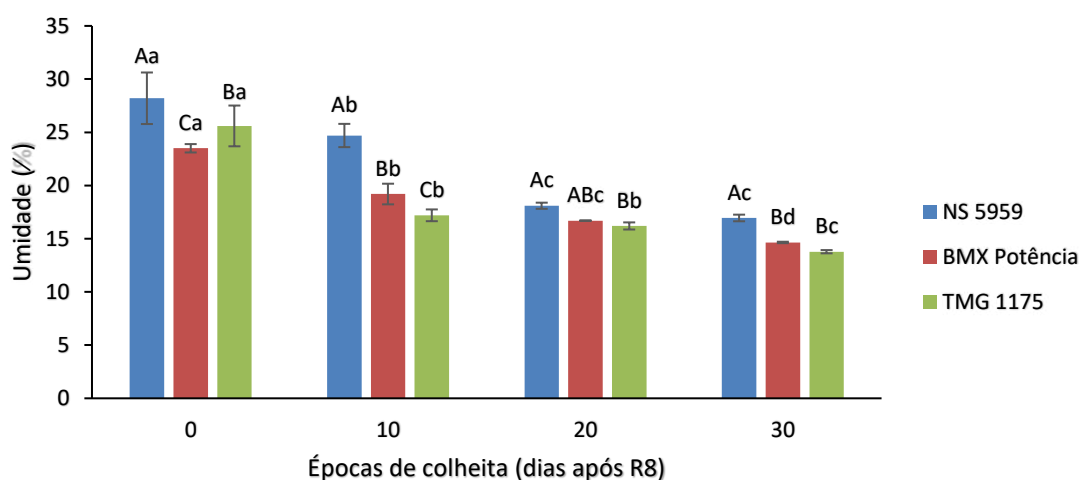


Figura 2. Grau de umidade de sementes de soja colhidas em R8 e aos 10, 20 e 30 dias após R8. Letras maiúsculas comparam cultivares em cada época de colheita e letras minúsculas comparam épocas de colheita para cada cultivar pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Pela Figura 3A, observa-se que para a colheita em R8 foi possível identificar diferenças significativas entre as cultivares, com menor desempenho para as sementes da cultivar TMG 1175 em relação aos demais, que não diferiram entre si. As sementes da cultivar TMG 1175 atingiram estágio R8 nas datas 02 e 10 de abril de 2018 (Tabela 1) sendo que as colhidas no dia 10 ficaram expostas às precipitações dos dias 03 e 06 de abril de 2018 (Figura 1), o que pode justificar a menor qualidade das sementes desta cultivar em relação as demais. Nas demais épocas de colheita não houve diferença significativa na germinação das sementes das três cultivares estudadas.

Lima et al. (2007) não detectaram diferenças entre a germinação de diferentes genótipos de soja quando a colheita foi realizada em R8; contudo, a partir do estágio R8 +15 dias já foi possível observar diferenças entre os genótipos, sendo a diferenciação ainda maior em R8 + 30 dias. Por sua vez, Diniz et al. (2013) relatam que diferenças na germinação das sementes de oito variedades de soja só foram observadas aos 30 dias após R8, quando ocorreu redução significativa na germinação em relação ao estágio R8.

Ao se comparar as épocas de colheita dentro de cada cultivar (Figura 3A), observa-se que, a germinação das sementes das cultivares NS 5959 e BMX Potência reduziu a partir da colheita realizada aos 20 dias após R8. Para a cultivar TMG 1175, não houve diferença significativa na germinação das sementes colhidas em R8, R8 + 10 e R8 + 20 dias, mas a germinação em R8 + 10 foi superior à obtida em R8 + 30 dias.

De modo geral, o atraso da colheita por 20 e 30 dias, aliado às variações de temperatura, umidade relativa do ar e às precipitações que ocorreram em R8 e R8 + 10 (Figura 1), levaram à redução na germinação das sementes das cultivares NS 5959 e BMX Potência. Por ser mais tardia, a cultivar TMG 1175 atingiu o estágio R8 posteriormente, assim as plantas não ficaram expostas as mesmas condições de ambiente que as demais cultivares após este estágio. Dessa forma, a redução da germinação das sementes ocorreu principalmente aos 30 dias após R8 (Figura 3A). Em campo, a ocorrência de chuvas e variações de umidade relativa do ar, especialmente se associadas a altas temperaturas, resulta na deterioração, reduzindo a qualidade das sementes à medida que a colheita é retardada Mathias et al. (2017 e Sedyama (2016).

Contudo, vale ressaltar que os valores de germinação obtidos nas quatro épocas de colheita foram superiores a 80% que é o padrão mínimo estabelecido para a comercialização de sementes no Brasil Brasil (2013). Também Zanatta et al. (2018) obtiveram resultados semelhantes com as cultivares ATIVA RR e 5909 RG que mesmo com a permanência no campo de 10 e 15 dias após R8, respectivamente, apresentaram germinação dentro do mínimo aceitável para a comercialização de sementes de soja.

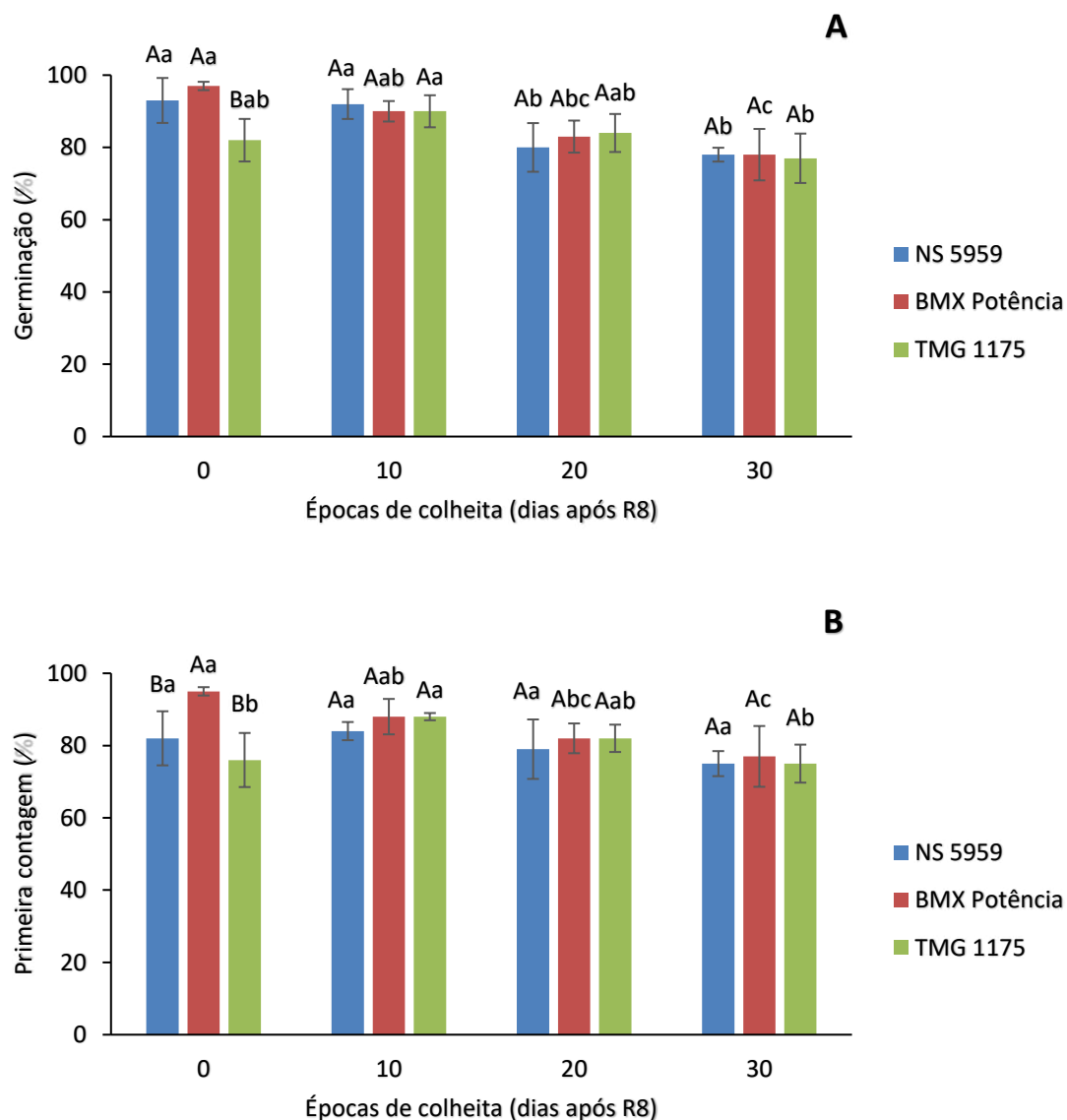


Figura 3. Germinação (A) e Primeira contagem de germinação (B) de sementes de soja colhidas em R8 e aos 10, 20 e 30 dias após R8. Letras maiúsculas comparam cultivares em cada época de colheita e letras minúsculas comparam épocas de colheita para cada cultivar cultivar pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Ao se avaliar a primeira contagem de germinação (Figura 3B), que fornece informações sobre a velocidade de germinação, verifica-se melhor desempenho para as sementes da cultivar BMX Potência em relação às demais quando colhidas em R8. Isto pode estar relacionado ao fato da cultivar BMX Potência ser a que teve mais sementes colhidas em período sem precipitação, uma vez que foram realizadas duas colheitas, no dia 27 de março de 2018 e no dia 03 de abril de 2018 (Tabela 1), sendo esta última realizada no período da manhã, previamente a precipitação (Figura 1). Nas demais épocas de colheita não houve diferença entre as cultivares, assim como verificado no teste de germinação (Figura 3A).

Para as sementes da cultivar NS 5959, o retardamento da colheita não afetou a velocidade de germinação (Figura 3B). Já para ‘BMX Potência’, houve redução dos valores nas colheitas aos 20 e 30 dias após R8 em relação a R8, que não diferiu de R8 + 10 dias. Para a ‘TMG 1175’, os menores valores foram obtidos em R8 e em R8 + 30 dias que foram inferiores a R8 + 10 dias, comportamento semelhante ao observado no teste de germinação (Figura 3A). Nota-se que os valores obtidos foram acima de 80%, exceto para as sementes da cultivar TMG 1175 colhidas em R8 (76%).

Os resultados de viabilidade pelo teste de tetrazólio encontram-se na Figura 4A. Não houve efeito significativo para a interação dos fatores genótipo x época de colheita. Ao estudar o efeito dos fatores isolados, observa-se que não houve diferença entre as cultivares, com maior viabilidade para as sementes colhidas em R8 e R8 + 10 dias em relação àquelas colhidas em R8 + 20 e R8 + 30 dias, que não diferiram entre si.

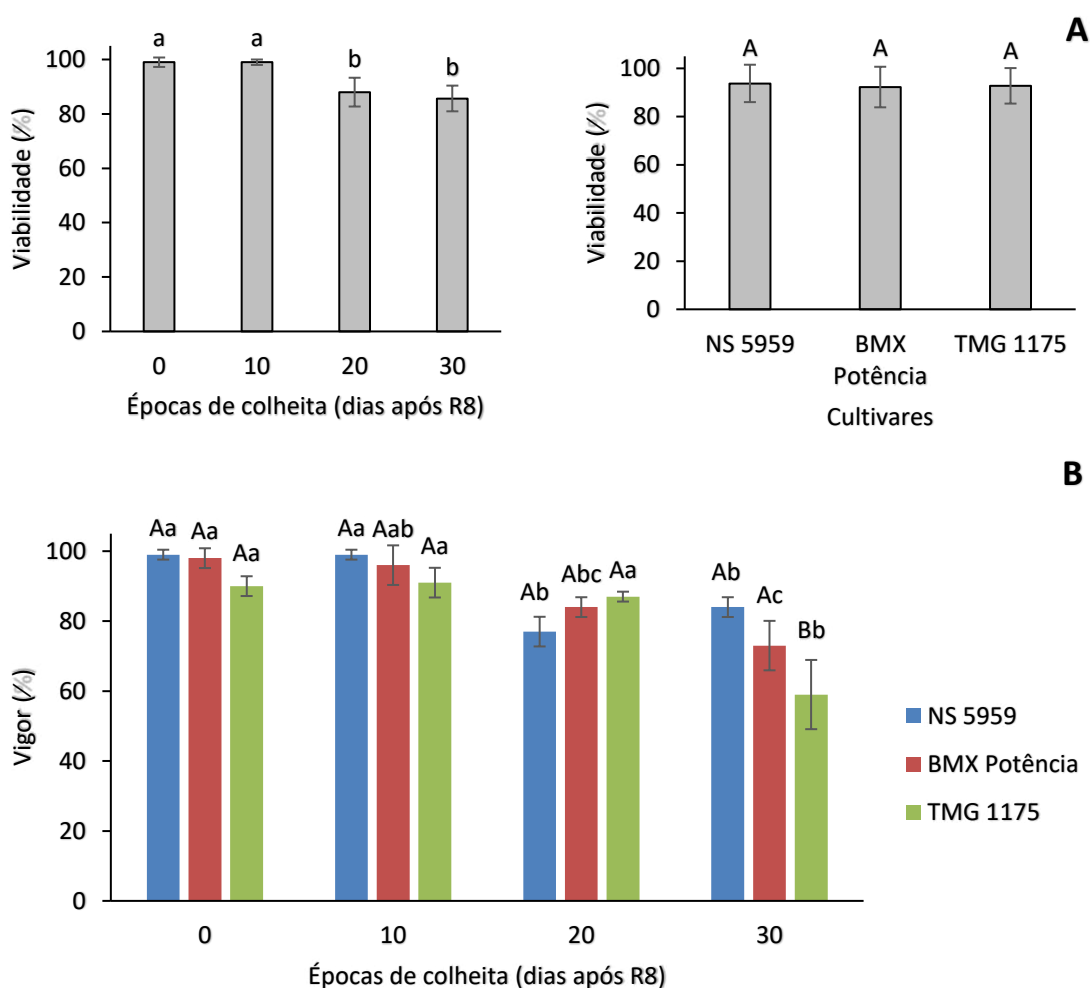


Figura 4. Viabilidade (A) e vigor (B) pelo teste tetrazólio em sementes de soja colhidas em R8 e aos 10, 20 e 30 dias após R8. Letras maiúsculas comparam cultivares em cada época de colheita e letras minúsculas comparam épocas de colheita para cada cultivar pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O vigor das sementes, avaliado pelo teste de tetrazólio (Figura 4B), não diferiu entre os cultivares, exceto na colheita realizada 30 dias após R8, quando o vigor das sementes da cultivar TMG 1175 foi inferior às demais. Comparando-se as épocas de colheita, observa-se, de modo geral, redução no vigor a partir de R8 + 20 dias, exceto para ‘TMG 1175’ na qual a redução só foi observada aos 30 dias após R8.

França-Neto et al. (1999) consideram vigorosos os lotes de sementes de soja que apresentam valor igual ou superior a 85% nas classes 1-3 no teste de tetrazólio. Em geral, apenas as sementes colhidas em R8 e R8 + 10 dias superaram este valor, podendo ser consideradas, portanto, como apresentando alto vigor pelos resultados do teste de tetrazólio. Zuffo et al. (2017), verificaram que sementes de soja colhidas em R8 tiveram maior viabilidade e vigor pelo teste de tetrazólio, características estas que foram afetadas negativamente pelo atraso da colheita.

O teste de tetrazólio é bastante utilizado nas empresas produtoras de sementes do Brasil por permitir identificar as causas da redução da qualidade como danos por percevejos, danos mecânicos e deterioração por umidade (França-Neto et al., 1998). Em trabalho realizado por Zuffo et al. (2017), sementes de soja colhidas aos 10 e 15 dias após R8 apresentaram predominância de danos por umidade devido à ocorrência de chuvas, enquanto em sementes colhidas a partir de R8 + 20 dias observou-se maior ocorrência de danos por percevejos.

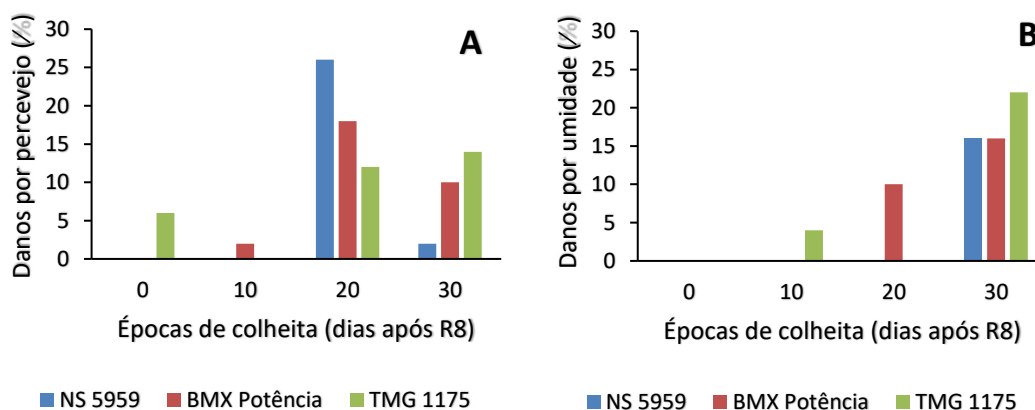


Figura 5. Danos por percevejo (A) e umidade (B) identificados no teste de tetrazólio em sementes de soja colhidas em R8 e aos 10, 20 e 30 dias após R8.

No presente estudo, através do teste de tetrazólio foi possível identificar principalmente danos por percevejo (*Nezara viridula*) e por umidade, que em R8 + 20 e R8 + 30 dias contribuíram para a redução da viabilidade das sementes das cultivares analisadas. A porcentagem de sementes danificadas por percevejos de soja aumentou à medida que a colheita foi atrasada após o estágio R8, especialmente aos 20 dias (Figura

5A). Os danos causados pela umidade foram mais relevantes para a deterioração após 30 dias de atraso de colheita (Figura 5B).

O atraso de colheita, a partir do estágio R8, promove aumento nos danos provocados por percevejos e pela umidade Zuffo et al. (2017). Castro et al. (2016) relatam que para as cultivares de soja AS 7307 RR e SYN 1283 RR, o estresse provocado pelo atraso na colheita, associado à umidade, causou aumento na porcentagem de danos causados por umidade. Já Mathias et al. (2017), ao avaliarem o efeito da época de colheita sobre a qualidade fisiológica de sementes de soja, constataram que os danos por umidade foram responsáveis pela redução de 24% no vigor das sementes pelo teste de tetrazólio. De acordo com Marcandalli et al. (2011), o aumento das porcentagens de rachadura e enrugamento do tegumento, além de dano por umidade, se deve a variação da umidade relativa do ar, que acarreta prejuízos à qualidade das sementes de soja.

Pelo teste de envelhecimento acelerado (Figura 6A), o maior vigor foi obtido para as sementes da cultivar BMX Potência colhidas em R8 e R8 + 10 dias em comparação com as demais cultivares. As sementes desta cultivar juntamente com a TMG 1175 foram mais vigorosas que a da 'NS 5959' em R8 + 20 dias. O retardamento da colheita por 30 dias (R8 + 30) não permitiu detectar diferenças no vigor das sementes das três cultivares. Comparando-se as épocas de colheita, não houve diferença significativa no vigor das sementes colhidas em R8 e R8 + 10 dias para as três cultivares. Para as cultivares NS 5959 e BMX Potência, houve redução no vigor a partir de 20 dias após R8. Nota-se ainda que, na última colheita (R8 + 30), o vigor das sementes foi significativamente inferior aos das demais épocas, exceto para 'NS 5959', que não diferiu de R8 + 20 dias. O atraso na colheita por 15 dias após R8 foi suficiente para demonstrar diferenças no vigor das sementes de diferentes cultivares de soja pelo teste de envelhecimento acelerado (Diniz et al., 2013; Zanatta et al., 2018). Já para Zuffo et al. (2017), este teste indicou um decréscimo no vigor das sementes colhidas 10 dias após R8.

Verifica-se, pelo teste de envelhecimento acelerado, que as sementes mostraram-se bastante sensíveis às condições de estresse do teste o que contribuiu para os baixos valores obtidos, especialmente aos 30 dias após R8 (Figura 6A). Pode-se afirmar, portanto, que houve um efeito acumulativo de estresse nestas sementes o que provavelmente dificultou a diferenciação dos genótipos quanto ao vigor na colheita de R8 + 30 dias. Também Lima et al. (2007) observaram comportamento semelhante para diferentes cultivares de soja colhidos em R8 + 30 dias.

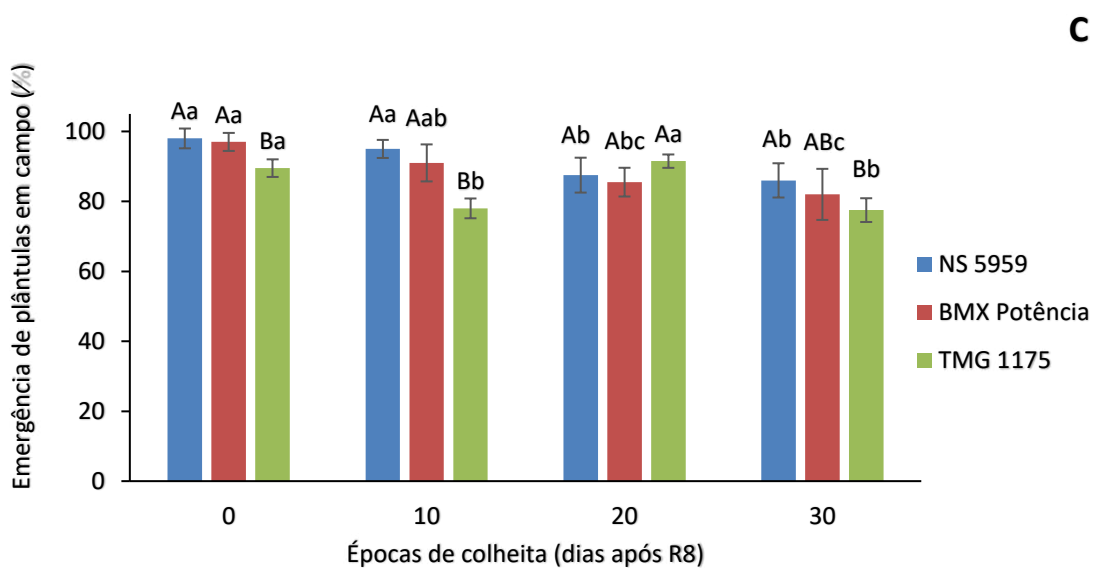
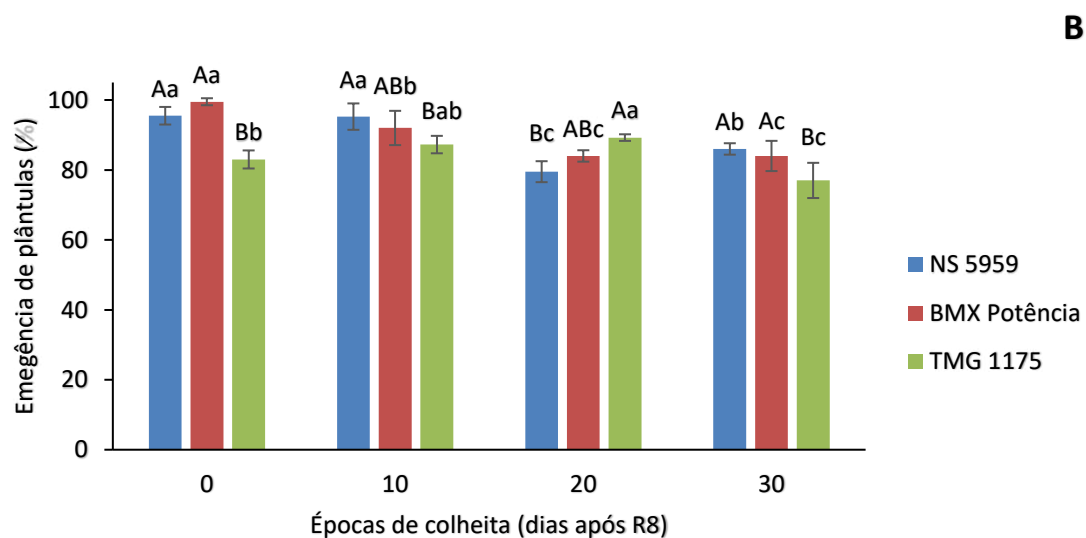
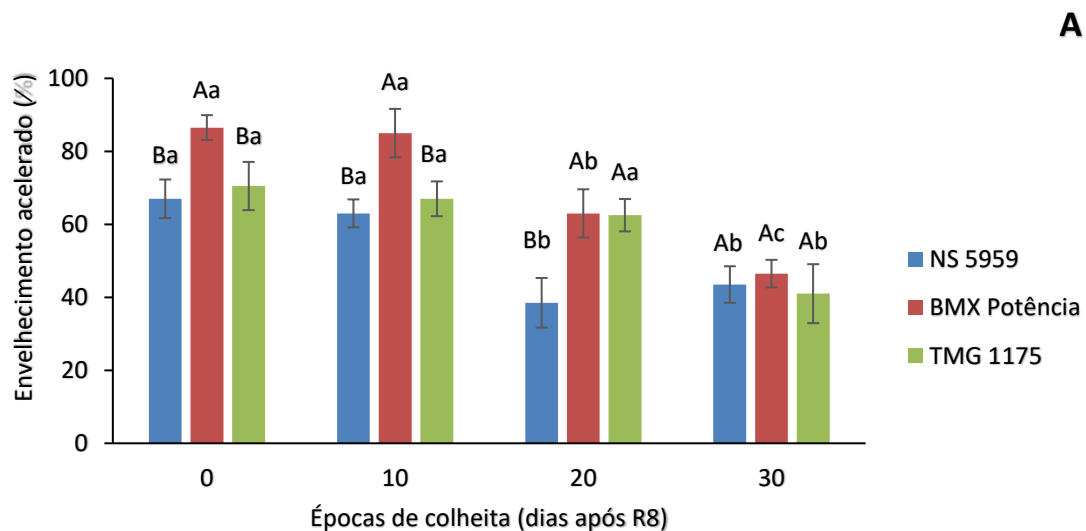


Figura 6. Envelhecimento acelerado (A) emergência de plântulas em casa de vegetação (B) e em campo (C) obtidas de sementes de soja colhidas em R8 e aos 10, 20 e 30 dias após R8. Letras maiúsculas comparam cultivares em cada época de colheita e letras minúsculas comparam épocas de colheita para cada cultivar pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Pelos resultados de emergência de plântulas tanto em casa de vegetação (Figura 6B) como em campo (Figura 6C), maiores valores foram obtidos para as sementes das cultivares NS 5959 e BMX Potência em relação à TMG 1175, principalmente nas colheitas realizadas em R8, R8 +10 e R8 + 30 dias. Com relação às épocas de colheita, houve pequenas variações nos resultados, com redução na emergência principalmente a partir de R8 + 20 dias para as cultivares NS 5959 e BMX Potência e em R8 e R8 + 30 dias para 'TMG 1175'. Nota-se, contudo, que os valores obtidos em todos os tratamentos foram relativamente altos, superando 80%, mostrando-se semelhantes aos valores de germinação (Figura 3A). Menor emergência de plântulas para sementes colhidas em R8 + 30 dias em relação àquelas colhidas em R8 e em R8 + 15 dias foi observado por Diniz et al. (2013), que também observaram resultados semelhantes em diversos testes de vigor empregados, exceto envelhecimento acelerado, o que concorda com os resultados obtidos no presente estudo.

Não houve interação significativa entre os fatores cultivares e épocas de colheita para a variável IVE em casa de vegetação (Figura 7A). Maior IVE foi obtido para as cultivares NS 5959 e BMX Potência em relação a TMG 1175. Quanto às épocas, o IVE foi superior em R8 quando comparado com os atrasos R8 + 20 e R8 + 30 dias.

Com relação ao IVE realizado em campo (Figura 7B), houve interação significativa entre os fatores. Nas épocas de colheita R8 e R8 + 10, as sementes da cultivar TMG 1175 tiveram desempenho inferior às das demais cultivares, concordando com os resultados obtidos pelo teste de germinação (Figura 3A). A cultivar BMX Potência se destacou na maioria das épocas de colheita com maior IVE. Houve redução no IVE com o retardamento de colheita das sementes das cultivares NS 5959 e BMX Potência a partir de R8 + 10 dias e R8 + 20 dias, respectivamente. Já para a 'TMG 1175', a velocidade de germinação foi relativamente baixa não havendo diferença entre as épocas de colheita.

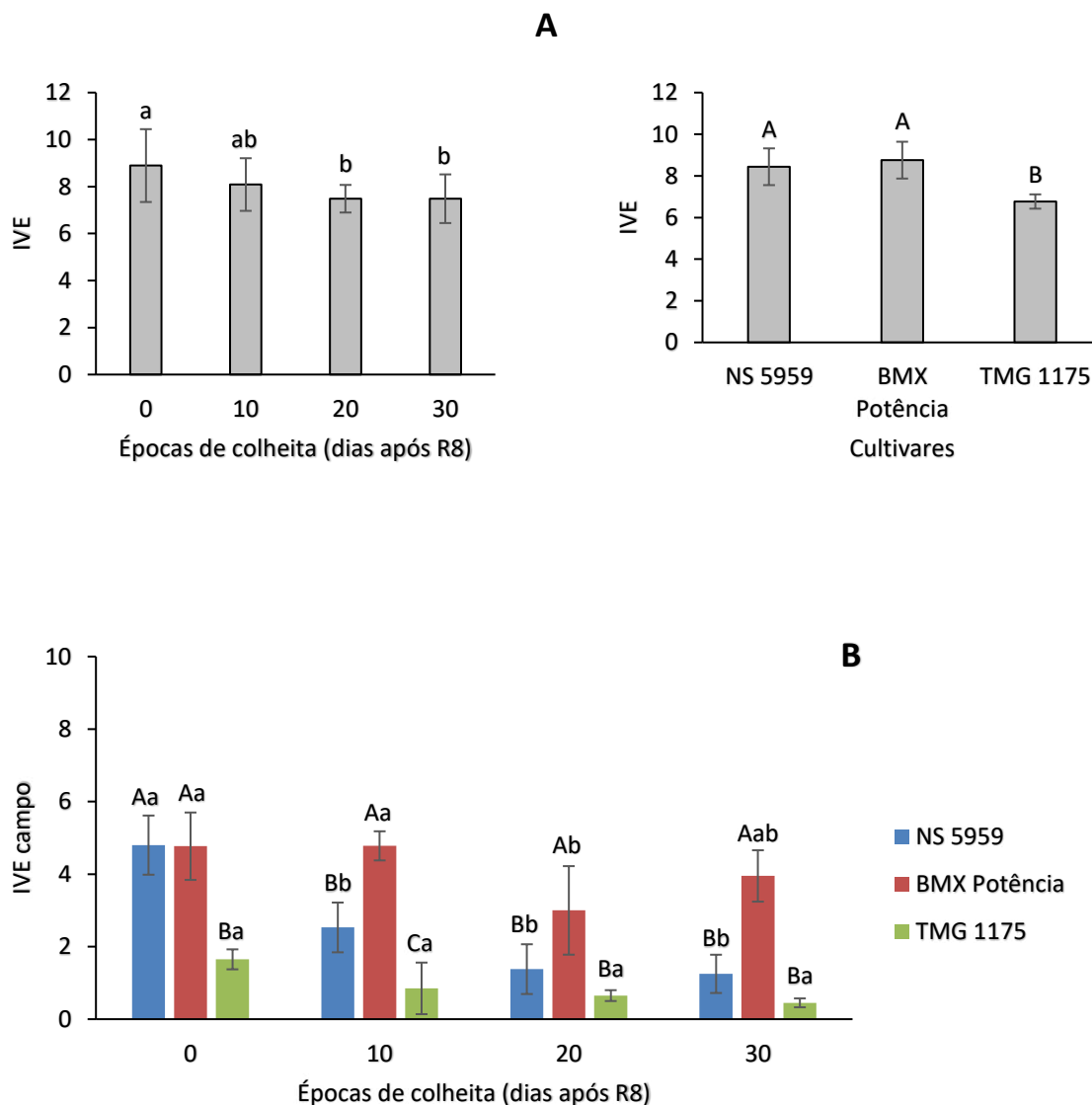


Figura 7. Índice de Velocidade de Emergência - IVE em casa de vegetação (A) e em campo (B) de sementes de soja colhidas em R8 e aos 10, 20 e 30 dias após R8. Letras maiúsculas comparam cultivares em cada época de colheita e letras minúsculas comparam épocas de colheita para cada cultivar pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os resultados referentes ao índice de vigor (Figura 8A), índice de uniformidade (Figura 8B) e comprimento de plântula (Figura 8C) obtidos pelo software Vigor-S<sup>®</sup> seguiram tendência semelhante, com pequenas variações. As sementes da cultivar BMX Potência apresentaram melhor desempenho em R8 e R8 + 10 (Figura 8A), concordando com os resultados obtidos no teste de envelhecimento acelerado (Figura 6A). A partir de R8 + 20 dias o desempenho da ‘BMX Potência’ se igualou ao da ‘TMG 1175’ sendo superior ao da ‘NS 5959’, principalmente para o índice de vigor e comprimento de plântula. Em geral, houve redução no índice de vigor das sementes da cv. NS 5959 com o retardamento da colheita após R8, sendo que para ‘BMX Potência’ e ‘TMG 1175’ a redução foi constatada em R8 + 20 e R8 + 30 dias, respectivamente.

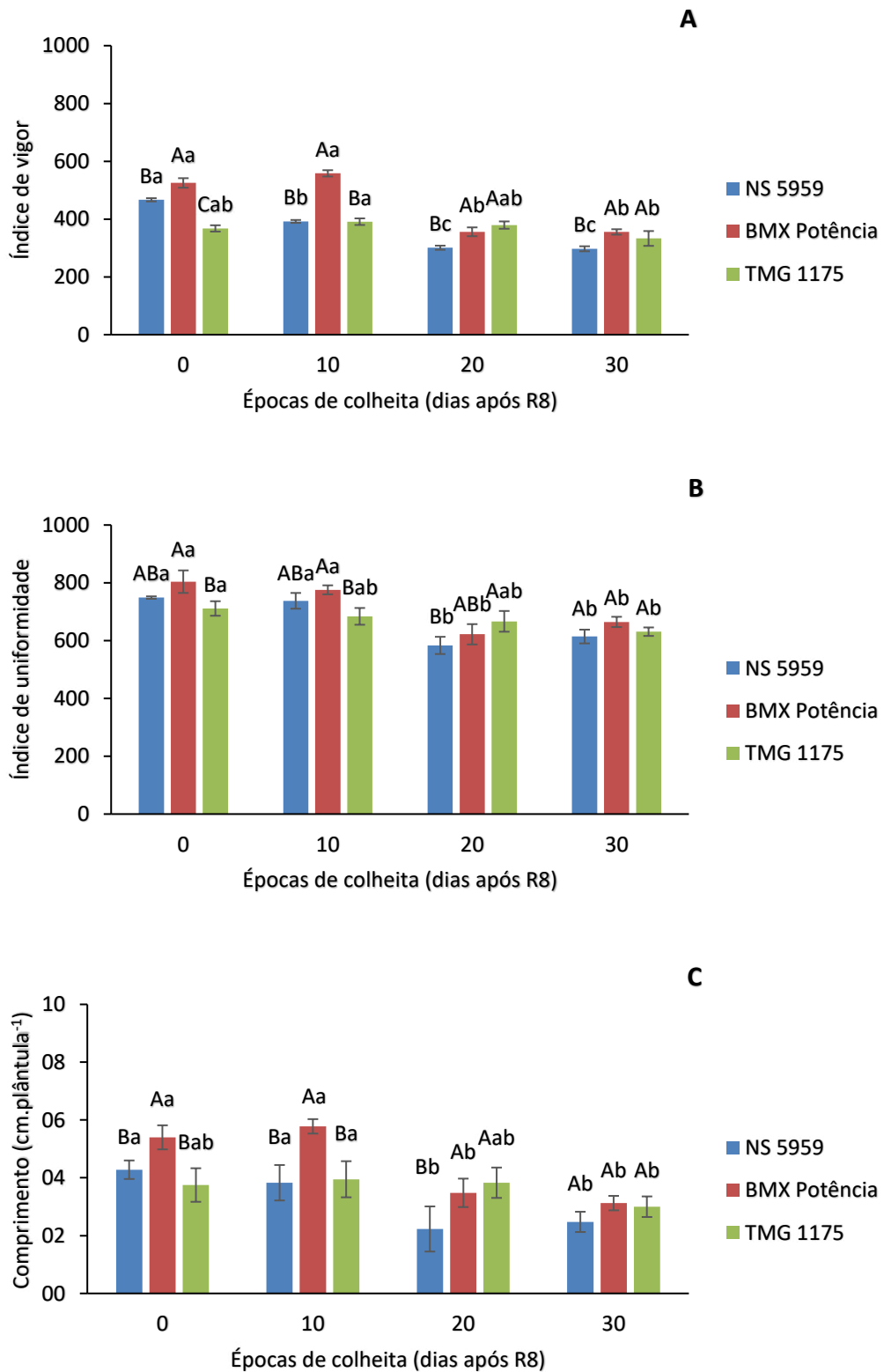


Figura 8. Índice de vigor (A), Índice de uniformidade (B) e Comprimento de plântulas (C), pelo Vigor-S®, de sementes de soja colhidas em R8 e aos 10, 20 e 30 dias após R8. Letras maiúsculas comparam cultivares em cada época de colheita e letras minúsculas comparam épocas de colheita para cada cultivar pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para as variáveis índice de uniformidade (Figura 8B) e comprimento de plântulas (Figura 8C), não houve diferença entre as cultivares aos 30 dias após R8, conforme também verificado pelo teste de envelhecimento acelerado (Figura 6A). Verifica-se ainda que o índice de uniformidade e o comprimento de plântula, em geral, decresceram a partir de R8 + 20 dias para praticamente todas as variedades.

Segundo Egli e Rucker (2012), sementes com alto vigor, pouco deterioradas, apresentam maior uniformidade de emergência de plântulas. O índice de uniformidade é uma informação importante, pois está relacionado com a uniformidade de desenvolvimento das plântulas e com o estabelecimento do estande. A emergência desuniforme de plântulas pode levar a atrasos no desenvolvimento e variações no crescimento das plantas em vários estágios fenológicos, afetando até a colheita Marcos-Filho (2016).

O menor vigor das sementes da cultivar TMG 1175 em R8 pelos testes de IVE, índice de vigor, emergência de plântulas em campo e casa de vegetação, pode ser justificado pela diferença no grupo de maturação. Por ser mais tardia, esta cultivar atingiu o estágio R8 posteriormente as demais, ficando exposta a duas chuvas nas colheitas realizadas em R8 e a variações de umidade relativa do ar (Tabela 1 e Figura 1). Da mesma forma, as condições ambientais justificam o melhor desempenho das sementes da cultivar BMX Potência, que foram as menos expostas a precipitações no mesmo estágio (Tabela 1 e Figura 1).

Verifica-se pelos resultados obtidos na maioria dos testes utilizados, redução do potencial fisiológico das sementes com o retardamento da colheita das sementes de soja. Esta redução pode ser atribuída ao processo de deterioração que, em geral, aumenta com a permanência das sementes no campo. A taxa de deterioração das sementes é altamente influenciada por fatores ambientais, como temperatura, umidade relativa e teor de água das sementes, e também por fatores biológicos, como pragas e patógenos Ghassemi-Golezani et al. (2010).

Além da qualidade fisiológica das sementes, avaliar o efeito da incidência de fungos nas sementes de soja submetidas ao retardamento de colheita e as respostas dos diferentes genótipos é uma estratégia para selecionar genótipos para sementes de alta qualidade, uma vez que, cultivares de soja apresentam comportamento diferenciado quanto à ocorrência de fungos (Diniz et al., 2013).

No presente trabalho, houve efeito significativo da interação cultivar x época de colheita para incidência de cada fungo individualmente (Figura 10), mas não para

incidência total de fungos (Figura 9). Não houve diferença entre as cultivares quanto à incidência total de fungos (Figura 9B), entretanto observou-se aumento gradativo nesta incidência com o atraso da colheita (Figura 9A). A permanência das sementes de soja no campo após o estágio R8 tem como consequência o aumento da presença de patógenos nas sementes, conforme relato de diversos autores (Braccini et al., 2000; Barros et al., 2005; Minuzzi et al., 2010; Diniz et al., 2013).

As sementes de todas as cultivares avaliadas foram infectadas por gêneros de fungos patogênicos tais como: *Aspergillus* sp., *Cercospora kikuchii*, *Phomopsis* sp. e *Cladosporium* sp.; contudo, os três primeiros fungos citados ocorreram com maior frequência. Em geral, houve aumento da porcentagem de sementes infectadas por fungos com o atraso da colheita, com menores valores em R8 e maiores valores em R8 + 20 e R8 + 30 dias, que não diferiram entre si. O atraso de 10 dias no período de colheita após o estágio reprodutivo R8 provocou aumento na incidência dos fungos patogênicos *Phomopsis* sp. e *Aspergillus* sp nas sementes das cultivares de soja estudadas (Figura 10A e B).

O comportamento diferenciado de cultivares de soja quanto à ocorrência de fungos em função do atraso na colheita não foi tão expressivo, divergindo de Braccini et al. (2000) e Diniz et al. (2013), que encontram resposta diferenciada das cultivares estudadas. Estes autores verificaram que aumento na incidência de fungos com o retardamento da colheita das sementes após R8 em todas as cultivares avaliadas, sendo *Phomopsis* sp. o fungo mais frequente, corroborando com os resultados obtidos no presente trabalho (Figura 10A).

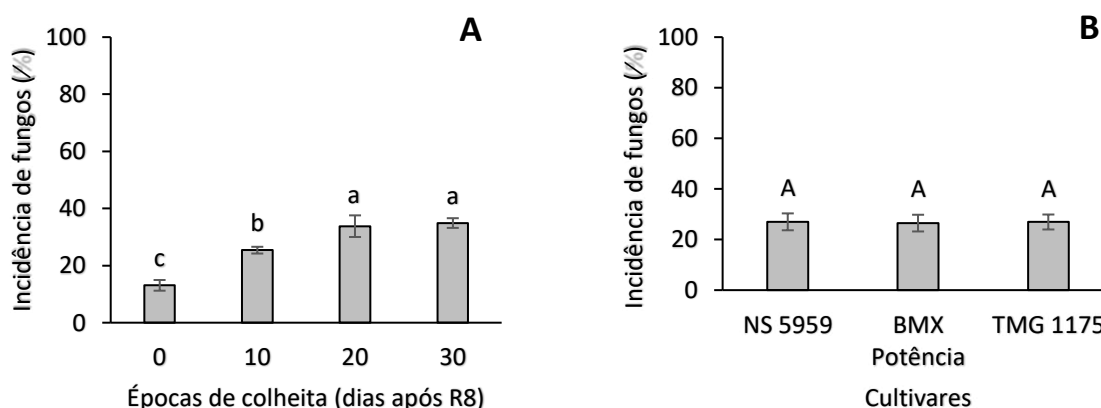


Figura 9. Incidência de fungos em sementes de soja colhidas em R8 e aos 10, 20 e 30 dias após R8. Letras maiúsculas comparam e letras minúsculas comparam épocas de colheita pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os fungos do gênero *Phomopsis* sp. são patógenos que infectam o tegumento da semente e que têm sua incidência aumentada nos testes de germinação em rolo de papel. Apesar da alta incidência deste fungo, não houve efeito negativo na germinação, pois não houve infecção nas plântulas, ficando restrito apenas ao tegumento. Segundo Henning and França-Neto (1980), em testes de germinação em areia a sua ocorrência diminui bastante. Este fungo perde rapidamente a viabilidade durante o armazenamento das sementes, não representando grande problema para a emergência de plântulas em campo.

Deve-se ressaltar a importância da detecção de fungos fitopatogênicos para a cultura ainda nas sementes, pois estes podem causar redução na germinação e no desenvolvimento inicial de plântulas de soja, além de disseminar doenças no campo.

Entre os principais patógenos causadores de doenças na cultura da soja que são transmitidos pela semente destacam-se: *Phomopsis* sp. e *Fusarium semitectum*, causadores da podridão da semente, gerando problemas de germinação no laboratório quando ocorrem chuvas durante as fases de maturação e colheita da semente; *Cercospora kikuchii*, causador da mancha púrpura; e *Aspergillus* sp. (*A. flavus*) que é responsável pela podridão da semente no solo, quando a semeadura é feita em solos com baixa disponibilidade de água, sem o tratamento da semente com fungicida Henning (2004). Além disso, *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. são os principais patógenos responsáveis pela deterioração das sementes de soja durante o armazenamento (Costa et al., 2013).

De modo geral, a porcentagem de sementes infectadas por *Phomopsis* sp. (Figura 10A) aumentou com o retardamento da colheita, com maiores valores a partir de R8 + 20 dias para as cultivares NS 5959 e BMX Potência, sendo que tais valores não diferiram daqueles obtidos em R8 + 30 dias. Nesta colheita, houve aumento na porcentagem de sementes da cv. TMG 1175 infectadas por *Phomopsis* sp. em relação às colheitas anteriores, não havendo diferença entre as três cultivares.

Pela Figura 10B, observa-se que em R8 e em R8 + 30 dias houve respectivamente maior e menor incidência de *Aspergillus* sp. nas sementes de 'BMX Potência' em relação às demais cultivares. A presença deste fungo nas sementes das cultivares NS 5959 e TMG 1175 aumentou significativamente com o atraso da colheita a partir de R8. Em R8 + 30 dias houve redução da incidência nas sementes da cv. BMX Potência.

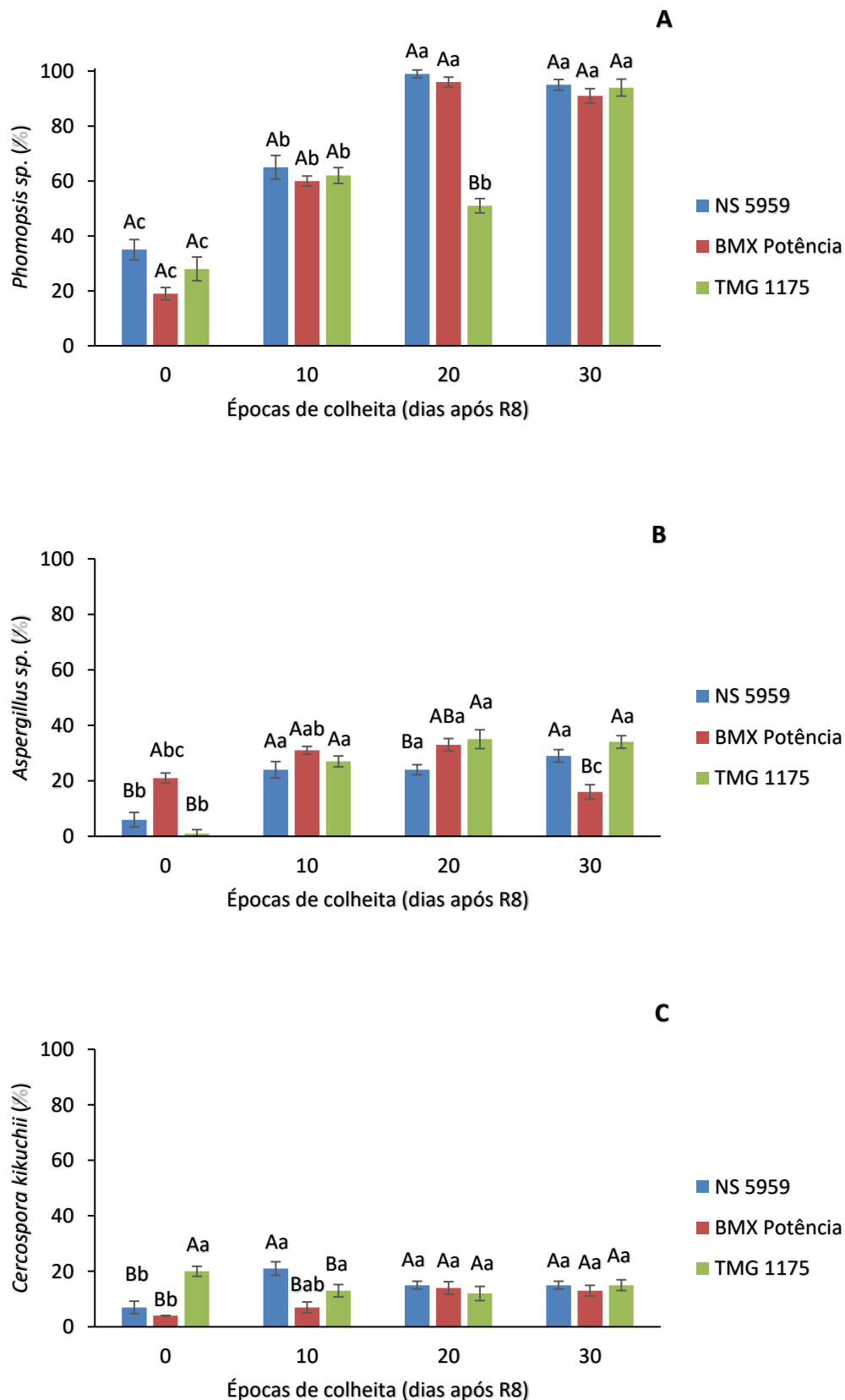


Figura 10. Incidência dos fungos *Phomopsis* sp. (A), *Aspergillus* sp. (B) e *Cercospora kikuchii* (C), em sementes de soja colhidas em R8 e aos 10, 20 e 30 dias após R8. Letras maiúsculas comparam cultivares em cada época de colheita e letras minúsculas comparam épocas de colheita para cada cultivar pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Com relação a *Cercospora kikuchii* (Figura 10C), houve maior porcentagem de sementes infectadas da cv. TMG 1175 em R8 e da ‘NS 5959’ em R8 + 10 dias. Em geral, pode-se afirmar que as sementes de todas as cultivares apresentaram maior incidência deste fungo aos 20 e 30 dias após R8, embora os valores obtidos tenham sido relativamente baixos variando de 12% a 15%.

Em síntese, observa-se que não houve diferença na germinação (Figura 3A), na primeira contagem de germinação (Figura 3B) e na viabilidade (Figura 4A) das sementes das três cultivares com o retardamento da colheita. Ao se avaliar o comportamento das cultivares em cada época de colheita, observa-se redução na germinação (Figura 3A) e no vigor pelos testes de tetrazólio (Figura 4), envelhecimento acelerado (Figura 6A), IVE (Figura 7), índice de vigor (Figura 8A), índice de uniformidade (Figura 8B) e comprimento de plântula (Figura 8C), principalmente a partir de R8 + 20 dias quando as sementes mostraram-se mais sensíveis ao retardamento de colheita. A maior incidência de fungos também ocorreu em R8 + 20 e R8 + 30 dias em relação às demais épocas (Figura 9A).

No presente trabalho, as sementes de todas as cultivares estiveram expostas a precipitações no estágio R8 e a variações de umidade relativa, que variou entre 37% e 97%, durante o período de colheita, associados a variações de temperatura, com máxima de 30,2 °C, no mesmo período. É importante considerar que os efeitos negativos do atraso na colheita dependem não apenas do genótipo e do período de permanência das sementes no campo, mas também das condições climáticas predominantes neste período, principalmente temperatura e umidade relativa do ar, como foi visto neste trabalho.

Entre a maturidade fisiológica e a colheita das sementes de soja podem ocorrer danos causados por alternância de períodos secos e úmidos das condições ambientais, que podem ser mais significativos em regiões tropicais, devido às condições de calor e alta umidade (Castro et al. 2016). Minuzzi et al. (2010) concluíram que a melhor qualidade de sementes pode ser obtida realizando-se a colheita aos 7 dias após a maturidade fisiológica e em relação à qualidade sanitária das sementes, constataram que à medida que se retarda a época de colheita, a porcentagem total de microrganismos aumenta linearmente para todas as cultivares. Em regiões tropicais, devido ao clima predominantemente quente e úmido, podem ocorrer significativos danos decorrentes da alternância de condições ambientais úmidas e secas no período entre a maturação fisiológica e a colheita de sementes de soja.

Diversos autores também utilizaram o retardamento da colheita com o objetivo de selecionar genótipos de soja com alta qualidade de sementes, com base nos resultados de testes de germinação e vigor. Lima et al. (2007), através do retardamento de colheita, concluiu que os genótipos que não possuíam a enzima lipoxigenase em sua constituição produziram sementes de melhor qualidade fisiológica, pelos testes de germinação, primeira contagem, envelhecimento acelerado, emergência e índice de velocidade de emergência em areia. Diniz et al. (2013), com o atraso de colheita, constataram que sementes da cultivar Celeste apresentaram qualidade fisiológica superior às das cultivares Confiança e Garantia. Xavier et al. (2015) relataram que as sementes da cultivar M9056RR apresentaram melhor qualidade de sementes pelos testes de germinação e germinação em areia em relação aos nove outros genótipos estudados.

Contudo, para elucidar melhor o processo de deterioração, uma alternativa é associar os resultados obtidos nos testes de avaliação do potencial fisiológico a outros parâmetros principalmente aqueles relacionados ao estresse oxidativo.

Ao se determinar o teor de proteínas solúveis nas sementes verificou-se que não houve interação significativa entre os fatores genótipo x época de colheita (Figura 11). As sementes submetidas ao retardamento de colheita apresentaram menor conteúdo de proteínas do que as colhidas no estágio R8. Entre cultivares não foi observada diferença significativa.

O início da deterioração das sementes geralmente está associado à redução na síntese de proteínas (Abdul-Baki; Anderson, 1972). Rajjou and Debeaujon (2008) relataram que a deterioração induzida pelo envelhecimento aumenta a oxidação das proteínas, induzindo à perda de propriedades funcionais de proteínas e enzimas. A deterioração de sementes de trigo, segundo Dell'Aquila (1994), foi acompanhado pelo atraso progressivo do início da germinação e pelo decréscimo de incorporação de metionina em proteínas solúveis de embriões hidratados.

O processo de deterioração leva a alterações estruturais associadas à oxidação, que reduzem a fluidez da membrana, alteram o enrolamento do DNA, perdem a elasticidade das proteínas e aumentam a fragilidade da matriz celular. A oxidação de moléculas gera moléculas menores com grupos reativos de carbonila ou nitrogênio que facilmente se difundem através de células, ou entre carboidratos, proteínas e ácidos nucleicos que causam reticulação intermolecular e degradam ainda mais em produtos finais de glicação avançada Walters et al. (2010).

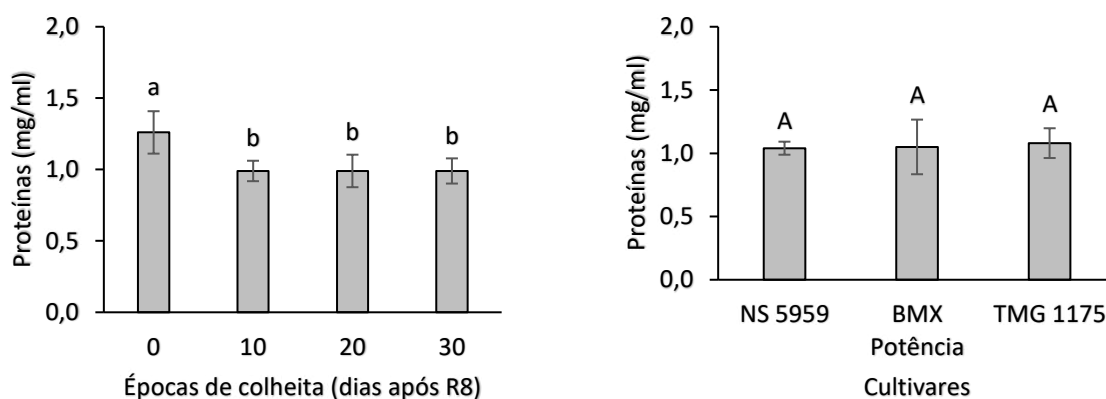


Figura 11. Conteúdo de proteínas solúveis em sementes de soja colhidas em R8 e aos 10, 20 e 30 dias após R8. Letras maiúsculas comparam cultivares e letras minúsculas comparam épocas de colheita pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As principais implicações do ataque de EROs estão relacionadas a alterações na mobilização de reservas das sementes, no metabolismo enzimático, na transcrição e tradução de proteínas e no fluxo iônico celular (Gill; Tuteja, 2010; Demidchik, 2015).

As enzimas desempenham um papel importante no progresso da deterioração de sementes e mudanças em sua atividade podem ser uma indicação de perda de qualidade (Copeland; McDonald, 1995). Alguns mecanismos de proteção envolvendo enzimas sequestradoras de radicais livres e peróxidos, como catalase (CAT), peroxidase (POD), peroxidase do ascorbato (APX) e superóxido dismutase (SOD) têm sido utilizados em estudos sobre deterioração de sementes (Goel; Sheoran, 2003; Rajjou; Debeaujon, 2008).

A enzima superóxido dismutase atua na dismutação do radical superóxido a peróxido de hidrogênio e oxigênio Demidchik (2015). O peróxido de hidrogênio gerado, potencialmente tóxico às células, é decomposto em água e oxigênio pela ação da catalase (Sharma et al., 2012; Usha; Dadlani, 2016). As peroxidases, POX e APX, também atuam na eliminação do peróxido de hidrogênio, catalisando a transferência de prótons de um composto reduzido para uma molécula de peróxido de hidrogênio, formando água (Usha; Dadlani, 2016).

Não houve interação significativa entre os fatores genótipo e época de colheita para a atividade das enzimas SOD e CAT, não havendo também diferença entre cultivares (Figura 12A e 12B). Ao se comparar as épocas de colheita, houve maior atividade da SOD em R8 + 10 dias quando comparada com os valores obtidos em R8, os quais não diferiram de R8 + 20 e R8 + 30 dias. (Figura 12A). Pela Figura 12B, observa-se menor atividade da CAT nas sementes colhidas aos 30 dias após R8, indicando menor atividade antioxidante nestas sementes, o que pode ser relacionado ao processo de deterioração. Em

geral, pelos testes de vigor (Figuras 3, 4 e 6) o retardamento de colheita por 30 dias foi prejudicial à qualidade fisiológica das sementes das três cultivares.

Zuffo et al. (2017) observaram maior expressão da SOD em sementes de soja colhidas em R8; aos 5 dias após R8 houve redução na expressão desta isoenzima, sendo mais evidente aos 20 dias após R8. Estes autores constataram redução na qualidade fisiológica das sementes aos 15 dias após R8, atribuindo este fato a formação e acúmulo de espécies reativas de oxigênio. A manutenção do sistema enzimático antioxidante, composto pelas enzimas SOD, CAT e POX é importante para remover ou reduzir a ação de EROs que podem causar danos às células e afetar negativamente o potencial fisiológico das sementes (Chen et al., 2010; Sharma et al., 2012).

Usha et al. (2016) observaram em lotes de soja com diferentes níveis de vigor das sementes maior atividade de SOD e CAT nas sementes de maior vigor. Observaram ainda, que à medida que o período de armazenamento progrediu, a atividade das enzimas aumentou inicialmente e depois reduziu significativamente ao final do armazenamento em todos os lotes. Por sua vez, Huth et al. (2016) avaliaram a atividade das enzimas antioxidativas SOD e POD em sementes de soja com diferentes teores de lignina submetidas à deterioração por umidade. Estes autores observaram relações entre estes componentes e concluíram que cultivares com maiores teores de lignina apresentaram menor estresse oxidativo.

A atividade da POX foi menor para as sementes da cv. TMG 1175 nas épocas de colheita R8 + 10, R8 + 20 e R8 + 30, se igualando a cv. BMX Potência em R8 (Figura 13A). Ao se comparar as épocas para cada cultivar, observa-se para a NS 5959 redução na atividade da POX com o atraso da colheita a partir de R8, enquanto para BMX Potência houve aumento na atividade de R8 para R8 + 30 dias. Em geral, as sementes da 'BMX Potência' tiveram menor queda no vigor com o atraso de colheita. Não houve diferença significativa entre as épocas de colheita para 'TMG 1175' tanto para atividade da POX (Figura 13A) como da APX (Figura 13B).

Maior atividade da APX foi observada em sementes da cultivar NS 5959 em R8 e da cultivar BMX Potência em R8 + 30 dias, em relação as demais cultivares. Entre épocas, para a 'BMX Potência', observa-se maior atividade nas sementes colhidas em R8 + 20 e R8 + 30 dias em relação às demais época e para a NS 5959 houve decréscimo da atividade nas colheitas realizadas após R8 (Figura 13B).

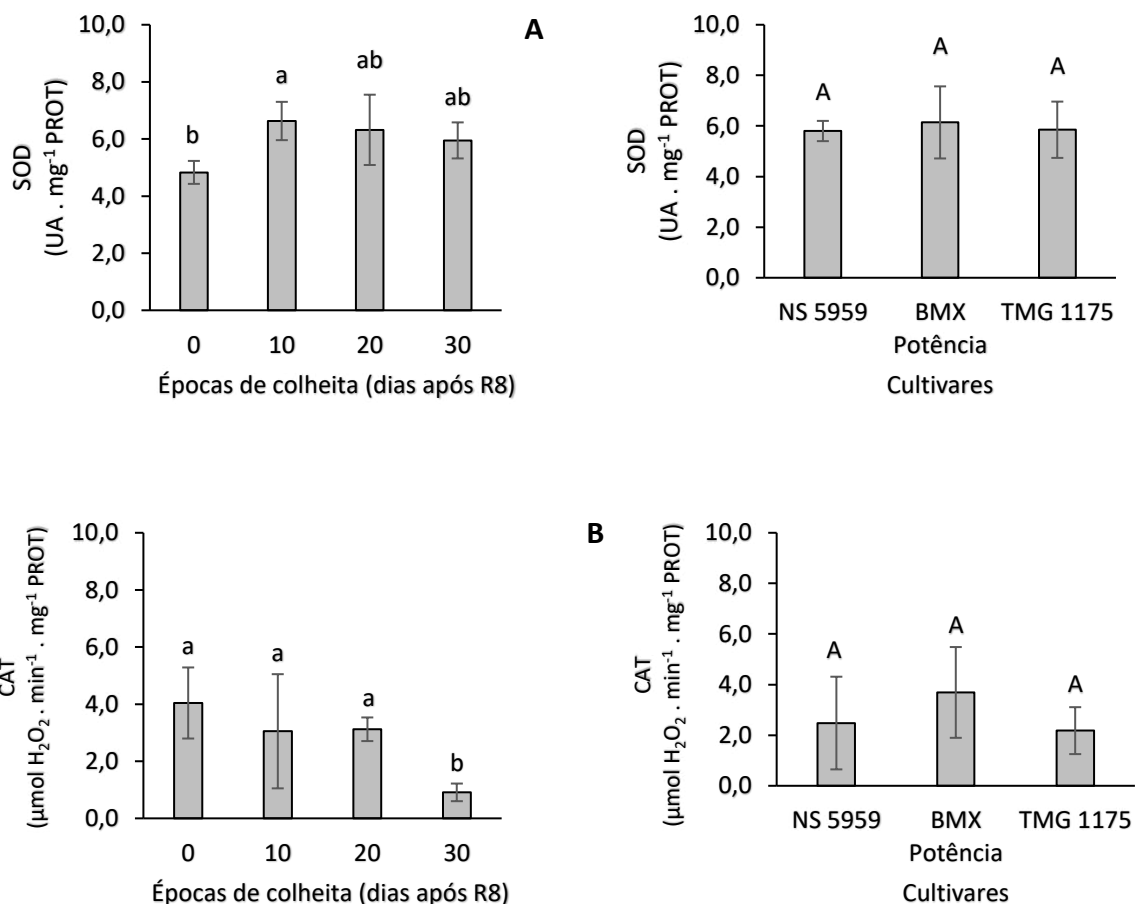


Figura 12. Atividade das enzimas SOD (A) e CAT (B) em sementes de soja colhidas em R8 e aos 10, 20 e 30 dias após R8. Letras maiúsculas comparam cultivares e letras minúsculas comparam épocas de colheita pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Pelas análises enzimáticas, pode-se afirmar que houve variações na atividade das enzimas antioxidantes tanto para as cultivares como para as diferentes épocas de colheita.

A maioria dos estudos sugere diminuição na atividade de enzimas como a SOD, CAT, POX e glutatona redutase em sementes envelhecidas Bailly (2004 e Balesevic-Tubic et al. (2005 e Lehner et al. (2008). A diminuição geral na atividade enzimática na semente diminui a capacidade respiratória, que por sua vez reduz a energia (ATP) e digestão das reservas da semente para germinação. Portanto, a redução na atividade das enzimas está relacionada a menor eficiência de germinação Shaban (2013). Por outro lado, segundo Demidchik (2015), centenas de estudos mostram o aumento da atividade de SOD em planta sob condições de estresse.

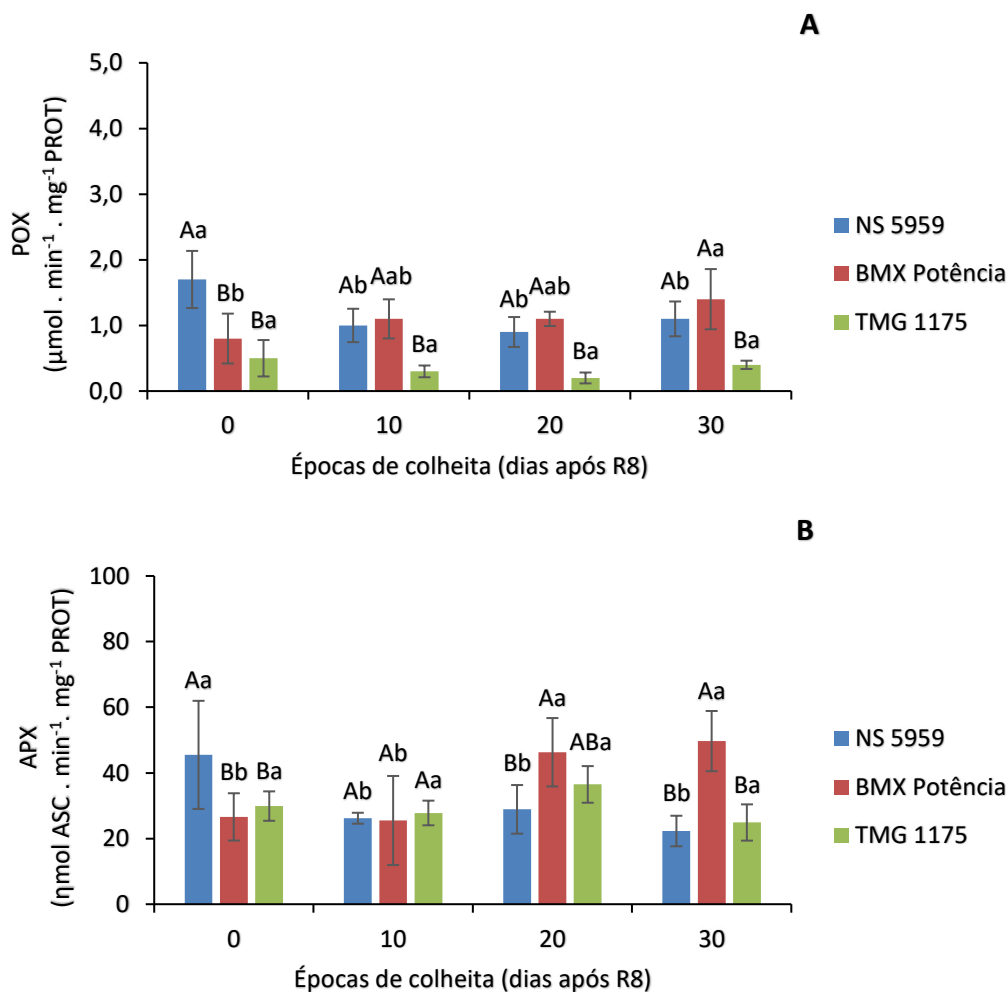


Figura 13. Atividade das enzimas POX (A) e APX (B) em sementes de soja colhidas em R8 e aos 10, 20 e 30 dias após R8. Letras maiúsculas comparam cultivares em cada época de colheita e letras minúsculas comparam épocas de colheita para cada cultivar pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Segundo Mittler (2002), a atividade enzimática do sistema antioxidativo pode atuar de forma complexa, de maneira que a alta atividade de uma determinada enzima pode ser compensada pela baixa atividade de outras. Além disso, a resposta de cada enzima específica ao estresse oxidativo durante a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas pode variar de acordo com a espécie, cultivar, nível de estresse e estágio de desenvolvimento da plântula (Gill, 2010). Dessa forma, em sementes sob condições de estresse oxidativo, não há um padrão de resposta geral para enzimas do sistema antioxidativo.

A análise multivariada de componentes principais (PCA) (Figura 14), utilizando o conjunto de dados obtidos para os doze tratamentos e as dezoito características avaliadas, explicou 73,3% da variabilidade total dos dados através de dois componentes (Dim1 e Dim2). Com essa análise foi possível reduzir as dezoito dimensões para apenas

duas, que explicaram um percentual significativo das observações. O diagrama localizado no canto superior direito representa o círculo de correlações entre as variáveis estudadas, indicando em um gradiente de cores a representatividade de cada variável para a PCA.

No plano cartesiano, os vetores em azul, vermelho e verde representam as variáveis fisiológicas, bioquímicas e sanitária, respectivamente. Cada vetor aponta para a direção na qual o valor da característica tem o aumento máximo através desse diagrama de ordenação. Como o cosseno do ângulo entre quaisquer dois vetores é proporcional ao coeficiente de correlação linear entre esses dois vetores (e, portanto, também entre as duas variáveis relacionadas à qualidade das sementes)(Abdi; Williams, 2010), pode-se deduzir que os atributos bioquímicos, como atividade enzimática e teor de proteínas, estão correlacionados com os atributos fisiológicos, como germinação e vigor.

Ainda na PCA (Figura 14), visualiza-se claramente uma aproximação entre os tratamentos com características semelhantes. Em geral, os tratamentos que se situaram mais próximos dos vetores de qualidade de sementes (germinação e vigor), como pode ser observado para a cultivar BMX Potência nas duas primeiras épocas de colheita (R8 e R8 + 10), apresentaram melhor desempenho, ou seja, os maiores valores médios de germinação e vigor. Por outro lado, tratamentos que se situaram distantes e em posição oposta aos vetores de qualidade podem ser considerados como apresentando sementes de menor qualidade, como as da cultivar TMG 1175, principalmente na última época de colheita (R8 + 30), e as das cultivares BMX Potência e NS 5959 nas duas últimas épocas de colheita (R8 + 20 e R8 + 30).

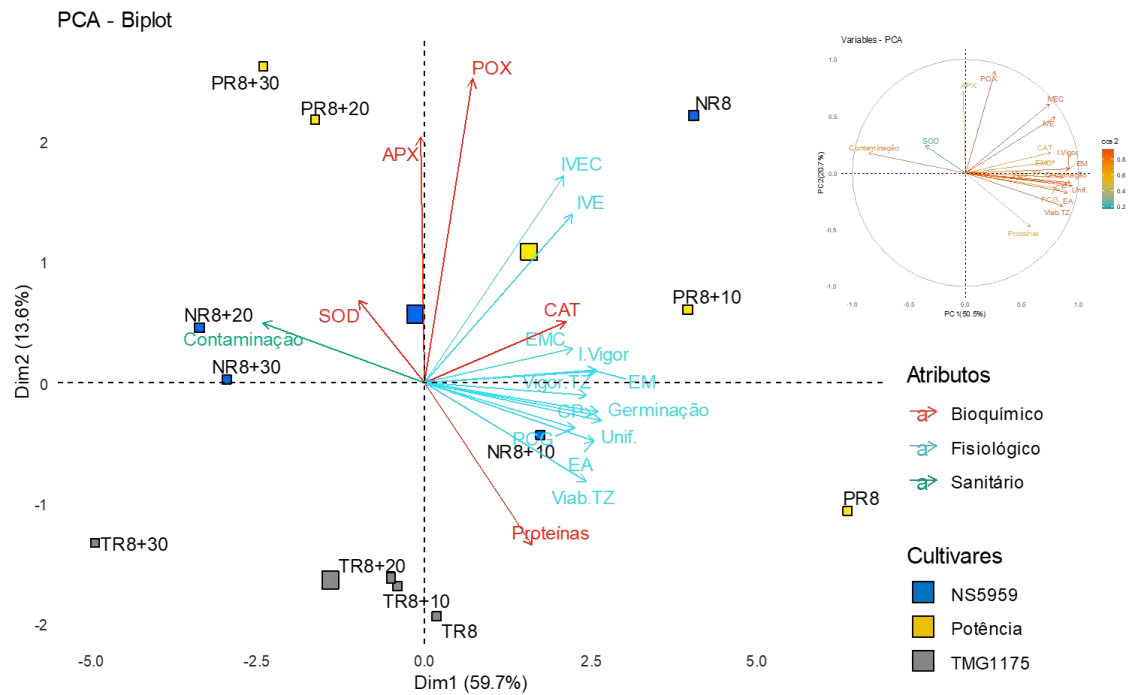


Figura 14. Gráfico biplot obtido pela combinação linear das variáveis relacionadas às características bioquímicas, fisiológicas e sanitárias de sementes de soja colhidas em R8 e aos 10, 20 e 30 dias após R8. PCG = Primeira contagem de germinação; Vigor TZ = Vigor pelo teste de tetrazólio; Viab TZ = Viabilidade pelo teste de tetrazólio; EA = Envelhecimento acelerado; EM = Emergência de plântulas em casa de vegetação; EMC = Emergência de plântulas em campo; IVE = Índice de velocidade de emergência em casa de vegetação; IVEC = Índice de velocidade de emergência em campo; I.Vigor = Índice de vigor; Unif = Índice de uniformidade de plântulas; CP = Comprimento de plântulas; CAT = Catalase; SOD = Superóxido dismutase; POX = Peroxidase; APX = Peroxidase do ascorbato.

## CONCLUSÕES

O retardamento de colheita provocou a deterioração das sementes de soja com redução na germinação e no vigor, principalmente nas colheitas realizadas em R8 + 20 e em R8 + 30 dias.

As cultivares não diferiram quanto às respostas antioxidativas e fisiológicas à deterioração em campo provocada pelas colheitas em R8 + 20 e R8 + 30 dias.

## REFERÊNCIAS

- Abdi, H.; Williams, L. J. Principal component analysis. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics**, v. 2, n. 4, p. 433–459, 2010. <http://dx.doi.org/10.1002/wics.101>.
- Abdul-Baki, A. A.; Anderson, J. D. Physiological and biochemical deterioration of seeds. In: A. Press (Org.); **Seed Biology**. p.283–315, 1972. New York.
- 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. <http://dx.doi.org/109/4/1247> [pii].
- Bailly, C. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. **Seed Science Research**, v. 14, n. 2, p. 93–107, 2004. <http://dx.doi.org/10.1079/SSR2004159>.
- Bailly, C.; Benamar, A.; Corbineau, F.; Come, D. Changes in malondialdehyde content and in superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase activities in sunflower seeds as related to deterioration during accelerated aging. **Physiologia Plantarum**, v. 97, n. 1, p. 104–110, 1996. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3054.1996.tb00485.x>.
- Balesevic-Tubic, 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. <http://dx.doi.org/10.2298/HEL0542107B>.
- Barros, H. B.; Sedyama, T.; Reis, M. S.; Cecon, P. R. Efeito da aplicação de fungicidas e da época de colheita na qualidade sanitária de sementes de soja. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 27, n. 4, p. 639–645, 2005. <http://dx.doi.org/10.4025/actasciagron.v27i4.1344>.
- Beauchamp, C.; Fridovich, I. Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, v. 44, n. 1, p. 276–287, 1971. [http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697\(71\)90370-8](http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697(71)90370-8).
- Braccini, A. D. L. e; Reis, M. S.; Braccini; Scapim, C. A.; Sá, I. De. Germinação e sanidade de sementes de soja ( *Glycine max* ( L . ) Merrill ) colhidas em diferentes épocas. **Acta Scientiarum**, v. 22, n. 4, p. 1017–1022, 2000. <http://dx.doi.org/10.4025/actasciagron.v22i0.2868>.
- 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, n. 1–2, p. 248–254, 1976. [http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3).

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Padrões para produção e comercialização de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill)**. Instrução Normativa nº 45, de 17 de setembro de 2013. Diário Oficial da União, Brasília, DF, v. 1, p. 29, 2013.

Carocho, M.; Ferreira, I. C. F. R. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. **Food and Chemical Toxicology**, v. 51, n. 1, p. 15–25, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2012.09.021>.

Castro, E. de M.; Oliveira, J. A.; Lima, A. E. De; et al. 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. <http://dx.doi.org/10.1590/2317-1545v38n1154236>.

CONAB: Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira - grãos**. Monitoramento agrícola- Safra 2018/2019, v. 6, n. 4, p. 1–126, 2019.

Copeland, L. O.; McDonald, M. F. **Principles of Seed Science and Technology**. 1995.

Dell'Aquila, A. Wheat seed ageing and embryo protein degradation. **Seed Science Research**, v. 4, n. 03, p. 293–298, 1994. <http://dx.doi.org/10.1017/S0960258500002324>.

Demidchik, V. Mechanisms of oxidative stress in plants: From classical chemistry to cell biology. **Environmental and Experimental Botany**, v. 109, p. 212–228, 2015. Elsevier B.V. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envexpbot.2014.06.021>.

Diniz, F. O.; Reis, M. S.; Araújo, E. F.; et al. Incidence of pathogens and field emergence of soybean seeds subjected to harvest delay. **Journal of Seed Science**, v. 35, n. 4, p. 478–484, 2013. <http://dx.doi.org/10.1590/S2317-15372013000400009>.

Diniz, F. O.; Reis, M. S.; Dias, L. A. dos S.; et al. Physiological quality of soybean seeds of cultivars submitted to harvesting delay and its association with seedling emergence in the field. **Journal of Seed Science**, v. 35, n. 2, p. 147–152, 2013. <http://dx.doi.org/10.1590/S2317-15372013000200002>.

Egli, D. B.; Rucker, M. Seed Vigor and the Uniformity of Emergence of Corn Seedlings. **Crop Science**, v. 52, n. 6, p. 2774, 2012. <http://dx.doi.org/10.2135/cropsci2012.01.0064>.

Embrapa. **Tecnologias de Produção de Soja - Região Central do Brasil 2012 e 2013**. Sistemas de Produção, p. 242, 2011. <http://dx.doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>.

Fehr, W. R.; Caviness, C. E. Stages of Soybean Development. **Special report**, v. 80, n. March, p. 11, 1977.

- França-Neto, J.B.; Krzyzanowski, F.C.; Costa, N. P. **O teste de tetrazólio em sementes de soja**. EMBRAPA-CNPSO (Documentos, 116), p. 72p, 1998.
- França-Neto, J. de B. Teste de tetrazólio para determinação do vigor de sementes. In: ABRATES (Org.); **Vigor de sementes: conceitos e testes**. p.218, 1999. Londrina, PR.
- França-Neto, J. de B.; Henning, A. A. **Qualidades fisiológica e sanitária de sementes de soja**. Circular Técnica, n. 9, p. 5–24, 1984.
- França-Neto, J. de B.; Krzyzanowski, F. C.; Costa, N. P. Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de soja. In: ABRATES (Org.); **Vigor de sementes: conceitos e testes**. p.218, 1999. Londrina, PR.
- Ghassemi-Golezani, K.; Bakhshy, J.; Raey, Y.; Hossainzadeh-Mahootchy, A. Seed vigor and field performance of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.) cultivars. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 38, n. 3, p. 146–150, 2010.
- Giannopolitis, C. N.; Ries, S. K. Superoxide Dismutases: I. Occurrence in Higher Plants. **Plant Physiology**, v. 59, n. 2, p. 309–314, 1977. <http://dx.doi.org/10.1104/pp.59.2.309>.
- Gill, S. S.; Tuteja, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 12, p. 909–930, 2010. <http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>.
- Goel, A.; Sheoran, I. S. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzymes in cotton seeds under natural ageing. **Biologia Plantarum**, 2003. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1024398724076>.
- Goulart, A. C. P. **Fungos em sementes de soja: detecção e importância**. Dourados: EMBRAPA-CPAO (Documentos, 11), 1997.
- Gris, C. F.; Pinho, E. V. de R. Von; 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, n. 2, p. 374–381, 2010. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542010000200015>.
- Havir, E. a; McHale, N. a. Biochemical and Developmental Characterization of Multiple Forms of Catalase in Tobacco Leaves. **Plant Physiology**, v. 84, n. 2, p. 450–455, 1987. <http://dx.doi.org/10.1104/pp.84.2.450>.
- Henning, A. A. **Patologia de sementes**. Londrina: EMBRAPA-CNPSO (Documentos,90), 1994.
- Henning, A. A. **Patologia e tratamento de sementes: noções gerais**. Documentos, v. 235, p.

1–54, 2004.

Henning, A. A.; França-Neto, J. de B. Problemas na avaliação da germinação de sementes de soja com alta incidência de *Phomopsis* sp. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 2, n. 3, p. 9–22, 1980.

Hu, D.; Ma, G.; Wang, Q.; et al. Spatial and temporal nature of reactive oxygen species production and programmed cell death in elm (*Ulmus pumila* L.) seeds during controlled deterioration. **Plant, Cell & Environment**, v. 35, n. 11, p. 2045–2059, 2012.  
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3040.2012.02535.x>.

Huth, C.; Mertz-Henning, L. M.; Lopes, S. J.; et al. 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. <http://dx.doi.org/10.1590/2317-1545v38n4162115>.

IBGE. Centro Demográfico. **Resultados do universo relativo às características da população e dos domicílios**. 1991. Rio de Janeiro.

Jeevan Kumar, S. P.; Rajendra Prasad, S.; Banerjee, R.; Thammineni, C. Seed birth to death: dual functions of reactive oxygen species in seed physiology. **Annals of Botany**, v. 116, n. 4, p. 663–668, 2015. <http://dx.doi.org/10.1093/aob/mcv098>.

Jyoti; Malik, C. P. Seed Deterioration : a Review. **International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research**, v. 2, n. 3, p. 374–385, 2013.

Kar, M.; Mishra, D. Catalase, Peroxidase, and Polyphenoloxidase Activities during Rice Leaf Senescence. **Plant Physiology**, v. 57, n. 2, p. 315–319, 1976.  
<http://dx.doi.org/10.1104/pp.57.2.315>.

Kassambara, A.; Mundt, F. Factoextra: Extract and visualize the results of multivariate data analysis. **R package version 1.0.3**, 2015.

Kibinza, S.; Bazin, J.; Bailly, C.; et al. Catalase is a key enzyme in seed recovery from ageing during priming. **Plant Science**, v. 181, n. 3, p. 309–315, 2011.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.06.003>.

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.  
<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782005000600004>.

Koshiha, T. Cytosolic Ascorbate Peroxidase in Seedlings and Leaves of Maize (*Zea mays*). **Plant and Cell Physiology**, v. 34, n. 5, p. 713–721, 1993.

<http://dx.doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a078474>.

Lehner, A.; Mamadou, N.; Poels, P.; et al. 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. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2007.06.017>.

Lima, W. A. A. De; Borém, A.; Dias, D. C. F. S.; et al. Retardamento de colheita como método de diferenciação de genótipos de soja para qualidade de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 1, p. 186–192, 2007. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-31222007000100026>.

Longo, O. T. Del; Gonzalez, C. A.; Pastori, G. M.; Trippi, V. S. Antioxidant Defences under Hyperoxygenic and Hyperosmotic Conditions in Leaves of Two Lines of Maize with Differential Sensitivity to Drought. **Plant Cell Physiol**, v. 34, n. 7, p. 1023–1028, 1993. <http://dx.doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a078515>.

Maehly, A. C. The Assay of Catalases and Peroxidases. **Methods of Biochemical Analysis**. v. 1, p.357–424, 2006. <http://dx.doi.org/10.1002/9780470110171.ch14>.

Maguire, J. D. Speed of Germination—Aid In Selection And Evaluation for Seedling Emergence And Vigor1. **Crop Science**, v. 2, n. 2, p. 176, 1962. <http://dx.doi.org/10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x>.

Marcandalli, L. H.; Lazarini, E.; Malaspina, I. C. Épocas De aplicação de dessecantes na cultura da soja: qualidade fisiológica de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, n. 2, p. 241–250, 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-31222011000200006>.

Marcos-Filho, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: Krzyzanowski, F.C.; Vieira, R.D.; França Neto, J.B. (eds.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES - Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes, 1999.

Marcos-Filho, J. **Seed Physiology of Cultivated Plants**. Londrina, PR: Abrates, 2016.

Marcos Filho, J. Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. **Scientia Agricola**, v. 72, n. 4, p. 363–374, 2015. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-9016-2015-0007>.

Martins, C. C.; Unêda-Trevisoli, S. H.; Môro, G. V.; Vieira, R. D. Methodology for the selection of soybean strains for germination, vigour and field emergence. **Revista Ciência Agronômica**, v. 47, n. 3, p. 455–461, 2016. <http://dx.doi.org/10.5935/1806-6690.20160055>.

Mathias, V.; Pereira, T.; Mantovani, A.; et al. Implicações da época de colheita sobre a qualidade fisiológica de sementes de soja. **Revista Agro@mbiente On-Line**, v. 11, n. 3, p.

223–231, 2017. <http://dx.doi.org/10.18227/1982-8470ragro.v11i3.3894>.

Minuzzi, A.; Braccini, A. D. L. e; Rangel, M. A. S.; et al. Qualidade de sementes de quatro cultivares de soja, colhidas em dois locais no estado do Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 1, p. 176–185, 2010. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-31222010000100020>.

Mittler, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v. 7, n. 9, p. 405–410, 2002. [http://dx.doi.org/10.1016/S1360-1385\(02\)02312-9](http://dx.doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02312-9).

Nakano, Y.; Asada, K. Hydrogen Peroxide is Scavenged by Ascorbate-specific Peroxidase in Spinach Chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, v. 22, n. May, p. 867–880, 1981. <http://dx.doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232>.

Pádua, G. P.; Juhász, A. C. P.; França-Neto, J. de B.; Krzyzanowski, F. C.; Paes, J. M. V. Seleção para produtividade de genótipos de soja submetidos à deterioração no campo. Resumos expandidos da XXXVI Reunião de Pesquisa de Soja. **Anais...** p.261–263, 2017. Londrina, PR: Comissão de Tecnologia de Sementes.

Peixoto, P. H. P.; Cambraia, J.; Sant’Anna, R.; Mosquim, P. R.; Moreira, M. A. Aluminum effects on lipid peroxidation and on the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 11, n. 3, p. 137–143, 1999.

Peluzio, Joênes Mucci; Barros, Hélio Bandeira; Silva, Rubens Ribeiro da; Santos, Manoel Mota dos; Santos, Gil Rodriguês; Dias, W. C. Qualidade Fisiológica de sementes de soja em diferentes épocas de colheita no sul do estado de Tocantins. **Revista Ceres**, v. 50, n. 289, p. 347–355, 2003.

Rajjou, L.; Debeaujon, I. Seed longevity: Survival and maintenance of high germination ability of dry seeds. **Comptes Rendus Biologies**, v. 331, n. 10, p. 796–805, 2008. Elsevier Masson SAS. <http://dx.doi.org/10.1016/j.crv.2008.07.021>.

Ribeiro, A. C.; Guimarães, P. T. G.; Alvarez, V. H. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais - 5a aproximação**. Viçosa: CFSEMG, 1999.

Sediyama, T. **Produtividade da soja**. Mecnas ed. Londrina, 2016.

Shaban, M. Review on physiological aspects of seed deterioration. **International Journal Of Agriculture And Crop Sciences IJACS**, v. 11, n. 6, p. 627–631, 2013.

Shah, K.; Kumar, R. G.; Verma, S.; Dubey, R. . Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings.

**Plant Science**, v. 161, n. 6, p. 1135–1144, 2001. [http://dx.doi.org/10.1016/S0168-9452\(01\)00517-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00517-9).

Sharma, P.; Dubey, R. S. Involvement of oxidative stress and role of antioxidative defense system in growing rice seedlings exposed to toxic concentrations of aluminum. **Plant Cell Reports**, v. 26, n. 11, p. 2027–2038, 2007. <http://dx.doi.org/10.1007/s00299-007-0416-6>.

Sharma, P.; Jha, A. B.; Dubey, R. S.; Pessarakli, M. Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. **Journal of Botany**, v. 2012, p. 1–26, 2012. <http://dx.doi.org/10.1155/2012/217037>.

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. <http://dx.doi.org/10.1007/s13197-011-0341-0>.

Silva, T. A. Da; Silva, P. B. Da; Silva, E. A. A. Da; Nakagawa, J.; Cavariani, C. Condicionamento fisiológico de sementes de soja, componentes de produção e produtividade. **Ciência Rural**, v. 46, n. 2, p. 227–232, 2016. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20141736>.

Sung, J. M. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging in soybean seeds during aging. **Physiologia Plantarum**, v. 97, n. 1, p. 85–89, 1996. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3054.1996.tb00482.x>.

Sung, J. M.; Jeng, T. L. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzymes associated with accelerated aging of peanut seed. **Physiologia Plantarum**, v. 91, n. 1, p. 51–55, 1994. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3054.1994.tb00658.x>.

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. <http://dx.doi.org/10.1590/S0006-87052009000300025>.

Usha, T. N.; Dadlani, M. Study of free radical and peroxide scavenging enzymes and content in different vigour lots of soybean (*Glycine max*). **Legume Research**, v. 39, n. 2, p. 233–236, 2016. <http://dx.doi.org/10.18805/lr.v0iOF.8409>.

Vieira, B.; Barbosa, R. M.; Helena, S.; et al. Biochemical alterations in soybean seeds with harvesting time and storage temperature. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v. 11, n. 3&4, p. 887–891, 2013.

Walters, C.; Ballesteros, D.; Vertucci, V. A. Structural mechanics of seed deterioration: Standing the test of time. **Plant Science**, v. 179, n. 6, p. 565–573, 2010. Elsevier Ireland Ltd.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.06.016>.

Wendt, L.; De Matos Malavasi, M.; Dranski, J. A. L.; Malavasi, U. C.; Gomes, F. G. Relação entre testes de vigor com a emergência a campo em sementes de soja. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 12, n. 2, p. 166–171, 2017. <http://dx.doi.org/10.5039/agraria.v12i2a5435>.

Xavier, T. da S. X.; Daronch, D.; Peluzio, J. M.; et al. Harvest time in the seed quality of soybean genotypes. **Comunicata Scientiae**, v. 6, n. 2, p. 241–245, 2015.

Zanatta, T. P.; Kulczynski, S. M.; Libera, D. Della; et al. Produtividade e qualidade fisiológica de sementes de soja colhidas em diferentes períodos de maturação. **Cultivando o Saber**, v. 11, p. 92–109, 2018.

Zuffo, A. M.; Zuffo Júnior, J. M.; Carvalho, E. R.; Steiner, F.; Zambiazzi, E. V. Physiological and enzymatic changes in soybean seeds submitted to harvest delay1. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 47, n. 4, p. 488–496, 2017. <http://dx.doi.org/10.1590/1983-40632017v4749811>.