

WANDER DOUGLAS PEREIRA

**ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM LOTES DE SOJA COM
SEMENTES ESVERDEADAS SOB DIFERENTES CONDIÇÕES DE
ARMAZENAMENTO**

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

Orientador: Laércio Junio da Silva

Coorientadora: Denise Cunha F. dos Santos Dias

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2022**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

P436a
2022

Pereira, Wander Douglas, 1988-

Alterações fisiológicas e bioquímicas em lotes de soja com
sementes esverdeadas sob diferentes condições de
armazenamento / Wander Douglas Pereira. – Viçosa, MG, 2022.
1 tese eletrônica (99 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Laércio Junio da Silva.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Agronomia, 2022.

Referências bibliográficas: f. 37-47.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2022.614>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Soja - Semente - Armazenamento. 2. Clorofila. 3. Soja -
Semente - Deterioração. 4. *Glycine max*. I. Silva, Laércio Junio
da, 1984-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Agronomia. Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia.
III. Título.

CDD 22.ed. 633.3468

Bibliotecário(a) responsável: Alice Regina Pinto Pires CRB-6/2523

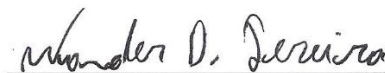
WANDER DOUGLAS PEREIRA

**ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM LOTES DE SOJA COM
SEMENTES ESVERDEADAS SOB DIFERENTES CONDIÇÕES DE
ARMAZENAMENTO**

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

APROVADA: 26 de julho de 2022.

Assentimento:


Wander Douglas Pereira
Autor


Naércio Júnio da Silva
Orientador

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida, ensinamentos, saúde e bênçãos em minha vida.

Aos meus pais José Luiz e Maria das Graças, meus irmãos Wagner e Kélen e demais familiares pelos incentivos, dedicação, orações e por serem fonte de inspiração para mais uma etapa vencida em minha vida.

À minha esposa Taís pelas orações, companheirismos, incentivo, por todo amor e dedicação.

Ao professor Laércio Junio da Silva pela orientação, ensinamentos, disponibilidade, paciência e amizade.

À professora Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias pelos ensinamentos na convivência diária, contribuições para o trabalho e disponibilidade.

Ao pesquisador Dr. Daniel Teixeira Pinheiro e às professoras Dra. Martha Freire da Silva (UEM) e Dra. Raquel Maria de Oliveira Pires (UFLA) pelas valiosas contribuições.

Aos amigos José Maria e Manuel León pela ajuda na condução dos trabalhos.

Ao técnico Jose Custódio pela amizade e pronta disponibilidade para sempre ajudar.

Aos demais amigos do Laboratório de Sementes pela amizade e momentos de aprendizado.

A Universidade Federal de Viçosa, ao Departamento de Agronomia e ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia pela oportunidade de minha formação acadêmica.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Obrigado!

RESUMO

PEREIRA, Wander Douglas, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2022. **Alterações fisiológicas e bioquímicas em lotes de soja com sementes esverdeadas sob diferentes condições de armazenamento.** Orientador: Laércio Junio da Silva. Coorientadora: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias.

Um dos principais entraves à produção de sementes de soja de alta qualidade é a presença de sementes esverdeadas nos lotes, uma vez que apresentam baixa qualidade fisiológica e baixo potencial de armazenamento. Assim, é fundamental o estabelecimento de condições mais adequadas de armazenamento visando a manutenção da qualidade fisiológica de lotes contendo sementes esverdeadas. O objetivo do trabalho foi investigar os efeitos de diferentes embalagens e ambientes de armazenamento na manutenção da qualidade de lotes de sementes de soja com diferentes proporções de sementes esverdeadas. Foram utilizadas sementes de três cultivares de soja, cada uma com três lotes com diferentes proporções de sementes esverdeadas. Cultivar “A”, com 8, 21 e 40% de sementes esverdeadas; cultivar “B” com 8, 11 e 21% de sementes esverdeadas; e cultivar “C”, com 2, 8 e 12% de sementes esverdeadas. Os lotes foram inicialmente caracterizados, por meio da determinação do grau de umidade e do desempenho em testes fisiológicos e bioquímicos. Em seguida, cada lote foi submetido a seis condições de armazenamento: embalagem plástica nas temperaturas de 12 °C, 20 °C e não controlada (ambiente); e embalagem porosa, nas temperaturas de 12 °C, 20 °C e não controlada. Após 195 dias de armazenamento, as sementes foram submetidas aos mesmos testes utilizados para a caracterização da qualidade inicial, além do teste de tetrazólio. O grau de umidade das sementes, inicialmente e ao longo do armazenamento, ficou próximo de 10%. Em geral, o potencial de germinação das sementes foi mantido durante o armazenamento, porém houve redução do vigor. Para a maioria dos lotes, o armazenamento em embalagem de papel kraft a 20 °C contribuiu para manutenção de maiores níveis de vigor das sementes, conforme resultados obtidos pelo teste de envelhecimento acelerado, e maior degradação da clorofila. As atividades das enzimas CAT, POX e APX reduziram, para a maioria dos lotes, com o armazenamento. Conclui-se que ambiente com umidade relativa de 56% e temperatura de 20 °C favoreceu o desempenho fisiológico e bioquímico de sementes de soja armazenadas com teor de água de 10% em embalagem de papel kraft, independente da proporção de sementes esverdeadas. As enzimas CAT, POX e APX foram mais sensíveis para indicar redução da qualidade fisiológica das sementes após o armazenamento. Assim como a proporção de sementes esverdeadas e o desempenho inicial do lote, o teor de clorofila nas sementes é

determinante para seu desempenho após o armazenamento, sendo que maiores teores de clorofila levam à redução mais drástica da qualidade das sementes.

Palavras-chave: Armazenamento de sementes. Teor de clorofila. Deterioração de sementes.

Glycine max (L.) Merril

ABSTRACT

PEREIRA, Wander Douglas, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2022. **Physiological and biochemical changes in soybean lots with green seeds under different storage conditions.** Adviser: Laércio Junio da Silva. Co-adviser: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias.

One of the main problems to the production of high quality soybean seeds is the presence of greenish seeds in the lots, since they have low physiological quality and low storage potential. Thus, it is fundamental the establishment of more adequate storage conditions aiming at the maintenance of the physiological quality of lots containing greenish seeds. The objective of this work was to investigate the effects of different packaging and storage conditions in maintaining the quality of soybean seed lots with different proportions of greenish seeds. Seeds of three soybean cultivars were used, each with three lots with different proportions of greenish seeds. Cultivar “A”, with 8, 21 and 40% of greenish seeds; cultivar “B” with 8, 11 and 21% of greenish seeds; and cultivar “C” with 2, 8 and 12% greenish seeds. The lots were initially characterized, through the determination of the water content and the performance in physiological and biochemical tests. Then, each lot was submitted to six storage conditions: plastic packaging at temperatures of 12 °C, 20 °C and uncontrolled (environment); and porous packaging, at temperatures of 12 °C, 20 °C and uncontrolled. After 195 days of storage, the seeds were submitted to the same tests used for the initial characterization, in addition to the tetrazolium test. The water content of the seeds, initially and during storage, was close to 10%. In general, the germination potential of the seeds was maintained during storage, but there was reduction in seed vigor. For most lots, storage in kraft paper packaging at 20 °C contributed to the maintenance of higher levels of seed vigor, according to the results obtained by the accelerated aging test, and greater chlorophyll degradation. Activities of CAT, POX and APX enzymes were reduced for most seed lots. In conclusion, the environment with relative humidity of 56% and temperature of 20 °C favored the physiological and biochemical performance of soybean seeds stored with water content of 10% in kraft paper packaging, regardless of the proportion of greenish seeds. The CAT, POX and APX enzymes were more sensitive to indicate reduction in the physiological quality of the seeds after storage. Thus, like the proportion of greenish seeds and the initial performance of the lot, the chlorophyll content in the seeds is crucial for their performance after storage, with higher chlorophyll contents leading to a more drastic reduction in seed quality.

Keywords: Seed storage. Chlorophyll content. Seed deterioration. *Glycine max* (L.) Merril

LISTA DE FIGURAS

Sementes esverdeadas de soja: estudo de diferentes embalagens e ambientes durante o armazenamento na conservação da qualidade inicial

Figura 1. Teor de água de lotes de sementes de soja de diferentes cultivares e com diferentes proporções de sementes esverdeadas durante o armazenamento em embalagem plástica a 12 °C (PL-12), embalagem plástica a 20 °C (PL-20), embalagem plástica sob temperatura ambiente (PL-amb), embalagem de papel kraft a 12 °C (PK-12), embalagem de papel kraft a 20 °C (PK-20) e embalagem de papel kraft sob temperatura ambiente (PK-amb).42

Figura 2. Germinação de lotes de sementes de soja de diferentes cultivares e com diferentes proporções de sementes esverdeadas antes e após o armazenamento em embalagem plástica a 12 °C (PL-12), embalagem plástica a 20 °C (PL-20), embalagem plástica sob temperatura ambiente (PL-amb), embalagem de papel kraft a 12 °C (PK-12), embalagem de papel kraft a 20 °C (PK-20) e embalagem de papel kraft sob temperatura ambiente (PK-amb).....43

Figura 3. Germinação após o envelhecimento acelerado de lotes de sementes de soja de diferentes cultivares e com diferentes proporções de sementes esverdeadas antes e após o armazenamento em embalagem plástica a 12 °C (PL-12), embalagem plástica a 20 °C (PL-20), embalagem plástica sob temperatura ambiente (PL-amb), embalagem de papel kraft a 12 °C (PK-12), embalagem de papel kraft a 20 °C (PK-20) e embalagem de papel kraft sob temperatura ambiente (PK-amb).45

Figura 4. Condutividade elétrica de lotes de sementes de soja de diferentes cultivares e com diferentes proporções de sementes esverdeadas antes e após o armazenamento em embalagem plástica a 12 °C (PL-12), embalagem plástica a 20 °C (PL-20), embalagem plástica sob temperatura ambiente (PL-amb), embalagem de papel kraft a 12 °C (PK-12), embalagem de papel kraft a 20 °C (PK-20) e embalagem de papel kraft sob temperatura ambiente (PK-amb).....48

Figura 5. Comprimento de plântulas de lotes de sementes de soja de diferentes cultivares e com diferentes proporções de sementes esverdeadas antes e após o armazenamento em embalagem plástica a 12 °C (PL-12), embalagem plástica a 20 °C (PL-20), embalagem plástica sob

temperatura ambiente (PL-amb), embalagem de papel kraft a 12 °C (PK-12), embalagem de papel kraft a 20 °C (PK-20) e embalagem de papel kraft sob temperatura ambiente (PK-amb).

.....50

Figura 6. Índice de uniformidade de plântulas de lotes de sementes de soja de diferentes cultivares e com diferentes proporções de sementes esverdeadas antes e após o armazenamento em embalagem plástica a 12 °C (PL-12), embalagem plástica a 20 °C (PL-20), embalagem plástica sob temperatura ambiente (PL-amb), embalagem de papel kraft a 12 °C (PK-12), embalagem de papel kraft a 20 °C (PK-20) e embalagem de papel kraft sob temperatura ambiente (PK-amb).....51

Figura 7. Emergência em areia de lotes de sementes de soja de diferentes cultivares e com diferentes proporções de sementes esverdeadas antes e após o armazenamento em embalagem plástica a 12 °C (PL-12), embalagem plástica a 20 °C (PL-20), embalagem plástica sob temperatura ambiente (PL-amb), embalagem de papel kraft a 12 °C (PK-12), embalagem de papel kraft a 20 °C (PK-20) e embalagem de papel kraft sob temperatura ambiente (PK-amb).

.....53

Figura 8. Viabilidade e vigor do teste de tetrazólio de lotes de sementes de soja de diferentes cultivares e com diferentes proporções de sementes esverdeadas após o armazenamento em embalagem plástica a 12 °C (PL-12), embalagem plástica a 20 °C (PL-20), embalagem plástica sob temperatura ambiente (PL-amb), embalagem de papel kraft a 12 °C (PK-12), embalagem de papel kraft a 20 °C (PK-20) e embalagem de papel kraft sob temperatura ambiente (PK-amb).55

Figura 9. Teor de clorofila inicial e após 195 dias de lotes de sementes de soja armazenados nas condições de embalagem plástica e de papel kraft na temperatura de 20 °C.56

Figura 10. Análise de componentes principais (PCA) das variáveis germinação (germ), envelhecimento acelerado (env), condutividade elétrica (cond), crescimento de plântulas (cresc), índice de uniformidade de plântulas (uniform), emergência (emerg), viabilidade no tetrazólio (ttz_viabil) e vigor no tetrazólio (ttz_vigor) dos lotes dos cultivares “A” (A), “B” (B) e “C” (C) armazenados nas condições de embalagem plástica 12 °C (PL-12), plástica 20 °C (PL-

20), plástica ambiente (PL-amb), papel kraft 12 °C (PK-12), papel kraft 20 °C (PK-20) e papel kraft ambiente (PK-amb). PCA das variáveis germ, env, cond, cresc, uniform, emerg, ttz_viabil, ttz_vigor e clorofila dos lotes de todos os cultivares armazenados nas condições de embalagem plástica e de papel kraft 20 °C (D)..... 60

Alterações bioquímicas em lotes de soja com diferentes níveis de sementes esverdeadas submetidos ao armazenamento

Figura 1. Teor de água de lotes de sementes de soja de diferentes cultivares e com diferentes proporções de sementes esverdeadas durante o armazenamento a 20 °C, em embalagem plástica e embalagem de papel kraft.....75

Figura 2. Germinação de lotes de sementes de soja de diferentes cultivares e com diferentes proporções de sementes esverdeadas antes e após o armazenamento a 20 °C em embalagem plástica e embalagem de papel kraft.....76

Figura 3. Germinação após o envelhecimento acelerado de lotes de sementes de soja de diferentes cultivares e com diferentes proporções de sementes esverdeadas antes e após o armazenamento a 20 °C em embalagem plástica e embalagem de papel kraft.....78

Figura 4. Teor de clorofila de lotes de sementes de soja de diferentes cultivares e com diferentes proporções de sementes esverdeadas antes e após o armazenamento em embalagem plástica e embalagem de papel kraft.....80

Figura 5. Teor de malonaldeído (MDA) de lotes de sementes de soja de diferentes cultivares e com diferentes proporções de sementes esverdeadas antes e após o armazenamento em embalagem plástica e embalagem de papel kraft.82

Figura 6. Teor de proteínas solúveis de lotes de sementes de soja de diferentes cultivares e com diferentes proporções de sementes esverdeadas antes e após o armazenamento em embalagem plástica e embalagem de papel kraft..... 83

Figura 7. Atividade da superóxido dismutase (SOD) de lotes de sementes de soja de diferentes cultivares e com diferentes proporções de sementes esverdeadas antes e após o armazenamento em embalagem plástica e embalagem de papel kraft.....85

Figura 8. Atividade da catalase de lotes de sementes de soja de diferentes cultivares e com diferentes proporções de sementes esverdeadas antes e após o armazenamento em embalagem plástica e embalagem de papel kraft.....87

Figura 9. Atividade da peroxidase (POX) de lotes de sementes de soja de diferentes cultivares e com diferentes proporções de sementes esverdeadas antes e após o armazenamento em embalagem plástica e embalagem de papel kraft.....89

Figura 10. Atividade da peroxidase do ascorbato (APX) de lotes de sementes de soja de diferentes cultivares e com diferentes proporções de sementes esverdeadas antes e após o armazenamento em embalagem plástica e embalagem de papel kraft.91

Figura 11. Análise de componentes principais (PCA) das variáveis germinação (germ), envelhecimento acelerado (env), teor de malonaldeído (MDA), teor de proteínas solúveis (Prot) e atividade enzimática das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peróxidase (POX) dos lotes dos cultivares “A”, “B” e “C” armazenados em embalagem plástica e de papel kraft.....93

LISTA DE TABELAS

Sementes esverdeadas de soja: estudo de diferentes embalagens e ambientes durante o armazenamento na conservação da qualidade inicial

Tabela 1. Cultivares e lotes de sementes de soja com diferentes níveis de sementes esverdeadas.....37

Tabela 2. Temperatura média e umidade relativa média nos ambientes de armazenamento.....40

Alterações bioquímicas em lotes de soja com diferentes níveis de sementes esverdeadas submetidos ao armazenamento

Tabela 1. Cultivares e lotes de sementes de soja com diferentes níveis de sementes esverdeadas.....70

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	15
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
Longevidade e deterioração em sementes de soja esverdeadas	16
Soja esverdeada – fatores que afetam a degradação da clorofila.....	19
Os problemas causados pelas sementes esverdeadas de soja.....	20
Avaliação da qualidade de sementes de soja	22
Sementes esverdeadas e estresse oxidativo	23
Armazenamento	25
Referências	27
Sementes esverdeadas de soja: estudo de diferentes embalagens e ambientes durante o armazenamento na conservação da qualidade inicial	34
Introdução	35
Material e Métodos	36
<i>Umidade</i>	37
<i>Germinação</i>	38
<i>Envelhecimento acelerado</i>	38
<i>Condutividade elétrica</i>	38
<i>Comprimento de plântulas</i>	38
<i>Emergência de plântulas</i>	39
<i>Teste de tetrazólio</i>	39
<i>Quantificação de clorofila</i>	39
<i>Delineamento experimental e análise estatística</i>	40
Resultados e Discussão	40
Conclusões	61
Referências.....	61

Alterações bioquímicas em lotes de soja com diferentes níveis de sementes esverdeadas submetidos ao armazenamento	66
Introdução	67
Material e Métodos	69
<i>Umidade</i>	70
<i>Germinação</i>	71
Envelhecimento acelerado.....	71
Clorofila	71
Malonaldeído (MDA).....	72
Enzimas do sistema antioxidante	72
Proteínas solúveis totais	74
Delineamento experimental e análise estatística	74
Resultados e Discussão	75
Conclusões	94
Referências.....	94

INTRODUÇÃO

Na natureza a cor verde está relacionada a presença da clorofila, pigmento envolvido no processo fotossintético, evento fundamental para a vida na Terra (Streit et al., 2005; Taiz et al., 2017). Entretanto, a presença de clorofila nos grãos ou sementes esverdeadas representa um sério problema para o agronegócio da soja [*Glycine max* (L.) Merrill].

Em sementes, a fotossíntese ocorre, principalmente, para a produção de energia na forma de ATP e NADPH que serão utilizados para produzir ácido graxo a partir de sacarose (Smolikova & Medvedev, 2016, Smolikova et al., 2017). Apesar dessa importância, é fundamental que no final do processo de maturação das sementes ocorra a degradação da clorofila.

A soja é a principal cultura do agronegócio brasileiro, com, aproximadamente, 124 milhões de toneladas produzidas na safra 2021/2022, apresentando produtividade média de 3.029 kg ha⁻¹ (CONAB, 2022). Isso representa cerca de 50% da produção nacional de grãos. Entretanto, eventos climáticos recentes têm prejudicado o desempenho das lavouras. No ano agrícola 2019/2020, adversidades climáticas representadas por altas temperaturas associadas ao déficit hídrico foram determinantes para afetar a safra, especialmente na região Sul do País (CONAB, 2020). Essas adversidades foram as principais responsáveis pela elevada incidência de sementes esverdeadas nos lotes produzidos naquela safra, alcançando índice superior a 50% em alguns deles (Embrapa, 2020a; Embrapa, 2020b).

Diversos estresses ambientais, sejam eles bióticos ou abióticos, e práticas inadequadas na lavoura podem afetar a completa degradação desse pigmento. Isso pode ocasionar a formação de grãos ou sementes esverdeadas, o que é especialmente importante para oleaginosas, pois afeta a produção do óleo extraído, além de comprometer a qualidade de lotes de sementes (Pádua et al., 2009; França-Neto et al., 2012; Forti et al., 2015).

Contudo, mesmo que não haja adversidades climáticas em determinado ano agrícola e o produtor de sementes tome todos os cuidados necessários para evitar intenso ataque de pragas e doenças, a formação de sementes esverdeadas ainda pode ocorrer. Isso porque é muito comum o uso de cultivares de soja com hábito de crescimento indeterminado. Nessas plantas, pode ocorrer desuniformidade na maturação das sementes, sendo necessário o uso de dessecantes. A secagem rápida das plantas e das sementes após a aplicação do dessecante, interfere na degradação da clorofila nas sementes (França-Neto et al., 2012).

Para manter ou mesmo expandir a produção e produtividade de lavouras de soja é necessária a ação otimizada de um conjunto de fatores que devem ser seguidos de forma coordenada, incluindo procedimentos no pré-plantio, na semeadura, durante o desenvolvimento da cultura, na colheita e pós-colheita. Dentro desse contexto, é fundamental o uso de sementes de alta qualidade visando ao estabelecimento de lavouras de alto desempenho agrônômico (França-Neto et al., 2016).

A qualidade de um lote de sementes é determinada pelos atributos sanitário, genético, físico e fisiológico. O atributo de qualidade sanitária diz respeito às sementes estarem livres de microrganismos e patógenos. A pureza genética é a garantia de que determinado lote só possui sementes do cultivar escolhido pelo agricultor. Já a pureza física indica o quão cada lote está livre de outros materiais que não as sementes da espécie em questão. Enquanto a qualidade fisiológica é representada pelo potencial de germinação e vigor, o que vai se refletir no potencial de armazenamento ou longevidade (Marcos-Filho, 2015).

Devido ao intervalo de tempo entre a produção de sementes de soja e a semeadura pelo agricultor, faz-se necessário o armazenamento. Porém, o baixo potencial de armazenamento é o ponto crítico quando se trabalha com sementes de soja que não degradaram completamente a clorofila, visto que a qualidade fisiológica é inferior. É comum que sementes esverdeadas apresentem resultados satisfatórios nos testes de germinação, logo após a colheita, dependendo da porcentagem e nível de esverdeamento (Costa et al., 2001; Pádua et al., 2007; Zorato et al., 2007; Cícero, Schoor e Jalink, 2009; França-Neto et al., 2012). Entretanto, com poucos meses de armazenamento não controlado, a qualidade tende a reduzir drasticamente, inviabilizando a comercialização do lote.

Objetivou-se com o trabalho investigar os efeitos de diferentes embalagens e ambientes de armazenamento na manutenção da qualidade de lotes de sementes de soja com diferentes proporções de sementes esverdeadas.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Longevidade e deterioração em sementes de soja esverdeadas

Com o término da embriogênese inicia-se o processo de maturação das sementes. Durante esse processo uma sequência de eventos, geneticamente controlados, vão ocorrer até que a semente atinja a maturidade fisiológica. Esses eventos envolvem modificações morfológicas, físicas, fisiológicas e bioquímicas (Marcos-Filho, 2015).

No caso da soja, o início da fase de enchimento das sementes ocorre no estágio reprodutivo denominado R5, enquanto em R6 as sementes já estão quase completamente desenvolvidas e em R7 ocorre a maturidade fisiológica, com as sementes adquirindo a coloração característica do cultivar (Sediyama, 2009; Sediyama, Silva e Borém, 2015). No final do processo de maturação, ocorre a dessecação, que é um evento essencial para a tolerância ao armazenamento (Marcos-Filho, 2015; Leprince et al., 2017).

A longevidade é definida como todo o período de tempo no qual as sementes se mantêm viáveis (Sano et al., 2016). Mas do ponto de vista da produção e tecnologia de sementes, além de se manter viva, as sementes devem estar vigorosas o suficiente para que, após o período de armazenamento, possam se estabelecer no campo de maneira uniforme, mesmo sob condições adversas (Finch-Savage e Bassel, 2016).

Logo após a maturidade fisiológica, as sementes ficam suscetíveis ao processo de deterioração, sofrendo uma série de processos degenerativos, incluindo aquelas sementes mais vigorosas (Bewley et al., 2013; Marcos-Filho, 2015; Zhang et al., 2021). Durante o armazenamento a seco, diversos mecanismos que conferem tolerância à dessecação em sementes entram em ação, reduzindo a intensidade da deterioração e resultando em maior longevidade. Dentre estes mecanismos estão incluídos o acúmulo de compostos antioxidantes, acúmulo de açúcares não redutores, a condensação de cromatina e acúmulo de proteínas LEA e de choque térmico (Rajjou et al., 2008; Leprince et al., 2017). Até mesmo a degradação da clorofila com a perda da cor verde contribui para maior longevidade, ou seja, menor intensidade de deterioração das sementes (Vom Dorp et al., 2015; Sano et al., 2016).

Somado ao processo natural de deterioração, estudos demonstram que há correlação entre a ocorrência de danos por umidade e a porcentagem de sementes esverdeadas em lotes de sementes de soja (Zorato et al., 2007). A presença de sementes esverdeadas indica que houve maturação forçada e com isso rápida redução do teor de água, aumentando os danos por umidade, o que acelera ainda mais o processo de deterioração (Moreano et al., 2011; França-Neto e Krzyzanowski, 2018). Com o avanço do período de armazenamento, esse processo se intensifica (Forti, Cícero e Pinto, 2010; Moreano et al., 2011), iniciando pela perda do vigor e posteriormente da germinação, que resulta em lotes de baixa qualidade. A incompleta degradação da clorofila é um problema que tem afetado culturas oleaginosas, como soja e canola (França-Neto et al., 2016; Perkins et al., 2020), visto que há comprometimento do potencial fisiológico das sementes, com redução da germinação, vigor e longevidade (vom Drop et al., 2015; Brow, 2017).

Portanto, a maior longevidade das sementes depende da degradação da clorofila (Delmas et al., 2013; Sano et al., 2016; Leprince et al., 2017), sendo que este processo está relacionado com a produção do antioxidante tocoferol (vom Dorp et al., 2015; Sano et al., 2016). Este composto é importante para prevenir a peroxidação de lipídios (Sattler et al., 2004). O fitol, um produto da degradação da clorofila, entra na rota de biossíntese do tocoferol (vom Dorp et al., 2015). Na medida em que o processo de maturação das sementes de soja avança, a coloração verde dá lugar à cor característica do cultivar ao mesmo tempo em que os conteúdos de tocoferol aumentam (Kumar et al., 2009).

Para melhor conservação de sementes de soja durante o armazenamento, é importante que elas estejam com grau de umidade inferior a 12% (b.u.), sendo que abaixo de 9% o citoplasma das células entra em estado vítreo (Marcos-Filho, 2015). Nessa situação, os sistemas de reparo e de proteção antioxidante enzimático não estão ativos, o que torna a ação de compostos antioxidantes, como o tocoferol, pertencente a classe de antioxidantes lipossolúveis associados às membranas, fundamental (Marcos-Filho, 2015; vom Dorp et al., 2015). Esse antioxidante é muito importante na preservação do potencial fisiológico de sementes, incluindo a longevidade, pois inibe a degradação de lipídios por oxidação não enzimática (Sattler et al. 2004; vom Dorp et al., 2015; Chen et al. 2016). Na medida em que sementes de soja envelhecem naturalmente durante o armazenamento e após o envelhecimento acelerado, é observado aumento linear no conteúdo de α -tocopherol (Giurizatto et al., 2012).

Além disso, lotes de sementes de soja contendo sementes esverdeadas apresentaram maior condutividade elétrica (Zorato et al., 2007), o que indica menor integridade do sistema de membranas celulares. Da mesma forma, Onyilagha et al. (2011) relataram que lotes de sementes de canola (*Brassica napus* L.) com maiores teores de clorofila apresentaram maior condutividade elétrica.

Sementes menos vigorosas tendem a apresentar menor velocidade de reorganização das membranas após embebição das sementes (Vieira e Marcos-Filho, 2020; Marcos-Filho, 2015). Dessa forma, uma possível explicação, porém não a única, já que a morte prematura das plantas e a maturação forçada também podem levar a menor integridade das membranas celulares, para pior resultado no teste de condutividade elétrica em sementes com retenção de clorofila, reside no fato de que, sem a completa degradação da clorofila, a produção do tocoferol é prejudicada, o que favorece a degradação de lipídios, que são constituintes das membranas (Sattler et al., 2004). O resultado disso é a perda gradual da integridade do sistema de membranas, e com isso ocorre redução mais rápida do vigor ao longo do armazenamento.

É importante destacar que a longevidade das sementes durante o armazenamento é resultado de uma série de fatores, incluindo o genótipo, a semeadura no momento adequado, procedimentos adequados na condução da cultura, colheita e procedimentos de pós-colheita. As condições de temperatura e umidade relativa no ambiente também são determinantes. Porém, a influência do ambiente durante a maturação é um fator chave (Leprince et al., 2017), pois ele não está sob controle do produtor, sendo que a influência do ambiente vai depender da intensidade das adversidades climáticas e do período de ocorrência (Pádua et al., 2009a).

Soja esverdeada – fatores que afetam a degradação da clorofila

O processo de degradação da clorofila é complexo e ainda pouco estudado. Sabe-se que no mecanismo enzimático de degradação há o envolvimento das enzimas clorofilase e magnésio-chelataase, que vão gerar clorofilídeos e feofitinas, respectivamente, e posteriormente feoforbídeos (França-Neto et al., 2012; Smolikova e Medvedev, 2016). Há também mecanismos não enzimáticos que resultarão em feofitinas e outros derivados fitilados (Sinnecker et al., 2005; França-Neto et al., 2012).

Em sementes, a degradação da clorofila tende a ser somente enzimática durante o processo de maturação (Sinnecker et al., 2005). Mas durante a secagem pós-colheita também pode ocorrer degradação da clorofila em sementes produzidas sem estresse e, nesse caso, o processo vai depender da temperatura ambiente (Sinnecker et al., 2005).

Em secagem lenta com temperatura próxima a 25 °C, o mecanismo de degradação é predominantemente enzimático, enquanto em temperatura igual ou superior a 40 °C, além do processo enzimático, ocorre também o químico, sendo esse o mecanismo exclusivo quando em temperatura de 75 °C (Sinnecker et al., 2005; Borrmann, Andrade e Lanfer-Marquez, 2009). Porém, é importante destacar que em temperatura de secagem mais elevada, a qualidade da semente é seriamente comprometida (Carvalho e Nakagawa, 2000).

Além disso, a secagem lenta a 25 °C permitiu a degradação quase completa da clorofila em sementes de soja colhidas a partir do estágio R6, enquanto a 40 ou 75 °C o processo foi bloqueado, possivelmente devido à inativação de enzimas chaves do processo (Sinnecker et al., 2005). Esses resultados evidenciam que cultivos de soja submetidos a altas temperaturas durante o estágio R6 podem ter o processo de degradação da clorofila comprometido, conforme também relatado por Pádua et al. (2009a).

Sabe-se que a degradação da clorofila é influenciada por fatores genéticos e ambientais, especialmente altas temperaturas associada a déficit hídrico durante a maturação das sementes

(Borrmann, Andrade e Lanfer-Marquez, 2009; Pádua et al., 2009b; Ferreira et al., 2017). Foi observado que sementes de mesmo cultivar, produzidas em regiões distintas, resultaram em percentuais distintos de sementes esverdeadas nos lotes (Rangel et al., 2011). Além disso, observa-se comportamento distinto entre os cultivares. Possivelmente, as adversidades climáticas levam a morte prematura da planta e com isso a maturação forçada da semente. Com a morte da planta, a atividade enzimática cessa antes que toda a clorofila seja degradada (França-Neto et al., 2012).

Além de fatores genéticos, ambientais e o processo artificial de secagem, a densidade de semeadura associada à disponibilidade hídrica também pode influenciar na degradação da clorofila (Ferreira et al., 2017). De acordo com esses autores, o cultivo de soja em condições de restrição hídrica associado às maiores densidades de semeadura, proporcionou maior quantidade de sementes de peneira maior. Os autores relatam também que houve redução linear no percentual total de sementes esverdeadas com o aumento na taxa de semeadura. Porém, para um mesmo tratamento, nas peneiras maiores houve maior porcentagem de sementes esverdeadas. Os autores explicam que possivelmente maior densidade de semeadura, associada à restrição hídrica, resultou numa exploração mais eficiente da água no perfil do solo. Além disso, na condição de estresse hídrico há maior contribuição das sementes próximas a haste principal na produção final. Essas sementes têm maior disponibilidade de fotoassimilados, crescem mais e acumulam mais clorofila. Na condição de estresse hídrico, essa maior quantidade de clorofila demanda mais tempo para ser degradada.

Além dos fatores mencionados, hormônios podem influenciar na degradação da clorofila (França-Neto; Smolikova e Medvedev, 2016; Zhu et al., 2017). O processo de *degreening* em sementes é regulado pelo ácido abscísico (ABA) por meio do agente de transcrição ABI3, controlador da expressão do gene SGR (*stay-green*), que por sua vez controla a degradação da clorofila em sementes maduras (Nakajima et al., 2012; Delmas et al., 2013). Portanto, alguma alteração genética que comprometa o ABI3 pode igualmente comprometer o processo de degradação da clorofila (Delmas et al., 2013). Há relatos de que o etileno e o ácido jasmônico também podem influenciar na degradação da clorofila (Ward et al., 1995; França-Neto et al., 2012; Zhu et al., 2017), mas faltam trabalhos para investigar a atuação desses hormônios. Por fim, Zhu et al. (2017) também citam a luz como um mecanismo que sinaliza para regulação da degradação da clorofila.

Os problemas causados pelas sementes esverdeadas de soja

A incompleta degradação da clorofila compromete a qualidade fisiológica de sementes de soja (Zorato et al., 2007; Teixeira et al., 2020). Essas sementes apresentam baixo vigor, com maior comprometimento da integridade e menor velocidade de reorganização das membranas celulares durante a embebição (Zorato et al., 2007; Pardo et al., 2015; Teixeira et al., 2020). Em trabalho com lotes com presença de sementes esverdeadas, foi observado que entre lotes com pequenas diferenças na proporção de sementes esverdeadas não houve grande alteração no potencial de germinação, mas no teste de condutividade elétrica as diferenças entre os lotes foram marcantes (Teixeira et al., 2020). Um dos primeiros eventos do processo de deterioração de sementes é a perda da integridade de membranas (Marcos-Filho, 2015), o que ajuda a explicar esses resultados.

O teste de envelhecimento acelerado fornece um indicativo do potencial de armazenamento dos lotes (Marcos-Filho, 2015; Batista et al., 2021). Sabe-se que sementes esverdeadas de soja apresentam baixa armazenabilidade, sendo que lotes com mais de 3% de sementes esverdeadas podem apresentar comprometimento do vigor, enquanto lotes com mais de 9 ou 10% de sementes esverdeadas não devem ser utilizados para semeadura (Costa et al., 2001; Pádua et al., 2007; Zorato et al., 2007).

Onyilagha et al. (2011) avaliaram lotes de sementes de canola com diversos teores de clorofila, e citam que a quantidade de clorofila não afetou a germinação, mas prejudicou o vigor das sementes, que apresentaram maiores valores no teste de condutividade elétrica. Todavia, é importante destacar que a germinação é o último evento comprometido durante o processo de deterioração, enquanto o comprometimento do sistema de membranas é um dos primeiros, reduzindo o vigor das sementes (Marcos-Filho, 2015). Com o passar do tempo, o potencial de germinação também irá reduzir. Rangel et al. (2011) observaram que acréscimos no percentual de sementes esverdeadas compromete o lote, reduzindo a germinação e o vigor, obtendo-se plântulas com maiores comprimentos de raiz após seis meses de armazenamento.

Além disso, existe relação entre a presença de sementes esverdeadas e comprometimento do vigor devido à presença de danos por umidade (Zorato et al., 2007). O dano por umidade é o que mais evolui durante o armazenamento das sementes (Moreano et al., 2011). Sementes esverdeadas apresentam danos por umidade, e à medida que aumenta a porcentagem dessas sementes no lote, tende a aumentar esses danos (Pádua et al., 2007). O resultado disso é a perda de qualidade do lote de forma mais acentuada, em relação àqueles com ausência ou baixa proporção de sementes esverdeadas.

Avaliação da qualidade de sementes de soja

Há vários testes para se averiguar a qualidade de lotes de sementes. Enquanto o teste de germinação indica se o lote pode ou não ser comercializado, os testes de vigor, principalmente os baseados no desempenho de plântulas, os de resistência a estresses e os bioquímicos, indicam o estado do processo de deterioração e assim permitem a tomada de decisão por parte das empresas produtoras de sementes. Já os demais parâmetros bioquímicos e físicos, como atividade de enzimas, quantificação de compostos e o processamento e análise de imagens, após correlacionar com os testes fisiológicos, poderão trazer outras informações a respeito do vigor dos lotes.

Existem testes fisiológicos, de resistência, bioquímicos e aqueles baseados em análise de imagens e espectroscopia (Krzyzanowski, Vieira, França-Neto e Marcos-Filho, 2020; Brasil, 2009; Xia et al., 2019). As avaliações fisiológicas incluem o teste de germinação e os testes de vigor relacionados ao desempenho de plântulas, como a velocidade de germinação, primeira contagem da germinação, emergência, velocidade de emergência, crescimento de plântulas e classificação do vigor. Enquanto o teste de germinação vai indicar o potencial das sementes daquele lote de germinar sob condições ótimas, os testes baseados no desempenho vão indicar em que nível do processo de deterioração o lote se encontra.

Entre os testes de resistência mais comumente utilizados para avaliar sementes de soja, pode-se citar os testes de envelhecimento acelerado (com água) e envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl (Jianhua e McDonald, 1996; Marcos-Filho, 2020; Yagushi, Costa e França-Neto, 2014). Esses testes podem indicar o potencial de armazenamento de determinado lote, bem como podem apresentar boa correlação com a emergência em campo, dependendo de quando o teste é realizado (Batista et al., 2021).

Na pesquisa, os testes bioquímicos mais comuns para sementes de soja incluem, entre outros, o teste de tetrazólio, a condutividade elétrica e a avaliação de enzimas e compostos do sistema antioxidante. O teste de tetrazólio, muito utilizado no controle de qualidade de empresas, permite avaliar a viabilidade, vigor e as causas da perda de qualidade das sementes, normalmente associadas ao ataque por percevejos e a danos mecânicos e por umidade (França-Neto e Krzyzanowski, 2020).

O teste de tetrazólio se baseia na atividade de enzimas desidrogenases, que catalisam reações respiratórias nos tecidos vivos (França-Neto e Krzyzanowski, 2020). Quando a semente embebida entra em contato com a solução de 2,3,5-trifenil-cloreto de tetrazólio, nos tecidos viáveis a solução passa de incolor a vermelho, colorindo o tecido. A ocorrência de vermelho

intenso é característica de tecidos em deterioração, que permitem maior difusão da solução de tetrazólio através de suas membranas celulares que já estão comprometidas. Se o tecido ficar branco indica que não há atividade respiratória, e, portanto, o tecido está morto. Há diversas classificações de danos e níveis de vigor a partir desse teste (França-Neto e Krzyzanowski, 2020).

A condutividade elétrica da solução de embebição das sementes, também muito utilizado no controle de qualidade de empresas, indica indiretamente a integridade do sistema de membranas. Ao colocarmos sementes para embeber em água ocorre a lixiviação de solutos, pois as sementes estão com grau de umidade abaixo de 25%, e por isso as membranas celulares ficam em estado de gel (Marcos-Filho, 2015; Ebone, Caverzan e Chavarria, 2019; Zhang et al., 2021). Essa lixiviação é diretamente proporcional ao grau de umidade das sementes e ao seu nível de deterioração. Quanto mais baixo o teor de água das sementes, mais solutos serão lixiviados. Da mesma forma, quanto mais avançado o processo de deterioração, mais lento é o processo de reorganização das membranas e maior será a lixiviação. Quanto mais solutos lixiviar, maior o nível de deterioração e menor vigor daquele lote (Ebone, Caverzan e Chavarria, 2019; Zhang et al., 2021).

Sementes esverdeadas e estresse oxidativo

Durante a embebição das sementes, há incremento da atividade respiratória e isso aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs). Com isso, o sistema de defesa antioxidante vai atuar combatendo o excesso de EROs (ânion superóxido, radical hidroxila, oxigênio singlete e peróxido de hidrogênio) e outros radicais livres, ou protegendo compostos e estruturas celulares da ação desses agentes (Noctor et al., 2018). Todavia, é importante destacar que com grau de umidade mais baixo (6% ou menos), as sementes também estão sujeitas a danos oxidativos (Ebone, Caverzan e Chavarria, 2019). Com grau de umidade entre 6 e 14%, o estresse oxidativo é reduzido, mas não eliminado (Ebone, Caverzan e Chavarria, 2019).

O estresse oxidativo ocorre quando o sistema antioxidante não consegue remover o excesso de EROs (Bailly, 2004; Noctor et al., 2018). Nesse momento, é desencadeado o aumento de EROs e de radicais livres em diversas organelas e no citoplasma (Noctor et al., 2018). As EROs têm a capacidade de oxidar facilmente diversos constituintes celulares, como lipídios, proteínas e o material genético (Taiz et al., 2017; Noctor et al., 2018). As membranas biológicas são constituídas por lipídios e proteínas. Dessa forma, a oxidação desses componentes irá provocar a perda das funções das membranas, com consequente degradação de organelas e membrana

plasmática. Além disso, ao oxidar membranas, pode haver a formação de radicais livres (Noctor et al., 2018). Esses radicais livres têm a capacidade de provocar o processo autocatalítico de degradação, acelerando e intensificando esse processo até causar a morte celular (Taiz et al., 2017; Zhang et al., 2021). Considerando que em sementes de soja a principal causa da deterioração é a peroxidação de lipídios, visto que essas sementes são oleaginosas, o entendimento da ação das EROs é chave para compreender o processo de deterioração.

É importante ressaltar que, embora o excesso de espécies reativas de oxigênio tenha efeito negativo para a conservação de sementes, essas moléculas têm importantes funções, como a de sinalização para processos fisiológicos e bioquímicos (Bailly, 2004; Ishibashi et al., 2017; Mittler et al., 2017; Noctor et al., 2018).

A atividade de enzimas do sistema de defesa antioxidante pode indicar o nível do processo de deterioração, se avaliada em conjunto com os dados de desempenho fisiológico. Esse sistema de defesa é composto por enzimas que atuam de maneira ordenada. Entre essas enzimas pode-se citar a superóxido dismutase, que atua dismutando o ânion superóxido em peróxido de hidrogênio; a catalase, que atua convertendo o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio; e as peroxidases, que também atuam na degradação do peróxido de hidrogênio (Vaahtera et al., 2014; Noctor et al., 2018).

Entretanto, esse sistema enzimático só terá importância de atuação quando as sementes estiverem embebidas (Bailly, 2004). Dessa forma, durante o armazenamento, os mecanismos não enzimáticos são mais importantes, pois as sementes estão com grau de umidade baixo. Entre os compostos do sistema não enzimático, pode-se citar flavonoides, glutathione, ácido ascórbico (vitamina C), poliaminas e o tocoferol (Kumar et al., 2009; Bhatia et al., 2010; Sano et al., 2016).

O tocoferol apresenta atuação de destaque para inibir a peroxidação de lipídios quando as sementes estão secas, durante o armazenamento (Sattler et al., 2004; Bhatia et al., 2010). Essa informação se torna ainda mais relevante ao considerarmos que sementes de soja esverdeadas têm deficiência no acúmulo desse composto, e que na medida em que o *degreening* que ocorre no final do processo de maturação das sementes ocorre aumento na concentração de tocoferol (Kumar et al., 2009; vom Dorp et al., 2015).

Outros compostos e mecanismos também são importantes para reduzir a intensidade dos processos deteriorativos. Entre os compostos podemos citar as proteínas LEA, proteínas de choque térmico, proteínas de reserva e os açúcares sacarose, rafinose, estaquiose e verbascose

(Leprince et al., 2017). Além disso, há também diversos mecanismos de reparo, que vão atuar após o processo de embebição no reparo do DNA, proteínas, membranas e organelas.

As proteínas LEA atuam estabilizando proteínas e componentes celulares, o que ajuda a preservar as membranas celulares (Leprince et al., 2017). As proteínas de choque térmico, além de ajudar a estabilizar proteínas, são mais suscetíveis ao processo de carbonilação (Rajjou et al., 2008). A carbonilação é um processo que afeta proteínas, comprometendo sua função biológica. Dessa forma, ao sofrer a carbonilação preferencialmente, as proteínas de choque térmico contribuem para retardar a deterioração de outras proteínas importantes. As proteínas de reserva também são mais suscetíveis a carbonilação, e nesse sentido atuam de forma semelhante às proteínas de choque térmico (Nguyen et al., 2015).

A sacarose, rafinose, estaquiose e verbascose são importantes para formar o estado vítreo (Marcos-Filho, 2015; Leprince et al., 2017). Durante esse estado, o citoplasma das sementes fica extremamente viscoso. Essa condição ajuda a estabilizar membranas celulares e retardar reações oxidativas. Sob temperatura ambiente, sementes de soja com menos de 9% de umidade apresentam citoplasma em estado vítreo (Marcos-Filho, 2015). Antagonicamente à presença desses açúcares, o acúmulo de açúcares redutores, como glicose e frutose, reduz a longevidade de sementes, pois esses açúcares podem reagir com aminoácidos e liberar compostos tóxicos, ao mesmo tempo em que compromete a função biológica de proteínas e enzimas (Leprince et al., 2017; Ebone, Caverzan e Chavarria, 2019).

Armazenamento

A qualidade das sementes durante o armazenamento é influenciada não somente pelo período em que elas se mantêm vivas, mas também pelo potencial para gerar plântulas vigorosas no campo (Finch-Savage e Bassel, 2016; Sano et al., 2016). Nesse sentido, o armazenamento de sementes de soja torna-se estratégico. Fato esse que se deve ao intervalo de tempo entre a colheita pelas empresas produtoras de sementes e a semeadura pelo agricultor. Entretanto, mesmo nas sementes ortodoxas, em que ocorre intensa desidratação e redução do metabolismo, durante o armazenamento ocorre o processo de deterioração, afetando negativamente o seu desempenho (Bewley et al., 2013; Marcos-Filho, 2015). Porém, a intensidade desse processo está diretamente relacionada com o período e as condições de armazenamento.

O teor de água das sementes e a condição ambiental (umidade relativa e temperatura) são fatores que modulam o processo de deterioração em sementes durante o armazenamento, sendo

que o grau de umidade das sementes é fator que, isoladamente, mais afeta a deterioração (Carvalho e Nakagawa, 2000; Walters, Ballesteros e Vertucci, 2010). Outros fatores também afetam a deterioração das sementes durante o armazenamento, como a qualidade inicial, a presença de danos, o ataque de insetos e a proliferação de fungos (Carvalho e Nakagawa, 2000).

Basicamente existem dois tipos de embalagens para armazenar sementes, as porosas que permitem trocas gasosas com o ar ambiente, e as herméticas, que não permitem essas trocas. A escolha de uma ou outra vai depender da espécie em questão, do teor de água das sementes e das condições de umidade relativa e temperatura do ambiente de armazenamento.

Para cada situação pode haver alguma particularidade que devemos levar em consideração para escolher o tipo de embalagem, como, por exemplo, o tempo de armazenamento. Mas, a priori, embalagens porosas são indicadas para armazenamento em ambientes com umidade relativa menor que 70%. Se a umidade for maior, haverá ganho de umidade pelas sementes e a deterioração será mais rápida (Marcos-Filho, 2015).

Já para o armazenamento em embalagens herméticas é importante que o grau de umidade das sementes esteja mais baixo, sendo o ideal abaixo de 7%. Se maior do que isso, a atividade respiratória das sementes, mesmo que baixa, promoverá aumento da umidade relativa no ambiente interno da embalagem, aumento da umidade das sementes e deterioração mais rápida (Carvalho e Nakagawa, 2000; Marcos-Filho, 2015). Além disso, o aumento da concentração de CO₂ e redução do O₂ comprometerá a atividade respiratória das sementes e poderá causar acúmulo de compostos tóxicos (Ochandio et al., 2017; Ludwig et al., 2021).

Considerando a temperatura, quanto menor e acima do ponto de congelamento da água, melhor será a conservação das sementes, considerando sementes ortodoxas (Carvalho e Nakagawa, 2000).

Portanto, a escolha da melhor condição de armazenamento é fundamental, principalmente quando se trata de sementes de soja esverdeada. Conforme já citado, a soja é rica em lipídios, o que a torna mais susceptível a deterioração no armazenamento (Marcos-Filho, 2015; Ludwig et al., 2021; Zhang et al., 2021). Além disso, quando a clorofila é parcialmente degradada, a armazenabilidade das sementes fica ainda mais comprometida, conforme citado anteriormente, apesar da qualidade inicial ainda se apresentar adequada (Pádua et al., 2009; Rangel et al., 2011; França Neto et al., 2012).

Conforme cita França-Neto et al. (2012), sementes esverdeadas podem ter alta porcentagem de germinação no início do período de armazenamento não controlado. Porém, com o avanço do tempo, essas sementes vão perdendo qualidade rapidamente, reduzindo o

vigor e posteriormente a capacidade germinativa. Além disso, o nível de esverdeamento das sementes, relacionado com o teor de clorofila, defini o desempenho fisiológico do lote de sementes durante o armazenamento (Cícero, Schoor e Jalink, 2009). Nesse sentido, lotes de sementes com maiores teores de clorofila apresentam pior desempenho.

Referências

ASGHAR T.; JAMIL Y.; IQBAL M.; Zia-ul-Haq; ABBAS M. Laser light and magnetic field stimulation effect on biochemical, enzymes activities and chlorophyll contents in soybean seeds and seedlings during early growth stages. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v.165, p.283-290, 2016.

BATISTA, T.H.; PERISSATO, S.M.; REGO, C.H.Q.; OLIVEIRA, G.R.F.; HENNING, F.A.; SILVA, E.A.A. Is it possible to estimate longevity through the analyses used to measure the initial physiological potential in soybean seeds? **Journal of Seed Science**, v.43, p. 1-8, 2021.

BERJAK P.; PAMMENTER N.W. Implications of the lack of desiccation tolerance in recalcitrant seeds. **Frontiers in Plant Science**, v.4, p.1-9, 2013.

BEWLEY, J.D., BRADFORD, K.J., HILLHORST, H.W.M, NONOGAKI, H. **Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy**. 3rd. ed. New York: Springer Science + Business Media, 2013.

BORRMANN, D.; ANDRANDE, J.C.; LANFER-MARQUEZ, U.M. Chlorophyll degradation and formation of colorless chlorophyll derivatives during soybean (*Glycine max* L. Merrill) seed maturation. **J. Agric. Food Chem.**, v.57, p.2030-2034, 2009.

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.

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

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

BHATIA, V.S.; YADAV, S.; JUMRANI, K.; GURUPRASAD, K.N. Field deterioration of soybean seed: role of oxidative stresses and antioxidant defense mechanism. **J. Plant Biol.**, v.37, n.2, p.179–190, 2010.

BROWN, C. Green seed, agronomy Guide for Field Crops. Ministry of Agriculture, **Food and Rural Affairs**. 2017.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. 4ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000, 588p.

CHEN, D.; LI, Y.; FANG, T.; SHI, X.; CHEN, X. Specific roles of tocopherols and tocotrienols in seed longevity and germination tolerance to abiotic stress in transgenic rice. **Plant Science**, v.244, p.31-39, 2016.

CÍCERO, S.M.; SCHOOR, R.V.; JALINK, H. Use of chlrophyll fluorescence sorting to improve soybean seed quality. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.4, p.145-151, 2009.

CONAB – Companhia Nacional do Abastecimento – Acomp. safra bras. grãos, v. 9 - Safra 2021/22 - Décimo levantamento, Brasília, p. 1-88, julho 2022.

COSTA, N.P.; FRANÇA-NETO, J.B.; PEREIRA, J.E.; MESQUITA, C.M.; KRZYZANOWSKI, F.C.; HENNING, A.A. Efeito de sementes verdes na qualidade fisiológica de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.23, n.2, p.102-107, 2001.

DELMAS, F.; SANKARANARAYANAN, S.; DEBD, S.; WIDDUPD, E.; BOURNONVILLE, C.; BOLLIER, N.; NORTHEY, J.G.B.; MCCOURT, P.; SAMUEL, M.A. ABI3 controls embryo degreening through Mendel's I locus. **PNAS**, v.16, p.3888-3894, 2013.

EBONE, L.A.; CAVERZAN, A.; CHAVARRIA, G. Physiologic alterations in orthodox seeds due to deterioration processes. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.145, p.34-42, 2019.

^aEMBRAPA. Embrapa soja alerta sobre elevados índices de sementes de soja esverdeadas. Embrapa, Notícias, 2020. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/50991872/embrapa-soja-alerta-sobre-elevado-indice-de-sementes-de-soja-esverdeadas>>, acesso em: 10/07/2020.

^bEMBRAPA. Soja: setor produtivo está em alerta para garantir qualidade na produção de sementes. Embrapa, Notícias, 2020. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/51492271/soja-setor-produtivo-esta-em-alerta-para-garantir-qualidade-na-producao-de-sementes>>, acesso em: 10/07/2020.

FERREIRA, A.S.; ZUCARELI, C.; BALBINOT JUNIOR, A.A.; WERNER, F.; COELHO, A.E. Size, physiological quality, and green seed occurrence influenced by seeding rate in soybeans. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.38, n.2, p.595-606, 2017.

FINCH-SAVAGE WE, BASSEL GW. Seed vigour and crop establishment: extending performance beyond adaptation. **Journal of Experimental Botany**, v.67, p.567-591, 2015.

FORTI, V.A.; CÍCERO, S.M.; INOMOTO, M.M.; SLIWINSKA, E.; van der SHOOR, R.; JALINK, H. *Meloidogyne javanica* infection of soybean plants: plant response, seed quality and green seeds occurrence. **Seed Sci. & Technol.**, v.43, p.409-420, 2015.

FRANÇA-NETO, J.B.; KRZYZANOWSKI, F.C.; HENNING, A.A.; PADUA, G.P.; LORINI, I.; HENNING, F.A. **Tecnologia da produção de semente de soja de alta qualidade**. Londrina: Embrapa Soja, 2016. 82 p. (Embrapa Soja. Documentos, 380).

FRANÇA NETO, J.B.; KRZYZANOWSKI, F.C. Teste de tetrazólio em sementes de soja. In Krzyzanowski, F.C.; Vieira, R.D.; França-Neto, J.B.; Marcos-Filho, J. (Eds.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 2020. p.519-580.

FRANÇA NETO, J.B.; PÁDUA, G.P.; KRZYZANOWSKI, F.C.; CARVALHO, M.L.M.; HENNING, A.A.; LORINI, I. Semente esverdeada de soja: causas e efeitos sobre o desempenho fisiológico - Série Sementes. **Embrapa Soja-Circular Técnica**, Londrina, v.91, p. 1-15, 2012.

GIURIZATTO, M.I.K.; FERRARESE-FILHO, O.; FERRARESE, M.L.L.; ROBAINA, A.D.; GONÇALVES, M.C.; CARDOSO, C.A.L. α -Tocopherol levels in natural and artificial aging of soybean seeds. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.34, n.3, p.339-343, 2012.

ISHIBASHI, Y.; KASA, N.A.S.; SAKAMOTO, M.; KAI, K.; TOMOKIYO, R.; WATABE, G.; YUASA, T.; IWAYA-INOUE, M. The interrelationship between abscisic acid and reactive oxygen species plays a key role in barley seed dormancy and germination. **Frontiers in Plant Science**, v.8 p.1-10, 2017.

JALINK, H.; van der SCHOO, R.; BIRNBAUM, Y.E.; BINO, R.J. Seed chlorophyll content as an indicator for seed maturity and seed quality. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v.504, n.12, p.219-228, 1999.

KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA-NETO, J.B.; MARCOS-FILHO (Eds.). *Vigor de sementes: conceitos e testes*. Londrina: ABRATES, 2020. 601p.

KUMAR, V.; RANI, A.; DIXIT, A.K.; BHATNAGAR, D.; CHAUHAN, G.S. Relative changes in tocopherols, isoflavones, total phenolic content, and antioxidative activity in soybean seeds at different reproductive stages. **J. Agric. Food Chem.**, v.57, 2705-2710, 2009.

LEPRINCE, O.; PELLIZZARO, A.; BERRIRI, S.; BUITINK, J. Late seed maturation: drying without dying. **Journal of Experimental Botany**, v.68, n.4 p.827-841, 2017.

LUDWIG, V.; BERGHETTI, M.R.P.; RIBEIRO, S.R.; ROSSATO, F.P.; WENDT, L.M.; THEWES, F.R.; THEWES, F.R.; BRACKMANN, A.; BOTH, V.; WAGNER, R. The effects of soybean storage under controlled atmosphere at different temperatures on lipid oxidation and volatile compounds profile. **Food Research International**, v.147, p.1-10, 2021.

MARCOS-FILHO, J. *Fisiologia de sementes de plantas cultivadas*. 2 ed. Piracicaba: FEALQ, 2015. 660p.

MARCOS-FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: Krzyzanowski, F.C.; Vieira, R.D.; França Neto, J.B.; Marcos-Filho, J. (Eds.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 2020. p. 185-246.

MEDEIROS, A.D.; CAPOBIANGO, N.P.; SILVA, J.M.; SILVA, L.J.; SILVA, C.B.; DIAS, D.C.F.S. Interactive machine learning for soybean seed and seedling quality classification. **Scientific Reports**, v.10, p.1-10, 2020.

MEDEIROS, A.D.; SILVA, L.J.; RIBEIRO, J.P.O.; FERREIRA, K.C.; ROSAS, J.T.F.; SANTOS, A.A.; SILVA, C.B. Machine learning for seed quality classification: An advanced approach using merger data from FT-NIR spectroscopy and X-ray imaging. **Sensors**, v.20, p.1-12, 2020.

MEDEIROS, A.D.; ZAVALA-LEÓN, M.J.; SILVA, L.J.; OLIVEIRA, A.M.S.; DIAS, D.C.F.S. Relationship between internal morphology and physiological quality of pepper seeds during fruit maturation and storage. **Agronomy Journal**, v.112, p.1-11, 2019.

MITTLER, R. ROS Are Good. **Trends in Plant Science**, v.22, n.1, p.11–19, 2017.

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

KRZYZANOWSKI, F.C.; FRANÇA-NETO, J.B.; GOMES-JUNIOR, F.G.; NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: Krzyzanowski, F.C.; Vieira, R.D.; França Neto, J.B.; Marcos-Filho, J. (Eds.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 2020. p.79-140.

NAKAJIMA, S.; ITO, H.; TANAKA, R.; TANAKA, A. Chlorophyll *b* Reductase Plays an Essential Role in Maturation and Storability of Arabidopsis Seeds. **Plant Physiology**, v.160, p.261-273, 2012.

NGUYEN, T.P.; CUEFF, G.; HEGEDUS, D.D.; RAJJOU, L.; BENTSINK, L. A role for seed storage proteins in Arabidopsis seed longevity. **J. Exp. Bot.**, v.66, p.6399-6413, 2015.

NOCTOR, G.; REICHHELD, J.; FOYER, C.H. ROS-related redox regulation and signaling in plants. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, v.80 p.3-12, 2018.

ONYILAGHA, J.C; ELLIOT, B.H.; BUCKNER, E.; OKIROR, S.O.; RANEY, P.J. Seed Chlorophyll Influences Vigor in Oilseed Rape (*Brassica napus* L. var *AC Excel*). **Journal of Agricultural Science**, v.3, n.2, p.73-79, 2011.

PÁDUA, G.P.; CARVALHO, M.L.M.; FRANÇA-NETO, J.B.; GUERREIRO, M.C.; GUIMARÃES, R.M. Response of soybean genotypes to the expression of green seed under temperature and water stresses. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.3, p.140-149, 2009.

PÁDUA, G.P.; FRANÇA-NETO, J.B.; CARVALHO, M.L.M.; COSTA, O.; KRZYZANOWSKI, F.C.; COSTA, N.P. Tolerance level of green seed in soybean lots after storage. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 29, n. 3, p. 112-120, 2007.

PÁDUA, G.P.; FRANÇA-NETO, J.B.; CARVALHO, M.L.M.; KRZYZANOWSKI, F.C.; GUIMARÃES, R.M. Incidence of green soybean seeds as a function of environmental stresses during seed maturation. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.3, p.150-159, 2009.

PARDO, F. F.; BINOTTI, F. F. S.; CARDOSO, E. D.; COSTA, E. Qualidade fisiológica de sementes de soja esverdeadas em diferentes tamanhos. **Revista de Agricultura Neotropical**, v.2, n.3, p.39-43, 2015.

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.

PERKINS, M.; SKORI, L.; HICKERSON, N.M.N.; JAMSHED, M.; SAMUEL, M.A. Genetic manipulation of ABI3 confers frost-tolerant seed degreening in canola. **Plant Biotechnology Journal**, v.18, p. 602-604, 2020.

RAJJOU, L.; LOVIGNY, Y.; GROOT, S.P.C.; BELGHAZI, M.; JOB, C.; JOB, D. Proteome-wide characterization of seed aging in Arabidopsis. A comparison between artificial and natural aging protocols. **Plant Physiology**, v.148, p.620-641, 2008.

RANGEL, M.A.S.; MINUZZI, A.; PIEREZAN, L.; TEODÓSIO, T.K.C.; ONO, F.B.; CARDOSO, P.C. Presença e qualidade de sementes esverdeadas de soja na região sul do Estado do Mato Grosso do Sul. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.33, n.1, p.127-132, 2011

R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

SANO, N.; RAJJOU, L.; NORTH, H.M.; DEBEAUJON, I.; MARION-POLL, A.; SEO, M. Staying alive: molecular aspects of seed longevity. **Plant Cell Physiol.**, v.57, n.4, p.660–674, 2016.

SATTLER, S.E.; GILLILAND, L.U.; MAGALLANES-LUNDBACK, M.; POLLARD, M.; DELLAPENNA, D. Vitamin E is essential for seed longevity and for preventing lipid peroxidation during germination. **The Plant Cell**, v.16, p.1419-1432, 2004.

SEDIYAMA, T. *Tecnologias de produção e usos da soja*. Londrina-PR: Ed. Mecenas, 2009. 314p.

SEDIYAMA, T.; SILVA, F.; BORÉM, A. *Soja: do plantio à colheita*. Viçosa-MG: Ed. UFV, 2015. 333p.

SILVA, L.J.; MEDEIROS, A.D.; OLIVEIRA, A.M.S. SeedCalc, a new automated R software tool for germination and seedling length data processing. **Journal of Seed Science**, v.41, n.2, p.250-257, 2019.

SINNECKER, P.; BRAGA, N.; MACCHIONE, E.L.A.; LANFER-MARQUEZ, U.M. Mechanism of soybean (*Glycine max* L. Merrill) degreening related to maturity stage and postharvest drying temperature. **Postharvest Biology and Technology**, v.38, p.269-279, 2005.

SMOLIKOVA, G.N.; DOLGIKH, E.; VIKHNINA, M.; FROLOV, A.; MEDVEDEV, S. Genetic and Hormonal Regulation of Chlorophyll Degradation during Maturation of Seeds with Green Embryos. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, p.1993-2008, 2017.

SMOLIKOVA, G.N.; MEDVEDEV, S.S. Photosynthesis in the seeds of chloroembryophytes. **Russian Journal of Plant Physiology**, v.63 n.1, 2016.

TAIZ L.; ZEIGER E.; MØLLER, I.M.; MURPH, A. *Fisiologia e desenvolvimento vegetal*. 6ª ed. Porto Alegre: Artmed. 2017. 888p.

TEIXEIRA, R.N. **Teor de clorofila, danos oxidativos e qualidade de sementes de soja**. 2010. 100p. Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu – SP. 2010.

TEIXEIRA, S.B.; SILVA, J.G.; MENEGUZZO, M.R.R.; MARTINS, A.B.N.; MENEGHELLO, G.E.; TUNES, L.V.M. Green soybean seeds: effect on physiological quality. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.50, n.2, p.1-6, 2020.

VAAHTERA, L.; BROSCHE, M.; WRZACZEK, M.; KANGASJÄRVI, J. Specificity in ROS signaling and transcript signatures. **Antioxidants & Redox Signaling**, v.21, p.1422-1441, 2014.

VENKATESAN, S.; MASILAMANI, P.; JANAKI, P.; EEVERA, T.; SUNDARESWARAN, S.; RAJKUMAR, P. Role of Near - Infrared Spectroscopy in Seed Quality Evaluation: A Review. **Agricultural Reviews**, v.41, p.106-115, 2020.

VIEIRA, R. D.; MARCOS-FILHO, J. Teste de condutividade elétrica. In: Krzyzanowski, F.C.; Vieira, R.D.; França Neto, J.B.; Marcos-Filho, J. (eds.), **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 2020. p.333-375.

VOM DORP, K.; HÖLZL, G.; PLOHMANN, C.; EISENHUT, M.; ABRAHAM, M.; WEBER, A.P.M.; HANSON, A.D.; DÖRMANN, P. Remobilization of phytol from chlorophyll degradation is essential for tocopherol synthesis and growth of Arabidopsis. **The Plant Cell**, v.27, p.2846-2859, 2015.

WARD, K.; SCARTH, R.; DAUN, J.K.; VESSEY, J.K. Chlorophyll degradation in summer oilseed rape and summer turnip rape during seed ripening. **Canadian Journal of Plant Science**, v.75, n.2, p.413-420, 1995.

WARD, K.; SCARTH, R.; DAUN, J.; McVetty, P.B.E. Effects of genotype and environment on seed chlorophyll degradation during ripening in four cultivars of oilseed rape (*Brassica napus*). **Canadian Journal of Plant Science**, v.72, n.3, p.643-649, 1992.

WENDT, L.; MALAVASI, M.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.

XIA Y.; XU, Y.; LI, J.; ZHANG, C.; FANA, S. Recent advances in emerging techniques for non-destructive detection of seed viability: A review. **Artificial Intelligence in Agriculture**, v.1, p.35-47, 2019.

YAGUSHI, J.T.; COSTA, D.S.; FRANÇA-NETO, J.B. Saturated salt accelerated aging and computerized analysis of seedling images to evaluate soybean seed performance. **Journal of Seed Science**, v.36, n.2, p.213-221, 2014.

ZHANG, K.; ZHANG, Y.; SUN, J.; MENG, J.; TAO, J. Deterioration of orthodox seeds during ageing: Influencing factors, physiological alterations and the role of reactive oxygen species. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.158, p.475-485, 2021.

ZHU, X.; CHEN, J.; QIU, K.; KUAI, B. Phytohormone and light regulation of chlorophyll degradation. **Frontiers in Plant Science**, v.8, p.1911, 2017.

ZORATO, M.F.; PESKE, S.T.; TAKEDA, C.; FRANÇA-NETO, J.B. Presença de sementes esverdeadas em soja e seus efeitos sobre seu potencial fisiológico. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, n.1, p.11-19, 2007.

ZORATO, M.F.; PESKE, S.T.; TAKEDA, C.; FRANÇA-NETO, J.B. Sementes esverdeadas em soja: testes alternativos para determinar sua qualidade. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, n.1, p.1-10, 2007.

Sementes esverdeadas de soja: estudo de diferentes embalagens e ambientes durante o armazenamento na conservação da qualidade inicial

Resumo

O armazenamento das sementes em condições adequadas é primordial para a manutenção da qualidade fisiológica. No entanto, lotes de sementes de soja com níveis elevados de sementes esverdeadas perdem a viabilidade rapidamente. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi investigar o efeito da presença de sementes esverdeadas no desempenho de lotes de sementes de soja sob diferentes condições de armazenamento. Para isso foram utilizados nove lotes de sementes de soja, pertencentes a três cultivares, com diferentes níveis de sementes esverdeadas. Os lotes do cultivar “A” apresentavam 8%, 21% e 40% de sementes esverdeadas (S.E.). Já os do cultivar “B” apresentavam 8%, 11% e 21% de S.E, enquanto os lotes do cultivar “C” apresentavam 2%, 8% e 12% de S.E. Antes do armazenamento, as sementes foram caracterizadas por meio da determinação do teor de água, teor de clorofila e avaliação do desempenho nos testes de germinação, envelhecimento acelerado, condutividade elétrica, comprimento de plântulas e emergência. Em seguida, cada lote foi submetido a seis condições de armazenamento: embalagem plástica, a 12 °C, 20 °C e temperatura não controlada (ambiente); e embalagem de papel kraft, a 12 °C, 20 °C e temperatura não controlada. Após 195 dias de armazenamento, as sementes foram avaliadas quanto à qualidade fisiológica. O grau de umidade inicial das sementes, e ao longo do armazenamento, ficou próximo de 10%. Após 195 dias, a porcentagem de germinação das sementes em cada lote não diferiu entre as diferentes condições de armazenamento. Em geral, o potencial de germinação das sementes foi mantido durante o armazenamento, porém houve redução do vigor. Para a maioria dos lotes, o armazenamento em embalagem de papel kraft a 20 °C contribuiu para manutenção de maiores níveis de vigor das sementes. O armazenamento das sementes em embalagem plástica a 20 °C contribuiu para manutenção de maiores níveis de clorofila. Por fim, a condição de armazenamento que proporcionou manutenção do desempenho das sementes foi a utilização de embalagem de papel kraft, a 20 °C. Assim, como a porcentagem de sementes esverdeadas e a qualidade inicial, o teor de clorofila das sementes é determinante para seu desempenho no armazenamento.

Palavras-chave: Armazenamento de sementes. Teor de clorofila. *Glycine max* (L.) Merril. Qualidade fisiológica

Introdução

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é o principal produto do agronegócio brasileiro, responsável por cerca de 50% da produção nacional de grãos (CONAB, 2021). Para atender a essa demanda de produção, o mercado necessita de grandes volumes de sementes de alta qualidade, visando ao estabelecimento de lavouras de alto desempenho agrônômico. Porém, produzir sementes de soja de alta qualidade tem sido um desafio para os produtores. Isso se deve, entre outros fatores, à ocorrência de sementes esverdeadas, o que consequentemente prejudica a qualidade fisiológica do lote.

A cor verde está relacionada à presença da clorofila, sendo que esse pigmento está diretamente envolvido no processo fotossintético (Streit et al., 2005; Taiz et al., 2017). Em sementes, a fotossíntese ocorre, principalmente, para a produção de energia na forma de ATP e NADPH que serão utilizados para produzir ácido graxo a partir de sacarose (Smolikova & Medvedev, 2016, Smolikova et al., 2017). Entretanto, é fundamental que no final do processo de maturação das sementes ocorra a degradação da molécula de clorofila.

A completa degradação da clorofila pode ser afetada por fatores genéticos ou qualquer evento que resulte na morte prematura da planta, como estresses ambientais, sejam eles bióticos ou abióticos, e o manejo inadequado da lavoura, o que pode resultar na colheita de lotes com sementes esverdeadas (França-Neto et al., 2012; Pádua et al., 2009; Forti et al., 2015). Além disso, a preferência por genótipos com hábito de crescimento indeterminado torna a colheita de sementes esverdeadas ainda mais recorrente, devido a desuniformidade natural na maturação e à aplicação de dessecantes em momento inadequado (França-Neto et al., 2012).

Durante a maturação das sementes, a degradação da clorofila ocorre principalmente por meio da ação de enzimas, tais como a clorofilase, magnésio-chelatase e oxigenases (França-Neto et al., 2012; Smolikova e Medvedev, 2016). Após a colheita também pode ocorrer a degradação desse pigmento, a partir de processos químicos dependentes de fatores externos como temperatura, luz e oxigênio (Sinnecker et al., 2005; Borrmann, Andrade e Lanfer-Marquez, 2009).

Diversos trabalhos relataram o impacto do aumento da porcentagem de sementes esverdeadas no desempenho de lotes de sementes de soja (Costa et al., 2001; Pádua et al., 2007; Zorato et al., 2007; Teixeira et al., 2020). Nesses lotes há comprometimento do potencial fisiológico, com redução da germinação e vigor das sementes, além de reduzir a armazenabilidade (Rangel et al., 2011; vom Drop et al., 2015; França-Neto et al., 2016; Brow, 2017; Teixeira et al., 2020). Estudos com canola (*Brassica napus* L.) também relacionaram a

redução do potencial fisiológico de lotes à presença de sementes esverdeadas (Onyilagha et al., 2011).

Nas condições brasileiras, existe um intervalo entre a produção de sementes de soja nas principais áreas produtoras e a semeadura pelo agricultor. Com isso torna-se estratégico o armazenamento, a fim de preservar o potencial germinativo e o vigor dessas sementes para que, após esse período, as plântulas possam se estabelecer no campo de maneira uniforme, mesmo sob condições adversas (Finch-Savage e Bassel, 2016).

A possibilidade de manutenção do potencial germinativo das sementes por alguns meses de armazenamento é bem documentada para soja (Smaniotto et al., 2014; Capilheira et al., 2019; Coradi et al., 2020; Ludwig et al., 2021). No entanto, em lotes contendo sementes esverdeadas faltam informações. É comum que esses lotes apresentem resultados satisfatórios nos testes de germinação logo após a colheita, dependendo da proporção e nível de esverdeamento das sementes (Costa et al., 2001; Pádua et al., 2007; Zorato et al., 2007; Cícero, Schoor e Jalink, 2009; França-Neto et al., 2012). Entretanto, lotes com elevadas proporções de sementes esverdeadas apresentam baixo potencial de armazenamento (Pádua et al., 2007; Cícero, Schoor e Jalink, 2009; Teixeira et al., 2020).

Diante da escassez de informações acerca do armazenamento de lotes de soja com diferentes proporções de sementes esverdeadas e da importância de se definir estratégias para manter a qualidade dessas sementes, o objetivo deste trabalho foi investigar o efeito da presença de sementes esverdeadas no desempenho de lotes de sementes de soja sob diferentes condições de armazenamento.

Material e Métodos

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Pesquisa de Sementes do Departamento de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa. Foram utilizados lotes de sementes de soja produzidos na safra 2019/2020, de três cultivares, cada um deles representado por três lotes com diferentes proporções de sementes esverdeadas, de multiplicadores localizados no estado do Rio Grande do Sul (Tabela 1). As proporções de sementes esverdeadas em cada lote foram determinadas com auxílio do programa Ilastik (Medeiros et al., 2020). Foram utilizadas quatro repetições com 50 sementes cada. Imagens das sementes foram obtidas por um escâner (HP, modelo *Scanjet* 200) em resolução de 600 dpi. Posteriormente, cada imagem foi segmentada, obtendo-se as classes de segmentação “fundo” e “sementes”. Na sequência, foram criados mapas de probabilidade selecionando diretamente nas imagens somente as sementes que de

forma nítida eram amarelas ou esverdeadas. Com base no classificador *Random Forest*, cada semente foi classificada em amarela ou esverdeada. Para cada lote, o classificador treinado foi utilizado nas demais imagens. Os mapas de probabilidade de cada imagem foram exportados e a partir deles foram obtidas as proporções de sementes esverdeadas em cada lote.

Tabela 1. Cultivares e lotes de sementes de soja com diferentes níveis de sementes esverdeadas.

Cultivar	Lotes	Proporção de sementes esverdeadas
“A”	1	8%
	2	21%
	3	40%
“B”	4	8%
	5	11%
	6	21%
“C”	7	2%
	8	8%
	9	12%

As sementes de cada lote foram caracterizadas por meio da determinação do teor de clorofila e da avaliação do desempenho nos testes de germinação, envelhecimento acelerado, condutividade elétrica, crescimento de plântulas e emergência em areia. Em seguida, cada lote foi armazenado em seis diferentes condições: embalagem plástica de multicamada de polietileno, com lacre para vedação e espessura de 0,078 mm, nas temperaturas de 12 °C, 20 °C e não controlada (ambiente), indicadas como PL-12, PL-20 e PL-amb, respectivamente; e embalagem de papel kraft, nas temperaturas de 12 °C, 20 °C e ambiente, indicadas como PK-12, PK-20 e PK-amb, respectivamente. Após 195 dias de armazenamento, as sementes foram submetidas às avaliações descritas anteriormente, além do teste de tetrazólio. Além disso, aos 30, 75, 135 e 195 dias após o início do armazenamento, foi determinado o grau de umidade das sementes. Para isso, foi realizada amostragem de sementes de todos os lotes e em todas as condições de armazenamento. Após cada amostragem, o ar das embalagens plásticas era removido com auxílio de um aspirador de pó, e as embalagens novamente lacradas.

Umidade

O grau de umidade foi determinado utilizando o método padrão da estufa a 105 ± 3 °C por 24 h, com quatro repetições de 25 sementes cada. Os resultados foram expressos em teor de água em base úmida.

Com base nos resultados obtidos na determinação do grau de umidade, foi realizado o pré-condicionamento das sementes antes da realização dos testes de germinação, comprimento de

plântulas, emergência e tetrazólio, descritos a seguir, conforme a recomendação das RAS (Brasil, 2009). Para isso, as sementes foram dispostas em camada única sobre uma tela no interior de caixas *gerbox*, contendo 40 mL de água destilada no fundo. A caixa foi fechada e permaneceu por 16 h em germinador regulado a 25 °C.

Germinação

O teste de germinação foi conduzido utilizando-se quatro repetições de 50 sementes cada. A semeadura ocorreu sobre duas folhas de papel para germinação, seguida da cobertura por uma terceira folha. Na sequência foram confeccionados os rolos. Essas folhas foram previamente umedecidas com volume (mL) de água correspondente a 2,5 vezes o peso do papel seco. Os rolos foram mantidos em germinador regulado a 25 °C, com fotoperíodo de 8 h. As avaliações ocorreram no quinto dia após a semeadura. Os resultados foram expressos em porcentagem média de plântulas normais (Brasil, 2009).

Envelhecimento acelerado

Para esse teste, foi utilizada a metodologia da caixa *gerbox* (Marcos-Filho, 2020). As sementes foram dispostas em camada única sobre uma tela no interior de caixas *gerbox*, contendo 40 mL de água destilada no fundo. A caixa foi fechada e permaneceu em B.O.D. regulada a 41 °C por 48h. Após esse período, as sementes foram então colocadas para germinar, conforme descrito para o teste de germinação e avaliadas cinco dias após a semeadura. Os resultados foram expressos em porcentagem média de plântulas normais.

Condutividade elétrica

Quatro repetições de 50 sementes cada foram pesadas e colocadas em copo plástico contendo 75 ml de água destilada. Na sequência, o material permaneceu em germinador regulado a 25 °C por 24h. Logo em seguida, foi realizada a leitura da condutividade elétrica em condutivímetro (Digimed, modelo DM-32). O valor da leitura foi dividido pelo peso da amostra correspondente. Assim, os resultados foram expressos em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$ (Vieira e Marcos-Filho, 2020).

Comprimento de plântulas

Quatro repetições de 20 sementes cada foram dispostas em duas fileiras alternadas de 10 sementes, e em seguida colocadas para germinar, conforme descrito para o teste de germinação.

Após três dias da semeadura, as plântulas de cada repetição foram transferidas para um papel de cor azul na dimensão de 30 x 20 cm. Esse conjunto foi posicionado sobre um escâner (HP, modelo *Scanjet* 200), posicionado de forma invertida em uma caixa metálica. A aquisição das imagens foi feita com resolução de 300 dpi. Posteriormente, cada imagem foi processada de forma individual pelo programa Vigor-S[®], sendo obtidos os dados de comprimento médio das plântulas e o índice de uniformidade (Sako et al., 2001).

Emergência de plântulas

O teste foi conduzido em ambiente com temperatura controlada a 25 °C e fotoperíodo de 8h. O substrato utilizado foi areia, sendo que as irrigações ocorreram de forma periódica, evitando que o substrato ficasse ressecado. Foram realizadas contagens diárias do número de plântulas que emergiram e não mais apresentavam os cotilédones tocando o substrato até a estabilização do número de plântulas emergidas. O resultado foi expresso em porcentagem emergência.

Teste de tetrazólio

O teste foi conduzido conforme as orientações descritas em França-Neto e Krzyzanowski (2018). Foram utilizadas amostras de 100 sementes para cada lote. Em seguida, elas foram colocadas em papel para germinação para embebição em germinador regulado a 25 °C, por 16h.

Na sequência, as sementes foram imersas em solução a 0,075% de 2,3,5-trifenil-cloreto de tetrazólio, em copos plásticos de 50 ml. Esse conjunto foi levado para B.O.D. regulada a 38 °C e ali permaneceu por cerca de 3h. Após esse período, as sementes foram lavadas em água corrente e avaliadas individualmente com auxílio de uma lupa. As sementes foram classificadas quanto à viabilidade (classes 1 a 5) e vigor (classes 1 a 3). Os resultados foram expressos em porcentagem de sementes viáveis e vigorosas.

Quantificação de clorofila

Os teores de clorofila total foram determinados usando metodologia adaptada de Pádua et al. (2007) e Embrapa (2016). Foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes. As amostras foram congeladas com nitrogênio líquido e armazenadas em freezer a -20 °C. Na sequência, as sementes foram liofilizadas e moídas em moinho de bolas (Tecnal, modelo TE-350).

A extração da clorofila foi realizada misturando 0,1 g da amostra em 5 ml de acetona 80%, em tubos tipo Falcon revestidos com papel alumínio, para evitar a incidência de luz. Cada

amostra foi homogeneizada utilizando agitador vórtex por uma hora, com agitação a cada 15 minutos. Toda a etapa de extração foi realizada em ambiente com o mínimo de luz. Na sequência, as amostras permaneceram em repouso em B.O.D. sem luz, regulada a 5 °C pelo período de 24 h. Em seguida, foi pipetada alíquota de 1 ml do sobrenadante, sendo a sua absorbância determinada em espectrofotômetro (Thermo Scientific, modelo Genesys 10S UV-Vis) nos comprimentos de onda 645 e 663 nm. O cálculo da concentração de clorofila, expresso em mg g⁻¹ de matéria seca, foi determinado por meio da seguinte fórmula:

$$\text{Clorofila total} = [(20,2 \times A_{645}) + (8,02 \times A_{663})] \times \text{FC}$$

Em que: A = absorbância no comprimento de onda subscrito

$$\text{FC} = \text{fator de correção} = \frac{\text{volume de acetona 80\% (ml)}}{\text{peso da amostra (g)}}$$

Delineamento experimental e análise estatística

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância. A normalidade e homogeneidade dos dados foram verificadas pelos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett, respectivamente. Foi realizada a análise de variância (ANOVA) e as médias das condições de armazenamento, de cada lote, foram comparadas entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), e comparadas em relação a época inicial pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$). Foi realizada análise multivariada de componentes principais (PCA) para todas as variáveis em estudo. A análise estatística foi realizada com auxílio do programa R (R Core Team, 2021).

Resultados e Discussão

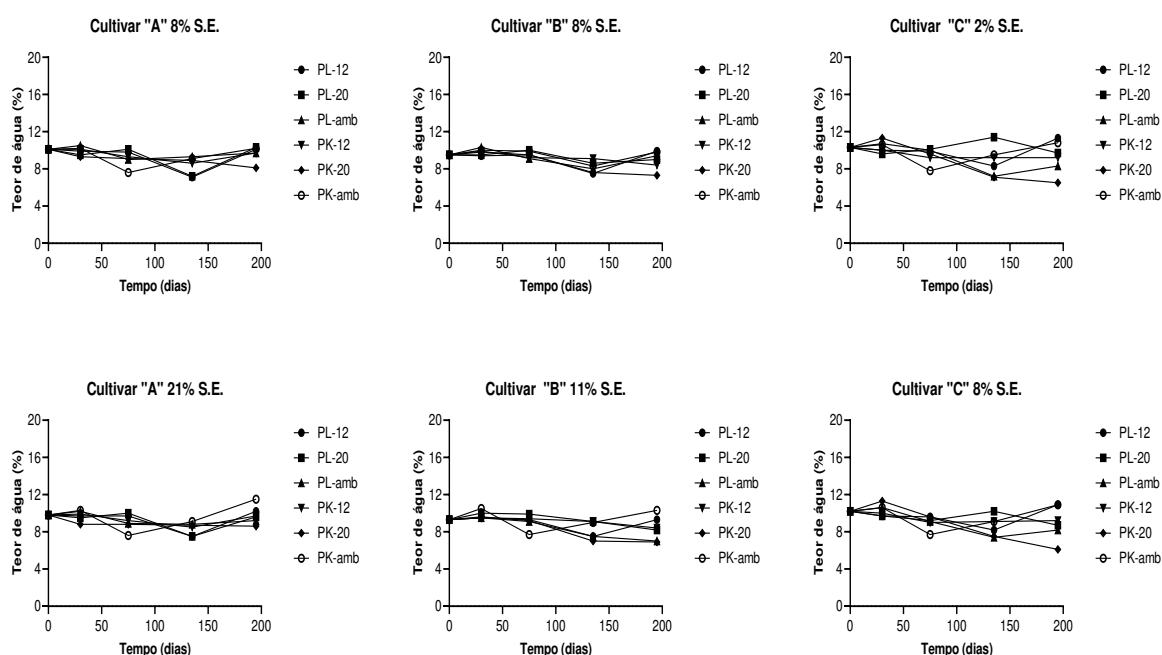
Os maiores valores de temperatura média e umidade relativa média foram observados na condição ambiente (Tabela 2). Nas demais condições de armazenamento, a umidade relativa foi similar.

Tabela 2. Temperatura média e umidade relativa média nos ambientes de armazenamento.

	Câmara Fria	Sala Climatizada	Ambiente
Temperatura média	11 °C ± 3,2	19 °C ± 1,8	23 °C ± 1,9

Umidade relativa média	$56\% \pm 11,4$	$56\% \pm 12,3$	$65\% \pm 9,0$
-----------------------------------	-----------------	-----------------	----------------

Inicialmente, o teor de água das sementes de todos os lotes foi de cerca de 10% (Figura 1). Houve variação do teor de água entre as condições de armazenamento para cada lote, e ao longo do tempo de armazenamento. Em geral, os teores de água variaram entre 7,0 e 10,5%. Apesar das variações observadas, o teor de água das sementes não foi superior a 12% em nenhum momento, sendo que na maior parte do tempo os valores oscilaram ao redor de 10%. Isso é importante, pois pode permitir o armazenamento seguro de sementes de soja, dependendo da temperatura ambiente (Smaniotto et al., 2014; França-Neto et al., 2016). Maior grau de umidade de sementes durante o armazenamento está relacionado com maior taxa respiratória, o que acelera a degradação de reservas e, conseqüentemente, a perda de qualidade (Chidananda et al., 2014; Ochandio et al., 2017).



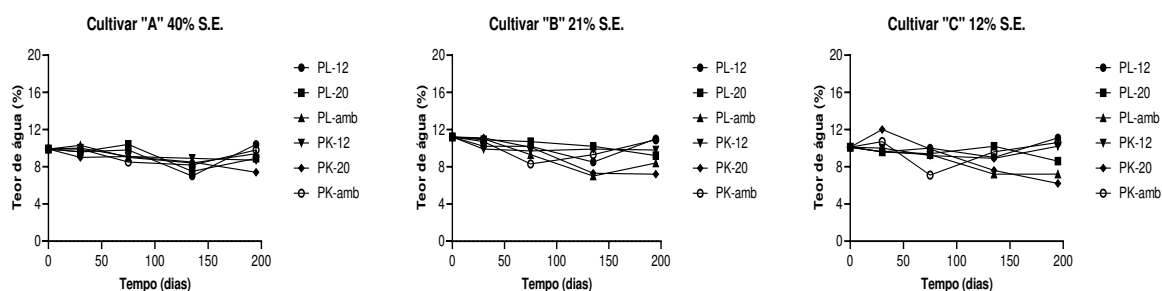
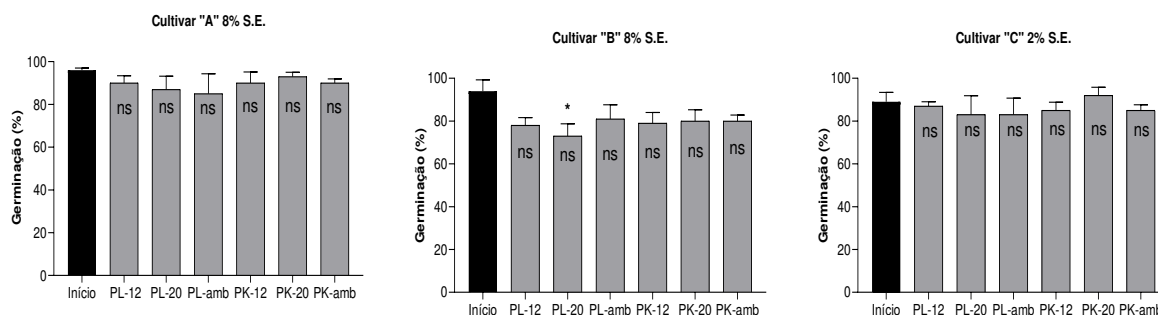
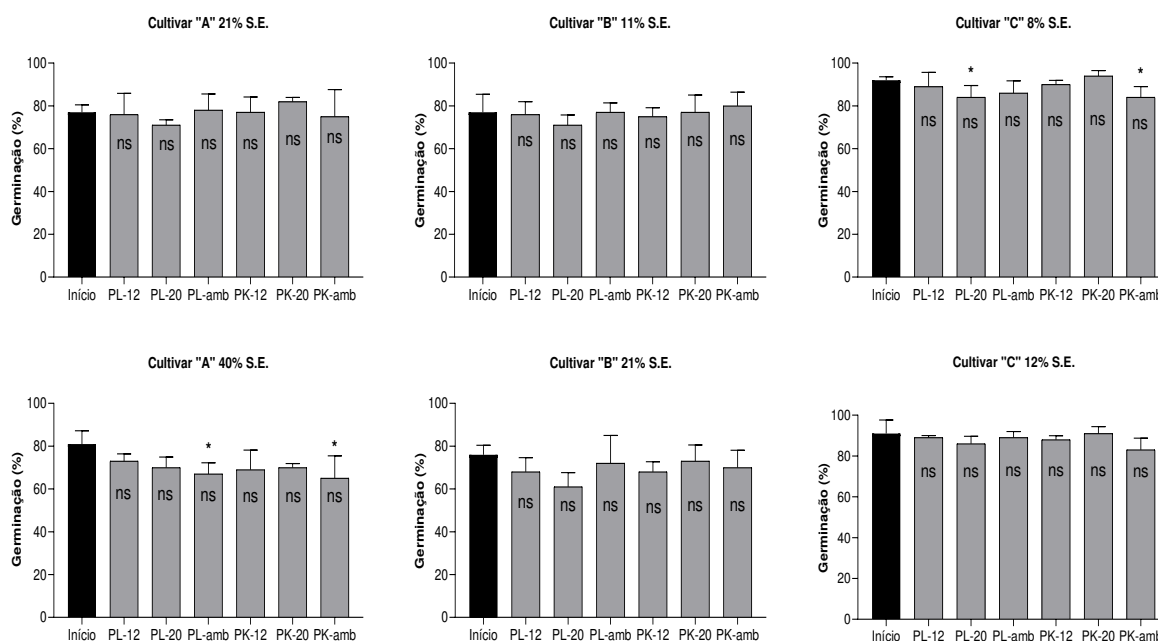


Figura 1. Teor de água de lotes de sementes de soja de diferentes cultivares e com diferentes proporções de sementes esverdeadas (S.E.) durante o armazenamento em embalagem plástica a 12 °C (PL-12), embalagem plástica a 20 °C (PL-20), embalagem plástica sob temperatura ambiente (PL-amb), embalagem de papel kraft a 12 °C (PK-12), embalagem de papel kraft a 20 °C (PK-20) e embalagem de papel kraft sob temperatura ambiente (PK-amb).

Para todos os lotes analisados, comparando-se as sementes armazenadas nas seis condições, foi observada germinação semelhante após o armazenamento. Esses resultados foram observados mesmo para os lotes de pior desempenho inicial (com maiores proporções de sementes esverdeadas), que apresentaram germinação de aproximadamente 80%, sendo este o valor mínimo estabelecido para a comercialização de sementes no país (MAPA, 2013) (Figura 2). Os lotes “A” com 21% de S.E., “B” com 11% de S.E. e “B” com 21% de S.E. apresentaram germinação de 77%. Apesar disso, eles foram armazenados para estudar o efeito das sementes esverdeadas no desempenho de lotes de baixa qualidade após o armazenamento. Observou-se também que os valores de germinação obtidos para a maioria das condições de armazenamento, para cada lote, foram estatisticamente semelhantes à condição inicial. Para o cultivar “A”, somente no lote com maior proporção de S.E., e armazenado nas condições de temperatura ambiente, houve redução da germinação em relação ao valor inicial obtido.





^{ns} não significativo pelo teste F ($p < 0,05$), comparando-se cada condição de armazenamento.

* Diferença significativa pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$), para cada condição de armazenamento em relação ao início.

Figura 2. Germinação de lotes de sementes de soja de diferentes cultivares e com diferentes proporções de sementes esverdeadas (S.E.) antes e após o armazenamento em embalagem plástica a 12 °C (PL-12), embalagem plástica a 20 °C (PL-20), embalagem plástica sob temperatura ambiente (PL-amb), embalagem de papel kraft a 12 °C (PK-12), embalagem de papel kraft a 20 °C (PK-20) e embalagem de papel kraft sob temperatura ambiente (PK-amb).

No cultivar “B”, somente o lote com 8% de S.E. e armazenado na condição PL-20 apresentou redução de desempenho em relação a condição inicial. Já para o cultivar “C”, a exceção foi para o lote com 8% de S.E., em que é possível observar redução de germinação quando as condições de armazenamento foram PL-20 e PK-amb, em relação ao início.

Além disso, com aumento da porcentagem de S.E., observou-se menor potencial germinativo nos cultivares “A” e “B”. Já para o cultivar “C”, que apresentou maior qualidade inicial das sementes, não se observou essa tendência.

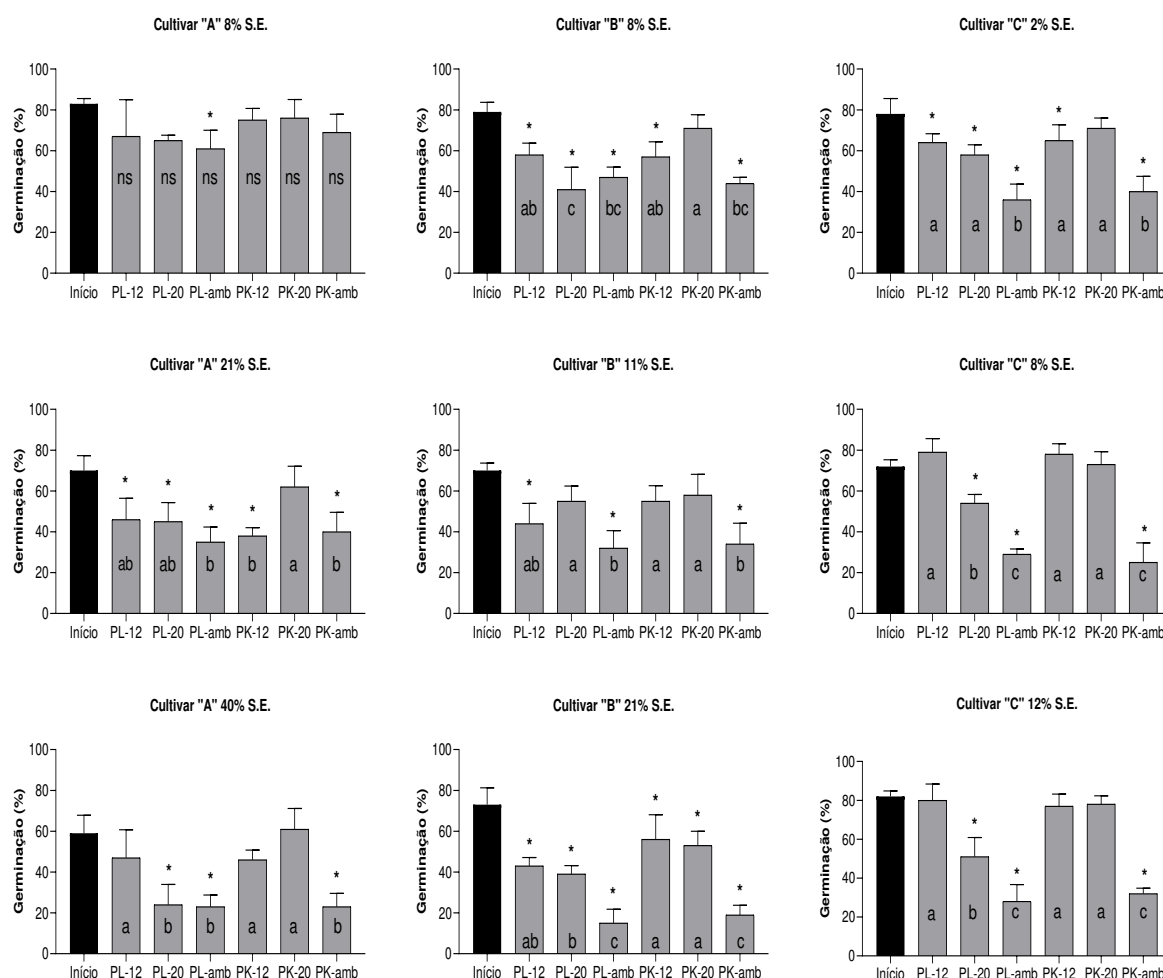
Há diversos relatos na literatura mostrando que lotes de sementes de soja com elevada qualidade inicial mantêm o potencial de germinação por alguns meses de armazenamento, mesmo em condições de temperatura ambiente (Smaniotto et al., 2014; Capilheira et al., 2019; Coradi et al., 2020). Porém, esses resultados são para lotes sem presença de sementes esverdeadas, que tendem a se conservar por mais tempo. Todavia, quando se trabalha com lotes de sementes de soja com presença de S.E., níveis superiores a 3% de S.E. já comprometem o desempenho do lote (Pádua et al., 2007). Acima de 9% de S.E. não se recomenda comercializar o lote como semente, porque com poucos meses (três a quatro) de armazenamento a qualidade

tende a ser seriamente comprometida (Costa et al., 2001; Pádua et al., 2007; França-Neto et al., 2012).

Os resultados obtidos no teste de germinação possivelmente estão ligados ao baixo teor de água das sementes. Durante o armazenamento, a taxa respiratória tende a ser mais influenciada pelo teor de água do que pela temperatura (Ochandio et al., 2017), o que afeta a velocidade de deterioração. Como os teores de água das sementes armazenadas nas diferentes condições de armazenamento foram próximos entre si e em relação a época inicial, com valores ao redor de 10%, houve maior conservação da qualidade das sementes. Smaniotto et al. (2014) citam também que o teor de água foi fator determinante para a manutenção do potencial germinativo de sementes de soja armazenadas por 180 dias, a 27 °C, em embalagens impermeáveis e com grau de umidade decrescendo de 12 para 11%. De fato, com o teor de água mais baixo nas sementes, alguns eventos que levam a deterioração tendem a ser inibidos, como a peroxidação de lipídios, considerada como um dos principais fatores que levam a perda de qualidade das sementes (Chidananda et al., 2014; Yin et al., 2015; Min et al., 2017).

No teste de envelhecimento acelerado, o lote com 8% de S.E. da cultivar “A”, apresentou desempenho similar em todas as condições de armazenamento, sendo que somente na condição PL-amb o lote apresentou redução de desempenho em relação à época inicial (Figura 3). No lote com 21% de S.E. do mesmo cultivar, somente a condição PK-20 contribuiu para manter o vigor das sementes, sem, entretanto, se diferenciar das condições PL-12 e PL-20. No lote com maior proporção de S.E. do cultivar “A” (40%), as sementes armazenadas nas condições PL-12, PK-12 e PK-20 apresentaram desempenho semelhante entre si e em relação à condição inicial.

Ainda pelo teste de envelhecimento acelerado, as sementes do lote com 8% de S.E., do cultivar “B”, armazenadas em PK-20, mantiveram o desempenho observado na época inicial. Nessa condição de armazenamento, o resultado foi estatisticamente semelhante àqueles obtidos nas condições PL-12 e PK-12. Já no lote com 11% de S.E., as condições PL-20, PK-12 e PK-20 contribuíram para desempenho similar àquele do início do armazenamento, sendo que nessas condições o desempenho do lote não diferiu das sementes em PL-12. Por fim, no lote com 21% de S.E., nenhuma das condições de armazenamento contribuiu para manter o desempenho inicial das sementes. As condições PK-12 e PK-20 se destacaram ao contribuírem para os melhores resultados, porém não diferindo da condição PL-12.



^{ns} não significativo pelo teste F ($p < 0,05$), comparando-se cada condição de armazenamento.

* Diferença significativa pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$), para cada condição de armazenamento em relação ao início.

Para cada lote, médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Figura 3. Germinação após o envelhecimento acelerado de lotes de sementes de soja de diferentes cultivares e com diferentes proporções de sementes esverdeadas (S.E.) antes e após o armazenamento em embalagem plástica a 12 °C (PL-12), embalagem plástica a 20 °C (PL-20), embalagem plástica sob temperatura ambiente (PL-amb), embalagem de papel kraft a 12 °C (PK-12), embalagem de papel kraft a 20 °C (PK-20) e embalagem de papel kraft sob temperatura ambiente (PK-amb).

No cultivar “C”, o lote com 2% de S.E. apresentou desempenho similar ao início do armazenamento somente na condição PK-20. Entre as condições de armazenamento, somente as sementes armazenadas sob temperatura ambiente, independente da embalagem, tiveram redução no vigor. Já no lote com 8% de S.E., além das condições de temperatura ambiente, na condição PL-20 também houve redução de desempenho do lote, enquanto as condições PL-12, PK-12 e PK-20 favoreceram a manutenção da qualidade das sementes, semelhante ao que ocorreu para o lote com 12% de S.E.

Com exceção do lote com 21% de S.E. do cultivar “B”, todos os demais lotes tiveram em comum o fato da condição PK-20 estar sempre entre as condições que contribuíram para os melhores resultados nos testes. Além disso, essa condição contribuiu para a manutenção do vigor das sementes observado inicialmente, conforme resultados obtidos no teste de envelhecimento acelerado. Isso é importante, pois indica a possibilidade de economizar energia por não ter que refrigerar até 12 °C e não haver necessidade de investir em embalagens plásticas, para condições de armazenamento como as do presente trabalho.

Além disso, novamente foi possível observar que, com o aumento da porcentagem de S.E., do lote com menos para aqueles com mais S.E., houve redução de desempenho das sementes no teste de envelhecimento acelerado para os lotes das cultivares “A” e “B”. Já para a cultivar “C” não foi observada essa redução, sugerindo que além da porcentagem de S.E., o nível de esverdeamento das sementes, reflexo dos teores de clorofila, e o potencial fisiológico inicial das sementes são fundamentais para sua longevidade.

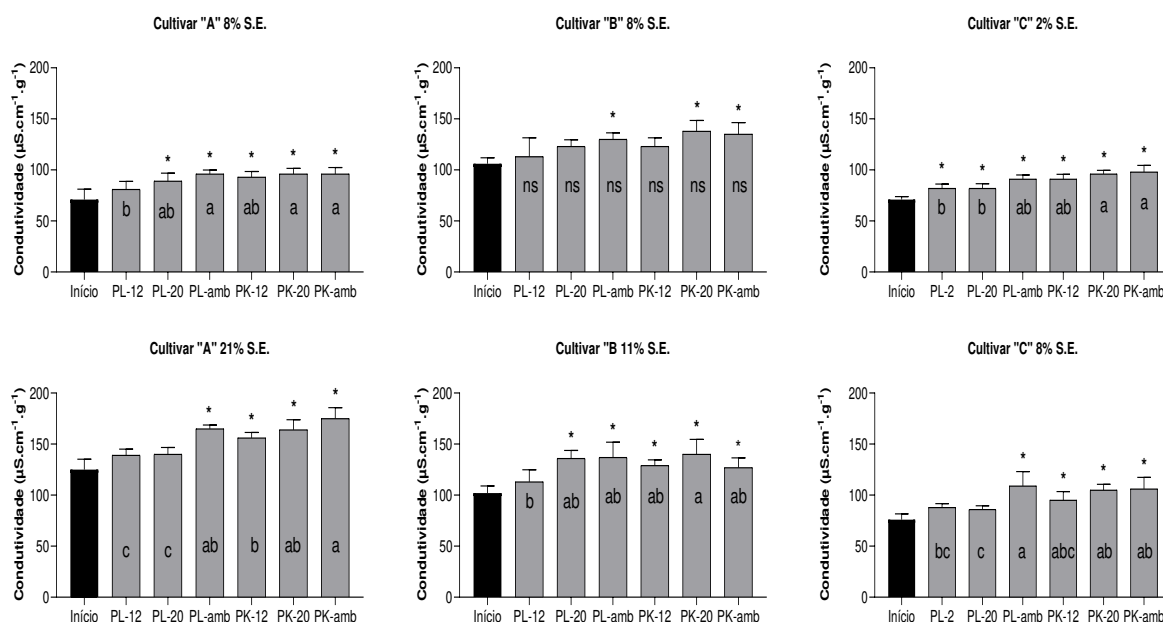
No teste de envelhecimento acelerado, as sementes são submetidas à condição de alta temperatura e alta umidade relativa, o que acelera processos de deterioração (Marcos-Filho, 2015). Por isso, esse teste pode indicar o potencial de armazenamento das sementes e emergência de plântulas em campo (Marcos-Filho, 2015; Batista et al., 2021). Porém, mesmo quando submetidos a esse estresse, na condição PK-20 em quase todos os lotes houve manutenção do desempenho após 195 dias de armazenamento.

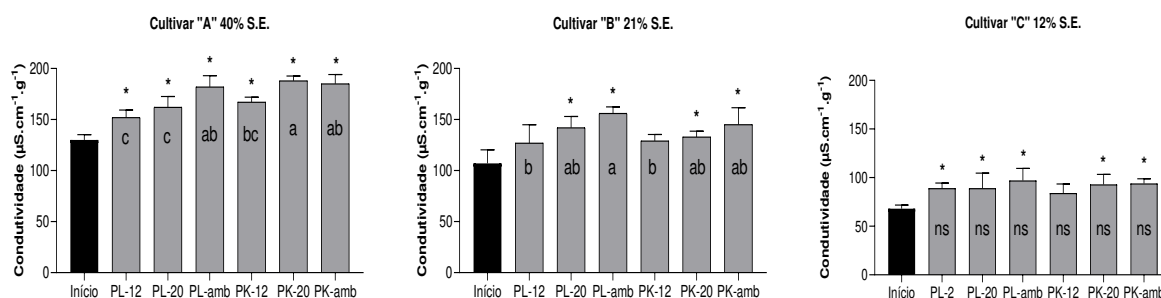
Em trabalho com sementes de soja de alta qualidade inicial, armazenadas em condição ambiente (20 °C) e embalagem porosa, o desempenho das sementes com 12% de teor de água no teste de envelhecimento acelerado se manteve estatisticamente semelhante até 45 dias de armazenamento (Capilheira et al., 2019). No presente trabalho, a manutenção do vigor das sementes por 195 dias, mesmo nos lotes de qualidade mais baixa, possivelmente está ligada ao teor de água das sementes próximo a 10% durante o armazenamento. Com o teor de água mais baixo nas sementes alguns eventos que levam à deterioração são inibidos, conforme citado anteriormente.

Todavia, é importante destacar que o teor de água foi próximo em todos os lotes e condições de armazenamento, e por isso era esperado melhor desempenho no armazenamento em embalagem plástica, da mesma forma que Capilheira et al. (2019) relataram, já que nessa condição os processos respiratórios e oxidativos tendem a ser menores (Ochandio et al., 2017). Assim, provavelmente outros fatores intrínsecos às sementes também contribuíram para os nossos resultados, como os teores de clorofila e a qualidade inicial.

No lote com 8% de S.E. do cultivar “A”, somente na condição PL-12, o valor de condutividade elétrica (CE) não diferiu quando comparado ao observado na época inicial (Figura 4). Porém, o valor de condutividade elétrica obtido para as sementes em PL-12 não diferiu daqueles observados nas condições PL-20 e PK-12. Já no lote com 21% de S.E., as condições PL-12 e PL-20 se destacaram entre as demais, contribuindo para obtenção de menores valores de CE, além de não terem diferido da condição inicial. No lote com 40% de S.E., novamente as condições PL-12 e PL-20 contribuíram para obtenção de menores valores nesse teste, porém não foi observada diferença em relação a condição PK-12. Todavia, nenhuma das condições de armazenamento desse lote permitiu manter o desempenho inicial das sementes.

No cultivar “B”, os valores de condutividade elétrica obtidos para as sementes do lote com 8% de S.E. não diferiram entre as condições de armazenamento, sendo que nas condições PL-12, PL-20 e PK-12, não houve diferença em relação à condição inicial. Já para o lote com 11% de S.E., na condição de armazenamento PL-12, o valor de CE obtido não diferiu do observado para as sementes antes do armazenamento, sendo similar ao observado nas sementes armazenadas nas condições PL-20, PL-amb, PK-12 e PK-amb. Enquanto no lote com 21% de S.E., nas condições PL-12 e PK-12 os resultados não diferiram da condição inicial. As sementes nessas condições apresentaram resultado de CE semelhantes às aquelas armazenadas em PL-20, PK-20 e PK-amb.





ns não significativo pelo teste F ($p < 0,05$), comparando-se cada condição de armazenamento.

* Diferença significativa pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$), para cada condição de armazenamento em relação ao início.

Para cada lote, médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Figura 4. Condutividade elétrica de lotes de sementes de soja de diferentes cultivares e com diferentes proporções de sementes esverdeadas (S.E.) antes e após o armazenamento em embalagem plástica a 12 °C (PL-12), embalagem plástica a 20 °C (PL-20), embalagem plástica sob temperatura ambiente (PL-amb), embalagem de papel kraft a 12 °C (PK-12), embalagem de papel kraft a 20 °C (PK-20) e embalagem de papel kraft sob temperatura ambiente (PK-amb).

Para o cultivar “C”, as condições de armazenamento do lote com 2% de S.E. não contribuíram para manutenção dos valores iniciais de CE. Os menores valores foram observados nas sementes armazenadas em PL-12 e PL-20, que não diferiram daquelas armazenadas em PL-amb e PK-12. Já no lote com 8% de S.E., as condições PL-12 e PL-20 contribuíram para manutenção dos valores de CE observados inicialmente, sendo que os valores obtidos foram semelhantes a todas as outras condições de armazenamento, com exceção das sementes armazenadas em PL-amb. No lote com 12% de S.E., somente em PK-12 não houve aumento da CE em relação à época inicial, sendo que o valor não diferiu daqueles observados nas outras condições de armazenamento.

Os trabalhos com sementes de soja indicam que aumento da porcentagem de S.E. e do tempo de armazenamento resultam em aumento dos valores de condutividade elétrica (Pádua et al., 2007; Zorato et al., 2007; Pardo et al., 2015; Teixeira et al., 2020). Em trabalho com S.E. de canola, também foram observados resultados semelhantes (Onyilagha et al., 2011).

De fato, foi observado que para a maioria das condições de armazenamento houve aumento da CE em relação à época inicial. Porém, somente nos cultivares “A” e, de forma menos evidente, “B”, foi possível observar aumento da condutividade com o aumento da porcentagem de S.E. nos lotes, ainda que estatisticamente não significativo. Esses resultados sugerem que além da porcentagem de S.E., a qualidade inicial das sementes, influenciada pelo ambiente durante a maturação e o nível de esverdeamento das sementes são determinantes para o desempenho dos lotes, visto que mesmo no lote com 12% de S.E. do cultivar “C” não

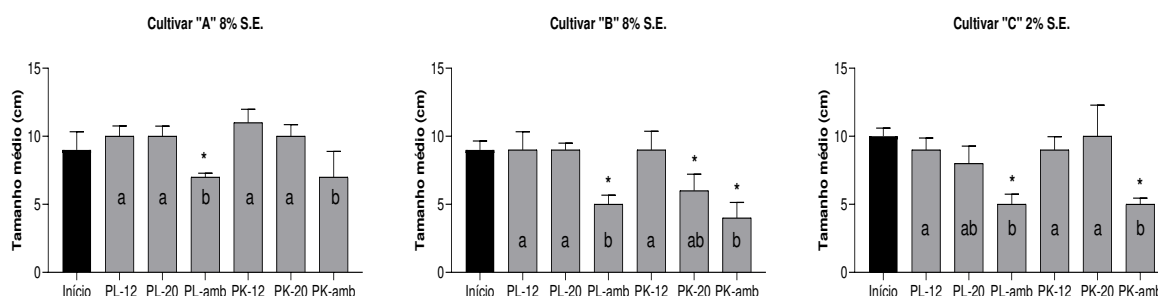
observamos propensão de aumento da condutividade elétrica em relação ao lote com 2% de S.E. do mesmo cultivar.

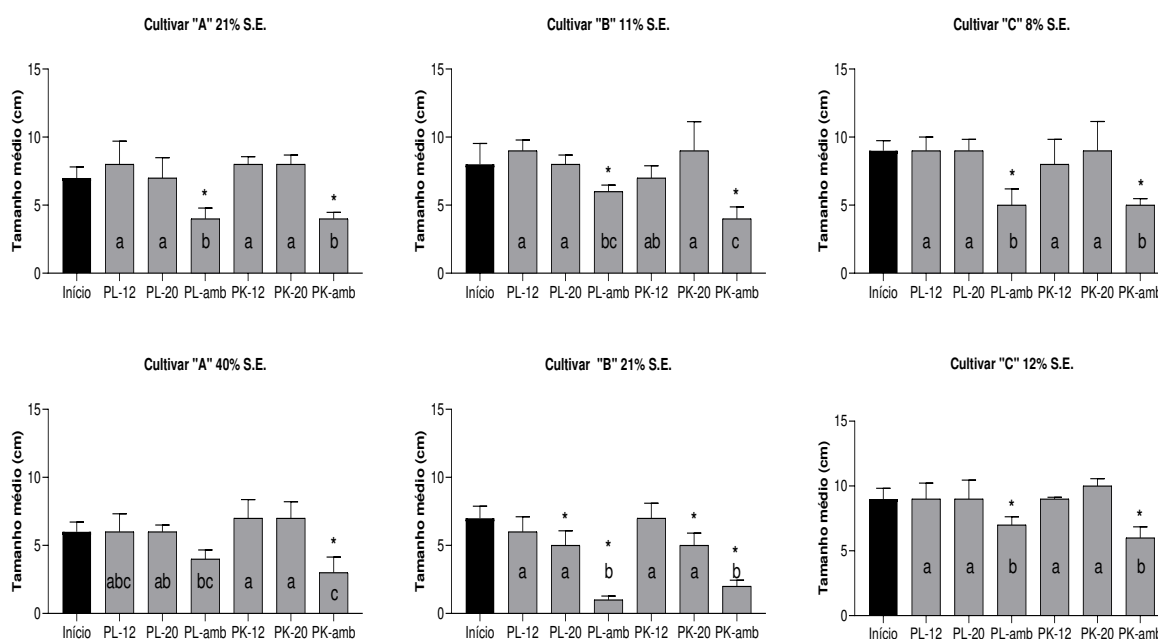
Um dos primeiros eventos indicadores do processo de deterioração é a perda da integridade do sistema de membranas, o que é avaliado indiretamente pelo teste de condutividade elétrica (Marcos-Filho, 2015; Zhang et al., 2021). Esse teste foi mais eficiente do que o teste de envelhecimento acelerado para demonstrar diferenças na qualidade das sementes de lotes com proporções distintas de S.E. (Pádua et al., 2007; Teixeira et al., 2020), o que demonstra a sensibilidade do teste para indicar a perda de qualidade em lotes com níveis elevados de S.E.

Maiores valores de CE sugerem pior qualidade das sementes, o que indica menor integridade do sistema de membranas celulares. A reorganização mais lenta das membranas celulares nessas sementes durante a embebição leva à maior lixiviação de diversos solutos (Marcos-Filho, 2015; Ebone, Caverzan e Chavarria, 2019).

Na condição de embalagem plástica (PL-20 e PL-12, principalmente), os resultados apontam para menores valores de CE. Isso indica que nessas condições, mantidas com concentração reduzida de oxigênio, os processos oxidativos podem ter sido inibidos, o que reduz a possibilidade de produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e a peroxidação de lipídios (Ochandio et al., 2017). A peroxidação de lipídios é um dos eventos que podem reduzir a integridade do sistema de membranas (Yin et al., 2015; Min et al., 2017; Ebone, Caverzan e Chavarria, 2019).

No teste de comprimento de plântulas, em quase todos os lotes, houve redução significativa do tamanho médio das plântulas quando as sementes foram armazenadas sob temperatura ambiente. Isso foi observado em quase todas as outras condições de armazenamento e menor em relação a condição inicial (Figura 5).





* Diferença significativa pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$), para cada condição de armazenamento em relação ao início.

Para cada lote, médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Figura 5. Comprimento de plântulas de lotes de sementes de soja de diferentes cultivares e com diferentes proporções de sementes esverdeadas (S.E.) antes e após o armazenamento em embalagem plástica a 12 °C (PL-12), embalagem plástica a 20 °C (PL-20), embalagem plástica sob temperatura ambiente (PL-amb), embalagem de papel kraft a 12 °C (PK-12), embalagem de papel kraft a 20 °C (PK-20) e embalagem de papel kraft sob temperatura ambiente (PK-amb).

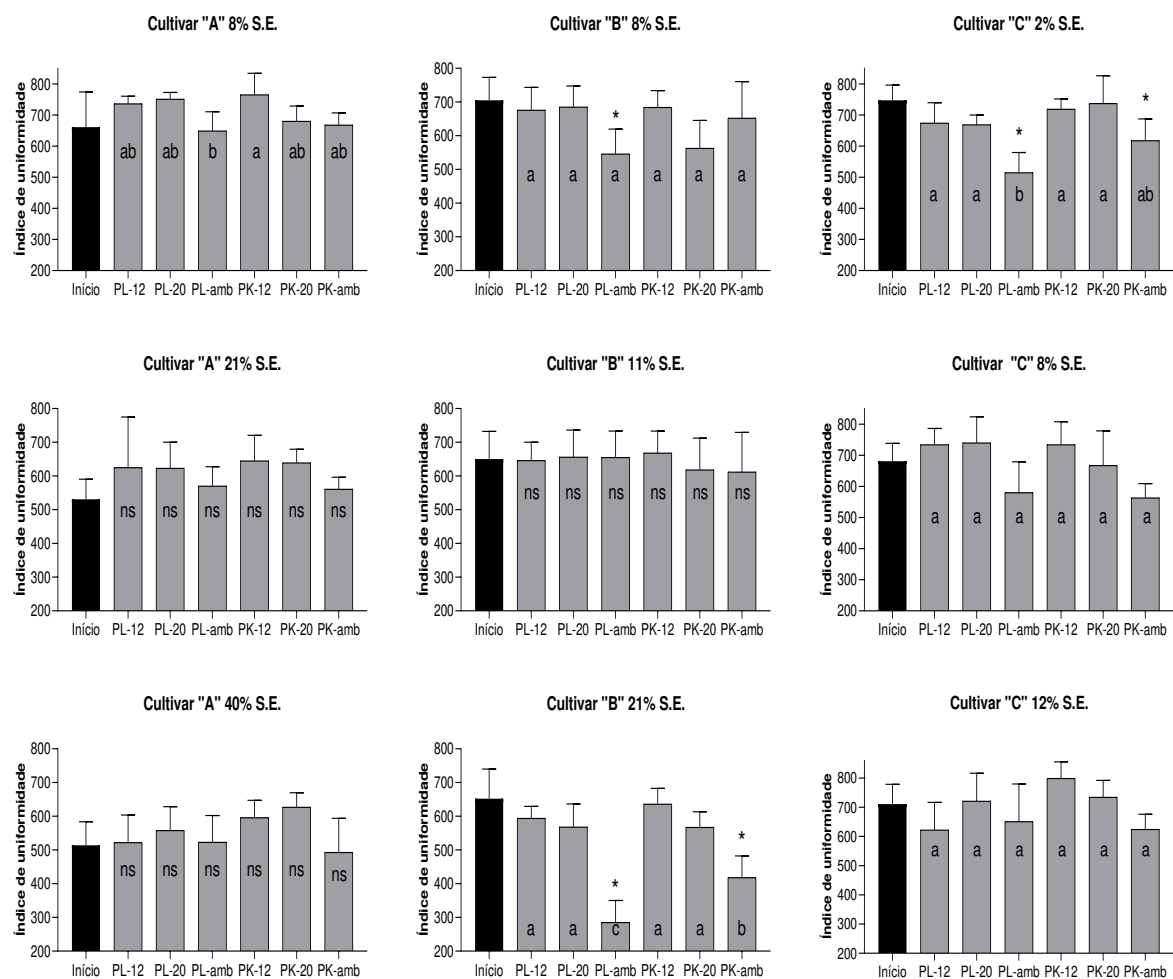
No cultivar “B”, além das condições de temperatura ambiente, na condição PK-20 foram observados menores valores de comprimento de plântulas, em relação ao início, para o lote com 8% de S.E. Já no lote com 21% de S.E., nas condições de armazenamento PL-amb e PK-amb, houve redução nos valores de comprimento de plântulas em relação a época inicial. Nas sementes armazenadas em PL-20 e PK-20, o desempenho também foi reduzido em relação a época inicial, porém os resultados foram semelhantes aos obtidos para as sementes armazenadas em PL-12 e PK-12.

Novamente é possível observar que, em geral, a condição PK-20 sempre esteve entre as condições que proporcionaram melhor desempenho dos lotes no teste de comprimento de plântulas. Isso indica mais uma vez que não há necessidade de investir em temperatura de 12 °C e nem em embalagens plásticas, para condições de armazenamento como as do presente trabalho.

Além disso, os resultados apontam que, com o aumento da porcentagem de S.E., houve redução do tamanho médio das plântulas para os três cultivares, o que indica a elevada sensibilidade do teste para revelar diferenças de qualidade fisiológica das sementes. Redução

do comprimento de plântulas proveniente de lotes com maiores níveis de S.E. também foram relatados por Zorato et al. (2007) e Teixeira et al. (2020).

Em geral, nas seis condições de armazenamento, os lotes apresentaram a mesma uniformidade de plântulas, mesmo para os lotes de qualidade inicial inferior (Figura 6). As exceções ocorreram nos lotes com 8% e 21% de S.E. do cultivar “B” e no lote com 2% de S.E. do cultivar “C”. Em ambos, somente as condições de temperatura ambiente não contribuíram para manter o desempenho dos lotes em relação às demais condições e, ou, em relação à época inicial.



ns não significativo pelo teste F ($p < 0,05$), comparando-se cada condição de armazenamento.

* Diferença significativa pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$), para cada condição de armazenamento em relação ao início.

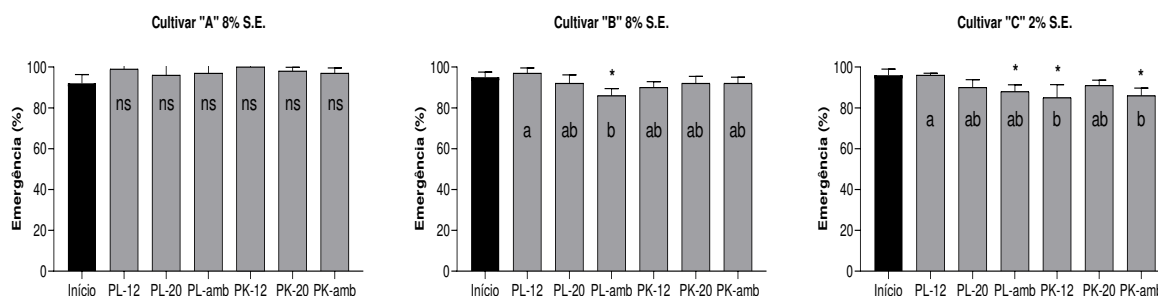
Para cada lote, médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

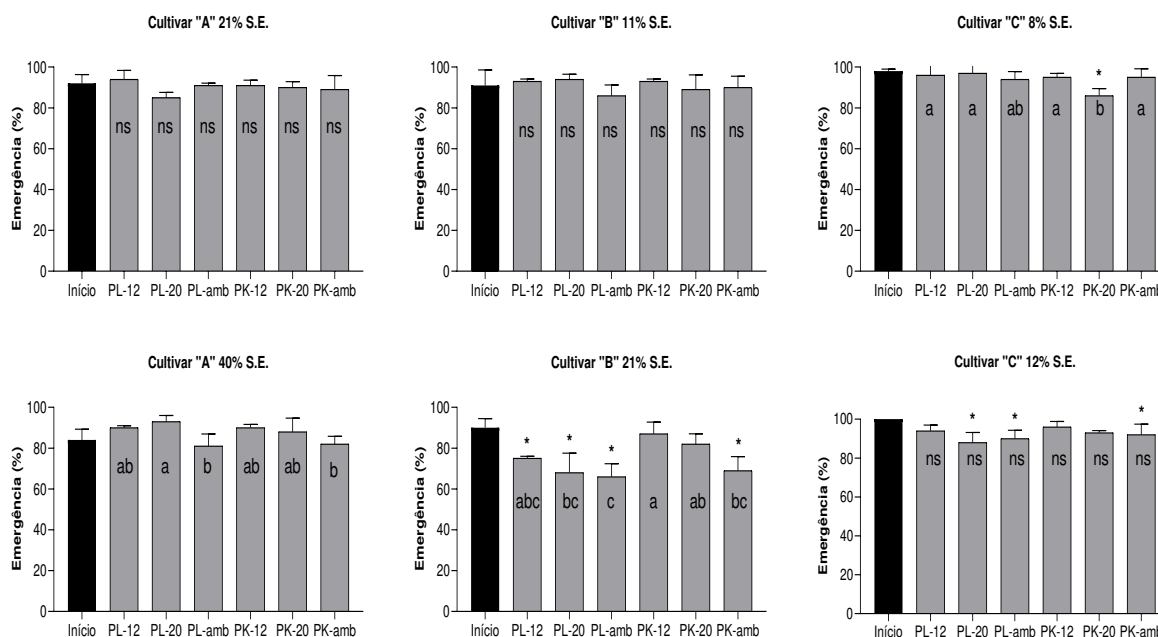
Figura 6. Índice de uniformidade de plântulas de lotes de sementes de soja de diferentes cultivares e com diferentes proporções de sementes esverdeadas (S.E.) antes e após o armazenamento em embalagem plástica a 12 °C (PL-12), embalagem plástica a 20 °C (PL-20), embalagem plástica sob temperatura ambiente (PL-amb), embalagem de papel kraft a 12 °C (PK-12), embalagem de papel kraft a 20 °C (PK-20) e embalagem de papel kraft sob temperatura ambiente (PK-amb).

Esses resultados são importantes, pois plântulas desuniformes podem refletir em campo com produção desuniforme, podendo resultar em queda de produção (Finch-Savage e Bassel, 2016; Ebone, Caverzan e Chavarria, 2019). Além disso, os resultados indicam que o teste foi sensível para distinguir lotes com diferentes níveis de S.E. Com o aumento da porcentagem de S.E., os dados apontaram para redução da uniformidade de plântulas, em todos os lotes avaliados.

No teste de emergência em areia, após 195 dias de armazenamento, todos os lotes do cultivar “A” apresentaram desempenho estatisticamente semelhante à condição inicial (Figura 7). Para os lotes com 8% e com 21% de S.E., o desempenho das sementes armazenadas nas seis condições foi semelhante. Já o lote com 40% de S.E. armazenado nas condições temperatura ambiente apresentou menor emergência de plântulas comparado às sementes armazenadas na condição PL-20.

No lote com 11% de S.E. do cultivar “B”, o resultado de emergência de plântulas das sementes armazenadas nas seis condições foi semelhante e similar em relação à época inicial. Já as sementes do lote com 8% de S.E., apresentaram redução de desempenho em relação ao início do armazenamento somente na condição PL-amb, sendo esse resultado estatisticamente menor do que quando foram armazenadas em PL-12. Enquanto no lote com 21% de S.E., a emergência de plântulas se manteve semelhante ao da época inicial somente quando armazenadas nas condições PK-12 e PK-20, sendo esses resultados semelhantes ao da condição PL-12. O resultado das sementes em PK-20 foi semelhante também aos observados em PL-20 e PK-amb.





^{ns} não significativo pelo teste F ($p < 0,05$), comparando-se cada condição de armazenamento.

* Diferença significativa pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$), para cada condição de armazenamento em relação ao início.

Para cada lote, médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Figura 7. Emergência em areia de lotes de sementes de soja de diferentes cultivares e com diferentes proporções de sementes esverdeadas (S.E.) antes e após o armazenamento em embalagem plástica a 12 °C (PL-12), embalagem plástica a 20 °C (PL-20), embalagem plástica sob temperatura ambiente (PL-amb), embalagem de papel kraft a 12 °C (PK-12), embalagem de papel kraft a 20 °C (PK-20) e embalagem de papel kraft sob temperatura ambiente (PK-amb).

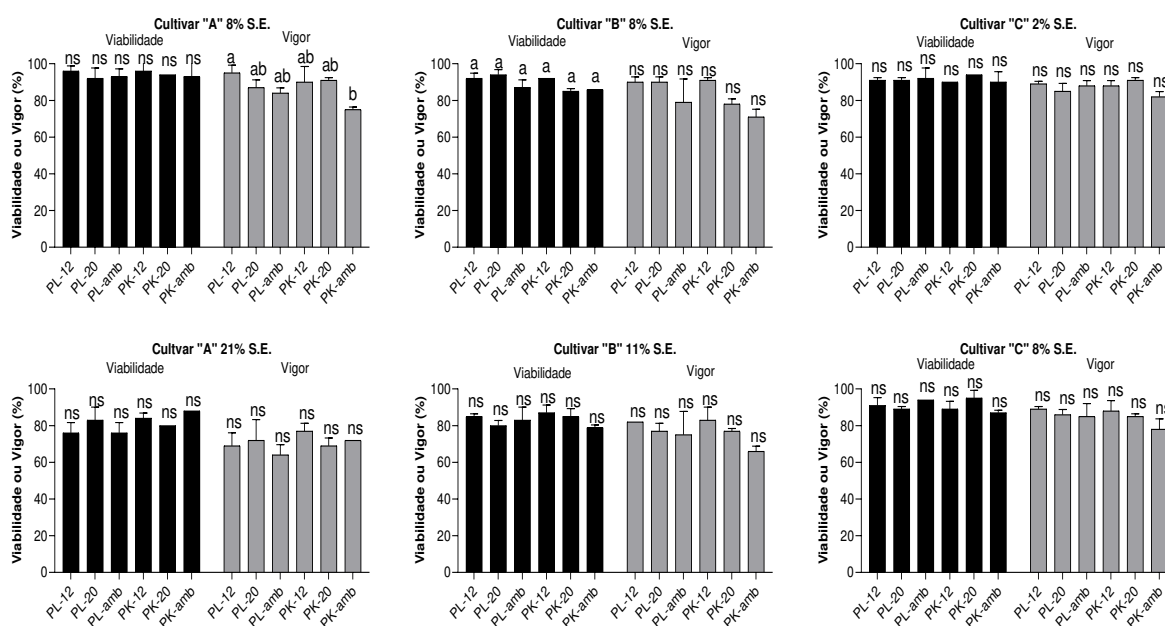
Para o cultivar "C", o lote com 2% de S.E. apresentou resultado similar àquele obtido na época inicial nas condições de armazenamento PL-12, PL-20 e PK-20. Somente as sementes armazenadas em PK-12 e PK-amb apresentaram resultado inferior quando comparado a condição foi PL-12. O lote com 8% de S.E. apresentou menor emergência de plântulas, em relação ao início, quando armazenado em PK-20, sendo o resultado estatisticamente semelhante a PL-amb, e menor em relação as demais condições. Já no lote com 12% de S.E. não houve diferença nos resultados das sementes armazenadas nas seis condições, porém nas condições PL-20, PL-amb e PK-amb o desempenho do lote foi menor em relação a época inicial.

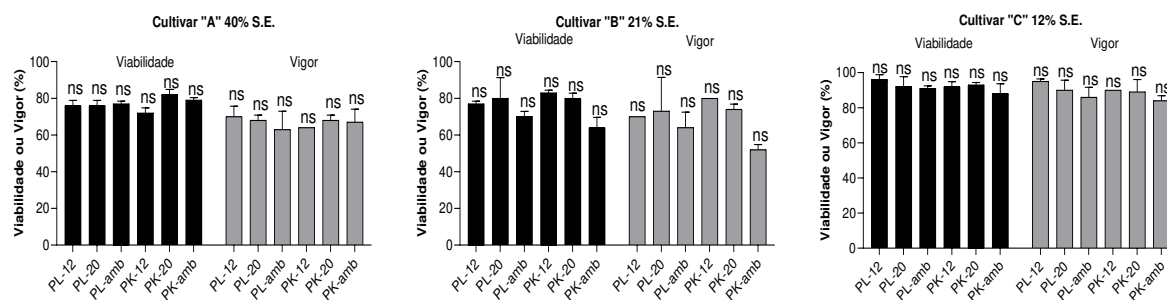
Para o cultivar "A", os resultados indicam propensão de menor desempenho no teste de emergência com o aumento da porcentagem de S.E. nos lotes. Para o cultivar "B", o lote com 21% de S.E. apresentou tendência mais evidente de redução na emergência de plântulas comparado aos outros lotes. Já para o cultivar "C", o desempenho dos lotes com 8% e 12% de S.E. foi semelhante, enquanto no lote com 2% de S.E., houve redução da emergência de plântulas.

O teste de emergência de plântulas tem grande importância, pois a redução de desempenho nesse teste pode indicar falhas de emergência no campo, comprometendo a produção (Finch-Savage e Bassel, 2016). Para a maioria dos lotes e condições de armazenamento, o desempenho das sementes foi favorecido em relação aos resultados do teste de germinação, uma vez que a condução do teste de emergência sob temperatura constante de 25 °C e reposição periódica de água no substrato foram favoráveis à obtenção de maiores valores de emergência de plântulas. Além disso, as características do teste de avaliar somente a parte aérea das plântulas, permitir melhor aeração do substrato e ausência de contato entre plântulas também favoreceram a obtenção de valores superiores aos obtidos no teste de germinação.

Os resultados de viabilidade do teste de tetrazólio corroboram com os de germinação, mostrando que o desempenho das sementes nas seis condições de armazenamento foi semelhante em cada lote após 195 dias de armazenamento, mesmo para os lotes que inicialmente tinham menor nível de qualidade fisiológica, ou seja, os que apresentaram maior proporção de S.E. (Figura 8).

Com relação ao vigor, avaliado pelo teste de tetrazólio, o desempenho dos lotes nas condições de armazenamento foi similar ao resultado da viabilidade, o que indica que esse teste não foi sensível para discriminar o desempenho dos lotes nas seis condições de armazenamento, após 195 dias de armazenamento. Somente o lote com 8% de S.E. do cultivar “A”, armazenado na condição PK-amb, apresentou redução de desempenho em relação a PL-12.





ns não significativo pelo teste F ($p < 0,05$), comparando-se cada condição de armazenamento e em cada variável. Para cada lote e variável, médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Figura 8. Viabilidade e vigor do teste de tetrazólio de lotes de sementes de soja de diferentes cultivares e com diferentes proporções de sementes esverdeadas (S.E.) após o armazenamento em embalagem plástica a 12 °C (PL-12), embalagem plástica a 20 °C (PL-20), embalagem plástica sob temperatura ambiente (PL-amb), embalagem de papel kraft a 12 °C (PK-12), embalagem de papel kraft a 20 °C (PK-20) e embalagem de papel kraft sob temperatura ambiente (PK-amb).

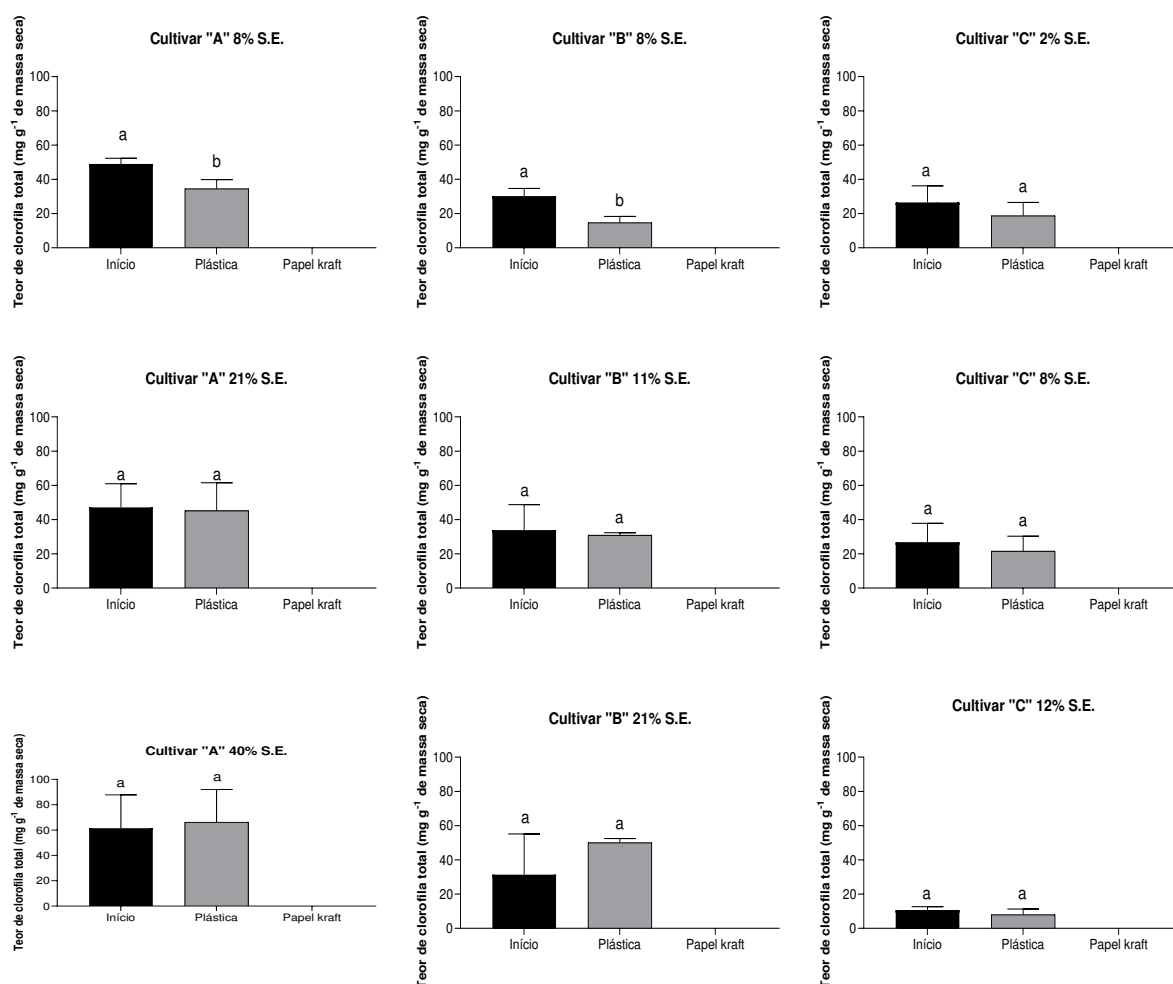
Apesar disso, é nítida a tendência de piora de desempenho nos testes de viabilidade e vigor com o aumento de S.E. nos lotes dos cultivares “A” e “B”. Resultados semelhantes foram obtidos por Teixeira et al. (2020), o que demonstra, portanto, a sensibilidade do teste para distinguir lotes com níveis distintos de S.E. Já o resultado para o cultivar “C” nos revela mais uma vez que, além da porcentagem de S.E., o nível de esverdeamento, reflexo do teor de clorofila, e a qualidade inicial do lote são determinantes para seu desempenho após o armazenamento.

Embora o potencial germinativo das sementes de todos os lotes avaliados tenha se mantido semelhante entre as condições de armazenamento, os resultados demonstram que o vigor foi reduzido, principalmente nas condições de temperatura ambiente, seja na embalagem plástica ou de papel kraft. Como a temperatura ambiente foi maior que nas condições controladas e os valores de umidade foram semelhantes em todos os tratamentos, a maior temperatura possivelmente contribuiu para maior intensidade de deterioração das sementes armazenadas nesta condição.

Baseado nos testes de comprimento de plântulas, índice de uniformidade, emergência e tetrazólio, foi possível observar tendência de desempenho semelhante das sementes nas condições de armazenamento em embalagens plástica e de papel kraft nas temperaturas de 12 e 20 °C, e em relação à época inicial. Diante disso, torna-se economicamente mais vantajoso utilizar o armazenamento na temperatura de 20 °C, para situações de umidade relativa e teor de água das sementes como as observadas no presente trabalho. Por esse motivo, a quantificação da clorofila foi realizada somente nos lotes armazenados nas condições PL-20 e PK-20.

Em todos os lotes não foi detectada a presença da clorofila nas sementes armazenadas em embalagem de papel kraft (Figura 9), o que sugere a degradação deste pigmento durante o

armazenamento das sementes. Já para a embalagem plástica, na maioria dos lotes os teores de clorofila se mantiveram semelhantes àqueles observados na época inicial. As exceções foram os lotes “A” com 8% de S.E. e “B” com 8% de S.E. que apresentaram menor teor de clorofila em relação ao início.



Para cada lote, médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste F ($p < 0,05$).

Figura 9. Teor de clorofila inicial e após 195 dias de lotes de sementes de soja armazenados nas condições de embalagem plástica e de papel kraft na temperatura de 20 °C.

Conforme citado, nos cultivares “A” e “B” foi observado aumento da condutividade elétrica com o aumento da porcentagem de S.E., bem como aumento da condutividade elétrica com o armazenamento. Esse aumento foi acompanhado também pela tendência de incremento nos teores de clorofila das sementes armazenadas em PL-20, mas não em PK-20, com o aumento da porcentagem de S.E. em cada genótipo.

Já no cultivar “C” não houve aumento da condutividade elétrica com o aumento da porcentagem de S.E. nos lotes, e não houve aumento dos teores de clorofila, com o incremento de S.E. dos lotes, em nenhuma das embalagens utilizadas. Isso indica que o teste de condutividade elétrica não foi eficiente para segregar esses lotes com níveis crescentes de S.E., nas condições deste estudo.

Ademais, a menor degradação da clorofila nas sementes armazenadas na embalagem plástica indica menor oxidação nas sementes, o que supõe menor deterioração. Em outros trabalhos com sementes de soja foi relatado que embalagem plástica proporcionou manutenção da qualidade das sementes, possivelmente por limitar o processo respiratório, o que se reflete na taxa de deterioração (Ochandio et al., 2017; Capilheira et al., 2019).

De fato, os resultados apontaram para melhor desempenho no teste de condutividade elétrica das sementes armazenadas em PL-20. Entretanto, isso não se refletiu em melhor desempenho no teste de envelhecimento acelerado, indicador do potencial de armazenamento.

Na maioria dos testes de vigor, como crescimento de plântulas, índice de uniformidade de plântulas e tetrazólio, o armazenamento em embalagem de papel kraft ou plástica na temperatura de 20 °C proporcionou resultados semelhantes. Todavia, pode-se observar que em geral, com o aumento da porcentagem de S.E. em cada genótipo, houve tendência de redução de desempenho no teste de envelhecimento acelerado das sementes armazenadas na embalagem plástica.

Isso pode estar relacionado com a maior conservação da clorofila das sementes armazenadas na embalagem plástica, em relação a de papel kraft. Um dos fatores que levam à degradação da clorofila é a presença do oxigênio (Borrmann et al., 2009). Porém, as embalagens plásticas apresentavam concentração reduzida de oxigênio, visando reduzir as reações de oxidação, fundamentais nos processos deteriorativos (Ebone, Caverzan e Chavarria, 2019; Zhang et al., 2021). Portanto, essa condição de armazenamento pode ter contribuído para manutenção dos teores de clorofila das sementes.

Além disso, a degradação da clorofila também está relacionada com a produção do antioxidante tocoferol, reconhecido como um dos principais compostos antioxidantes em sementes de soja, com atuação de destaque em membranas biológicas (Sattler et al., 2004; vom Dorp et al., 2015). Em trabalho com sementes de soja, Giurizatto et al. (2012) relataram aumento dos níveis de tocoferol com o armazenamento. Sendo assim, é possível que o armazenamento em embalagem de papel kraft tenha favorecido a degradação da clorofila, ao mesmo tempo em que favoreceu o acúmulo desse antioxidante.

Sementes com maior teor de clorofila são mais sensíveis a estresses, como o causado pelo envelhecimento acelerado (Smolikova, Laman e Boriskevich, 2011). A clorofila é facilmente excitada, e o fato dela participar da cadeia de transporte de elétrons não funcional, visto que as membranas dos tilacoides dos cloroplastos se desintegram em sementes maduras, pode resultar na formação adicional de espécies reativas de oxigênio (EROs) e de radicais livres capazes de induzir estresse oxidativo e acelerar a deterioração das sementes (Smolikova, Laman e Boriskevich, 2011; Smilikova e Medvedev, 2016; Taiz et al., 2017; Noctor et al., 2018).

Diante disso, os resultados observados indicam que duas situações podem ter ocorrido simultaneamente. A menor disponibilidade de oxigênio na condição de armazenamento em embalagem plástica pode ter contribuído para reduzir as reações de oxidação, o que favoreceu a conservação das sementes. Porém, nessa mesma condição a degradação da clorofila foi menos intensa e isso pode ter causado maior estresse oxidativo nas sementes, conforme relatado por Smolikova, Laman e Boriskevich, (2011).

Assim, os resultados sugerem que a manutenção da qualidade das sementes armazenadas na condição PK-20, conforme resultados obtidos com o teste de envelhecimento acelerado, se deve a maior degradação da clorofila e ao baixo teor de água mantido durante o período de armazenamento, o que também minimiza reações de oxidação (Ebene, Caverzan e Chavarria, 2019).

Em síntese, a análise de componentes principais (PCA) evidenciou o desempenho distinto dos lotes e entre os genótipos (Figura 10). Para o cultivar “A” (Figura 10 A), enquanto os lotes com 21 e 40% de S.E., nas seis condições de armazenamento, se concentraram juntamente com o vetor da condutividade elétrica, o lote com menos S.E., em todas as condições de armazenamento, se posicionou no lado oposto, próximo aos outros vetores dos demais testes de qualidade, o que indica maior qualidade fisiológica das sementes deste lote.

Para o cultivar “B” (Figura 10 B), o vetor do teste de condutividade elétrica ficou mais próximo, principalmente, dos lotes armazenados nas condições de temperatura ambiente, independentemente da proporção de S.E. Já os outros vetores e a maioria dos outros lotes ficaram posicionados em posição oposta. Comportamento semelhante foi observado no cultivar “C” (Figura 10 C).

Na figura 10 D está representada a PCA incluindo todos os lotes de todos os cultivares armazenados nas condições de embalagem plástica e de papel kraft, na temperatura de 20 °C. Os lotes com mais S.E. dos cultivares “A” e “B”, além do lote com 8% de S.E. do cultivar “B” na condição PK-20, se posicionaram em posição oposta aos demais lotes, juntamente com os

vetores da condutividade elétrica e do teor de clorofila. Isso demonstra que os teores de clorofila são tão importantes quanto a porcentagem de S.E., visto que mesmo o lote com mais S.E. (12%) do cultivar “C”, se posicionou juntamente com os demais lotes e do mesmo lado dos outros vetores dos testes de qualidade. Essa informação se torna mais relevante ao analisarmos a literatura que cita o limite de 9 ou 10% de S.E. para o lote ser propício para o comércio (Costa et al., 2001; Pádua et al., 2007). Além disso, observa-se que o vetor do teor de clorofila está mais próximo dos lotes armazenados na condição de embalagem plástica, ilustrando a maior conservação da clorofila naquela condição de armazenamento. No entanto, a manutenção dos teores de clorofila das sementes durante o armazenamento, não foi favorável à manutenção da qualidade das sementes.

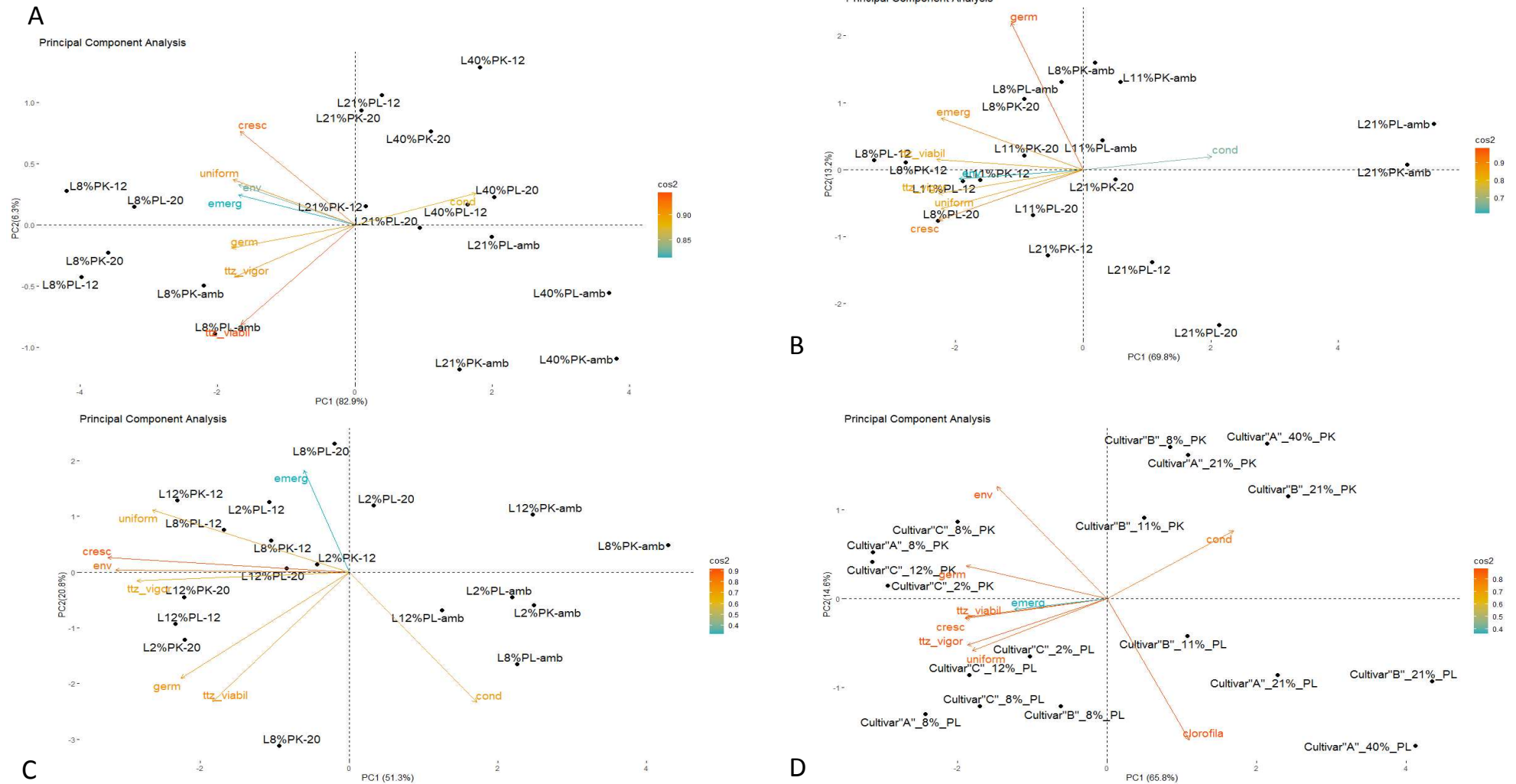


Figura 10. Análise de componentes principais (PCA) das variáveis germinação (germ), envelhecimento acelerado (env), condutividade elétrica (cond), crescimento de plântulas (cresc), índice de uniformidade de plântulas (uniform), emergência (emerg), viabilidade no tetrazólio (ttz_viabil) e vigor no tetrazólio (ttz_vigor) dos lotes dos cultivares “A” (A), “B” (B) e “C” (C) armazenados nas condições de embalagem plástica 12 °C (PL-12), plástica 20 °C (PL-20), plástica ambiente (PL-amb), papel kraft 12 °C (PK-12), papel kraft 20 °C (PK-20) e papel kraft ambiente (PK-amb). PCA das variáveis germ, env, cond, cresc, uniform, emerg, ttz_viabil, ttz_vigor e clorofila dos lotes de todos os cultivares armazenados nas condições de embalagem plástica e de papel kraft 20 °C (D).

Conclusões

Em ambiente com umidade relativa de 56% e temperatura de 20 °C houve manutenção da qualidade dos lotes de sementes de soja armazenadas com teor de água de 10%, independente da proporção de sementes esverdeadas.

Nas sementes armazenadas em embalagem plástica e temperatura de 20 °C, a degradação da clorofila foi menor e isso contribuiu para redução do vigor das sementes.

Assim como a porcentagem de sementes esverdeadas e o desempenho inicial do lote, o teor de clorofila nas sementes é determinante para seu desempenho após o armazenamento, sendo que maiores teores de clorofila levam à redução mais drástica da qualidade das sementes.

Referências

BATISTA, T.H.; PERISSATO, S.M.; REGO, C.H.Q.; OLIVEIRA, G.R.F.; HENNING, F.A.; SILVA, E.A.A. Is it possible to estimate longevity through the analyses used to measure the initial physiological potential in soybean seeds? **Journal of Seed Science**, v.43, p. 1-8, 2021.

BORRMANN, D.; ANDRANDE, J.C.; LANFER-MARQUEZ, U.M. Chlorophyll degradation and formation of colorless chlorophyll derivatives during soybean (*Glycine max* L. Merrill) seed maturation. **J. Agric. Food Chem.**, v.57, p.2030-2034, 2009.

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

CAPILHEIRA, A.F; CAVALCANTE, J.A.; GADOTTI, G.I.; BEZERRA, B.R.; HORNKE, N.F.; VILLELA, F.A. Storage of soybean seeds: packaging and modified atmosphere technology. **R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental**, v.23, p.876-882, 2019.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. 4ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000, 588p.

CHIDANANDA, K.P.; CHELLADURAI, V.; JAYASM, D.S.; ALAGUSUNDARAM, K.; WHITE, N.D.G.; FIELDS, P.G. Respiration of pulses stored under different storage conditions. **J. Stored Prod. Res.**, v.59, p.42-47, 2014.

CÍCERO, S.M.; SCHOOR, R.V.; JALINK, H. Use of chlrophyll fluorescence sorting to improve soybean seed quality. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.4, p.145-151, 2009.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos, Brasília, DF, v. 8, safra 2020/21, n. 12 décimo segundo levantamento, setembro. 2021.

CORADI, P.C; LIMA, R.E.; PADIA, C.L.; ALVES, C.Z.; TEODORO, P.E.; CÂNDIDO, A.C.S. Soybean seed storage: packaging technologies and conditions of storage environments. **Journal of Stored Products Research**, v.89, p.1-9, 2020.

COSTA, N.P.; FRANÇA-NETO, J.B.; PEREIRA, J.E.; MESQUITA, C.M.; KRZYZANOWSKI, F.C.; HENNING, A.A. Efeito de sementes verdes na qualidade fisiológica de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.23, n.2, p.102-107, 2001.

EBONE, L.A.; CAVERZAN, A.; CHAVARRIA, G. Physiologic alterations in orthodox seeds due to deterioration processes. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.145, p.34-42, 2019.

FINCH-SAVAGE WE, BASSEL GW. Seed vigour and crop establishment: extending performance beyond adaptation. **Journal of Experimental Botany**, v.67, p.567-591, 2016.

FORTI, V.A.; CICERO, S.M.; INOMOTO, M.M.; SLIWINSKA, E.; van der SHOOR, R.; JALINK, H. *Meloidogyne javanica* infection of soybean plants: plant response, seed quality and green seeds occurrence. **Seed Sci. & Technol.**, v,43, p.409-420, 2015.

FORTI, V.A.; CICERO, S.M.; PINTO, T.L.F. Avaliação da evolução de danos por “umidade” e redução do vigor em sementes de soja, cultivar TMG113-RR, durante o armazenamento, utilizando imagens de raios x e testes de potencial fisiológico. **Revista Brasileira de Sementes**, vol.32, n.3 p.123-133, 2010.

FRANÇA-NETO, J.B.; KRZYZANOWSKI, F.C.; HENNING, A.A.; PADUA, G.P.; LORINI, I.; HENNING, F.A. **Tecnologia da produção de semente de soja de alta qualidade**. Londrina: Embrapa Soja, 2016. 82 p. (Embrapa Soja. Documentos, 380).

FRANÇA NETO, J.B.; KRZYZANOWSKI, F.C. Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de soja. **Embrapa Soja**, Londrina, 108 p., 2018.

FRANÇA NETO, J.B.; PÁDUA, G.P.; KRZYZANOWSKI, F.C.; CARVALHO, M.L.M.; HENNING, A.A.; LORINI, I. Semente esverdeada de soja: causas e efeitos sobre o desempenho fisiológico - Série Sementes. **Embrapa Soja-Circular Técnica**, Londrina, v.91, p. 1-15, 2012.

GIURIZATTO, M.I.K.; FERRARESE-FILHO, O.; FERRARESE, M.L.L.; ROBAINA, A.D.; GONÇALVES, M.C.; CARDOSO, C.A.L. α -Tocopherol levels in natural and artificial aging of soybean seeds. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.34, n.3, p.339-343, 2012.

KRZYZANOWSKI, F.C.; FRANÇA-NETO, J.B.; GOMES-JUNIOR, F.G.; NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: Krzyzanowski, F.C.; Vieira, R.D.; França Neto, J.B.; Marcos-Filho (Eds.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 2020. p.79-140.

KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA-NETO, J.B.; MARCOS-FILHO, J. (Eds.). *Vigor de sementes: conceitos e testes*. Londrina: ABRATES, 2020. 601p.

LUDWIG, V.; BERGHETTI, M.R.P.; RIBEIRO, S.R.; ROSSATO, F.P.; WENDT, L.M.; THEWES, F.R.; THEWES, F.R.; BRACKMANN, A.; BOTH, V.; WAGNER, R. The effects of soybean storage under controlled atmosphere at different temperatures on lipid oxidation and volatile compounds profile. **Food Research International**, v.147, p.1-10, 2021.

MAPA – MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. PADRÕES PARA A PRODUÇÃO E A COMERCIALIZAÇÃO DE SEMENTES DE SOJA (*Glycine max* L.). Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos->

agropecuarios/insumos-agricolas/sementes-e-mudas/publicacoes-sementes-e-mudas/copy_of_INN45de17desetembrede2013.pdf >. Acesso em: 09 set. 2021.

MARCOS-FILHO, J. *Fisiologia de sementes de plantas cultivadas*. 2 ed. Piracicaba: FEALQ, 2015. 660p.

MARCOS-FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: Krzyzanowski, F.C.; Vieira, R.D.; França Neto, J.B.; Marcos-Filho, J. (eds.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 2020. p.185-246.

MEDEIROS, A.D.; CAPOBIANGO, N.P.; SILVA, J.M.; SILVA, L.J.; SILVA, C.B.; DIAS, D.C.F.S. Interactive machine learning for soybean seed and seedling quality classification. **Scientific Reports**, v.10, p.1-10, 2020.

MIN, C.W., LEE, S.H., CHEON, Y.E., HAN, W.Y., KO, J.M., KANG, H.W. In-depth proteomic analysis of Glycine max seeds during controlled deterioration treatment reveals a shift in seed metabolism. **J. Proteom.** v.169, p.125–135, 2017.

MITTLER, R. ROS Are Good. **Trends in Plant Science**, v.22, n.1, p.11–19, 2017.

NOCTOR, G.; REICHHELD, J.; FOYER, C.H. ROS-related redox regulation and signaling in plants. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, v.80 p.3-12, 2018.

OCHANDIO, D.; BARTOSIK, R.; GASTÓN, A.; ABALONE, R.; BARRETO, A.A.; YOMMI, A. Modelling respiration rate of soybean seeds (*Glycine max* (L.)) in hermetic storage. **Journal of Stored Products Research**, v.74, p.36-45, 2017.

ONYILAGHA, J.C; ELLIOT, B.H.; BUCKNER, E.; OKIROR, S.O.; RANEY, P.J. Seed Chlorophyll Influences Vigor in Oilseed Rape (*Brassica napus* L. var *AC Excel*.). **Journal of Agricultural Science**, v.3, n.2, p.73-79, 2011.

PÁDUA, G.P.; CARVALHO, M.L.M.; FRANÇA-NETO, J.B.; GUERREIRO, M.C.; GUIMARÃES, R.M. Response of soybean genotypes to the expression of green seed under temperature and water stresses. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.3, p.140-149, 2009.

PÁDUA, G.P.; FRANÇA-NETO, J.B.; CARVALHO, M.L.M.; COSTA, O.; KRZYZANOWSKI, F.C.; COSTA, N.P. Tolerance level of green seed in soybean lots after storage. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 29, n. 3, p.112-120, 2007.

PÁDUA, G.P.; FRANÇA-NETO, J.B.; CARVALHO, M.L.M.; KRZYZANOWSKI, F.C.; GUIMARÃES, R.M. Incidence of green soybean seeds as a function of environmental stresses during seed maturation. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.3, p.150-159, 2009.

PARDO, F. F.; BINOTTI, F. F. S.; CARDOSO, E. D.; COSTA, E. Qualidade fisiológica de sementes de soja esverdeadas em diferentes tamanhos. **Revista de Agricultura Neotropical**, v.2, n.3, p.39-43, 2015.

RANGEL, M.A.S.; MINUZZI, A.; PIEREZAN, L.; TEODÓSIO, T.K.C.; ONO, F.B.; CARDOSO, P.C. Presença e qualidade de sementes esverdeadas de soja na região sul do Estado do Mato Grosso do Sul. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.33, n.1, p.127-132, 2011

R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

SAKO, Y.; MCDONALD, M. B.; FUJIMURA, K.; EVANS, A. F.; BENNETT, M. A. A system for automated seed vigour assessment. **Seed Science and Technology**, v.29, p.625–636, 2001.

SATTLER, S.E.; GILLILAND, L.U.; MAGALLANES-LUNDBACK, M.; POLLARD, M.; DELLAPENNA, D. Vitamin E is essential for seed longevity and for preventing lipid peroxidation during germination. **The Plant Cell**, v.16, p.1419-1432, 2004.

SINNECKER, P.; BRAGA, N.; MACCHIONE, E.L.A.; LANFER-MARQUEZ, U.M. Mechanism of soybean (*Glycine max* L. Merrill) degreening related to maturity stage and postharvest drying temperature. **Postharvest Biology and Technology**, v.38, p.269-279, 2005.

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

SMOLIKOVA, G.N.; DOLGIKH, E.; VIKHNINA, M.; FROLOV, A.; MEDVEDEV, S. Genetic and Hormonal Regulation of Chlorophyll Degradation during Maturation of Seeds with Green Embryos. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, p.1993-2008, 2017.

SMOLIKOVA, G.N.; LAMAN, N.A.; BORISKEVICH, O.V. Role of chlorophylls and carotenoids in seed tolerance to abiotic stressors. **Russian Journal of Plant Physiology**, v.58, p.965-973, 2011.

SMOLIKOVA, G.N.; MEDVEDEV, S.S. Photosynthesis in the seeds of chloroembryophytes. **Russian Journal of Plant Physiology**, v.63 n.1, 2016.

TAIZ L.; ZEIGER E.; MØLLER, I.M.; MURPH, A. *Fisiologia e desenvolvimento vegetal*. 6ª ed. Porto Alegre: Artmed. 2017. 888p.

TEIXEIRA, S.B.; SILVA, J.G.; MENEGUZZO, M.R.R.; MARTINS, A.B.N.; MENEGHELLO, G.E.; TUNES, L.V.M. Green soybean seeds: effect on physiological quality. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.50, n.2, p.1-6, 2020.

VIEIRA, R. D.; MARCOS-FILHO Teste de condutividade elétrica. In: Krzyzanowski, F.C.; Vieira, R.D.; França Neto, J.B.; Marcos-Filho (Eds.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 2020. p.333-375.

VOM DORP, K.; HÖLZL, G.; PLOHMANN, C.; EISENHUT, M.; ABRAHAM, M.; WEBER, A.P.M.; HANSON, A.D.; DÖRMANN, P. Remobilization of phytol from chlorophyll degradation is essential for tocopherol synthesis and growth of Arabidopsis. **The Plant Cell**, v.27, p.2846-2859, 2015.

WALTERS, C., BALLESTEROS, D., VERTUCCI, V.A. Structural mechanics of seed deterioration: standing the test of time. **Plant Science**, n.179, p.565–573, 2010.

YIN, X.; HE, D.; GUPTA, R.; YANG, P. Physiological and proteomic analyses on artificially aged *Brassica napus* seed. **Frontiers in Plant Science**, v.6, p.1-11, 2015.

ZHANG, K.; ZHANG, Y.; SUN, J.; MENG, J.; TAO, J. Deterioration of orthodox seeds during ageing: Influencing factors, physiological alterations and the role of reactive oxygen species. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.158, p.475-485, 2021.

ZORATO, M.F.; PESKE, S.T.; TAKEDA, C.; FRANÇA-NETO, J.B. Presença de sementes esverdeadas em soja e seus efeitos sobre seu potencial fisiológico. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, n.1, p.11-19, 2007.

ZORATO, M.F.; PESKE, S.T.; TAKEDA, C.; FRANÇA-NETO, J.B. Sementes esverdeadas em soja: testes alternativos para determinar sua qualidade. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, n.1, p.1-10, 2007.

Alterações bioquímicas em lotes de soja com diferentes níveis de sementes esverdeadas submetidos ao armazenamento

Resumo

A presença de sementes esverdeadas de soja afeta negativamente a qualidade do lote. Essas sementes são problemáticas, pois apresentam menor qualidade fisiológica, que reflete no seu baixo potencial de armazenamento. Entender os eventos fisiológicos relacionados ao processo de perda de qualidade de lotes com diferentes proporções de sementes esverdeadas é fundamental, para que se possa adotar estratégias que visem mitigar esse problema. Diante disso, objetivou-se com este trabalho avaliar as alterações bioquímicas em lotes de sementes de soja contendo diferentes proporções de sementes esverdeadas, submetidos ao armazenamento em dois tipos embalagens. Para isso foram utilizadas três cultivares de soja, cada uma com três lotes com diferentes proporções de sementes esverdeadas: Cultivar “A”, com 8, 21 e 40% de sementes esverdeadas; cultivar “B” com 8, 11 e 21% de sementes esverdeadas; e cultivar “C” com 2, 8 e 12% de sementes esverdeadas. Os lotes foram caracterizados inicialmente, por meio da determinação do grau de umidade e do desempenho nos testes de germinação e envelhecimento acelerado. Análises bioquímicas foram realizadas, determinando-se os teores de clorofila, malonaldeído (MDA) e proteínas solúveis totais, e as atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POX) e peroxidase do ascorbato (APX). Em seguida, cada lote foi armazenado em duas embalagens: plástica impermeável, com lacre para vedação; e de papel kraft. Os lotes armazenados nas duas embalagens foram mantidos a 20 °C. Após 195 dias de armazenamento, as sementes foram novamente submetidas às avaliações descritas anteriormente. O grau de umidade inicial das sementes e ao longo do armazenamento ficou próximo de 10%. Em geral, o potencial de germinação das sementes foi mantido durante o armazenamento. O armazenamento em embalagem de papel kraft contribuiu para manutenção de maiores níveis de vigor e maior degradação da clorofila das sementes. Na maioria dos lotes, a atividade da SOD aumentou quando as sementes foram armazenadas em embalagem plástica. Porém, esse aumento não foi acompanhado pelo aumento na atividade das enzimas CAT, POX e APX. Houve redução na atividade dessas enzimas com o armazenamento, em ambas as embalagens. Conclui-se que o armazenamento em embalagem de papel kraft favoreceu o desempenho fisiológico e bioquímico de sementes de soja com grau de umidade de 10%, independente da proporção de sementes esverdeadas.

Palavras-chave: Teor de clorofila. Deterioração de sementes. Enzimas antioxidativas. Estresse oxidativo.

Introdução

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] se destaca como o principal produto do agronegócio brasileiro, responsável por cerca de 50% da produção nacional de grãos (CONAB, 2022). E para atender a demanda de produção, é fundamental o estabelecimento de lavouras de alto desempenho, uniformes e com estande adequado. Nesse sentido, torna-se primordial o uso de sementes de alta qualidade.

Entretanto, eventos climáticos como altas temperaturas e déficit hídrico têm prejudicado o desempenho das lavouras de grãos e os campos de produção de sementes. No caso de sementes, essas adversidades foram as principais responsáveis pela elevada incidência de sementes esverdeadas de soja em safras recentes, alcançando índice superior a 50% em algumas áreas (Embrapa, 2020).

Sabe-se que o uso de sementes de alta qualidade é essencial para alcançar altas produtividades (França-Neto et al., 2016). A qualidade de um lote de sementes é determinada pelos seus atributos de qualidade, entre eles o potencial fisiológico (Marcos-Filho, 2015). Todavia, a presença de altas proporções de sementes esverdeadas, torna a obtenção de lotes de sementes de soja de alta qualidade fisiológica um desafio para os produtores.

A presença de sementes esverdeadas em lotes de soja é problemática, pois essas sementes apresentam menor armazenabilidade, ainda que logo após a colheita possam apresentar bom desempenho nos testes fisiológicos (Pádua et al., 2007; Cícero, Schoor e Jalink, 2009; França-Neto et al., 2012; Teixeira et al., 2020). Nesse caso, entender os eventos relacionados ao processo de perda de qualidade dessas sementes é fundamental, para que se possa adotar estratégias que visem mitigar esse problema.

Uma dessas estratégias diz respeito às condições de armazenamento. Basicamente, quanto ao tipo de embalagem, as sementes podem ser armazenadas em embalagens que permitem a livre troca de gases com o ambiente, as que limitam essa troca e aquelas que impedem (Carvalho e Nakagawa, 2000). A escolha da embalagem vai depender de características da semente, do ambiente e do tempo que se deseja armazenar as sementes, sendo que a interação desses fatores vai definir a intensidade do processo de deterioração.

No processo de maturação das sementes, a degradação da clorofila normalmente ocorre por meio da ação de enzimas, tais como a clorofilase, magnésio-chelatase e oxigenases (França-

Neto et al., 2012; Smolikova e Medvedev, 2016). Após a colheita também pode ocorrer a degradação desse pigmento, a partir de processos químicos dependentes de fatores externos como temperatura, luz e oxigênio (Sinnecker et al., 2005; Borrmann, Andrade e Lanfer-Marquez, 2009), o que vai influenciar no nível de esverdeamento das sementes.

Durante o processo de deterioração, uma sequência de eventos ocorre, promovendo, inicialmente, a perda de qualidade identificadas primeiramente a partir de redução de características relacionados com o vigor das sementes, como menor resistência a estresses, menor velocidade de germinação, menor tamanho de plântulas, entre outras (Bewley et al., 2013; Marcos-Filho, 2015; Finch-Savage e Bassel, 2016; Zhang et al., 2021). Posteriormente, a germinação também será comprometida.

A peroxidação de lipídios, considerada um dos principais eventos relacionados à deterioração das sementes, ocorre a partir da ação de espécies reativas de oxigênio (EROs) e radicais livres, principalmente nas membranas celulares (Ebene, Caverzan e Chavarria, 2019; Zhang et al., 2021). Essas moléculas têm a capacidade de oxidar diversos constituintes celulares (Noctor et al., 2018; Zhang et al., 2021). A molécula de clorofila pode influenciar nesse processo, visto que ela é excitada com facilidade, podendo resultar na formação adicional de EROs e de radicais livres capazes de induzir maior estresse oxidativo e acelerar a deterioração das sementes (Smolikova, Laman e Boriskevich, 2011; Smolikova e Medvedev, 2016; Taiz et al., 2017; Noctor et al., 2018).

O sistema de defesa antioxidante enzimático atua na proteção contra o estresse oxidativo. Esse sistema é formado por algumas enzimas, tais como superóxido dismutase, catalase e diversas peroxidases que combatem o excesso de EROs (ânion superóxido, radical hidroxila, oxigênio singlete e peróxido de hidrogênio) e radicais livres, ou protegendo compostos e estruturas celulares da ação desses agentes (Noctor et al., 2018).

Diversos estudos têm demonstrado boa relação entre a atividade de enzimas do sistema antioxidante com o desempenho fisiológico de lotes de sementes. Em sementes de grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.), foi observada relação da atividade das enzimas catalase e peroxidase do ascorbato com a qualidade fisiológica das sementes (Araújo et al., 2021). Já para sementes de canola (*Brassica napus* L.) envelhecidas naturalmente, Boniecka et al. (2019) observaram que a atividade da superóxido dismutase apresentou relação inversa com o desempenho fisiológico das sementes. Yin et al. (2015) avaliaram sementes de canola (*Brassica napus* L.) e observaram que a atividade das enzimas superóxido dismutase e catalase reduziu nas sementes envelhecidas artificialmente. De maneira semelhante, Min et al. (2017) relataram que sementes de soja

envelhecidas artificialmente apresentaram menor atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase, peroxidase do ascorbato, monodesidroascorbato redutase e desidroascorbato redutase.

Além disso, outros indicadores bioquímicos estão relacionados ao processo de deterioração em sementes. Chidananda et al. (2014), trabalhando com sementes de pulses, relataram acúmulo de ácidos graxos livres em sementes armazenadas. Os resultados de Sharma et al. (2013) também apontaram para o aumento no teor de ácidos graxos livres em sementes de soja armazenadas por 180 dias. O aumento de ácidos graxos livres, principalmente em sementes oleaginosas, indica degradação de reservas, e com isso a deterioração das sementes (Sharma et al., 2013; Chidananda et al., 2014).

No trabalho de Boniecka et al. (2019), mesmo havendo declínio no potencial fisiológico, não foram observadas reduções consistentes nos conteúdos de açúcares e proteínas solúveis em sementes de canola envelhecidas naturalmente após três anos. Já Bhatia et al. (2010) citam que o teor de proteínas solúveis foi mais alto nas sementes de soja mais deterioradas.

Yin et al. (2015) e Min et al. (2017) relataram acúmulo de malonaldeído em sementes de soja envelhecidas artificialmente. O malonaldeído, considerado um biomarcador do processo de deterioração de sementes, é um dos produtos da peroxidação de lipídios (Anjum et al., 2015; Zhang et al., 2021).

Diante disso, objetivou-se com este trabalho avaliar alterações fisiológicas e bioquímicas em lotes de sementes de soja contendo diferentes proporções de sementes esverdeadas, submetidos ao armazenamento em dois tipos embalagens.

Material e Métodos

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Pesquisa de Sementes do Departamento de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa. Foram utilizados lotes de sementes de soja produzidos na safra 2019/2020, de três cultivares, cada uma delas representada por três lotes com diferentes níveis de sementes esverdeadas, de multiplicadores localizados no estado do Rio Grande do Sul (Tabela 1). As proporções de sementes esverdeadas em cada lote foram determinadas com auxílio do programa Ilastik (Medeiros et al., 2020). Foram utilizadas quatro repetições com 50 sementes cada. Cada repetição foi digitalizada com auxílio de um escâner (HP, modelo *Scanjet* 200) em resolução de 600 dpi. Posteriormente, cada imagem foi segmentada, obtendo-se as classes de segmentação “fundo” e “sementes”. Na sequência, foram criados mapas de probabilidade selecionando diretamente nas imagens somente as sementes

que de forma nítida eram amarelas ou esverdeadas. Com base no classificador *Random Forest*, cada semente foi classificada em amarela ou esverdeada. Para cada lote, o classificador treinado foi utilizado nas demais imagens. Os mapas de probabilidade de cada imagem foram exportados e a partir deles foram obtidas as proporções de sementes esverdeadas em cada lote.

Tabela 1. Cultivares e lotes de sementes de soja com diferentes níveis de sementes esverdeadas.

Cultivar	Lotes	Proporção de sementes esverdeadas
“A”	1	8%
	2	21%
	3	40%
“B”	4	8%
	5	11%
	6	21%
“C”	7	2%
	8	8%
	9	12%

As sementes foram caracterizadas fisiologicamente, por meio da avaliação do desempenho nos testes de germinação e envelhecimento acelerado, e bioquimicamente por meio da determinação do teor de clorofila, teor de malonaldeído, teores de proteínas solúveis, atividade das enzimas do sistema antioxidante enzimático superóxido dismutase, catalase, peroxidase e peroxidase do ascorbato. Em seguida, cada lote foi armazenado em duas embalagens: plástica de multicamada de polietileno, com lacre para vedação e espessura de 0,078 mm; e de papel kraft. Os lotes armazenados foram mantidos na temperatura de 20 °C. Após 195 dias de armazenamento, as sementes foram novamente submetidas às avaliações descritas anteriormente. Além disso, antes e ao longo do período de armazenamento, foi determinado o grau de umidade das sementes. Para isso, foi realizada amostragem de sementes de todos os lotes em ambas as embalagens. Após cada amostragem, o ar das embalagens plásticas era removido com auxílio de um aspirador de pó, e as embalagens novamente lacradas.

Umidade

O grau de umidade foi determinado utilizando o método padrão da estufa a $105\text{ °C} \pm 3$ por 24 h, com quatro repetições de 25 sementes cada. Os resultados foram expressos em teor de água em base úmida.

Com base nos resultados obtidos na determinação do grau de umidade, foi realizado o pré-condicionamento das sementes antes da realização dos testes de germinação, comprimento de plântulas, emergência e tetrazólio, descritos a seguir, conforme a recomendação das RAS Brasil

(2009). Para isso, as sementes foram dispostas em camada única sobre uma tela no interior de caixas *gerbox*, contendo 40 mL de água destilada no fundo. A caixa foi fechada e permaneceu por 16 h em germinador regulado a 25 °C.

Germinação

O teste de germinação foi conduzido utilizando-se quatro repetições de 50 sementes cada. A semeadura ocorreu sobre duas folhas de papel para germinação, seguida de cobertura por uma terceira folha. Na sequência foram confeccionados os rolos. Essas folhas foram previamente umedecidas com volume (mL) de água correspondente a 2,5 vezes o peso do papel seco. Os rolos foram mantidos em germinador regulado a 25 °C, com fotoperíodo de 8 h. As avaliações ocorreram no quinto dia após a semeadura. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais (Brasil, 2009).

Envelhecimento acelerado

Para esse teste foi utilizada a metodologia da caixa *gerbox* (Marcos-Filho, 2020). As sementes foram dispostas em camada única sobre uma tela no interior de caixas *gerbox*, contendo 40 mL de água destilada no fundo. A caixa foi fechada e permaneceu em B.O.D. regulada a 41 °C por 48h. Após esse período, as sementes foram então colocadas para germinar, conforme descrito para o teste de germinação e avaliadas cinco dias após a semeadura. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

Clorofila

O teor de clorofila total foi determinado usando metodologia adaptada de Pádua et al. (2007) e Embrapa (2016). Foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes cada. As amostras foram congeladas com nitrogênio líquido e armazenadas em freezer a -20 °C. Na sequência, as sementes foram liofilizadas e moídas em moinho de bolas (Tecnal, modelo TE-350).

A extração da clorofila foi realizada misturando 0,1 g da amostra em 5 ml de acetona 80%, em tubos tipo Falcon revestidos com papel alumínio, para evitar a incidência de luz. Cada amostra foi homogeneizada utilizando agitador vórtex por uma hora, com agitação a cada 15 minutos. Toda a etapa de extração foi realizada em ambiente com o mínimo de luz. Na sequência, as amostras permaneceram em repouso em B.O.D. sem luz, regulada a 5 °C pelo período de 24 h. Em seguida, foi pipetada alíquota de 1 ml do sobrenadante, sendo a sua absorbância determinada em espectrofotômetro (Thermo Scientific, modelo Genesys 10S UV-

Vis) nos comprimentos de onda 645 e 663 nm. O cálculo da concentração de clorofila, expresso em mg g⁻¹ de matéria seca, foi determinado por meio da seguinte fórmula:

$$\text{Clorofila total} = [(20,2 \times A_{645}) + (8,02 \times A_{663})] \times \text{FC}$$

Em que: A = absorvância no comprimento de onda subscrito

$$\text{FC} = \text{fator de correção} = \frac{\text{volume de acetona 80\% (ml)}}{\text{peso da amostra (g)}}$$

Malonaldeído (MDA)

O teor de MDA foi determinado a partir da reação com solução de ácido tiobarbitúrico (TBA) e ácido tricloacético (TCA) (Heath e Packer, 1968). Para isso, quatro repetições de 20 sementes cada foram embebidas por 16 horas, tiveram seus tegumentos removidos, foram liofilizadas e moídas. Posteriormente, uma amostra de 0,15 g desses embriões foi homogeneizada com 2 mL de solução de TCA 0,1% (p/v), com auxílio do agitador vórtex, e em seguida centrifugados a 14.000 g por 15 minutos a 4 °C. O sobrenadante foi coletado, armazenado em tubos eppendorf e mantidos em gelo. Na sequência, 0,5 mL do sobrenadante foi misturado a 1,5 mL do meio de reação formado por TBA 0,5% (p/v) e TCA 20% (p/v). Essa mistura ficou incubada em banho-maria a 90 °C por 20 minutos. Logo em seguida, a mistura foi resfriada em banho de gelo por um minuto e centrifugada a 14.000 g por 4 min. A absorvância da amostra foi lida em espectrofotômetro (Thermo Scientific, modelo Genesys 10S UV-Vis) nos comprimentos de onda 532 nm e 600 nm. O cálculo dos teores de MDA foram expressos em nmol g⁻¹ de massa seca, utilizando o coeficiente de extinção mola de 155 mM⁻¹ cm⁻¹, por meio da fórmula:

$$\text{Teor de MDA (nM mL}^{-1}\text{)} = [(A_{532} - A_{600})/155000] \times 10^6$$

Em que: A = absorvância no comprimento de onda subscrito

Para expressar os resultados em nmol g⁻¹ massa seca⁻¹, a seguinte conversão foi realizada:

$$\text{Teor de MDA (nM g}^{-1}\text{ massa seca}^{-1}\text{)} = [\text{Teor de MDA (nM mL}^{-1}\text{)} \times 2/0,5]/\text{peso amostra (g)}$$

Em que 2 é a correção do teor de MDA para o volume lido no espectro e 0,5 é o volume da alíquota do sobrenadante utilizada para reação.

Enzimas do sistema antioxidante

Quatro repetições de 20 sementes cada foram embebidas por 16 horas, tiveram seus tegumentos removidos, foram liofilizadas e moídas. A atividade das enzimas do sistema antioxidante superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POX) e peroxidase do

ascorbato (APX) foram determinadas a partir de extrato enzimático bruto obtido pela homogeneização, em agitador vórtex, de 0,15 g de embriões em meio de extração. O meio de extração foi composto de tampão fosfato de potássio a 0,1 M e pH 6,8, ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) a 0,1 mM, fluoreto de fenilmetilsulfônico (PMSF) a 1 mM e polivinilpolipirrolidona (PVPP) a 1% (p/v) (Peixoto et al., 1999). Essa mistura foi centrifugada a 19.000 g por 15 minutos a 4 °C. Na sequência, o sobrenadante (extrato enzimático bruto) foi recolhido e utilizado para determinar a atividade das enzimas a partir de leituras de absorbância em espectrofotômetro de microplacas ELISA (Thermo Scientific, modelo Multiskan GO).

Superóxido dismutase (SOD)

A atividade da SOD foi determinada de acordo com Giannopolitis e Ries (1977) e Del Longo et al. (1993). A determinação foi realizada pela adição 10 µL do extrato enzimático bruto a 190 µL de meio de reação constituído por tampão fosfato de sódio 50 mM e pH 7,8, metionina 13 mM, azul de p-nitro tetrazólio (NBT) 75 µM, EDTA 0,1 mM, riboflavina 2 µM e água ultrapura. A reação ocorreu em placa Elisa, dentro de uma câmara com iluminação de luz de LED 9 W a 25 °C. Após 5 minutos de exposição à luz, a iluminação foi interrompida e a formazana azul, resultante da fotoredução do NBT, foi medida pela absorbância a 560 nm, em um leitor de Elisa. A amostra correspondente ao branco claro foi obtida da mesma forma que a anterior, porém com o extrato enzimático bruto sendo substituído por água destilada. O branco escuro foi obtido de forma semelhante ao branco claro, com a diferença de ter sido mantido no escuro durante o mesmo tempo da amostrada no claro. Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima necessário para inibir 50% a fotoredução do NBT (Beauchamp e Fridovich, 1971). O resultado foi expresso em $\text{U min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína.

Catalase (CAT)

A atividade da CAT foi determinada pela adição de 10 µL do extrato enzimático bruto a 190 µL de meio de reação, constituído de tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 6,8, H_2O_2 12,5 mM e água ultrapura (Havir e McHale, 1987). O decréscimo na absorbância, a 240 nm e 25 °C, foi medido em um espectrofotômetro com leitor de Elisa durante cinco minutos de reação. Para o cálculo da atividade enzimática foi utilizado o coeficiente de extinção molar de $36 \text{ M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ (Anderson, Prasad e Stewart, 1995). O resultado foi expresso em $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína.

Peroxidases (POX)

A atividade da POX foi determinada utilizando-se 10 μL de extrato bruto adicionado a 190 μL de meio de reação. O meio de reação foi composto de tampão fosfato de potássio 25 mM, pirogalol 20 mM, H_2O_2 20 mM e água ultrapura (adaptado de Kae e Mishra, 1976). A produção de purpurogalina foi medida, durante dois minutos de reação, por meio do incremento da absorbância a 420 nm e 25 °C. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro com leitor de ELISA. Para o cálculo da atividade enzimática utilizou-se o coeficiente de extinção molar 2,47 $\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$ (Chance e Maehley, 1955). O resultado foi expresso em $\text{nmol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína.

Peroxidase do ascorbato (APX)

A atividade da APX foi determinada a partir de 30 μL de extrato bruto enzimático adicionado em 170 μL de meio de reação. O meio de reação foi composto de tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 6,0, ácido ascórbico 0,8 mM, H_2O_2 1 mM e água ultrapura (adaptado de Nakano e Asada, 1981; Koshiba, 1993). A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro com leitor de ELISA no comprimento de onda de 290 nm, a 25 °C e durante dois minutos. Utilizou-se o coeficiente de extinção molar de 2,8 $\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$ para o cálculo da atividade enzimática (Nakano e Asada, 1981). O resultado foi expresso em $\text{nmol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína.

Proteínas solúveis totais

Com o mesmo extrato bruto utilizado para determinar a atividade enzimática, foi determinado os teores de proteínas solúveis totais. A albumina sérica bovina (BSA) foi utilizada como padrão (Bradford, 1976). Foram adicionados 6 μL do extrato enzimático bruto a 294 μL de reagente de Bradford, seguido de agitação. Após cinco minutos, procedeu-se com a leitura da absorbância em espectrofotômetro a 595 nm.

Delineamento experimental e análise estatística

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os dados foram submetidos a análise de variância. A normalidade dos erros foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk, enquanto a homogeneidade foi verificada pelo teste de Bartlett. Em cada lote, as médias das condições de armazenamento foram comparadas entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), e comparadas em relação a época inicial pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$). Foi realizada análise multivariada de componentes principais (PCA) para todas as

variáveis em estudo. A análise estatística foi realizada com auxílio do programa R (R Core Team, 2021).

Resultados e Discussão

A temperatura média do ambiente de armazenado foi de $19\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1,8$, enquanto a umidade relativa média foi de $56\% \pm 12,3$. Já o teor de água das sementes, inicialmente, ficou ao redor de 10% para todos os lotes (Figura 1). Houve variação do teor de água entre as condições de armazenamento para cada lote, e ao longo do tempo, sendo que, em geral, os teores de água variaram de 7,0 a 10,5%. Os teores de água das sementes dos lotes oscilaram ao redor de 10%, o que pode permitir o armazenamento seguro de sementes de soja, dependendo da temperatura ambiente, já que maior valor de grau de umidade está relacionado com degradação mais rápida das reservas, comprometendo o vigor do lote de sementes (Chidananda et al., 2014; Smaniotto et al., 2014; França-Neto et al., 2016; Ochandio et al., 2017).

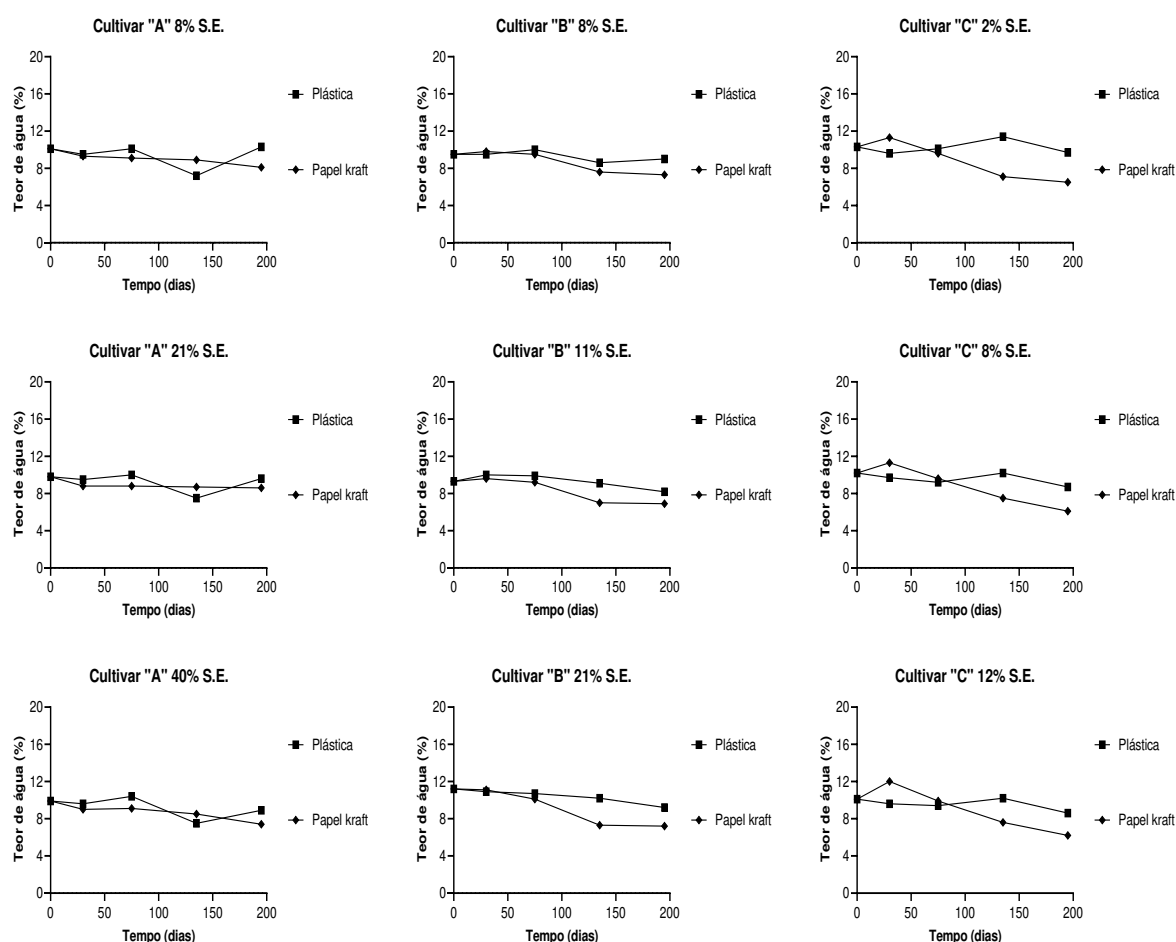
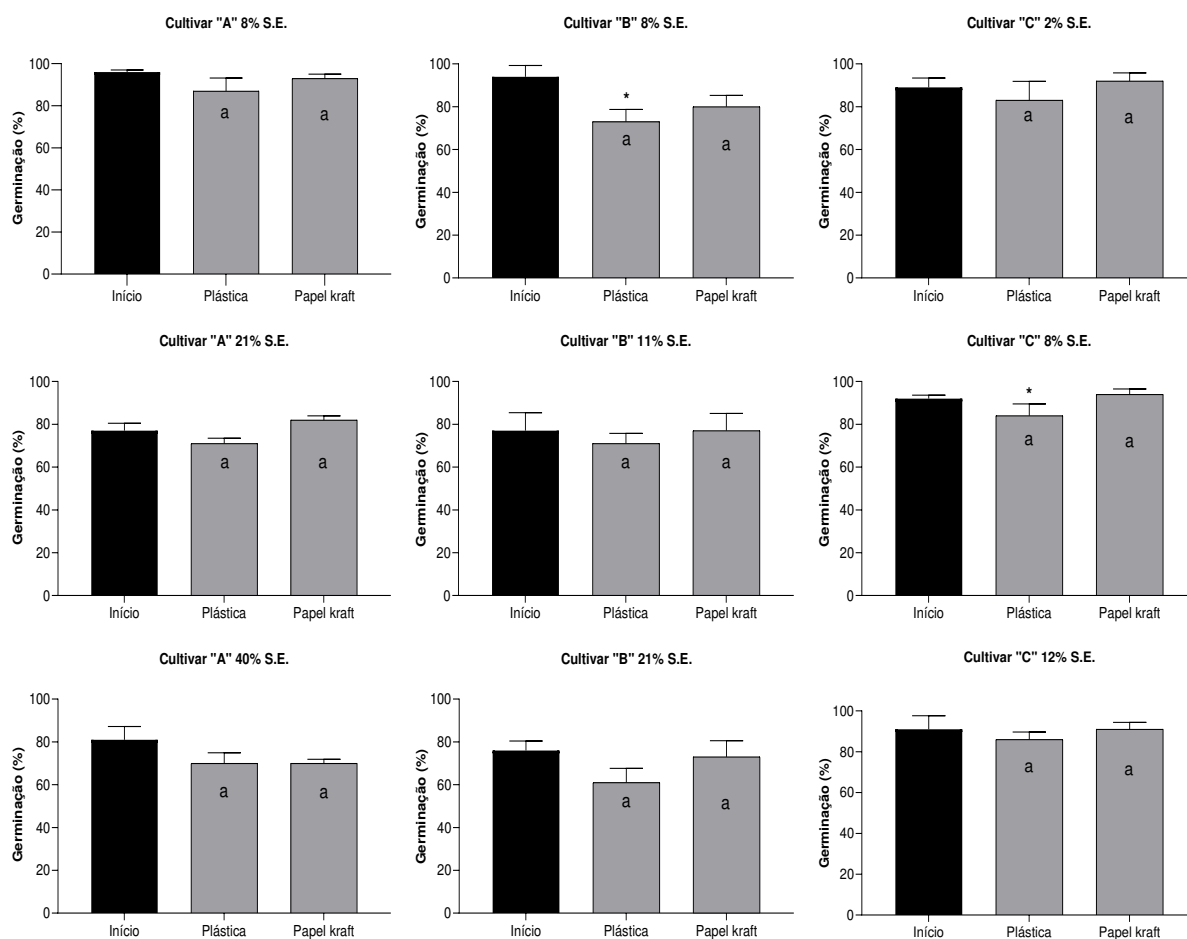


Figura 1. Teor de água de lotes de sementes de soja de diferentes cultivares e com diferentes proporções de sementes esverdeadas (S.E.) durante o armazenamento a 20 °C, em embalagem plástica e embalagem de papel kraft.

Em todos os lotes analisados a germinação das sementes armazenadas em ambas as embalagens foi semelhante (Figura 2). Até mesmo os lotes de pior desempenho inicial, e que apresentavam maiores proporções de S.E., que apresentaram potencial de germinação próximo a 80%, sendo este o valor mínimo para o lote ser considerado como semente (MAPA, 2013). Além disso, para cada lote, os valores de germinação foram estatisticamente semelhantes à condição inicial, com exceção dos lotes da cultivar “B” com 8% de S.E. e da cultivar “C” com 8% de S.E., que apresentaram redução de germinação quando armazenados em embalagem plástica.



Para cada lote, médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste F ($p < 0,05$).

* Diferença significativa pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$), para cada condição de armazenamento em relação ao início.

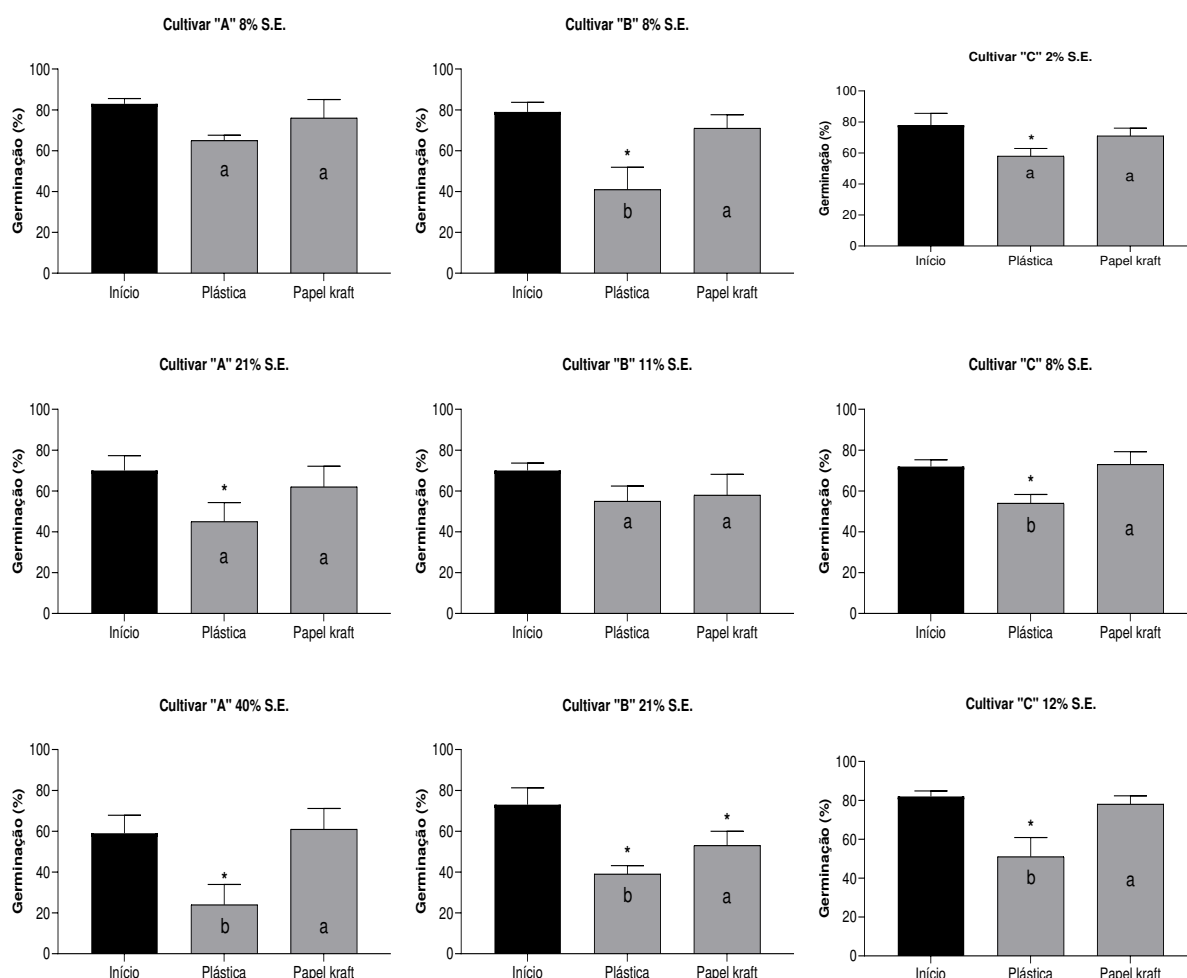
Figura 2. Germinação de lotes de sementes de soja de diferentes cultivares e com diferentes proporções de sementes esverdeadas (S.E.) antes e após o armazenamento a 20 °C em embalagem plástica e de papel kraft.

Lotes de sementes de soja com elevada qualidade inicial tendem a manter o potencial de germinação por alguns meses de armazenamento, mesmo em condições de temperatura ambiente (Smaniotto et al., 2014; Capilheira et al., 2019; Coradi et al., 2020). Porém, isso geralmente ocorre em lotes sem presença de S.E., que tendem a se conservar por mais tempo, mesmo com grau de umidade das sementes mais próximo de 12% (Smaniotto et al., 2014; Capilheira et al., 2019). Todavia, lotes de sementes de soja com presença de S.E. em proporção superior a 3% podem apresentar comprometimento do desempenho (Pádua et al., 2007). Acima de 9% de S.E. não se recomenda comercializar o lote como semente, porque com três a quatro meses de armazenamento a qualidade deverá estar seriamente comprometida (Costa et al., 2001; Pádua et al., 2007; França-Neto et al., 2012).

A manutenção do teor de água das sementes próximo a 10% possivelmente foi determinante para a conservação do potencial de germinação, devido a menor taxa de deterioração (Ochandio et al., 2017). De fato, com o teor de água mais baixo nas sementes, alguns eventos que levam a deterioração tendem a ser inibidos, como a peroxidação de lipídios, considerada como um dos principais fatores que levam a perda de qualidade das sementes (Chidananda et al., 2014; Yin et al., 2015; Min et al., 2017).

No teste de envelhecimento acelerado, o lote com 8% de S.E. da cultivar “A” apresentou desempenho similar entre as duas condições de armazenamento, e em relação à época inicial (Figura 3). No lote com 21% de S.E. do mesmo cultivar, a embalagem de papel kraft contribuiu para manter o vigor das sementes, sem, entretanto, se diferenciar do resultado obtido para as sementes armazenadas em embalagem plástica. No lote com maior proporção de S.E. do cultivar “A” (40%), novamente as sementes armazenadas em embalagem de papel kraft apresentaram desempenho semelhante em relação à condição inicial, enquanto para as sementes armazenadas em embalagem de plástico foi observado houve redução do vigor.

Ainda pelo teste de envelhecimento acelerado, as sementes do lote com 8% de S.E., do cultivar “B”, armazenadas em embalagem de papel kraft, apresentaram maior vigor, quando comparadas às sementes armazenadas em embalagem plástica. Além disso, mantiveram o desempenho observado na época inicial. Já no lote com 11% de S.E., as duas embalagens contribuíram para a manutenção da qualidade inicial das sementes. Por fim, no lote com 21% de S.E., nenhuma das condições de armazenamento contribuiu para manter o desempenho inicial das sementes. As sementes armazenadas em embalagem de papel kraft apresentaram maior vigor comparadas às sementes armazenadas em embalagem plástica.



Para cada lote, médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste F ($p < 0,05$).

* Diferença significativa pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$), para cada condição de armazenamento em relação ao início.

Figura 3. Germinação após o envelhecimento acelerado de lotes de sementes de soja de diferentes cultivares e com diferentes proporções de sementes esverdeadas (S.E.) antes e após o armazenamento a 20 °C em embalagem plástica e embalagem de papel kraft.

Para o cultivar “C”, em todos os lotes, somente a embalagem de papel kraft contribuiu para a manutenção do vigor das sementes observado inicialmente. No lote com 2% de S.E. não houve diferença entre as embalagens. Já nos lotes com 8 e 12% de S.E., as sementes armazenadas em embalagem plástica apresentaram redução da qualidade, comparada às sementes armazenadas em embalagem de papel kraft.

O teste de envelhecimento acelerado consiste em submeter as sementes a condição de alta temperatura e alta umidade relativa, o que acelera o processo de deterioração (Marcos-Filho, 2020). Dessa forma, esse teste pode ajudar a estimar o potencial de armazenamento das sementes e a emergência de plântulas em campo (Marcos-Filho, 2015; Batista et al., 2021). Porém, mesmo quando submetidos a esse estresse, com exceção do lote “B” com 21% de S.E.,

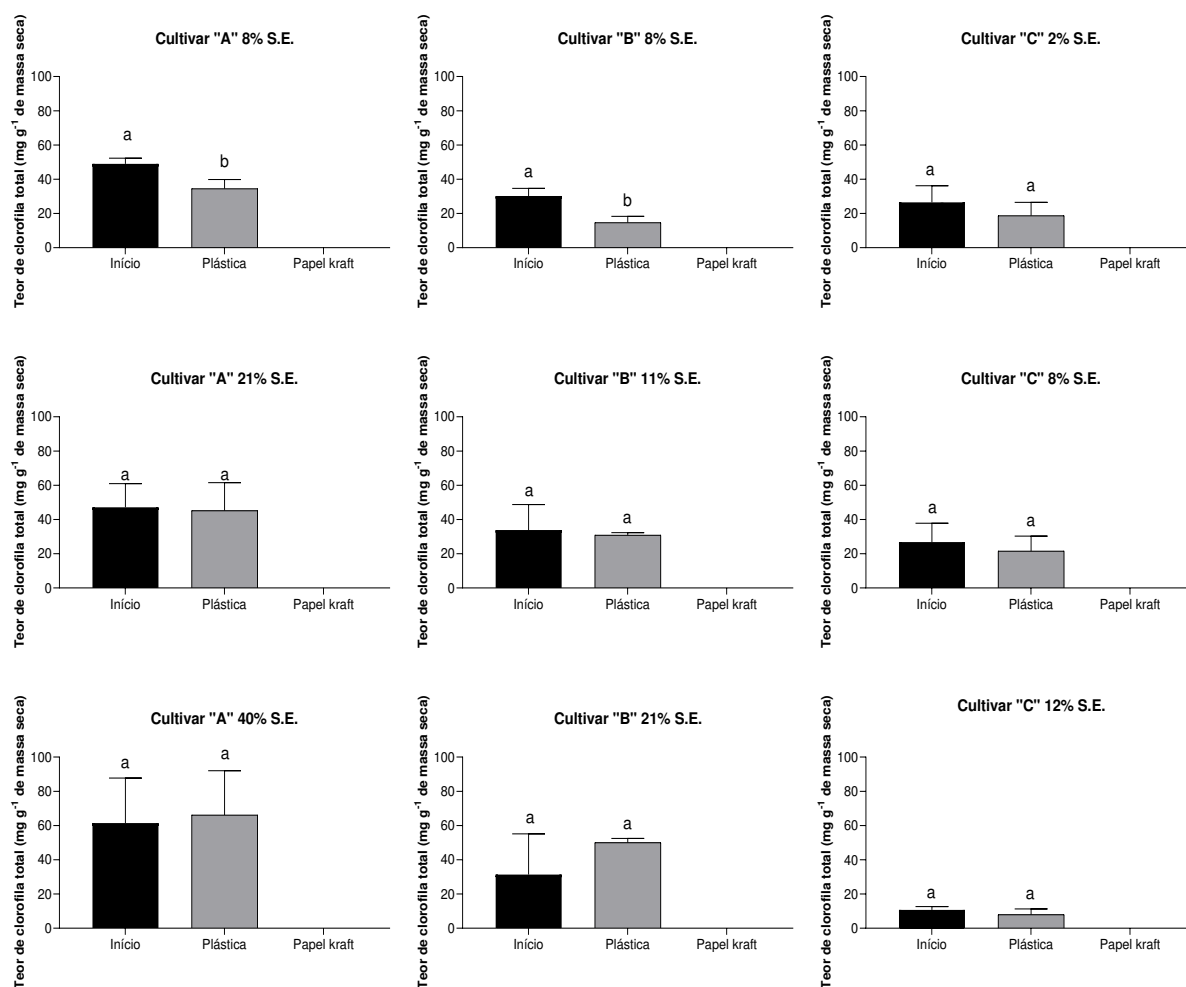
nas sementes armazenadas em papel kraft houve manutenção do vigor das sementes após 195 dias de armazenamento. Já na embalagem plástica, somente nos lotes “A” com 8% de S.E. e “B” com 11% de S.E., o resultado foi semelhante ao obtido para as sementes antes de iniciar o armazenamento.

Em trabalho com sementes de soja com 12% de grau de umidade e alta qualidade inicial, armazenadas em temperatura média de 20 °C e embalagem porosa, o desempenho no teste de envelhecimento acelerado se manteve estatisticamente semelhante até os 45 dias de armazenamento (Capilheira et al., 2019). No presente trabalho, a manutenção do vigor das sementes por 195 dias, mesmo nos lotes de menor qualidade, possivelmente está ligada a manutenção do teor de água das sementes próximo a 10% durante o armazenamento.

Todavia, é importante destacar que o teor de água foi próximo em todos os lotes e condições de armazenamento, e por isso era esperado melhor desempenho no armazenamento em embalagem plástica, com a retirada do ar, da mesma forma que os resultados obtidos por Capilheira et al. (2019). Nessa condição, os processos respiratórios e oxidativos tendem a ser menores (Ochandio et al., 2017). Assim, provavelmente outros fatores intrínsecos às sementes também contribuíram para os nossos resultados, como os teores de clorofila e a qualidade inicial das sementes.

Em todos os lotes, após 195 dias, não foi detectada a presença da clorofila nas sementes armazenadas em embalagem de papel kraft (Figura 4), o que indica a degradação deste pigmento durante o armazenamento das sementes. Já para a embalagem plástica, na maioria dos lotes, os teores de clorofila se mantiveram semelhantes àqueles observados na época inicial. As exceções foram para os lotes das cultivares “A”, com 8% de S.E., e “B” com 8% de S.E., que apresentaram menor teor de clorofila em relação ao início.

A menor degradação da clorofila nas sementes armazenadas na embalagem plástica indica menor intensidade de reações de oxidação nas sementes, o que supõe menor deterioração. Em outros trabalhos com sementes de soja foi relatado que o armazenamento das sementes em embalagem plástica proporcionou manutenção da qualidade das sementes, possivelmente por limitar o processo respiratório, o que se reflete na menor taxa de deterioração, e reduzir a oscilação no grau de umidade das sementes. (Ochandio et al., 2017; Capilheira et al., 2019). Entretanto, no presente trabalho, essa condição de armazenamento não se refletiu em melhor desempenho dos lotes no teste de envelhecimento acelerado, indicador do potencial de armazenamento das sementes. Em geral, foi observado pior desempenho no teste de envelhecimento acelerado das sementes armazenadas em embalagem plástica.



Para cada lote, médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste F ($p < 0,05$).

Figura 4. Teor de clorofila de lotes de sementes de soja de diferentes cultivares e com diferentes proporções de sementes esverdeadas (S.E.) antes e após o armazenamento em embalagem plástica e embalagem de papel kraft.

Esses resultados podem estar relacionados com a maior conservação da clorofila nas sementes armazenadas em embalagem plástica, em relação às armazenadas em embalagem de papel kraft. Um dos fatores que levam à degradação da clorofila é a presença do oxigênio (Borrmann et al., 2009). Porém, com a retirada do ar das embalagens plásticas, havia menor concentração de oxigênio, que pode ter contribuído para reduzir as reações de oxidação, fundamentais nos processos deteriorativos (Ebone, Caverzan e Chavarria, 2019; Zhang et al., 2021). Portanto, nessa condição de armazenamento não houve degradação da clorofila presente nas sementes ou a degradação ocorreu com menor intensidade.

Além disso, a degradação da clorofila também está relacionada com a produção do antioxidante tocoferol, reconhecido como um dos principais compostos antioxidantes em sementes de soja, com atuação de destaque em membranas biológicas (Sattler et al., 2004; vom

Dorp et al., 2015). Em trabalho com sementes de soja, Giurizatto et al. (2012) relataram aumento dos níveis de tocoferol com o armazenamento. Sendo assim, é possível que o armazenamento em embalagem de papel kraft tenha favorecido a degradação da clorofila, ao mesmo tempo em que favoreceu o acúmulo desse antioxidante.

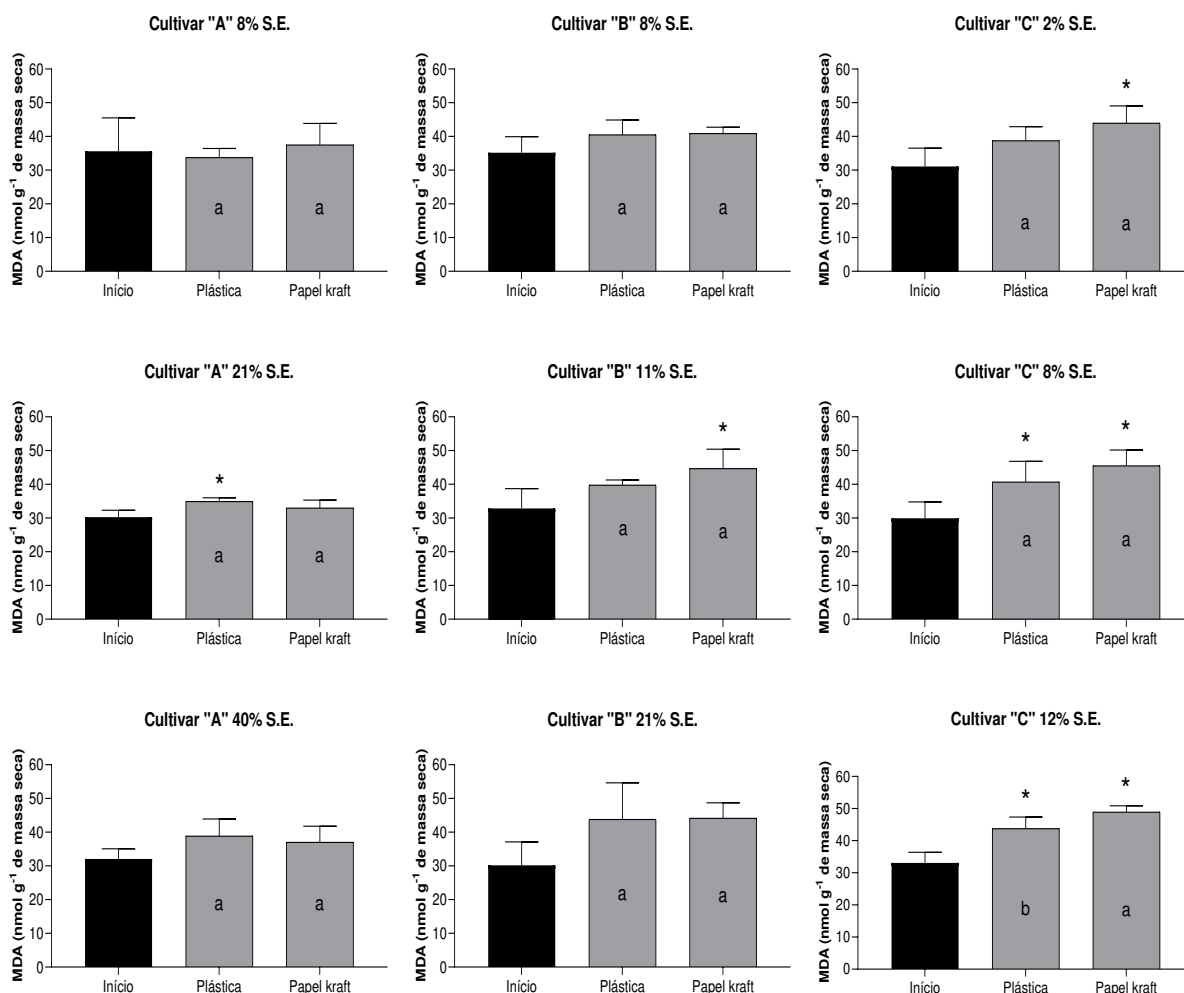
A clorofila é excitada com facilidade, podendo resultar na formação adicional de espécies reativas de oxigênio (EROs) e de radicais livres, ambos capazes de induzir estresse oxidativo (Smolikova, Laman e Boriskevich, 2011; Smilikova e Medvedev, 2016; Taiz et al., 2017; Noctor et al., 2018). Isso pode justificar o fato de sementes com maior teor de clorofila serem mais sensíveis a estresses, como o causado pelo envelhecimento acelerado (Smolikova, Laman e Boriskevich, 2011).

Diante disso, os resultados indicam que a menor disponibilidade de oxigênio na condição de armazenamento em embalagem plástica pode ter contribuído para reduzir as reações de oxidação, o que pode favorecer a conservação das sementes. Porém, nessa mesma condição a degradação da clorofila foi menos intensa e isso pode ter causado maior estresse oxidativo nas sementes durante o teste de envelhecimento acelerado e posterior germinação, conforme relatado por Smolikova, Laman e Boriskevich (2011).

Apesar disso, com exceção do lote da cultivar “C” com 12% de S.E., não houve diferença nos conteúdos de malonaldeído (MDA) das sementes armazenadas em embalagem plástica e de papel kraft (Figura 5). Para o cultivar “A”, somente no lote com 21% de S.E., armazenado em embalagem plástica, houve aumento da concentração de MDA em relação à época inicial. Já para o cultivar “B”, somente no lote com 11% de S.E., armazenado em embalagem papel kraft, os conteúdos de MDA foram maiores do que na época inicial. Enquanto para o cultivar “C”, o lote com 2% de S.E. apresentou maior conteúdo de MDA quando armazenado em embalagem de papel kraft, em relação ao início do armazenamento. Nos lotes com 8 e 12% de S.E. desse cultivar, houve aumento dos teores de MDA nas sementes de ambas as embalagens.

O MDA é um dos produtos resultantes da peroxidação de lipídios (Zhang et al., 2021), sendo este o principal processo que leva à perda de qualidade de sementes (Ebone, Caverzan e Chavarria, 2019; Zhang et al., 2021). Portanto, o MDA é considerado um biomarcador do processo de deterioração em sementes (Anjum et al., 2015). Todavia, no presente trabalho, nem sempre os resultados dos teores de MDA permitiram identificar o processo de deterioração em relação à época inicial. Isso pode estar relacionado ao fato de o grau de umidade das sementes ter se mantido ao redor de 10% ao longo do armazenamento, o que limita a intensidade de deterioração das sementes. Além disso, outra possibilidade é o fato de o MDA ser um dos

produtos da peroxidação de lipídios, e não o único (Zhang et al., 2021). Sendo assim, outros compostos indicadores do processo de deterioração podem ter sido formados e acumulados.



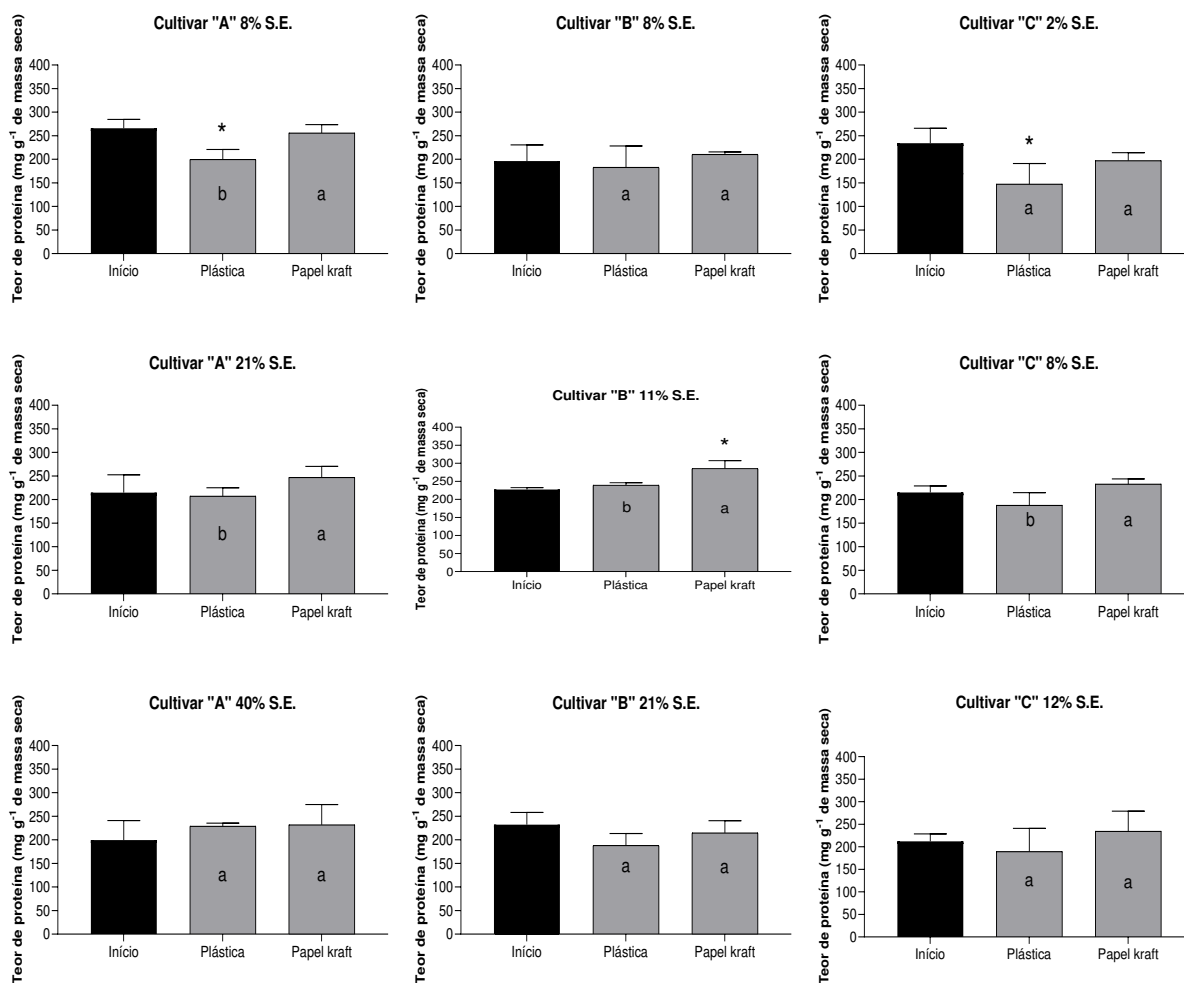
Para cada lote, médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste F ($p < 0,05$).

* Diferença significativa pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$), para cada condição de armazenamento em relação ao início.

Figura 5. Teor de malonaldeído (MDA) de lotes de sementes de soja de diferentes cultivares e com diferentes proporções de sementes esverdeadas (S.E.) antes e após o armazenamento em embalagem plástica e embalagem de papel kraft.

Com relação aos conteúdos de proteínas solúveis, no cultivar “A”, as sementes do lote com 8% de S.E. apresentaram redução nos valores quando armazenadas em embalagem plástica (Figura 6). Nos outros dois lotes deste cultivar, não houve diferença no teor de proteínas comparada à época inicial, sendo que no lote com 21% de S.E. as sementes armazenadas em embalagem de papel kraft apresentaram maior teor de proteínas comparadas às sementes

armazenadas em embalagem plástica. Já no lote com 40% de S.E. não houve diferença entre os teores de proteínas entre os lotes armazenados nas duas embalagens.



Para cada lote, médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste F ($p < 0,05$).

* Diferença significativa pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$), para cada condição de armazenamento em relação ao início.

Figura 6. Teor de proteínas solúveis de lotes de sementes de soja de diferentes cultivares e com diferentes proporções de sementes esverdeadas (S.E.) antes e após o armazenamento em embalagem plástica e embalagem de papel kraft.

Para o cultivar “B”, nos lotes com 8 e 21% de S.E., não houve diferença nos teores de proteínas solúveis das sementes armazenadas em ambas as embalagens, sendo que os valores foram semelhantes também àqueles observados na época inicial. Já para o lote com 11% de S.E., houve aumento dos teores de proteínas solúveis nas sementes armazenadas em embalagem de papel kraft, sendo o valor superior ao obtido nas sementes armazenadas em embalagem plástica.

No cultivar “C”, somente nas sementes do lote com 2% de S.E., armazenado em embalagem plástica, houve redução dos conteúdos de proteínas solúveis, em relação à época

inicial. Nos outros lotes deste cultivar, não houve diferença em relação ao início do armazenamento, para ambas as embalagens. No lote com 8% de S.E., houve menor conteúdo de proteínas solúveis nas sementes armazenadas em embalagem plástica.

A redução dos teores de proteínas pode estar relacionada com o processo de oxidação durante o armazenamento das sementes (Abbade e Takaki, 2014; Møller et al., 2020), que leva à degradação de enzimas importantes para a atividade metabólica das sementes, como por exemplo as enzimas do sistema de defesa antioxidativo (Bhatia et al., 2010; Abbade e Takaki, 2014). Nessas condições, a qualidade fisiológica das sementes é reduzida.

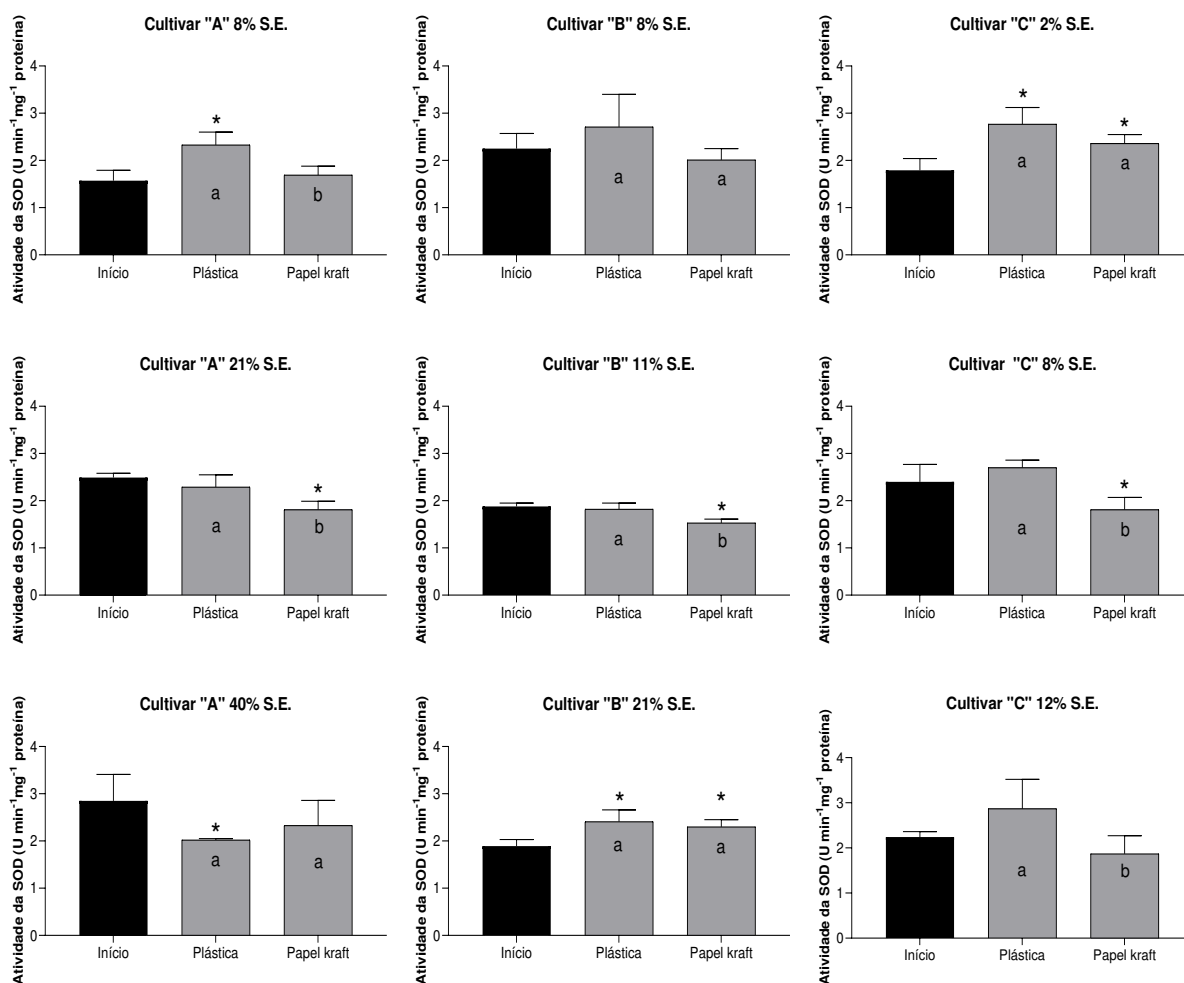
Ainda, a redução no teor de proteínas solúveis pode indicar que o processo respiratório está ocorrendo, com degradação de reservas, o que também caracteriza o processo de deterioração das sementes (Bhatia et al., 2010; Bewley et al., 2013; Marcos-Filho, 2015; Chidananda et al., 2014; Ochandio et al., 2017; Boniecka et al., 2019).

Nos lotes em que houve redução dos teores de proteínas solúveis em relação à época inicial e, ou, entre embalagens, a menor qualidade das sementes foi observada no armazenamento em embalagem plástica. Isso corrobora com os resultados do teste de envelhecimento acelerado, em que, em geral, foi observado menor vigor para as sementes armazenadas em embalagem plástica. Ambos os resultados podem estar relacionados com a menor degradação da clorofila nas sementes armazenadas em embalagem plástica, conforme discutido anteriormente.

Somente nos lotes das cultivares “A”, com 8% de S.E., e “C”, com 2% de S.E., foi observado redução dos teores de proteínas solúveis das sementes armazenadas em embalagem plástica, em relação à época inicial, mesmo após 195 dias de armazenamento. É provável que o teor de água das sementes, mantido ao redor de 10% ao longo do armazenamento, contribuiu para menor atividade metabólica das sementes e, conseqüentemente, menor degradação de proteínas solúveis. Boniecka et al. (2019) relataram que sementes de colza armazenadas por três anos, com grau de umidade ao redor de 5%, não apresentaram diferença significativa nos teores de proteínas solúveis, tanto em relação às sementes mais novas, quanto em relação as diferentes temperaturas de armazenamento. Com o grau de umidade das sementes mais baixo, até certo limite, processos relacionados a degradação de reservas são menos intensos (Marcos-Filho, 2015; Ochandio et al., 2017).

Com relação à enzima superóxido dismutase (SOD), no cultivar “A”, para o lote com 8% de S.E. foi observado maior atividade da enzima nas sementes armazenadas em embalagem plástica, em relação à época inicial, e em relação àquelas armazenadas em embalagem de papel kraft (Figura 7). No lote com 21% de S.E., a atividade da SOD foi menor para as sementes

armazenadas em embalagem de papel kraft, tanto em relação à época inicial, quanto em relação às sementes armazenadas em embalagem plástica. Já no lote com maior proporção de S.E. (40%), não houve diferença entre as embalagens, porém para as sementes armazenadas em embalagem plástica a atividade da SOD foi menor do que nas sementes antes de iniciar o armazenamento.



Para cada lote, médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste F ($p < 0,05$).

* Diferença significativa pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$), para cada condição de armazenamento em relação ao início.

Figura 7. Atividade da superóxido dismutase (SOD) de lotes de sementes de soja de diferentes cultivares e com diferentes proporções de sementes esverdeadas (S.E.) antes e após o armazenamento em embalagem plástica e embalagem de papel kraft.

Para o lote com 8% de S.E. do cultivar “B” não houve diferença na atividade da SOD das sementes armazenadas em ambas as embalagens, assim como em relação à época inicial. No lote com 11% de S.E., a atividade dessa enzima foi significativamente menor nas sementes armazenadas em embalagem de papel kraft, tanto em relação à época inicial, quanto em relação

às sementes armazenadas em embalagem plástica. Já para o lote com 21% de S.E. desse cultivar, não houve diferença entre as embalagens, sendo que para os lotes armazenados em ambas a atividade da SOD foi maior do que a observada inicialmente.

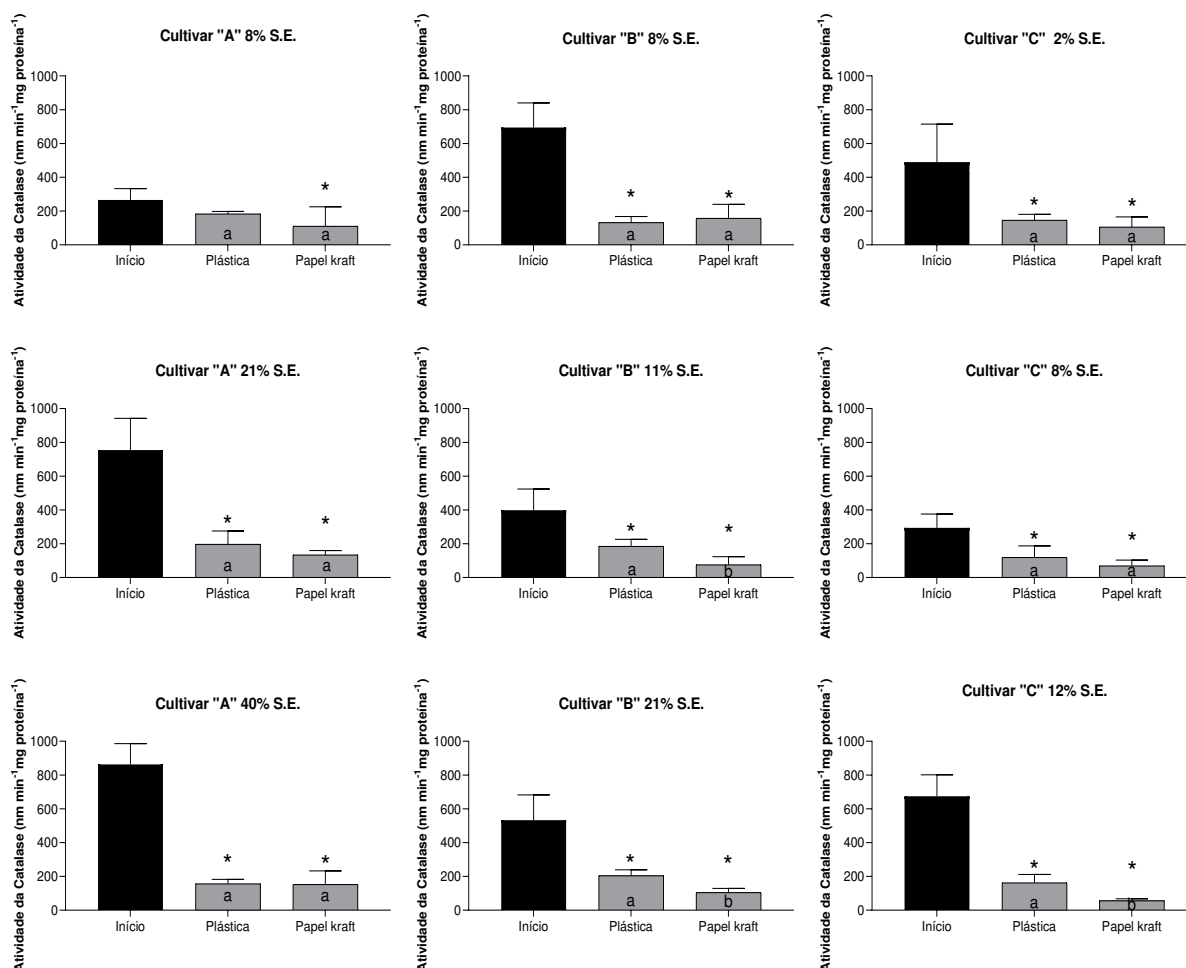
No lote com 2% de S.E. do cultivar “C” não houve diferença na atividade da SOD nas sementes armazenadas nas duas embalagens, sendo para os lotes armazenados em ambas a atividade enzimática foi maior em relação ao início. Já nos outros dois lotes desse cultivar, com maiores níveis de S.E., houve maior atividade da SOD nas sementes armazenadas em embalagem plástica, sendo que no lote com 8% de S.E. a atividade dessa enzima foi também significativamente menor em relação à época inicial.

A SOD faz parte da primeira linha de defesa do sistema antioxidativo (Bailly et al., 2004; Bhatia et al., 2010; Noctor et al., 2018), dismutando o ânion superóxido em peróxido de hidrogênio (Bailly et al., 2004). A avaliação da atividade da SOD, assim como para outras enzimas do sistema antioxidante, em conjunto com dados fisiológicos, pode trazer informações valiosas a respeito do estado de deterioração das sementes.

Alta atividade dessas enzimas, associada à manutenção de alto desempenho fisiológico, indica que o sistema de defesa antioxidativo está sendo eficiente para remover o excesso de espécies reativas de oxigênio (EROs), o que é um pré-requisito em sementes vigorosas (Bailly, 2004; Mittler et al., 2017; Noctor et al., 2018; Araújo et al., 2021). Entretanto, alta atividade enzimática associada a pior desempenho fisiológico indica que estresse oxidativo está ocorrendo, e com isso o processo de deterioração está mais intenso (Bailly, 2004; Boniecka et al., 2019). Já a redução de atividade enzimática tem sido relacionada com a deterioração das sementes (Bailly et al., 1996; Yin et al., 2014; Yin et al., 2015; Min et al., 2017; Zhang et al., 2021).

Em todos os lotes em que houve diferença na atividade da SOD, comparando-se as sementes armazenadas nas duas embalagens, a maior atividade da enzima foi observada nas sementes armazenadas em embalagem plástica. Isso pode estar relacionado a maior conservação da clorofila nas sementes armazenadas nessa embalagem. A presença da clorofila pode induzir estresse oxidativo e acelerar a deterioração das sementes (Smolikova, Laman e Boriskevich, 2011; Smilikova e Medvedev, 2016; Taiz et al., 2017; Noctor et al., 2018). Nas sementes armazenadas em embalagem plástica, também foi observada maior degradação de proteínas solúveis (Figura 6) e pior desempenho no teste de envelhecimento acelerado (Figura 3), em alguns lotes, conforme citado anteriormente.

Em relação à atividade da enzima catalase, para o cultivar “A”, em todos os lotes não houve diferença na atividade enzimática das sementes armazenadas em ambas as embalagens (Figura 8). Em todos os lotes, houve redução da atividade da enzima em relação à época inicial, exceto para o lote com 8% de S.E. armazenado em embalagem plástica.



Para cada lote, médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste F ($p < 0,05$).

* Diferença significativa pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$), para cada condição de armazenamento em relação ao início.

Figura 8. Atividade da catalase de lotes de sementes de soja de diferentes cultivares e com diferentes proporções de sementes esverdeadas (S.E.) antes e após o armazenamento em embalagem plástica e embalagem de papel kraft.

Para o cultivar “B” houve redução da atividade da catalase em todos lotes e embalagens, em relação à época inicial. Somente para o lote com 8% de S.E. desse cultivar não houve diferença entre as sementes armazenadas em ambas as embalagens, enquanto que nos outros dois lotes foram observadas menor atividade nas sementes armazenadas em embalagem de papel kraft.

No cultivar “C”, em todos os lotes houve redução da atividade da catalase em relação ao período inicial. Somente no lote com 12% de S.E. houve diferença na atividade enzimática comparando-se as sementes armazenadas nas duas embalagens, com menor valor observado nas sementes armazenadas em embalagem de papel kraft.

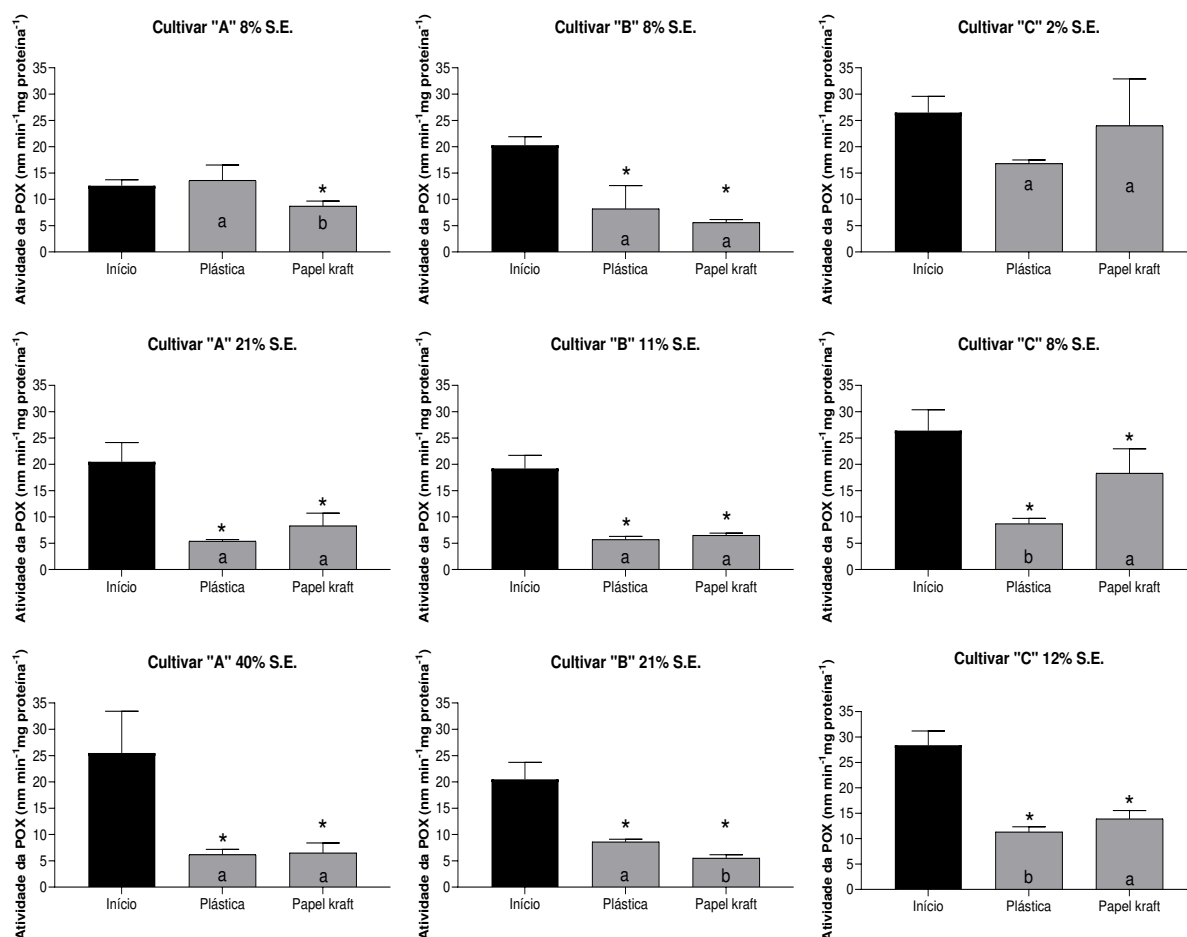
Apesar do aumento da atividade da SOD nas sementes armazenadas em embalagem plástica, em relação às aquelas armazenadas em embalagem de papel kraft, nem sempre houve aumento concomitante da atividade da enzima catalase. Além disso, mesmo ocorrendo aumento, ou manutenção, da atividade da SOD nas sementes da maioria dos lotes armazenados em embalagem plástica, em relação à época inicial, em todos os lotes houve redução da atividade da enzima catalase, com exceção das sementes do lote “A” com 8% de S.E. armazenadas em embalagem plástica.

Yin et al. (2015), trabalhando com sementes de canola (*Brassica napus* L.), relataram menor atividade da catalase nas sementes envelhecidas artificialmente. Em sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) foi constatado redução de atividade da catalase com o envelhecimento das sementes (Yin et al., 2014). Já Sharma et al. (2013) relataram redução na atividade da catalase em sementes de soja após 180 dias de armazenamento em condições ambiente. A catalase atua na decomposição do peróxido de hidrogênio (Noctor et al., 2018). Como a atividade da SOD resulta em produção dessa ERO, a manutenção da atividade dessa enzima, associado a menor atividade da catalase pode ocasionar maior acúmulo de peróxido de hidrogênio, e isso induzir maior estresse oxidativo. De forma semelhante, os trabalhos de Yin et al. (2014) e Boniecka et al. (2019) também apontam para essa possibilidade.

Ademais, as reduções na atividade da catalase com o armazenamento das sementes, em ambas as embalagens, indicam que a deterioração das sementes ocorreu. Outros trabalhos relacionaram redução na atividade enzimática com o envelhecimento das sementes (Bailly et al., 1996; Yin et al., 2014; Yin et al., 2015; Min et al., 2017). Todavia, esse comportamento observado em todos os lotes não se refletiu em menor desempenho nos testes de germinação, com exceção para os lotes com 8% de S.E. dos cultivares “B” e “C”, armazenados em embalagem plástica, e no teste de envelhecimento acelerado das sementes armazenadas em embalagem de papel kraft, após 195 dias de armazenamento.

Com exceção do lote da cultivar “C” com 2% de S.E., armazenado em ambas as embalagens, e do lote da cultivar “A” com 8% de S.E., armazenado em embalagem plástica, no demais lotes a atividade enzimática da POX foi menor em relação à época inicial (Figura 9). Essa redução da atividade enzimática novamente reforça o avanço do processo de deterioração

das sementes, ainda que os resultados do teste de germinação não indiquem esse processo. Sharma et al. (2013) e Silva et al. (2018) também relataram reduções na atividade da POX com o armazenamento de sementes de soja e de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.), respectivamente.



Para cada lote, médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste F ($p < 0,05$).

* Diferença significativa pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$), para cada condição de armazenamento em relação ao início.

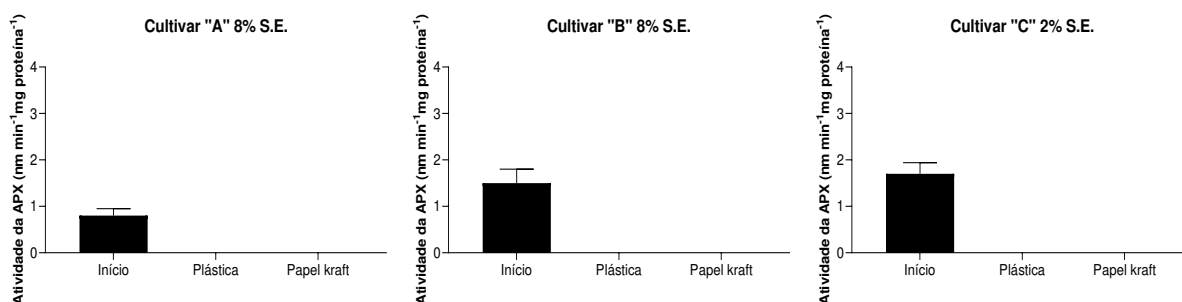
Figura 9. Atividade da peroxidase (POX) de lotes de sementes de soja de diferentes cultivares e com diferentes proporções de sementes esverdeadas (S.E.) antes e após o armazenamento em embalagem plástica e embalagem de papel kraft.

No cultivar “A”, somente no lote com menor nível de S.E. houve diferença na atividade da POX, comparando-se as sementes armazenadas nas duas embalagens. As sementes armazenadas em embalagem de papel kraft apresentaram menor atividade da enzima. Já no cultivar “B”, houve menor atividade da POX nas sementes armazenadas em embalagem de papel kraft somente no lote com 21% de S.E. Nos outros lotes não houve diferença entre os resultados obtidos, comparando-se as embalagens. No cultivar “C”, nos lotes com 8 e 12% de

S.E., a maior atividade da POX foi observada nas sementes armazenadas em embalagem de papel kraft. No lote com 2% de S.E. desse cultivar não houve diferença entre na atividade da enzima, comparando-se as embalagens.

Assim como para a catalase, não foi observado aumento na atividade da POX, em relação à época inicial, em nenhum dos lotes analisados. Essas enzimas atuam também na decomposição do peróxido de hidrogênio, porém removendo quantidades menores do excesso dessa ERO, conforme citam Silva et al. (2018). Como a atividade da SOD foi mantida ou aumentou em relação ao período inicial, dependendo do lote e embalagem, a menor atividade enzimática tanto da catalase, como da POX, pode resultar em desequilíbrio entre produção e remoção de peróxido de hidrogênio, com consequências negativas para o desempenho fisiológico das sementes.

Em todos os lotes e embalagens não foi detectada atividade da enzima peroxidase do ascorbato (APX) após o armazenamento (Figura 10). Somente na época inicial foi observada atividade dessa enzima. A APX atua de forma semelhante a POX, ao participar do processo de degradação do peróxido de hidrogênio, e também atuando na remoção de menores quantidades dessa ERO (Silva et al., 2018; Ebone, Caverzan e Chavarria, 2019). A não detecção da atividade dessa enzima nas sementes após o período de armazenamento indica, mais uma vez, que o processo de deterioração está ocorrendo. Em sementes de arroz (Yin et al., 2014) e soja (Xin et al., 2014) também são relatadas reduções da atividade da APX com o envelhecimento das sementes.



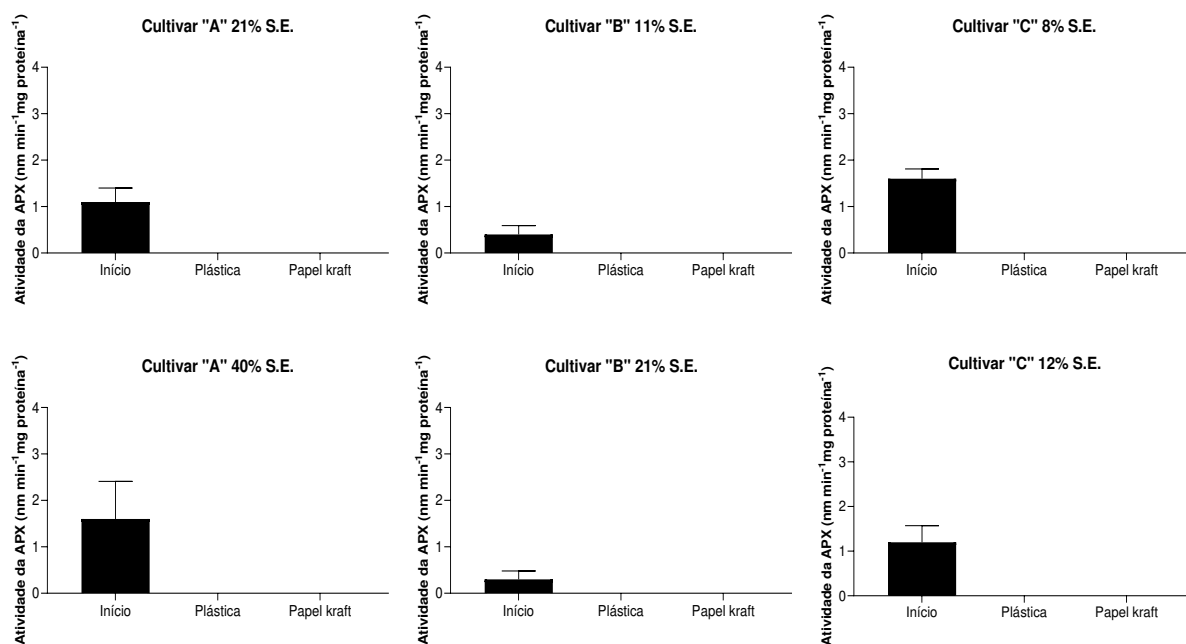


Figura 10. Atividade da peroxidase do ascorbato (APX) de lotes de sementes de soja de diferentes cultivares e com diferentes proporções de sementes esverdeadas (S.E.) antes e após o armazenamento em embalagem plástica e embalagem de papel kraft.

Em geral, não foi observada diferença no potencial de germinação das sementes armazenadas em ambas as embalagens, e em todos os lotes. Já o teste de envelhecimento acelerado revelou diferenças entre as sementes armazenadas nas duas embalagens, com o melhor desempenho sendo observado nas sementes armazenadas em embalagem de papel kraft. Isso indica que o processo de deterioração está ocorrendo de forma mais intensa nas sementes armazenadas em embalagem plástica. No processo de deterioração há uma sequência de eventos degenerativos, progressivos e irreversíveis, que comprometem processos fisiológicos e, ou, bioquímicos identificados primeiramente nos testes de vigor (Bewley et al., 2013; Marcos-Filho, 2015; Zhang et al., 2021). Posteriormente, o percentual de germinação também irá declinar.

A SOD é a principal enzima responsável por dismutar o ânion superóxido em peróxido de hidrogênio, o que pode resultar em acúmulo de peróxido de hidrogênio (Noctor et al., 2018;). Essa ERO pode ser degradada por diversas enzimas, como a catalase, POX e APX (Bhatia et al., 2010). Porém, a menor atividade dessas enzimas, conforme observado no presente trabalho, pode resultar em maior acúmulo de peróxido de hidrogênio, e isso acarretar maior estresse oxidativo.

Todavia, é importante destacar que o sistema antioxidante é composto por enzimas e compostos antioxidantes, que atuam de tal forma que há redundância na remoção do excesso

de determinada ERO (Bailly, 2004; Bhatia et al., 2010; Mittler et al., 2017; Noctor et al., 2018). Sendo assim, apesar da redução da atividade de algumas enzimas, o processo de desintoxicação de EROs pode ter sido compensado pela atuação de antioxidantes não enzimáticos, e isso permitiu manter o desempenho fisiológico dos lotes armazenados em embalagem de papel kraft. Já na embalagem plástica, houve menor degradação da clorofila, e a presença desse pigmento pode ter resultado em produção adicional de EROs, o que pode não ter sido suficientemente compensado por aumento na atividade das enzimas antioxidantes ou acúmulo de compostos antioxidantes.

Assim, os resultados sugerem que a manutenção da qualidade das sementes armazenadas em embalagem de papel kraft se deve a maior degradação da clorofila e ao baixo teor de água, mantido ao longo de todo o período de armazenamento, o que também minimiza reações de oxidação, que por sua vez favorecem menor degradação de reservas e menor produção de EROs (Chidananda et al., 2014; Ochandio et al., 2017; Boniecka et al., 2019; Zhang et al., 2021).

A análise de componentes principais resumiu o comportamento distinto dos lotes após o período de armazenamento (Figura 11). Os componentes 1 (PC1) e 2 (PC2) explicaram 46,0 e 25,7% da variação total dos dados, respectivamente. Com exceção do lote do cultivar “A” com 40% de S.E., todos os outros lotes armazenados em embalagem de papel kraft ficaram posicionados mais próximo dos vetores dos testes de germinação e envelhecimento acelerado. Isso ilustra os resultados observados anteriormente, sendo que nessa embalagem as sementes apresentaram maior potencial fisiológico.

Pode-se observar também que o vetor da atividade da POX, do teor de proteínas solúveis e dos conteúdos de MDA ficaram mais próximos dos vetores dos testes fisiológicos. Isso indica que a POX se mostrou mais relacionada com o potencial fisiológico do que as outras enzimas analisadas. Como a POX atua removendo quantidades menores do excesso de peróxido de hidrogênio (Silva et al., 2018), os resultados sugerem que nesses lotes houve menor estresse oxidativo e com isso apresentaram melhor desempenho nos testes de germinação e de envelhecimento acelerado.

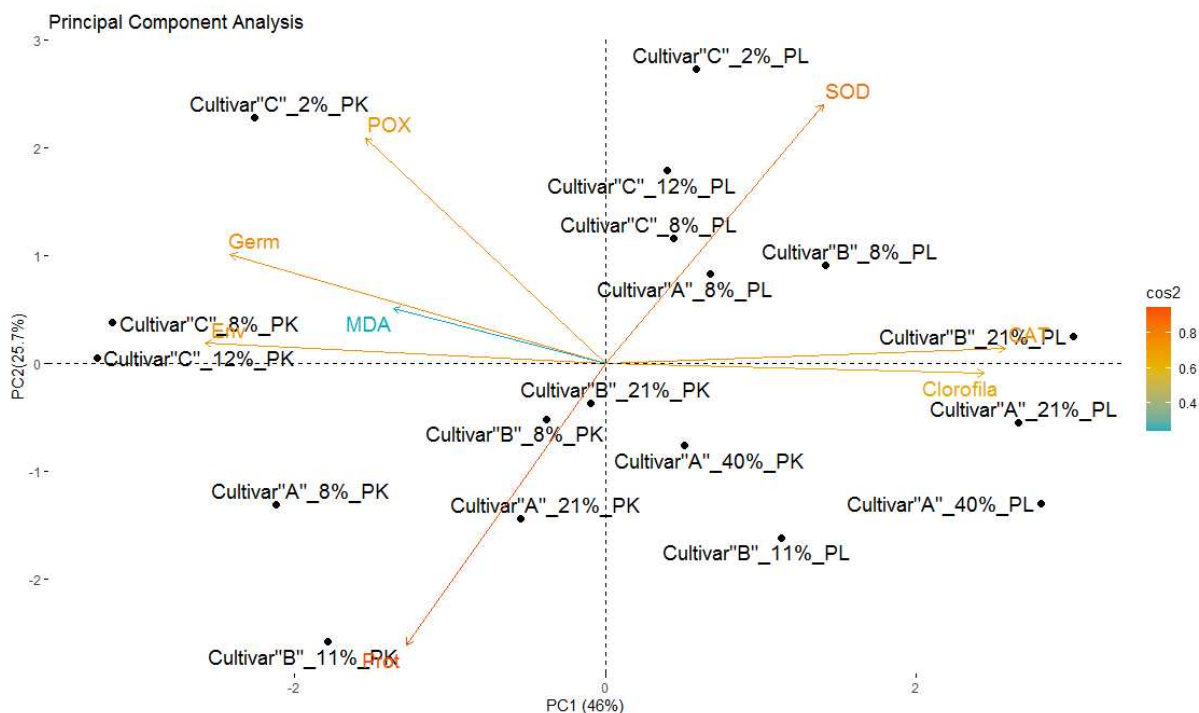


Figura 11. Análise de componentes principais (PCA) das variáveis germinação (germ), envelhecimento acelerado (env), teor de malonaldeído (MDA), teor de proteínas solúveis (Prot) e atividade enzimática das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peróxidase (POX) dos lotes dos cultivares “A”, “B” e “C” armazenados em embalagem plástica (PL) e de papel kraft (PK).

Apesar do vetor do MDA estar posicionado do mesmo lado dos outros vetores mencionados, ele contribuiu pouco para explicar a variação total dos dados. Isso pode ser reflexo do pouco acúmulo desse composto nas sementes. Nem sempre houve diferença nos teores de MDA das sementes armazenadas em ambas as embalagens e, ou, em relação ao início do armazenamento.

Já os lotes armazenados em embalagem plástica, juntamente com o lote com maior proporção de S.E. do cultivar “A” (40%), se posicionaram em posição oposta aos demais lotes. Da mesma forma, o vetor da clorofila se posicionou mais próximos dos lotes armazenados em embalagem plástica. Isso mostra que a menor degradação da clorofila nas sementes desses lotes foi prejudicial a sua armazenabilidade.

Os vetores da atividade da SOD e catalase se posicionaram opostamente aos vetores dos testes de desempenho fisiológico. Isso demonstra que a atividade dessas enzimas apresentou relação inversa com os testes de desempenho fisiológicos. Além disso, houve maior atividade da SOD nas sementes armazenadas em embalagem plástica e nas que apresentaram maiores teores de clorofila, o que sugere maior estresse oxidativo.

Conclusões

A utilização de embalagens de papel kraft e a manutenção da umidade das sementes próximo de 10% contribui para a manutenção da qualidade fisiológica das sementes por até 195 dias, independentemente do nível de sementes esverdeadas no lote.

As sementes armazenadas em embalagem plástica apresentaram menor degradação da clorofila, menor potencial de armazenamento e maior atividade da enzima SOD.

Em lotes com diferentes proporções de sementes esverdeadas, a atividade enzimática da POX mostrou-se mais relacionada com o desempenho fisiológico das sementes.

As enzimas catalase, POX e APX foram mais sensíveis para indicar redução da qualidade fisiológica das sementes após o armazenamento.

Referências

- ABBADE, L.C.; TAKAKI, M. Biochemical and physiological changes of *Tabebuia roseoalba* (Ridl.) Sandwith (Bignoniaceae) seeds under storage. **Journal of Seed Science**, v.36, p.100–107, 2014.
- ANDERSON, M.D.; PRASAD, T.K.; STEWART, C.R. Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotylus of maize seedlings. **Plant Physiology**, v.109, p.1247-1257, 1995.
- ANJUM, N.A.; SOFO, A.; SCOPA, A.; ROYCHOUDHURY, A.; GILL, S.S.; IQBAL, M.; LUKATKIN, A.S.; PEREIRA, E.; DUARTE, A.C.; AHMAD, I. Lipids and proteins—major targets of oxidative modifications in abiotic stressed plants. **Environ Sci Pollut Res**, v.22, p.4099–4121, 2015.
- ARAÚJO, J.O.; DIAS, D.C.F.S.; NASCIMENTO, W.M.; MARTINS, A.O.; LIMÃO, M.A.R. Accelerated aging test and antioxidant enzyme activity to assess chickpea seed vigor. **Journal of Seed Science**, v.43, e202143038, p.1-12, 2021.
- BAILLY, C. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. **Seed Science Research**, v.14, p.93–107, 2004.
- 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, p.104-110, 1996.
- BATISTA, T.H.; PERISSATO, S.M.; REGO, C.H.Q.; OLIVEIRA, G.R.F.; HENNING, F.A.; SILVA, E.A.A. Is it possible to estimate longevity through the analyses used to measure the initial physiological potential in soybean seeds? **Journal of Seed Science**, v.43, p. 1-8, 2021.
- BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, v.44, p.276-287, 1971.

BEWLEY, J.D.; BRADFORD, K.J.; HILLHORST, H.W.M; NONOGAKI, H. **Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy**. 3rd. ed. New York: Springer Science + Business Media, 2013.

BHATIA, V.S.; YADAV, S.; JUMRANI, K.; GURUPRASAD, K.N. Field deterioration of soybean seed: role of oxidative stresses and antioxidant defense mechanism. **J. Plant Biol.**, v.37, n.2, p.179–190, 2010.

BONIECKA, J.; KOTOWICZ, K.; SKRZYPEK, E.; DZIURKA, K.; REWERS, M.; JEDRZEJCZYK, I.; WILMOWICZ, E.; BERDYCHOWSKA, J.; DĄBROWSKA, G.B. Potential biochemical, genetic and molecular markers of deterioration advancement in seeds of oilseed rape (*Brassica napus* L.). **Industrial Crops & Products**, v.130, p.478–490, 2019.

BORRMANN, D.; ANDRANDE, J.C.; LANFER-MARQUEZ, U.M. Chlorophyll degradation and formation of colorless chlorophyll derivatives during soybean (*Glycine max* L. Merrill) seed maturation. **J. Agric. Food Chem.**, v.57, p.2030-2034, 2009.

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

CAPILHEIRA, A.F; CAVALCANTE, J.A.; GADOTTI, G.I.; BEZERRA, B.R.; HORNKE, N.F.; VILLELA, F.A. Storage of soybean seeds: packaging and modified atmosphere technology. **R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental**, v.23, p.876-882, 2019.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. 4ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000, 588p.

CHANCE, B.; MAEHLEY, A.C. Assay of catalases and peroxidases. **Methods in Enzymology**, v.2, p.764-775, 1955.

CHIDANANDA, K.P.; CHELLADURAI, V.; JAYASM, D.S.; ALAGUSUNDARAM, K.; WHITE, N.D.G.; FIELDS, P.G. Respiration of pulses stored under different storage conditions. **J. Stored Prod. Res.**, v.59, p.42-47, 2014.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos, Brasília, DF, v. 8, safra 2020/21, n. 12 décimo segundo levantamento, setembro. 2021.

CORADI, P.C; LIMA, R.E.; PADIA, C.L.; ALVES, C.Z.; TEODORO, P.E.; CÂNDIDO, A.C.S. Soybean seed storage: packaging technologies and conditions of storage environments. **Journal of Stored Products Research**, v.89, p.1-9, 2020.

COSTA, N.P.; FRANÇA-NETO, J.B.; PEREIRA, J.E.; MESQUITA, C.M.; KRZYŻANOWSKI, F.C.; HENNING, A.A. Efeito de sementes verdes na qualidade fisiológica de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.23, n.2, p.102-107, 2001.

DEL LONGO, O.T.; GONZÁLEZ, A.; PASTORI, G.M.; TRIPPI, V.S. Antioxidant defenses under hyperoxygenic and hyperosmotic conditions in leaves of two lines of maize with differential sensitivity to drought. **Plant Cell Physiology**, v.34, p.1023-1028, 1993.

EBONE, L.A.; CAVERZAN, A.; CHAVARRIA, G. Physiologic alterations in orthodox seeds due to deterioration processes. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.145, p.34-42, 2019.

EMBRAPA. Embrapa Soja alerta sobre elevado índice de sementes de soja esverdeadas. **Embrapa**, 2020. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/50991872/embrapa-soja-alerta-sobre-elevado-indice-de-sementes-de-soja-esverdeadas>>. Acesso em: 14 de set. de 2020.

FINCH-SAVAGE WE, BASSEL GW. Seed vigour and crop establishment: extending performance beyond adaptation. **Journal of Experimental Botany**, v.67, p.567-591, 2016.

FORTI, V.A.; CICERO, S.M.; PINTO, T.L.F. Avaliação da evolução de danos por “umidade” e redução do vigor em sementes de soja, cultivar TMG113-RR, durante o armazenamento, utilizando imagens de raios x e testes de potencial fisiológico. **Revista Brasileira de Sementes**, vol.32, n.3 p.123-133, 2010.

FRANÇA-NETO, J.B.; KRZYZANOWSKI, F.C.; HENNING, A.A.; PADUA, G.P.; LORINI, I.; HENNING, F.A. **Tecnologia da produção de semente de soja de alta qualidade**. Londrina: Embrapa Soja, 2016. 82 p. (Embrapa Soja. Documentos, 380).

FRANÇA NETO, J.B.; PÁDUA, G.P.; KRZYZANOWSKI, F.C.; CARVALHO, M.L.M.; HENNING, A.A.; LORINI, I. Semente esverdeada de soja: causas e efeitos sobre o desempenho fisiológico - Série Sementes. **Embrapa Soja-Circular Técnica**, Londrina, v.91, p. 1-15, 2012.

GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Superoxide dismutases: Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v.59, p.309–314, 1977.

GIURIZATTO, M.I.K.; FERRARESE-FILHO, O.; FERRARESE, M.L.L.; ROBAINA, A.D.; GONÇALVES, M.C.; CARDOSO, C.A.L. α -Tocopherol levels in natural and artificial aging of soybean seeds. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.34, n.3, p.339-343, 2012.

HAVIR, E.A.; McHALE, N.A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiology**, v.84, p.450-455, 1987.

HEATH, R.L.; PACKER, L. Photo peroxidation in isolated chloroplast. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.125, n.1, p.189-198, 1968.

KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant Physiology**, v.57, p.315-319, 1976.

KOSHIBA, T. Cytosolic ascorbate peroxidase in seedling and leaves of maize (*Zea mays*), **Plant Cell Physiology**, v.34, p.713-721, 1993.

LUDWIG, V.; BERGHETTI, M.R.P.; RIBEIRO, S.R.; ROSSATO, F.P.; WENDT, L.M.; THEWES, F.R.; THEWES, F.R.; BRACKMANN, A.; BOTH, V.; WAGNER, R. The effects of soybean storage under controlled atmosphere at different temperatures on lipid oxidation and volatile compounds profile. **Food Research International**, v.147, p.1-10, 2021.

MAPA – MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. PADRÕES PARA A PRODUÇÃO E A COMERCIALIZAÇÃO DE SEMENTES DE SOJA (*Glycine max* L.). Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/sementes-e-mudas/publicacoes-sementes-e-mudas/copy_of_INN45de17desetembrede2013.pdf>. Acesso em: 09 set. 2021.

MARCOS-FILHO, J. *Fisiologia de sementes de plantas cultivadas*. 2 ed. Piracicaba: FEALQ, 2015. 660p.

MARCOS-FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: Krzyzanowski, F.C.; Vieira, R.D.; França Neto, J.B.; Marcos-Filho, J. (eds.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 2020. p.185-246.

MEDEIROS, A.D.; CAPOBIANGO, N.P.; SILVA, J.M.; SILVA, L.J.; SILVA, C.B.; DIAS, D.C.F.S. Interactive machine learning for soybean seed and seedling quality classification. **Scientific Reports**, v.10, p.1-10, 2020.

MIN, C.W., LEE, S.H., CHEON, Y.E., HAN, W.Y., KO, J.M., KANG, H.W. In-depth proteomic analysis of *Glycine max* seeds during controlled deterioration treatment reveals a shift in seed metabolism. **J. Proteom.** v.169, p.125–135, 2017.

MITTLER, R. ROS Are Good. **Trends in Plant Science**, v.22, n.1, p.11–19, 2017.

MØLLER, I.M.; IGAMBERDIEV, A.U.; BYKOVA, N.V.; FINKEMEIER, I.; RASMUSSEN, A.G.; SCHWARZLANDER, M. Matrix redox physiology governs the regulation of plant mitochondrial metabolism through posttranslational protein modifications. **Plant Cell**, v.32, p.573–594, 2020.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidases in spinach chloroplasts. **Plant Cell Physiology**, v.22, p.867–880, 1981.

NOCTOR, G.; REICHHELD, J.; FOYER, C.H. ROS-related redox regulation and signaling in plants. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, v.80 p.3-12, 2018.

OCHANDIO, D.; BARTOSIK, R.; GASTÓN, A.; ABALONE, R.; BARRETO, A.A.; YOMMI, A. Modelling respiration rate of soybean seeds (*Glycine max* (L.)) in hermetic storage. **Journal of Stored Products Research**, v.74, p.36-45, 2017.

ONYILAGHA, J.C; ELLIOT, B.H.; BUCKNER, E.; OKIROR, S.O.; RANEY, P.J. Seed Chlorophyll Influences Vigor in Oilseed Rape (*Brassica napus* L. var *AC Excel.*). **Journal of Agricultural Science**, v.3, n.2, p.73-79, 2011.

PÁDUA, G.P.; CARVALHO, M.L.M.; FRANÇA-NETO, J.B.; GUERREIRO, M.C.; GUIMARÃES, R.M. Response of soybean genotypes to the expression of green seed under temperature and water stresses. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.3, p.140-149, 2009.

PÁDUA, G.P.; FRANÇA-NETO, J.B.; CARVALHO, M.L.M.; COSTA, O.; KRZYZANOWSKI, F.C.; COSTA, N.P. Tolerance level of green seed in soybean lots after storage. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 29, n. 3, p.112-120, 2007.

PÁDUA, G.P.; FRANÇA-NETO, J.B.; CARVALHO, M.L.M.; KRZYZANOWSKI, F.C.; GUIMARÃES, R.M. Incidence of green soybean seeds as a function of environmental stresses during seed maturation. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.3, p.150-159, 2009.

PARDO, F. F.; BINOTTI, F. F. S.; CARDOSO, E. D.; COSTA, E. Qualidade fisiológica de sementes de soja esverdeadas em diferentes tamanhos. **Revista de Agricultura Neotropical**, v.2, n.3, p.39-43, 2015.

PEIXOTO, P.H.P.; CAMBRAIA, J.; SANTANNA, 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, p.137-143, 1999.

RANGEL, M.A.S.; MINUZZI, A.; PIEREZAN, L.; TEODÓSIO, T.K.C.; ONO, F.B.; CARDOSO, P.C. Presença e qualidade de sementes esverdeadas de soja na região sul do Estado do Mato Grosso do Sul. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.33, n.1, p.127-132, 2011

R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

SATTLER, S.E.; GILLILAND, L.U.; MAGALLANES-LUNDBACK, M.; POLLARD, M.; DELLAPENNA, D. Vitamin E is essential for seed longevity and for preventing lipid peroxidation during germination. **The Plant Cell**, v.16, p.1419-1432, 2004.

SHARMA, S.; KAUR, A.; BANSAL, A.; GILL, B.S. Positional effects on soybean seed composition during storage. **J Food Sci Technol**, v.50, n.2, p.353–359, 2013.

SILVA, L.J.; DIAS, D.C.F.S.; SEKITA, M.C.; FINGER, F.L. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes of *Jatropha curcas* L. seeds stored at different maturity stages. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.40, e34978, p.1-10, 2018.

SINNECKER, P.; BRAGA, N.; MACCHIONE, E.L.A.; LANFER-MARQUEZ, U.M. Mechanism of soybean (*Glycine max* L. Merrill) degreening related to maturity stage and postharvest drying temperature. **Postharvest Biology and Technology**, v.38, p.269-279, 2005.

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

SMOLIKOVA, G.N.; DOLGIKH, E.; VIKHNINA, M.; FROLOV, A.; MEDVEDEV, S. Genetic and Hormonal Regulation of Chlorophyll Degradation during Maturation of Seeds with Green Embryos. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, p.1993-2008, 2017.

SMOLIKOVA, G.N.; LAMAN, N.A.; BORISKEVICH, O.V. Role of chlorophylls and carotenoids in seed tolerance to abiotic stressors. **Russian Journal of Plant Physiology**, v.58, p.965-973, 2011.

SMOLIKOVA, G.N.; MEDVEDEV, S.S. Photosynthesis in the seeds of chloroembryophytes. **Russian Journal of Plant Physiology**, v.63 n.1, 2016.

TAIZ L.; ZEIGER E.; MØLLER, I.M.; MURPH, A. *Fisiologia e desenvolvimento vegetal*. 6ª ed. Porto Alegre: Artmed. 2017. 888p.

TEIXEIRA, S.B.; SILVA, J.G.; MENEGUZZO, M.R.R.; MARTINS, A.B.N.; MENEGHELLO, G.E.; TUNES, L.V.M. Green soybean seeds: effect on physiological quality. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.50, n.2, p.1-6, 2020.

VOM DORP, K.; HÖLZL, G.; PLOHMANN, C.; EISENHUT, M.; ABRAHAM, M.; WEBER, A.P.M.; HANSON, A.D.; DÖRMANN, P. Remobilization of phytol from chlorophyll degradation is essential for tocopherol synthesis and growth of Arabidopsis. **The Plant Cell**, v.27, p.2846-2859, 2015.

YIN, G.; XIN, X.; SONG, C.; CHEN, X.; ZHANG, J.; WU, S.; LI, R.; LIU, X.; LU, X. Activity levels and expression of antioxidant enzymes in the ascorbate-glutathione cycle in artificially aged rice seed. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.80, p.1-9, 2014.

YIN, X.; HE, D.; GUPTA, R.; YANG, P. Physiological and proteomic analyses on artificially aged *Brassica napus* seed. **Frontiers in Plant Science**, v.6, p.1-11, 2015.

ZHANG, K.; ZHANG, Y.; SUN, J.; MENG, J.; TAO, J. Deterioration of orthodox seeds during ageing: Influencing factors, physiological alterations and the role of reactive oxygen species. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.158, p.475-485, 2021.