

HAMILTON CARVALHO DOS SANTOS JUNIOR

**GERMINAÇÃO E ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDATIVAS NA
CARACTERIZAÇÃO DA TOLERÂNCIA DE CULTIVARES DE SOJA AO
ESTRESSE HÍDRICO**

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2018

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

T

S237g
2018 Santos Junior, Hamilton Carvalho dos, 1989-
Germinação e atividade de enzimas antioxidativas na
caracterização da tolerância de cultivares de soja ao estresse
hídrico / Hamilton Carvalho dos Santos Junior. – Viçosa, MG,
2018.

vii, 39f. : il. ; 29 cm.

Orientador: Laércio Junio da Silva.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Soja. 2. Germinação. 3. Plantas - Efeito da seca.
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Fitotecnia.
Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia. II. Título.

CDD 22. ed. 633.34

HAMILTON CARVALHO DOS SANTOS JUNIOR

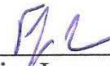
**GERMINAÇÃO E ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDATIVAS NA
CARACTERIZAÇÃO DA TOLERÂNCIA DE CULTIVARES DE SOJA AO
ESTRESSE HÍDRICO**

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

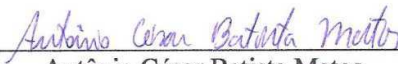
APROVADA: 22 de fevereiro de 2018.



Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias
(Coorientadora)



Felipe Lopes da Silva
(Coorientador)



Antônio César Batista Matos



Laércio Junio da Silva
(Orientador)

SUMÁRIO

RESUMO.....	iv
ABSTRACT	vi
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. MATÉRIAS E MÉTODOS.....	5
2.1. Cultivares de soja	5
2.2. Produção das sementes	5
2.3. Experimento I – Avaliação da qualidade fisiológica das sementes.....	7
2.3.1. Umidade	7
2.3.2. Teste de germinação	7
2.3.3. Análise estatística	7
2.4. Experimento II - Germinação e crescimento inicial das plântulas de soja de diferentes cultivares sob condições de déficit hídrico	7
2.4.1. Teste de germinação	8
2.4.2. Primeira contagem do teste de germinação.....	8
2.4.3. Crescimento de plântulas	8
2.4.4. Análise estatística	8
2.5. Experimento III – Atividade enzimática em sementes de soja de cultivares contrastantes quanto a tolerância ao déficit hídrico durante a germinação e crescimento inicial de plântulas.....	9
2.5.1. Teste de germinação	10
2.5.2. Primeira contagem da germinação.....	10
2.5.3. Crescimento de plântulas	10
2.5.4. Atividade de enzimas do sistema antioxidativo	10
2.5.4.1 Determinação do teor de proteínas	11
2.5.4.2 Determinação da atividade enzimática	11
2.5.5. Análise estatística	12
3. RESULTADOS	13
3.1. Caracterização dos lotes de sementes.....	13
3.1.1. Umidade	13
3.1.2. Vigor dos lotes de sementes referentes às cultivares	13
3.2. Germinação e crescimento inicial das plântulas de soja de diferentes cultivares sob condições de déficit hídrico	14
3.2.1. Análise de componentes principais.....	14

3.2.2.	Redução percentual entre os valores obtidos nos testes de germinação conduzidos no potencial 0 e -0.4 MPa.	17
3.2.3.	Médias das variáveis $PN_{5-0,4MPa}$ e $PN_{8-0,4MPa}$	20
3.2.4.	Indicadores da tolerância de sementes de soja ao déficit hídrico durante a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas para cultivares tolerantes e sensíveis.. ..	21
3.2.5.	Atividade de enzimas do sistema antioxidativo	266
4.	DISCUSSÃO	28
5.	CONCLUSÕES.....	34
6.	REFERÊNCIAS.....	35

RESUMO

SANTOS JR, Hamilton Carvalho dos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Fevereiro de 2018. **GERMINAÇÃO E ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDATIVAS NA CARACTERIZAÇÃO DA TOLERÂNCIA DE CULTIVARES DE SOJA AO ESTRESSE HÍDRICO.** Orientador: Laércio Junio da Silva. Coorientadores: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias; Felipe Lopes da Silva

A privação de quantidade adequada de água durante a implantação ou desenvolvimento de lavouras é o fator mais importante limitando a sobrevivência e produção comercial de plantas. A fase de germinação e desenvolvimento inicial de plântulas é a mais vulnerável aos efeitos da seca. Nos últimos anos, a ocorrência de déficit hídrico durante a implantação em lavouras de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) tem sido comum, gerando grandes prejuízos advindos de dossel deficitário de plantas e conseqüente necessidade de replantio. É possível que nos próximos anos se inicie uma classificação e apresentação comercial da tolerância de cultivares de soja ao déficit hídrico durante a germinação e crescimento inicial de plântulas. Vários indicadores podem ser utilizados na avaliação da tolerância de sementes ao déficit hídrico durante a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas. O teste de germinação tem bom potencial para acessar essa tolerância por se tratar da avaliação de uma característica complexa e que avalia a capacidade da semente em dar origem à uma plântula normal. Além disso, o vigor de lotes de sementes é um fator que deve ser considerado na avaliação de cultivares de soja quanto a tolerância ao déficit hídrico, pois lotes com maior vigor apresentam maior tolerância às condições de estresse. Isto posto, o objetivo deste estudo foi: i) classificar diferentes cultivares de soja quanto a tolerância de sementes ao déficit hídrico durante a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas; ii) avaliar o teste de germinação como uma possível metodologia para acessar essa tolerância; e iii) avaliar a atividade de enzimas do sistema de defesa antioxidativo de cultivares contrastantes quanto à tolerância ao déficit hídrico. Sementes de 27 cultivares de soja foram produzidas em casa de vegetação e submetidas à avaliação quanto à tolerância ao déficit hídrico durante a germinação. Para isso, duas metodologias foram utilizadas e comparadas: a) análise multivariada de oito variáveis indicadoras da tolerância de sementes ao déficit hídrico, obtidas a partir de testes de germinação e vigor conduzidos no potencial $-0,4$ MPa: primeira contagem e a contagem final de sementes germinadas e de plântulas normais do teste de germinação, comprimento e biomassa de parte aérea e raiz de plântulas; e b) redução percentual dos valores obtidos na contagem de plântulas normais do teste de germinação entre testes conduzidos no potencial 0 e $-0,4$ MPa. Foram avaliadas as

atividades das enzimas superóxido dismutase, catalase, peroxidase e peroxidase do ascorbato. A análise multivariada dos indicadores da tolerância apresentou resultados similares para a classificação de cultivares quanto à redução percentual dos valores obtidos comparando-se as contagens de plântulas normais do teste de germinação e testes conduzidos nos potenciais 0 e -0,4 MPa. As cultivares M8210IPRO, TMG132RR, TG1066RR, CD206RR, M7211RR, BMXPOTENCIARR e CD224 foram consideradas como as mais tolerantes ao estresse hídrico. As cultivares TMG1288RR, TMG1180RR, CD234RR e Ra628 foram consideradas como de tolerância intermediária. As cultivares M8644IPRO, TMG2181IPRO, M8372IPRO, TMG7062IPRO, M7739IPRO, TMG4182, M7110IPRO, TMG4185, ANTA82, BRS283, BRS184, Msoy6101, FUNDACEP 57 RR, BRS259, CD251RR e CD233 RR foram consideradas como mais sensíveis. Houve redução na atividade enzimática das enzimas catalase, peroxidase e peroxidase do ascorbato, enquanto houve aumento da atividade da superóxido dismutase, nas sementes sob déficit hídrico. Em geral, não houve diferença na atividade enzimática comparando-se as cultivares. A redução percentual dos valores obtidos no teste de germinação, conduzido com solução osmótica no potencial 0 e -0,4 MPa, pode ser utilizada como metodologia simples para acessar a tolerância de sementes de soja ao déficit hídrico.

ABSTRACT

SANTOS JR, Hamilton Carvalho dos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2018. **GERMINATION AND THE ACTIVITY OF ANTIOXIDANT ENZYMES ON THE CHARACTERIZATION OF THE TOLERANCE OF SOYBEAN CULTIVARS TO HYDRIC STRESS.** Adviser: Laércio Junio da Silva. Co-advisor: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias; Felipe Lopes da Silva

The water privation on the field, as commonly known as drought, during the crop implantation or seedling initial development is the most important factor limiting plant survival and crop commercial production. The germination and seedling initial development phase is the most vulnerable to drought during the plant cycle. Soybean (*Glycine max*) is a crop of major importance regarding food security and economy to Brazil. On the last few years, the occurrence of hydric deficit during the implantation of soybean fields has been common, thus, losses were observed from plant deficient canopies and consequent re-seeding. On the following years, there is a possibility that soybean cultivars will be classified by the tolerance to hydric deficit during germination and initial seedling development. The germination test present good potential to access the tolerance of soybean seeds to hydric deficit considering that the test evaluate the capacity of a seed to become a normal seedling. Seed vigor can be defined as the potential of seeds to perform on the field under adverse conditions. Thus, seed vigor is a factor that must be considered on the evaluation of soybean cultivars under hydric deficit during germination and initial seedling development. Reactive Oxygen species (ROs) are a common product of the plant metabolism. However, the exaggerated production of reactive species is a consequence of the explosion of plants to drought. Plants are equipped with an ROs metabolizing system, however, this system is limited. In the occurrence of drought, ROs can be accumulated and thus provoke oxidative stress, causing metabolism alterations and further cell death. The ROs metabolizing system is composed of enzymatic and non-enzymatic mechanisms. The study of the mechanisms associated with the perception, response and adaptation to hydric stress present a primordial importance to plant breeding, genetic engineering and the creation on elite cultivars. Hence, the objective of this study is to i) classify different soybean cultivars regarding the tolerance to hydric deficit during germination and initial seedling development utilizing different indicators while considering the influence of seed vigor on the tolerance to stress; ii) the evaluation of the germination test as a possible methodology to access the tolerance of seeds to hydric deficit during germination

and initial seedling development and; iii) the evaluation of the enzymatic activity of the antioxidant system between cultivars with contrasting tolerance levels. Two methodologies were used and compared: a) multivariate analysis of eight indicator variables to the tolerance of seeds to hydric deficit, obtained from tests conducted on the potential -0,4 MPa and b) percentage reduction of the values obtained from the counting of normal seedlings of the germination test, between tests conducted on the potentials 0 and -0,4 MPa. The evaluation of the enzymatic activity was performed by quantifying the enzymes superoxide dismutase, catalase, peroxidase, and ascorbate peroxidase of seedlings imbibed on solutions presenting the potentials 0 and -0,4 MPa. The negative potential was obtained by using PEG 6000. The multivariate analysis of the tolerance indicators presented similar results to the percentage reduction of the values obtained from the counting of normal seedlings of the germination test. This outcome suggest that the percentage reduction of normal seedlings counted between germination tests conducted on 0 and -0,4 MPa potentials can be used as a simple methodology to access the tolerance of soybean seeds to hydric deficit. The cultivars M8210IPRO, TMG132RR, TG1066RR, CD206RR, M7211RR, BMXPOTENCIARR and CD224 were considered as more tolerant to hydric stress during germination and initial seedling development. The cultivars TMG1288RR, TMG1180RR, CD234RR e Ra628 were considered of intermediary tolerance. The cultivars M8644IPRO, TMG2181IPRO, M8372IPRO, TMG7062IPRO, M7739IPRO, TMG4182, M7110IPRO, TMG4185, ANTA82, BRS283, BRS184, Msoy6101, FUNDACEP 57 RR, BRS259, CD251RR and CD233 RR were considered as sensible. Reduction on the enzymatic activity of the antioxidant system of seeds germinating under hydric was observed to the enzymes catalase, ascorbate peroxidase and peroxidase. The activity of the enzyme superoxide dismutase was increased. There was no significant difference between the cultivars considered as tolerant and sensible to the enzymes superoxide dismutase, peroxidase and ascorbate peroxidase. More studies are necessary to clarify the mechanisms of tolerance of soybean seeds to the hydric deficit during germination and seedling initial development.

1. INTRODUÇÃO

A privação de quantidade adequada de água durante a implantação de lavouras, comumente conhecida como seca, é o fator mais importante limitando o crescimento, desenvolvimento reprodutivo, sobrevivência e produção comercial de plantas. É o estresse ambiental mais importante na agricultura (Cattivelli, 2008). A fase de germinação e desenvolvimento inicial de plântulas é a mais vulnerável aos efeitos da seca (Pandey, 2015).

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é uma cultura de grande importância alimentícia e econômica no Brasil. O país é o segundo maior produtor do grão, com produção de 95,070 milhões de toneladas, consumo interno de 39,936 milhões de toneladas e exportações que somaram um montante de U\$ 31,4 bilhões na safra 2014/2015 (CONAB, 2015). Para a manutenção da competitividade do grão no mercado internacional, é necessário que haja um bom gerenciamento dos custos de produção e que boas produtividades sejam alcançadas, independentemente das condições ambientais existentes.

A ocorrência de adversidades climáticas, como déficit hídrico, é comum em lavouras no Brasil. Nos últimos anos, o déficit de chuvas tem sido constantemente observado, possivelmente devido aos efeitos do aquecimento global. No estado do Mato Grosso, o maior produtor de soja do país, na safra 2015, estima-se que uma área de 281,8 mil hectares tenha sido ressemeada devido à formação de estande deficitário de plantas, projetando-se um custo adicional de R\$ 64,8 milhões com sementes e diesel (IMEA, 2015). Na safra 2016/2017, algumas regiões do estado de Mato Grosso tiveram aumento de até 38% no custo de produção de soja devido à ressemeadura (Projeto Soja Brasil, 2016). Segundo a CONAB, na safra 2017, 1% de todas as lavouras de soja foram replantadas (CONAB, 2017). Assim, faz-se necessária a identificação e utilização de genótipos que apresentem resistência ou tolerância à seca durante a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas.

A identificação de genótipos de soja tolerantes à seca durante a germinação tem sido o objetivo de vários estudos nas últimas décadas. No entanto, ainda não se verificou a caracterização de uma metodologia definitiva, simples e prática, e viável para programas de melhoramento fazerem a caracterização de seus genótipos, que em geral são em grande número. Para a identificação de genótipos tolerantes, Bouslama (1984) utilizou testes de germinação sob déficit hídrico e altas temperaturas; Kpoghomou (1990) empregou testes de germinação e crescimento de plântulas sob sistema hidropônico em potenciais negativos; Kosturkova (2008) avaliou a germinação e produção de diferentes cultivares sob déficit

hídrico; Dantas et. al (2017), no estudo de estratégias de seleção de genótipos tolerantes ao déficit hídrico durante a germinação, utilizou testes de germinação e crescimento de plântulas sob potencial osmótico negativo. Teixeira et al. (2008) utilizaram os testes de germinação, comprimento e biomassa de plântulas, e empregou a distância euclidiana para o agrupamento das cultivares a partir da redução percentual nas características avaliadas.

O vigor de sementes pode ser definido como o potencial de boa performance de um lote de sementes em condições ambientais desfavoráveis (ISTA, 2014). A maior tolerância ao estresse hídrico comparando-se lotes de sementes da mesma cultivar está associada ao maior vigor dessas sementes (Finch-Savage, 2015). Assim, o vigor de lotes de sementes é um fator que deve ser considerado na avaliação de cultivares de soja quanto a tolerância ao déficit hídrico durante a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas, sendo que é importante comparar lotes com níveis de vigor semelhantes para que seja possível identificar o efeito genético da tolerância.

É possível que nos próximos anos, de acordo com o impacto econômico do replantio em plantios de soja, se inicie uma classificação e apresentação da tolerância de cultivares ao déficit hídrico durante a germinação e crescimento inicial de plântulas nos catálogos comerciais das companhias que atuam no melhoramento da cultura, similar ao que é atualmente feito para a tolerância a pragas e doenças. Nestas condições, o uso de um teste de rápida condução para acessar a tolerância de acessos de soja é imprescindível, devido à dinamicidade do mercado de cultivares e da quantidade de materiais testados pelos programas de melhoramento.

O teste de germinação tem bom potencial para acessar a tolerância de sementes ao déficit hídrico por se tratar da avaliação de uma característica complexa e que avalia a capacidade da semente em originar uma plântula normal. Uma plântula considerada normal deve apresentar todas as estruturas essenciais e demonstrar potencial para produzir uma planta normal no campo (Brasil, 2009). Além disso, o teste é de simples execução, pouco dispendioso de tempo e recursos e amplamente utilizado em programas de melhoramento e laboratórios de análise de sementes.

As plantas se adaptaram a responder a estresses abióticos, como a privação à água, no nível molecular, fisiológico e bioquímico, de modo a sobreviverem em ambientes não ideais (Nakashima, 2009). As respostas ao estresse hídrico são diversas e buscam mitigar seus efeitos.

Segundo Farooq (2009), diversos mecanismos estão associados às respostas da tolerância de plantas ao déficit hídrico durante a germinação e desenvolvimento inicial de

plântulas. Alguns destes mecanismos são o acúmulo de moléculas específicas, metabolização de espécies reativas de oxigênio e ajustes estruturais. No nível de célula, ocorrem ajustes no sistema de membranas, modificações na arquitetura da parede e mudanças no ciclo e divisão celular. Um mecanismo importante para sobrevivência da semente e plântula em condições de estresse é a metabolização de espécies reativas de oxigênio (EROs).

Espécies reativas de oxigênio são um produto comum do metabolismo de plantas. Porém, estas moléculas são produzidas de forma exagerada em situações de estresse (Demidchik, 2015). O comportamento nocivo destas moléculas foi descoberto e estudado pela primeira vez na década de 1980. Atualmente, as EROs são consideradas como parte funcional do sistema de sinalização de plantas (Mittler, 2011). A atuação nociva se inicia apenas quando a produção de espécies reativas ultrapassa a capacidade de metabolização do sistema antioxidativo presente nas células.

Na célula, a redução do oxigênio leva à formação do ânion superóxido, que tem alto potencial de reação com outras moléculas para estabilização de sua energia. A capacidade nociva desta molécula é pequena, porém, a reação com hidrogênio pode formar superóxido de hidrogênio e o radical hidroxila. O peróxido de hidrogênio é uma molécula de alta capacidade oxidativa, apresenta meia-vida relativamente longa e é de fácil difusão entre membranas, podendo atingir moléculas distantes de sua origem. O radical hidroxila é a espécie mais reativa dentre as EROs e sua formação acontece na presença de radicais superóxido, peróxido de hidrogênio e metais de transição (Bailly, 2004).

A produção de EROs durante a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas acontece a partir de diversos processos. Em soja, a embebição da semente provoca a produção de peróxido de hidrogênio (Bailly, 2004). Durante o desenvolvimento pós-germinação, o metabolismo mitocondrial e a atuação de peroxissomos, como na *β-oxidação* de ácidos graxos associada à mobilização de reservas em sementes oleaginosas, são as principais fontes de espécies reativas. Em condições de déficit hídrico, a atuação de NADPH oxidases podem estar envolvidas na produção de EROs induzida por ácido abscísico (Smirnoff, 2008). Em sementes, as EROs são produzidas nas mitocôndrias, peroxissomos, parede celular e membrana plasmática.

A acumulação de EROs pode ser altamente tóxica a célula. Em condições normais, a produção de espécies reativas é pequena em células de plantas, cerca de $240 \mu\text{M s}^{-1} \text{O}_2^{\bullet-}$, porém em situações de estresse, como o déficit hídrico, a produção pode triplicar, chegando a $720 \mu\text{M}$

$s^{-1} O_2^{\bullet -}$ (Mittler, 2002). Espécies reativas de oxigênio podem reagir com a maioria das moléculas orgânicas, resultando em estresse oxidativo. A peroxidação de lipídios e a oxidação de proteínas e ácidos nucleicos são as principais consequências do estresse oxidativo. A peroxidação de lipídios é um processo em cadeia que leva à degradação de ácidos graxos insaturados. Este processo afeta lipídios de reserva e membranas celulares. A inativação de enzimas e a degradação de moléculas de DNA e RNA, proteínas de transporte e canais proteicos de íons são as principais implicações do ataque de EROs a moléculas nitrogenadas. Portanto, o estresse oxidativo afeta a mobilização de reservas das sementes, o metabolismo enzimático, a transcrição e tradução de proteínas e o fluxo iônico celular (Demidchik, 2015; Gill, 2010)

As plantas se adaptaram a responder à acumulação de EROs resultante da exposição ao estresse. Estes mecanismos podem ser enzimáticos ou não-enzimáticos e juntos compõem o sistema antioxidativo presente em plantas. Segundo Mittler (2002), catalase (CAT), peroxidases (POX), peroxidase do ascorbato (APX) e superóxido dismutase (SOD) são enzimas presentes nas principais rotas de metabolização de espécies reativas de oxigênio em plantas. A enzima superóxido dismutase pode ser mitocondrial, citosólica ou cloroplastídica. Esta enzima catalisa radicais superóxido em peróxido de hidrogênio e oxigênio. A catalase é uma enzima presente em peroxissomos e atua na decomposição de peróxido de hidrogênio em água e oxigênio molecular. Peroxidases são enzimas presentes na parede celular, citosol e vacúolo que cedem elétrons ao peróxido de hidrogênio induzindo à formação de água. Peroxidase do ascorbato é uma enzima que metaboliza o peróxido de hidrogênio utilizando o ascorbato como substrato (Gill, 2010).

Em situações de déficit hídrico a acumulação de EROs e o consequente estresse oxidativo podem reduzir a capacidade de germinação de sementes e desenvolvimento inicial de plântulas (Bailly, 2004). Portanto, a eficiência do sistema de metabolização de espécies reativas de oxigênio faz parte dos mecanismos de tolerância de sementes ao déficit hídrico durante a germinação e desenvolvimento inicial.

O estudo dos mecanismos associados à percepção, resposta e adaptação a estresses abióticos é de importância primordial para o melhoramento, engenharia genética e criação de cultivares elite (Pandey, 2015). Desta forma, a observação da atuação enzimática do sistema antioxidativo durante a germinação de sementes de soja sob déficit hídrico se faz justificada. Na comparação de diferentes cultivares de soja quanto à tolerância ao déficit hídrico durante a

germinação e desenvolvimento inicial, espera-se que padrões divergentes de atividade de enzimas do sistema antioxidativo sejam observados.

Isto posto, o objetivo deste estudo foi: i) classificar diferentes cultivares de soja quanto a tolerância das sementes ao déficit hídrico durante a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas; ii) avaliar o teste de germinação como uma possível metodologia para acessar a tolerância das sementes ao déficit hídrico; e iii) avaliar a atividade de enzimas do sistema de defesa antioxidativo de cultivares contrastantes quanto a tolerância ao déficit hídrico.

2. MATÉRIAS E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Departamento de Fitotecnia, da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG. Sementes de diferentes cultivares de soja foram produzidas em casa de vegetação e posteriormente foram submetidas à testes para avaliação da qualidade fisiológica e para a avaliação da tolerância à restrição hídrica na germinação e durante o crescimento das plântulas.

2.1. Cultivares de soja

Vinte e sete cultivares foram utilizadas no experimento (Tabela 1). Para a escolha das cultivares foram considerados os grupos de maturação e o hábito de crescimento, a fim de proporcionar uma ampla diversidade de genótipos.

2.2. Produção das sementes

Sementes de cada cultivar foram produzidas em casa de vegetação, na Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa - MG. As plantas foram cultivadas entre os meses de novembro de 2016 a março de 2017.

Quatro sementes de cada cultivar foram semeadas em vaso de 3 dm³, contendo mistura de solo, areia e esterco na proporção de 3:1:1, respectivamente. A adubação dos vasos foi feita de acordo com a análise de solo e as recomendações para soja no estado de Minas Gerais (CFSEMG, 1999). Após a emergência foi feito o desbaste, sendo mantidas as duas plântulas mais vigorosas em cada vaso. A irrigação e o controle fitossanitário foram realizados de acordo com as recomendações técnicas para a cultura (Sediyama, 2015).

No estádio R8 de desenvolvimento das plantas (mais de 50% de desfolha), as vagens foram colhidas e, em seguida, dispostas em bandejas e secas à sombra, sob condições ambientes. Após a secagem, as vagens foram debulhadas manualmente e as sementes foram armazenadas em sala refrigerada (20 °C) até o início da condução das avaliações.

As sementes foram classificadas pelo tamanho, utilizando-se peneiras de crivo redondo 15, 16 e 18, com os seguintes diâmetros: 5,95, 6,35 e 7,14 mm, respectivamente. As sementes contidas na peneira de maior retenção para cada cultivar foram utilizadas nos experimentos (Tabela 1).

Tabela 1. Cultivares, grupos de maturação, hábito de crescimento e peneira (referente ao tamanho da semente) de cultivares de soja.

Identificação numérica	Cultivar	Grupo de maturação	Hábito de crescimento	Peneira
1	M8644IPRO	8.6	DET	15
2	TMG2181IPRO	8.1	DET	16
3	M8372IPRO	8.3	DET	16
4	M8210IPRO	8.2	DET	16
5	TMG7062IPRO	6.2	SEMI-DET	18
6	TMG132RR	8.5	SEMI-DET	15
7	M7739IPRO	7.7	SEMI-DET	16
8	TMG1288RR	8.8	DET	15
9	TMG4182	8.2	DET	16
10	M7110IPRO	6.8	INDET	16
11	TMG1180RR	8	SEMI-DET	16
12	TMG4185	8.5	DET	15
13	ANTA82	7.4	SEMI-DET	15
14	TG1066RR	6.6	DET	16
15	CD206RR	6.8	DET	16
16	BRS259	7.1	DET	18
17	M7211RR	7.2	INDET	16
18	BRS283	6.5	INDET	15
19	CD251RR	7.3	DET	15
20	MXPOTENCIARR	6.7	INDET	16
21	CD234RR	8	DET	16
22	CD224	6.9	DET	15
23	CD233 RR	6.4	DET	15
24	BRS184	6.7	DET	16
25	Msoy 6101	6.1	INDET	16
26	FUNDACEP 57 RR	6.7	DET	16
27	Ra628	7.4	INDET	16

2.3. Experimento I – Avaliação da qualidade fisiológica das sementes

2.3.1. Umidade

Para determinação da umidade foi utilizado o método da estufa, a 105 ± 3 °C, por 24 horas, utilizando-se quatro repetições de aproximadamente 10 gramas de sementes de cada lote (Brasil, 2009). Os resultados foram expressos em percentagem (base úmida).

2.3.2. Teste de germinação

Foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes cada. As sementes foram semeadas em papel *germitest* umedecido com um volume de água destilada equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato seco. Após a semeadura foram confeccionados rolos que foram mantidos em germinador a 25 °C. As avaliações foram realizadas no 5° e 8° dia após a semeadura, com o registro da percentagem de plântulas normais (Brasil, 2009). Com os dados foram obtidas as variáveis: Plântulas normais na primeira contagem do teste de germinação (5° dia após semeadura) (PN5); e Plântulas normais ao final do teste de germinação (8° dia após semeadura) (PN8).

2.3.3. Análise estatística

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias obtidas para as cultivares foram agrupadas por meio do teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). As análises foram executadas no software estatístico R 3.3.3 (R Development Core Team, 2017).

2.4. Experimento II - Germinação e crescimento inicial das plântulas de soja de diferentes cultivares sob condições de déficit hídrico

O experimento foi conduzido no Laboratório de Pesquisa de Sementes, do Departamento de Fitotecnia, da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG. Foram utilizadas sementes de 27 cultivares de soja.

O déficit hídrico foi induzido por polietileno glicol (PEG 6000). Foram utilizados os potenciais zero e -0,4 MPa. A quantidade de PEG utilizada foi obtida a partir de Michel & Kaufmann (1973). O controle consistiu na testemunha, na qual se utilizou água destilada.

As sementes foram submetidas ao teste de germinação, primeira contagem de germinação, comprimento e peso de matéria seca de plântulas.

2.4.1. Teste de germinação

Foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes cada. As sementes foram semeadas sobre papel *germitest* umedecido com solução de potencial osmótico negativo (déficit hídrico) ou água destilada (controle), equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato seco. Após a semeadura, foram confeccionados rolos que foram mantidos em germinador a 25 °C. As avaliações foram realizadas no 8º dia após a semeadura, com o registro da percentagem de plântulas normais (Brasil, 2009) e sementes germinadas. Plântulas foram consideradas normais quando apresentaram radícula primária e hipocótilo com comprimento superior a 1,5 cm. Sementes foram consideradas germinadas quando apresentaram protrusão radicular.

2.4.2. Primeira contagem do teste de germinação

Foram utilizados os dados de percentagem de plântulas normais e sementes germinadas no quinto dia após a instalação do teste de germinação.

2.4.3. Crescimento de plântulas

Para o teste de crescimento de plântulas foram utilizadas quatro repetições de 10 sementes cada, semeadas nas mesmas condições utilizadas para o teste de germinação do experimento II. As sementes foram semeadas na parte superior do rolo e mantidas em germinador. As seguintes avaliações foram realizadas no 8º dia após a semeadura:

Comprimento de hipocótilo e radícula: As medições foram realizadas com auxílio de régua graduada em mm. Os resultados foram expressos em cm/plântula.

Massa seca de hipocótilo e radícula: As plântulas foram seccionadas em hipocótilo e radícula e colocadas para secar em estufa com circulação de ar forçada, regulada na temperatura de 70 °C, por 72 horas. Após, o material foi pesado em balança analítica com precisão de 0,001g. Os resultados foram expressos em mg/plântula.

2.4.4. Análise estatística

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 27 x 2, ou seja, vinte e sete cultivares e dois potenciais hídricos (0 e -0,4 MPa), com quatro repetições. Na primeira etapa, os dados foram submetidos à análise multivariada de componentes principais (PCA), utilizando todas as variáveis dos testes conduzidos no potencial -0,4 MPa:

a) Plântulas normais ao final do teste de germinação (8º dia após semeadura) (PN8-0,4MPa);

- b) Plântulas normais na primeira contagem do teste de germinação (5º dia após sementeira) (PN5-0,4MPa);
- c) Número de sementes germinadas ao final do teste de germinação (8º dia após sementeira) (GER8-0,4MPa);
- d) Número de sementes germinadas na primeira contagem do teste de germinação (5º dia após sementeira) (GER5-0,4MPa);
- e) Comprimento do hipocótilo das plântulas (CHIP-0,4MPa);
- f) Comprimento da radícula das plântulas (CRAD-0,4MPa);
- g) Massa seca do hipocótilo das plântulas (MSHIP-0,4MPa) e
- h) Massa seca da radícula das plântulas (MSRAD-0,4MPa).

Na segunda etapa, os dados obtidos na contagem final de plântulas normais do teste de germinação (PN8) foram submetidos à análise de variância. As médias obtidos foram agrupadas por meio do teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Em seguida, foram calculadas as médias de cada grupo (médias ajustadas), as quais foram utilizadas nas análises subsequentes. Posteriormente, foi feita a classificação das cultivares quanto a tolerância ao déficit hídrico, a partir da redução percentual dos dados de contagem final de plântulas normais no teste de germinação, entre os potenciais 0 e -0,4 MPa.

As análises foram executadas no software estatístico R 3.3.3 (R Development Core Team, 2017).

2.5. Experimento III – Atividade enzimática em sementes de soja de cultivares contrastantes quanto a tolerância ao déficit hídrico durante a germinação e crescimento inicial de plântulas

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes Florestais, do Departamento de Engenharia Florestal, da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG. Foram utilizadas quatro cultivares de soja previamente selecionadas no Experimento II, duas consideradas como mais tolerantes e duas consideradas como sensíveis.

O tratamento de estresse hídrico foi induzido por polietileno glicol (PEG 6000). Foram utilizados os potenciais zero e -0.4 MPa. O nível zero constituiu no controle, para o qual foi utilizada água destilada. As sementes foram submetidas aos seguintes testes:

2.5.1. Teste de germinação

Foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes cada. As sementes foram semeadas sobre papel *germitest* umedecido com solução de potencial osmótico negativo (déficit hídrico) ou água destilada (controle), equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato seco. Após a semeadura, foram confeccionados rolos que foram mantidos em germinador a 25 °C. As avaliações foram realizadas no 8º dia após a semeadura, com o registro da percentagem de plântulas normais (Brasil, 2009) e sementes germinadas. Plântulas foram consideradas normais quando apresentaram radícula primária e hipocótilo com comprimento superior a 1,5 cm. Sementes foram consideradas germinadas quando apresentaram protrusão radicular.

2.5.2. Primeira contagem da germinação

Foram utilizados os dados de percentagem de plântulas normais e sementes germinadas no quinto dia após a instalação do teste de germinação.

2.5.3. Crescimento de plântulas

Para o teste de crescimento de plântulas foram utilizadas quatro repetições de 10 sementes cada, semeadas nas mesmas condições utilizadas para o teste de germinação do experimento III. As sementes foram semeadas na parte superior do rolo e mantidas em germinador. As seguintes avaliações foram realizadas no 8º dia após a semeadura:

Comprimento de hipocótilo e radícula: As medições foram realizadas com auxílio de régua graduada em mm. Os resultados foram expressos em cm/plântula.

Massa seca de hipocótilo e radícula: As plântulas foram seccionadas em hipocótilo e radícula e colocadas para secar em estufa com circulação de ar forçada, regulada na temperatura de 70 °C, por 72 horas. Após, o material foi pesado em balança analítica com precisão de 0,001g. Os resultados foram expressos em mg/plântula.

2.5.4. Atividade de enzimas do sistema antioxidativo

Para a quantificação da atividade enzimática de enzimas do sistema de defesa antioxidativo foram utilizadas quatro repetições de 20 sementes cada. As sementes foram semeadas em papel *germitest* umedecido com um volume de solução (PEG -0,4 MPa), ou água destilada, equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato seco. Após a semeadura foram confeccionados rolos que foram mantidos em germinador a 25°C pelo período de 48 horas. Para cada cultivar, foram determinadas o teor de proteínas e atividade das enzimas do sistema antioxidativo.

Os extratos enzimáticos brutos para as determinações da atividade das enzimas catalase (CAT), peroxidase (POX), peroxidase do ascorbato (APX) e superóxido dismutase (SOD) foram obtidos pela maceração de aproximadamente 0,3 g de embrião em nitrogênio líquido e, então, adicionados 2 mL de meio de homogeneização, seguido de centrifugação a 12.000 xg por 15 min, a 4 °C. O meio de homogeneização utilizado foi composto por tampão fosfato de potássio 0,1M, pH 6,8, ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) 0,1mM, fluoreto de fenilmetilsulfônico (PMSF) 1 mM e polivinilpirrolidona (PVPP) 1% (p/v) (Peixoto et al., 1999).

2.5.4.1 Determinação do teor de proteínas

Os teores de proteínas dos extratos enzimáticos foram determinados pelo método de Bradford (1976), utilizando BSA como padrão. Para isso, 100 µL do extrato enzimático foi adicionado a 1 mL do reagente de Bradford, seguido de agitação. Após 20 minutos, foi realizada a leitura da absorbância da amostra em espectrofotômetro no comprimento de onda de 595 nm.

2.5.4.2 Determinação da atividade enzimática

Superóxido dismutase (SOD, EC 1.1.15.1.1)

Foi determinada a atividade da SOD pela adição de 30 µL do extrato enzimático bruto a 2,97mL de meio de reação constituído de tampão fosfato de sódio 50 mM, pH 7,8, contendo metionina 13 mM, azul de p-nitro tetrazólio (NBT) 75 µM, EDTA 0,1 mM e riboflavina 2 µM (Del Longo et al., 1993). A reação foi conduzida a 25 °C, numa câmara de reação sob iluminação de uma lâmpada fluorescente de 15 W, mantida no interior de uma caixa coberta com papel alumínio. Após 5 min de exposição à luz, a iluminação foi interrompida e a formazana azul, produzida pela fotorredução do NBT, foi determinada pela medição da absorvância a 560 nm. A medição da absorvância, nesse mesmo comprimento de onda, de um meio de reação exatamente igual ao anterior, mas mantido no escuro por igual tempo, serviu de branco e foi subtraída da leitura da amostra que recebeu iluminação (Giannopolitis e Ries, 1977). Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima necessária para inibir em 50 % a fotorredução do NBT (Beauchamp e Fridovich, 1971).

Catalase (CAT, EC 1.11.1.6)

Foi determinada atividade da catalase pela adição de 100 µL do extrato enzimático bruto a 2,9 mL de meio de reação, constituído de tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7,0 e H₂O₂ 12,5 mM (Havir e Mchale, 1987). Durante o primeiro minuto de reação, mantida a 25 °C,

foi medido o decréscimo na absorvância a 240 nm. A atividade enzimática foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de $36 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (Anderson et al., 1995) e expressa em $\mu\text{mol min}^{-1}\text{mg}^{-1}$ de proteína.

Peroxidase (POX, EC 1.11.1.7)

A atividade da peroxidase foi determinada pela adição de 100 μL do extrato enzimático bruto a 2,9 mL de meio de reação constituído de tampão fosfato de potássio 25 mM, pH 6,8, pirogalol 20 mM e peróxido de hidrogênio 20 mM (Kar e Mishra, 1976). O incremento da absorvância durante o primeiro minuto de reação a 420 nm, a 25 °C, determinou a produção de purpurogalina. A atividade enzimática foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de $2,47 \text{ mM L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (Chance e Maehley, 1955) e expressa em $\mu\text{mol min}^{-1}\text{mg}^{-1}$ de proteína.

Peroxidase do ascorbato (APX, EC 1.11.1.11)

A atividade da APX foi determinada pela adição de 100 μL do extrato enzimático bruto a 2,9mL de meio de reação constituído de ascorbato 0,8 mM e H_2O_2 1,0 mM em tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 6,0. Foi observado o decréscimo na absorvância a 290 nm, a 25°C, durante o primeiro minuto de reação (Nakano e Asada, 1981; Koshiba, 1993). A atividade enzimática foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de $2,8 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (Nakano e Asada, 1981) e expressa em $\mu\text{mol min}^{-1}\text{mg}^{-1}$ de proteína.

2.5.5. Análise estatística

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 2, ou seja, quatro cultivares e dois potenciais hídricos (0 e -0,4 MPa), com quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância. As médias obtidas para as variáveis indicadoras da tolerância de sementes ao déficit hídrico durante a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas (GER5, GER8, PN5, PN8, MSHIP, MSRAD, CHIP, CRAD) e a atividade das enzimas (POX, CAT, SOD e APX) foram comparadas pelo teste Tukey ($p < 0,05$). As análises foram executadas no software estatístico R 3.3.3 (R Development Core Team, 2017).

3. RESULTADOS

3.1. Caracterização dos lotes de sementes

3.1.1. Umidade

A umidade média das sementes de todos as cultivares foi de 14,1%. Nenhum dos lotes apresentou desvio padrão em relação à média maior que 1% (dados não apresentados).

3.1.2. Vigor dos lotes de sementes referentes às cultivares

O resumo da análise de variância e as médias obtidas para a percentagem de plântulas normais no 5º (PN5) e no 8º (PN8) dia após a semeadura do teste de germinação estão apresentados na Tabela 2 e Figura 1, respectivamente. Diferenças significativas foram observadas apenas para PN5 (Tabela 2), ou seja, houve efeito da cultivar na velocidade de germinação das sementes, avaliada pela primeira contagem do teste de germinação. Porém, apesar de diferirem estatisticamente, o menor valor obtido para esta variável, para a cultivar Msoy 6101, foi de 81%, o que demonstra que as sementes utilizadas no trabalho foram de alto vigor.

Tabela 2. Resumo da análise de variância (valor de F) dos dados de percentagem de plântulas normais no 5º (PN5) e 8º (PN8) dia após semeadura do teste e ao final do teste de germinação.

Fonte de Variação	GL	PN5	PN8
Cultivares	26	1,775*	0,828
Erro	81	-	-
Média		90,9	93,9
CV (%)		7,27	6,22

* Significativo a 5% de probabilidade.

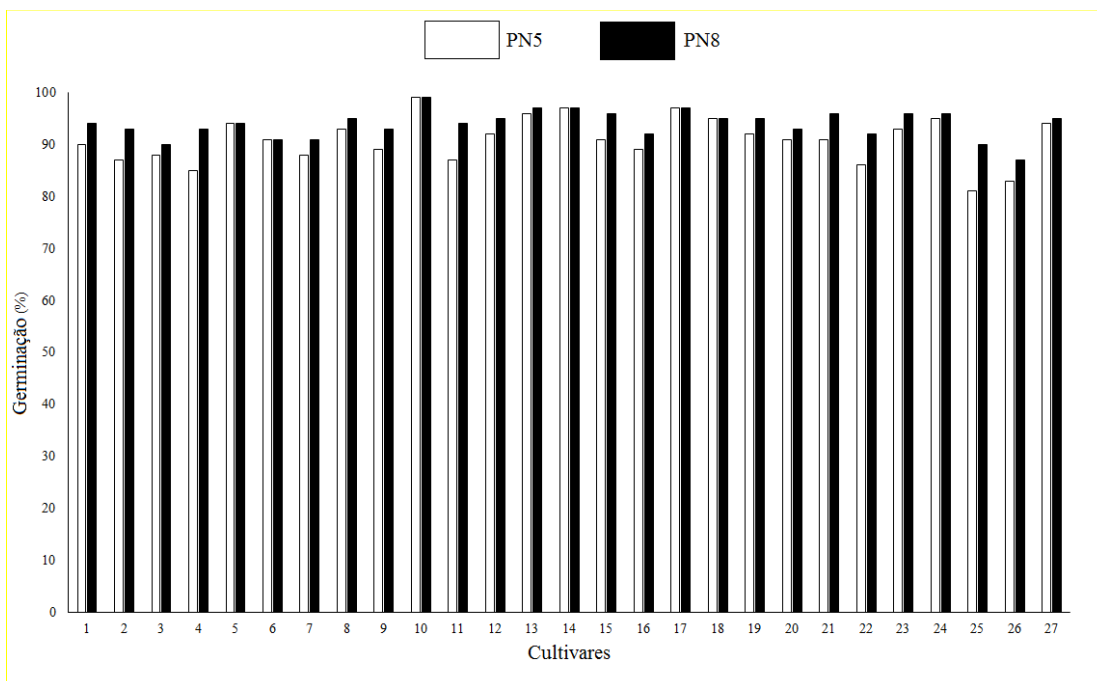


Figura 1. Percentagem de plântulas normais no 5° (PN5) e 8° (PN8) dias após a semeadura do teste de germinação de 27 cultivares de soja.

3.2. Germinação e crescimento inicial das plântulas de soja de diferentes cultivares sob condições de déficit hídrico

3.2.1. Análise de componentes principais

A PCA revelou que os quatro primeiros componentes são responsáveis por 85,33% da variação total de todas as variáveis. De acordo com o Componente Principal 1, as variáveis GER8-0,4MPa, GER5-0,4MPa, PN5-0,4MPa, PN8-0,4MPa e CRAD-0,4MPa tiveram contribuições maiores na variabilidade total entre as cultivares (Tabela 3).

A Figura 2 mostra a dispersão das cultivares e variáveis analisadas entre os Componentes 1 e 2, representando 36,45% e 22,69% da variação original total, respectivamente. É possível observar os vetores e pontos, representado as variáveis e cultivares, respectivamente. As cultivares foram agrupadas em cinco grupos de acordo com os componentes principais 1 (PC1) e 2 (PC2), representando 59% da variabilidade total. O grupo composto pelas cultivares M8210IPRO, TMG132RR, TG1066RR, CD206RR, M7211RR, BMXPOTENCIARR e CD224 e o grupo composto pelas cultivares TMG1288RR, TMG1180RR, CD234RR e Ra628 tiveram maior associação positiva ao PC1 (Figura 3).

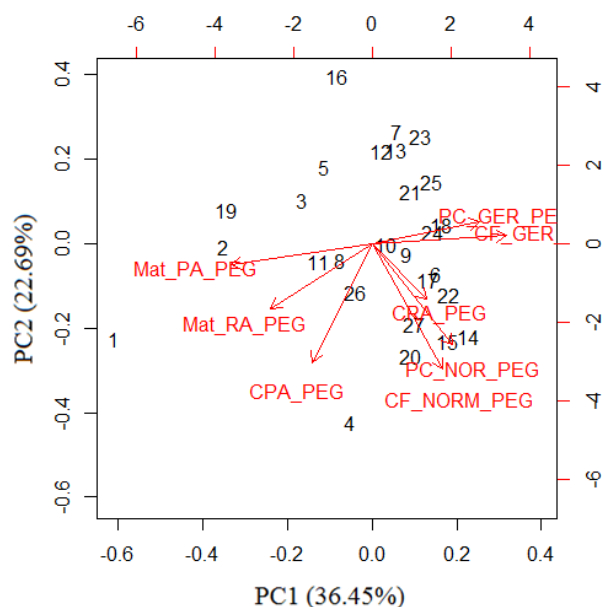


Figura 2. Biplot de Componentes Principais 1 e 2 e variáveis analisadas no teste de germinação e crescimento de plântulas, conduzidos no potencial $-0,4$ MPa, de 27 cultivares de soja: **PN5** – Percentagem de plântulas normais na primeira contagem do teste de germinação (5° dia após semeadura); **PN8** – Percentagem de plântulas normais ao final do teste de germinação (8° dia após semeadura); **GER5** – Percentagem de sementes germinadas na primeira contagem do teste de germinação (5° dia após semeadura); **GER8** - Percentagem de sementes germinadas ao final do teste de germinação (8° dia após semeadura); **CHIP** - Comprimento de hipocótilo de plântulas; **CRAD** - Comprimento de radícula de plântulas; **MSHIP** - Massa seca de hipocótilo de plântulas e **MSRAD** - Massa seca de radícula de plântulas.

Tabela 3. Análise de componentes principais (PCA) baseado na matriz de correlações entre as variáveis analisadas: **GER5** - Percentagem de sementes germinadas na primeira contagem do teste de germinação (5° dia após semeadura); **GER8** - Percentagem de sementes germinadas ao final do teste de germinação (8° dia após semeadura); **PN5**- Percentagem de plântulas normais na primeira contagem do teste de germinação (5° dia após semeadura); **PN8** - Percentagem de plântulas normais ao final do teste de germinação (8° dia após semeadura); **CHIP** - Comprimento de hipocótilo de plântulas; **CRAD** - Comprimento de radícula de plântulas; **MSHIP** - Massa seca de hipocótilo de plântulas e **MSRAD** - Massa seca de radícula de plântulas; **Proporção** – Porção da variação referente ao componente principal; **Cumulativo** – Soma das porções referentes aos componentes principais.

	GER5	GER8	PN5	PN8	CHIP	CRAD	MSHIP	MSRAD	Proporção	Cumulativo
PC1	0,384	0,481	0,288	0,252	-0,214	0,195	-0,506	-0,364	0,364	0,364
PC2	0,098	0,035	-0,460	-0,570	-0,539	-0,254	-0,095	-0,293	0,226	0,591
PC3	0,439	-0,011	-0,378	-0,251	0,189	0,680	-0,060	0,311	0,174	0,765
PC4	-0,283	-0,502	-0,096	-0,054	0,327	0,230	-0,419	-0,563	0,087	0,853
PC5	0,577	0,017	0,0205	-0,112	0,519	-0,339	0,340	-0,389	0,064	0,918
PC6	-0,305	0,567	-0,583	0,189	0,386	-0,174	-0,167	0,008	0,043	0,961
PC7	-0,249	0,333	0,459	-0,703	0,290	0,018	-0,154	0,107	0,028	0,989
PC8	-0,281	0,283	0,007	-0,006	-0,126	0,484	0,6219	-0,450	0,010	1

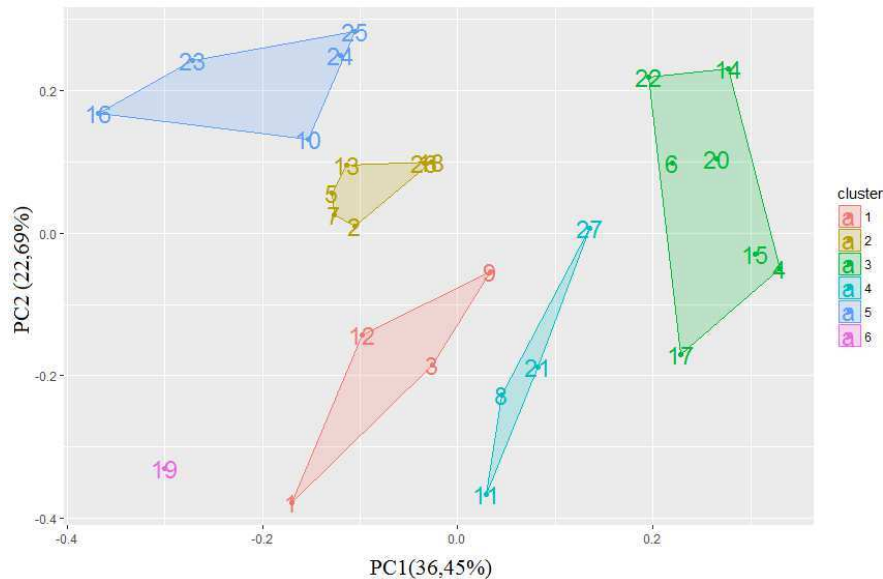


Figura 3. Agrupamento da análise de componentes principais (PCA) de 27 cultivares de soja a partir dos dados: GER5 – Percentagem de sementes germinadas na primeira contagem do teste de germinação (5º dia após semeadura); GER8 – Percentagem de sementes germinadas ao final do teste de germinação (8º dia após semeadura); PN8 – Percentagem de plântulas normais ao final do teste de germinação (8º dia após semeadura); PN5 - Percentagem de plântulas normais na primeira contagem do teste de germinação (5º dia após semeadura); CHIP - Comprimento de hipocótilo de plântulas; CRAD - Comprimento de radícula de plântulas; MSHIP - Massa seca de hipocótilo de plântulas e MSRAD - Massa seca de radícula de plântulas, referentes a diferentes cultivares de soja.

3.2.2. Redução percentual entre os valores obtidos nos testes de germinação conduzidos no potencial 0 e -0.4 MPa.

A análise de variância dos dados obtidos para a percentagem de plântulas normais do teste de germinação, nos potenciais 0 e -0,4 MPa, apresentou interação significativa entre cultivares e potenciais (Tabela 4). Desta forma, o desdobramento da interação entre cultivares e potenciais foi realizado. O agrupamento por meio da análise Scott-Knott pode ser observado na Tabela 5.

As médias obtidas para as cultivares que foram agrupadas no mesmo grupo e, portanto, apresentando médias que não diferiram estatisticamente entre si, foram corrigidas pela média

obtida para todo o grupo. Desta forma, as médias utilizadas para cada cultivar são referentes à média geral de seus respectivos grupos.

Tabela 4. Resumo da análise de variância (valores de F) dos dados de percentagem de plântulas normais no 8º dia após a instalação do teste de germinação (PN 8), nos potenciais 0 e -0,4 MPa.

Fonte de Variação	GL	PN8
Cultivares	26	2,83E-07***
Potenciais	1	2,20E-16***
Cultivares x potenciais	26	1,38E-08***
Erro	160	-
Média		30,28
CV (%)		13,57

* Significativo a 5% de probabilidade.

As médias obtidas para percentagem de plântulas normais do teste de germinação conduzido no potencial 0 (controle) não diferiram. A média geral para todas as cultivares foi de 93,9%. Houve diferença significativa nas médias obtidas no potencial -0,4 MPa, o que indica diferenças na tolerância das cultivares ao déficit hídrico durante a germinação. As cultivares foram discriminadas em quatro grupos. As médias gerais foram 46,0, 35,0, 24,9, e 11,7% para os grupos A, B, C e D, respectivamente. Os dados de redução percentual entre as médias obtidas no potencial 0 e -0,4 MPA foram eficientes na classificação das cultivares em quatro grupos distintos, com redução de 48, 59, 69 e 82%, respectivamente (Tabela 5).

As cultivares M8210IPRO, TMG132RR, TG1066RR, CD206RR, M7211RR, BMXPOTENCIARR e CD224 apresentaram menor redução percentual de plântulas normais entre os testes de germinação conduzidos no potencial 0 e -0,4 MPa, seguidas pelas cultivares TMG1288RR, TMG1180RR, CD234RR e Ra628.

Tabela 5. Médias, agrupamento Scott-Knott, médias ajustadas e redução percentual de plântulas normais do teste de germinação (PN8 e PN8_{-0,4MPa}) para 27 cultivares de soja submetidas ao déficit hídrico durante a germinação.

Identificação numérica	Cultivar	Pot. 0 MPa (PN8)	Pot. 0 Mpa Ajustada (PN8)	Pot. -0.4 MPa (PN8 _{-0,4MPa})	Pot. -0.4 Mpa Ajustada (PN8 _{-0,4MPa})	Redução Percentual
4	M8210IPRO	93 A	93,88	51 A	46	48
6	TMG132RR	91 A	93,88	44 A	46	48
14	TG1066RR	95 A	93,88	46 A	46	48
15	CD206RR	87 A	93,88	48 A	46	48
17	M7211RR	95 A	93,88	45 A	46	48
20	BMXPOTENCIARR	94 A	93,88	46 A	46	48
22	CD224	96 A	93,88	42 A	46	48
8	TMG1288RR	95 A	93,88	33 B	35	59
11	TMG1180RR	94 A	93,88	33 B	35	59
21	CD234RR	91 A	93,88	36 B	35	59
27	Ra628	90,7 A	93,88	38 B	35	59
1	M8644IPRO	93 A	93,88	21 C	24,9	69
2	TMG2181IPRO	96 A	93,88	25 C	24,9	69
3	M8372IPRO	97 A	93,88	29 C	24,9	69
5	TMG7062IPRO	97 A	93,88	23 C	24,9	69
7	M7739IPRO	92 A	93,88	23 C	24,9	69
9	TMG4182	96 A	93,88	31 C	24,9	69
10	M7110IPRO	95 A	93,88	21 C	24,9	69
12	TMG4185	93 A	93,88	25 C	24,9	69
13	ANTA82	90 A	93,88	24 C	24,9	69
18	BRS283	97 A	93,88	28 C	24,9	69
24	BRS184	99 A	93,88	22 C	24,9	69
25	Msoy 6101	95 A	93,88	24 C	24,9	69
26	FUNDACEP57RR	96 A	93,88	28 C	24,9	69
16	BRS259	93 A	93,88	9 D	11,7	82
19	CD251RR	90 A	93,88	13 D	11,7	82
23	CD233 RR	94 A	93,88	13 D	11,7	82

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

3.2.3. Médias das variáveis PN5-0,4MPa e PN8-0,4MPa

As cultivares com maior associação positiva ao Componente Principal 1 e menor redução percentual dos valores obtidos nas contagens de plântulas normais do teste de germinação (CD224, TG1066RR, TMG132RR, MXPOTENCIARR, CD206RR, M8210IPRO, M7211RR, TMG1288RR, TMG1180RR, CD234RR e Ra628) apresentaram os maiores valores referentes a percentagem de plântulas normais do teste de germinação conduzido sob déficit hídrico entre as cultivares (Figura 4). A percentagem de plântulas normais no quinto dia de avaliação do teste de germinação sob déficit hídrico, PN5-0,4MPa, apresentou resultados similares (Figura 5).

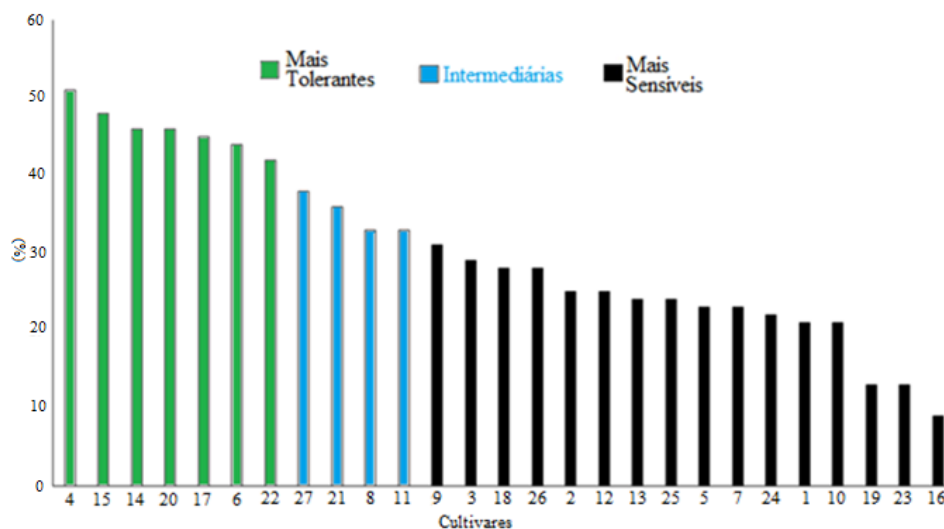


Figura 4. Porcentagem de plântulas normais do teste de germinação conduzido no potencial -0,4 MPa (PN8-0,4MPa) para cultivares de soja com diferentes níveis de tolerância ao estresse hídrico.

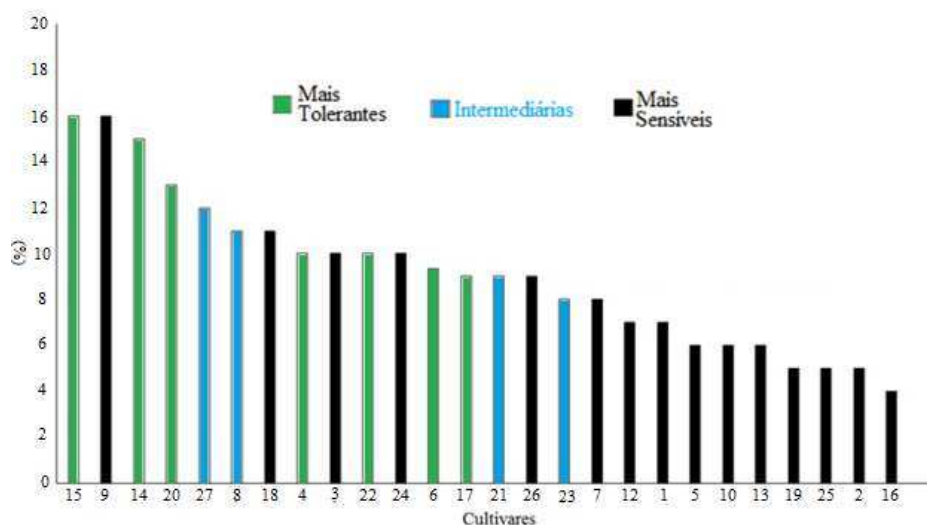


Figura 5. Porcentagem de plântulas normais do teste de germinação conduzido no potencial - 0,4 MPa (PN5-0,4MPa) para cultivares de soja com diferentes níveis de tolerância ao estresse hídrico.

3.2.4. Indicadores da tolerância de sementes de soja ao déficit hídrico durante a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas para cultivares tolerantes e sensíveis.

Duas cultivares classificadas como tolerantes, CD206RR e M8210IPRO e duas consideradas como sensíveis, BRS184 e BRS259, foram comparadas quanto à germinação e o crescimento inicial das plântulas sob condições de déficit hídrico durante a germinação, bem como foi avaliada o efeito do estresse sobre a atividade de enzimas do sistema de defesa antioxidativo. Na análise de variância, a interação entre cultivares e potenciais foi significativa para todas as variáveis analisadas, exceto para sementes germinadas no oitavo dia (CF8) (Tabela 6), comprimento de hipocótilo (CHIP) e comprimento de radícula (CRAD), porem toda as interações foram desdobradas

Para as variáveis CF5, CF8 e PN8, não houve diferença entre as cultivares no potencial 0 MPa. No potencial -0,4 MPa, as cultivares BRS184 e BRS259 apresentaram maiores valores de sementes germinadas no quinto dia do teste de germinação (CF5), porém, o número de plântulas normais observados tanto no 5º, quanto no 8º dia de avaliação, demonstraram que as plântulas não se desenvolveram adequadamente, o que é evidente pelos reduzidos valores de plântulas normais comparados aos de sementes germinadas.

Na primeira contagem de plântulas normais do teste de germinação (PN5), houve significância na interação entre potenciais e cultivares. A cultivar classificada como mais sensível, BRS259, apresentou valor nulo para PN5. As cultivares sensíveis BRS184 e BRS259 apresentaram a maior redução percentual para PN5 e PN8 entre os testes conduzidos nos potenciais 0 e -0,4 MPa.

Ainda, as cultivares não diferiram quanto a percentagem de sementes germinadas no oitavo dia de avaliação (CF8) (Figura 6D), porém, sob estresse hídrico, foi observado maior percentagem de plântulas normais para as cultivares M8210IPRO e CD206RR, classificadas como as mais tolerantes ao déficit hídrico durante a germinação das sementes.

Tabela 6. Resumo da análise de variância (valores de F) para as variáveis utilizadas como indicadores da tolerância de sementes de soja ao déficit hídrico durante a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas para cultivares tolerantes e sensíveis: **GER5** - Percentagem de sementes germinadas na primeira contagem do teste de germinação (5º dia após semeadura); **GER8** - Percentagem de sementes germinadas ao final do teste de germinação (8º dia após semeadura); **PN5**- Percentagem de plântulas normais na primeira contagem do teste de germinação (5º dia após semeadura); **PN8** - Percentagem de plântulas normais ao final do teste de germinação (8º dia após semeadura); **CHIP** - Comprimento de hipocótilo de plântulas; **CRAD** - Comprimento de radícula de plântulas; **MSHIP** - Massa seca de hipocótilo de plântulas e **MSRAD** - Massa seca de radícula de plântulas

Fonte de Variação	GL	GER5	GER8	PN5	PN8	CHIP	CRAD	MSHIP	MSRAD
Cultivares	3	0,0004*	0,2007	0,0073*	0,0005*	0,6072	0,3522	0,0268*	0,0303*
Potenciais	1	0,000003*	0,4863	2,2E-16*	4,66E-16*	1,83e-15*	3,0E-08*	2E-16*	6,158E-12*
Cultivares X Potenciais	3	0,0087*	0,4887	0,0032*	2,14E-05*	0,5603	0,8704	0,0141*	0,0027*
Erro	24								
Média		96,375	99	49,5	62,75	6,551	17,19	0,02189	0,01314
CV (%)		2,84	2,02	11,55	14,22	25,64	23,56	12,16	24,09

* Significativo a 5% de probabilidade.

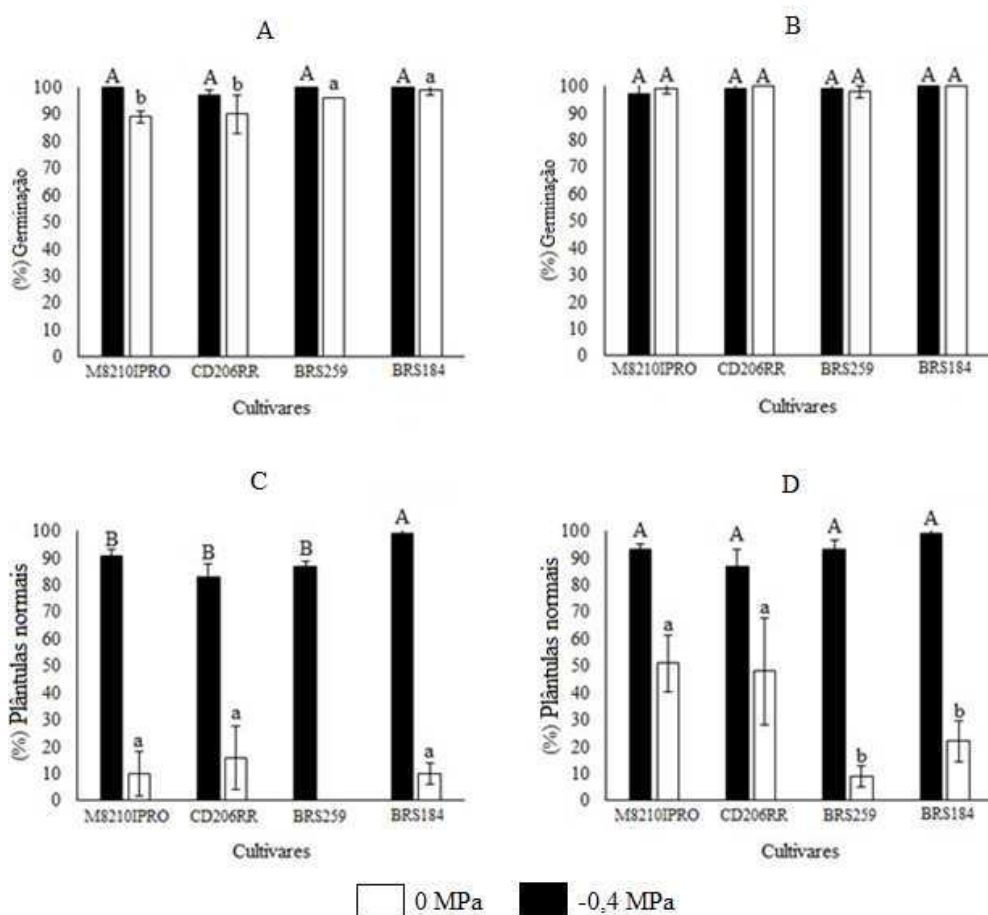


Figura 6 – Percentagem de sementes germinadas (A e B) e de plântulas normais (C e D) de cultivares de soja com níveis contrastantes de tolerância ao déficit hídrico durante a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas, no 5º (A e C) e 8º (B e D) dias após a instalação do teste de germinação, sob os potenciais osmóticos 0 e -0,4 MPa.

* Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula comparando as cultivares dentro do mesmo potencial, e minúscula comparando as médias obtidas nos potenciais 0 e -0,4 MPa para cada cultivar, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$) e teste F ($p < 0,05$), respectivamente.

Os dados de comprimento e massa seca de hipocótilo e raiz das plântulas estão apresentados na Figura 7. Foi observado interações significativas entre potenciais e cultivares para todas as variáveis e os desdobramentos foram realizados. Para todas as cultivares houve

redução no comprimento e na massa seca das plântulas entre os potenciais 0 e -0,4 MPa, porém não houve diferenças significativas entre as cultivares no potencial -0,4 MPa (Figura 7).

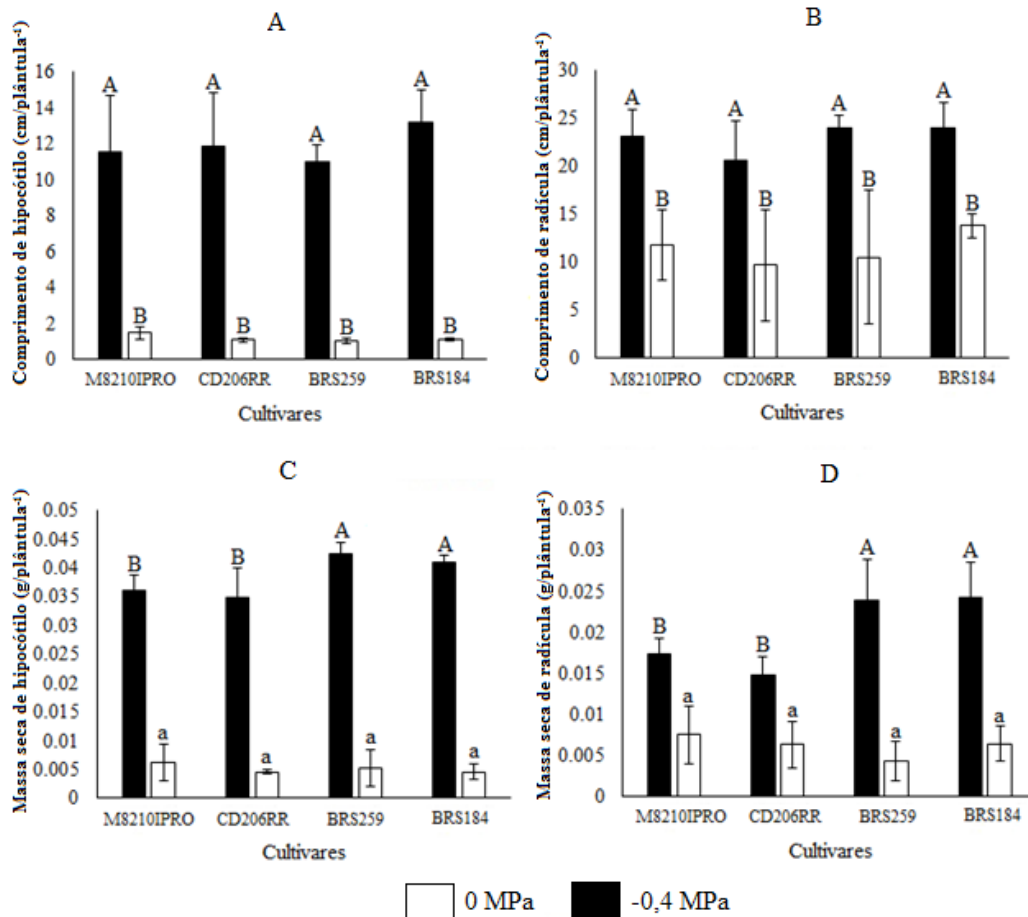


Figura 7 – Comprimento (A e B) e massa seca (C e D) de plântulas cultivares de soja com níveis contrastantes de tolerância ao déficit hídrico durante a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas, oriundas de sementes colocadas para germinar sob potenciais osmóticos de 0 e -0,4 MPa.

* Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula comparando as cultivares dentro do mesmo potencial, e minúscula comparando as médias obtidas nos potenciais 0 e -0,4 MPa para cada cultivar, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$) e teste F ($p < 0,05$), respectivamente.

3.2.5. Atividade de enzimas do sistema antioxidativo

A análise de variância dos dados de atividade da enzima SOD revelou diferenças significativas apenas para os diferentes potenciais, sendo que as médias obtidas para as cultivares não diferiram dentro de cada potencial. Portanto, não houve resposta diferenciada quanto à atividade da enzima comparando-se as cultivares com diferentes níveis de tolerância ao déficit hídrico. No potencial -0,4 MPa foi observado maior nível de atividade enzimática para todas as cultivares (Figura 8A).

Assim como para a SOD, diferenças significativas na atividade das enzimas POX e APX (Figuras 8C e 8D) foram observadas apenas entre os potenciais. No potencial 0 MPa foi observado maiores níveis de atividade das duas enzimas, comparado ao potencial -0,4 MPa. Para a enzima CAT (Figura 8B), interação significativa entre potencial e cultivar foi observada. Não houve diferenças significativas entre as cultivares tolerantes e sensíveis no potencial 0 MPa. No potencial -0,4 MPa, as cultivares CD206RR e BRS184, tolerante e sensível, respectivamente, apresentaram maiores níveis de atividade enzimática (Figura 8B).

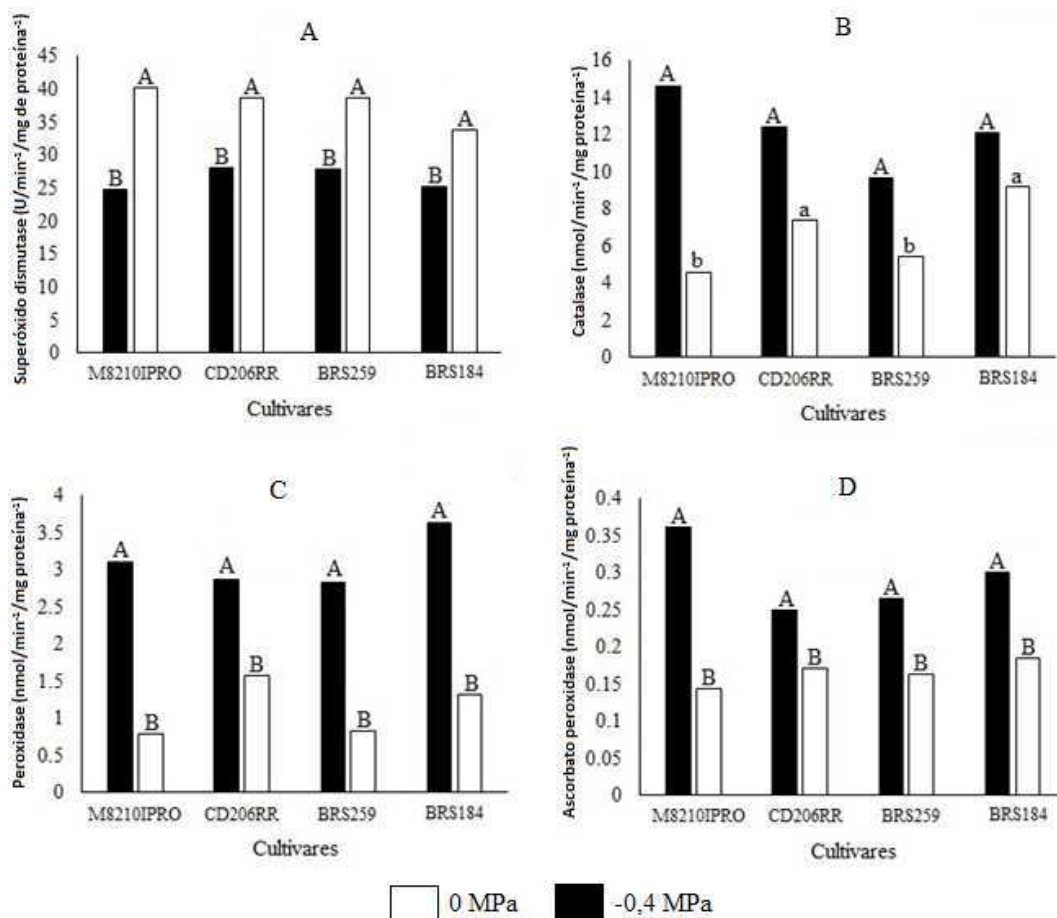


Figura 8 – Atividade de enzimas do sistema de defesa antioxidativo Superóxido dismutase (A), Catalase (B), Peroxidase (C) e Peroxidase do ascorbato (D), em sementes de soja de cultivares com níveis contrastantes de tolerância ao déficit hídrico durante a germinação e crescimento inicial das plântulas, submetidas à germinação sob potenciais osmóticos de 0 e -0,4 MPa.

* Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula comparando as cultivares dentro do mesmo potencial, e minúscula comparando as médias obtidas nos potenciais 0 e -0,4 MPa para cada cultivar, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$) e teste F ($p < 0,05$), respectivamente.

4. DISCUSSÃO

O vigor de sementes pode ser definido como a capacidade de boa performance das sementes durante o armazenamento e durante a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas em condições desfavoráveis de campo, como temperatura e *status* hídrico do solo inadequados, ataque de patógenos e compactação do solo. Diversos mecanismos fisiológicos e moleculares estão associados ao vigor (Finch-Savage, 2015).

Diversas variáveis indicadoras podem ser utilizadas em conjunto para avaliar o vigor de sementes. Porém, não há uma metodologia única que é capaz de classificar lotes quanto a todas propriedades associadas ao vigor. Neste sentido, quando da comparação de diferentes cultivares quanto ao vigor, é importante ressaltar que diferenças consideráveis podem ser observadas para cada variável indicadora específica em lotes de vigor semelhante. Portanto, a comparação de médias de variáveis indicadoras na comparação do vigor de sementes de diferentes cultivares pode não ser eficaz.

A velocidade e uniformidade do desenvolvimento de plântulas são componentes importantes da performance de sementes. Sementes com alto vigor são mais eficientes na mobilização de reservas e transporte ao eixo embrionário. Assim, a velocidade de germinação é um fundamento do vigor de sementes, e corresponde a uma germinação mais rápida (Finch-Savage, 2010)

A habilidade de rápida germinação de sementes é um eficiente indicador da qualidade fisiológica e é um indicador mais sensível do vigor comparado à porcentagem de germinação. Desta forma, testes baseados no desenvolvimento de plântulas, como a primeira contagem de germinação, fornecem estimativas confiáveis do vigor de sementes (Marcos-Filho, 2015).

Segundo Finch-Savage (2015), sementes que se desenvolvem em condições ambientais favoráveis e manejadas propriamente desde a maturidade fisiológica até a colheita, são bases sólidas para alto vigor. Segundo a Instrução Normativa nº 45, de 17 de setembro de 2013, que estabelece os padrões de identidade e qualidade para produção de sementes, a germinação mínima para lotes de semente de soja deve ser 80%.

As sementes utilizadas nos experimentos deste estudo foram produzidas em casa de vegetação, sob adequadas condições de manejo, solo, adubação, irrigação e controle fitossanitário. As vagens foram debulhadas manualmente, reduzindo ou eliminando a possibilidade de possíveis danos mecânicos, e as sementes foram secas à sombra. Diferenças significativas nos dados de avaliação do vigor das sementes foram observadas para a PN5

(Tabela 2), porém, todas as cultivares analisadas apresentaram valores iguais ou acima de 80% para esta variável, e valores iguais ou acima de 87% para PN8 (Figura 1). Desta forma, todos os lotes no presente trabalho foram considerados de alto vigor. Isto permitiu avaliar a tolerância das sementes ao estresse hídrico durante a germinação com pouco ou nenhum efeito da qualidade fisiológica das sementes, que poderiam interferir nos resultados caso houvesse grandes diferenças no vigor das sementes (Dantas et al., 2017).

A seleção de cultivares tolerantes aos estresses abióticos, como a seca, pode ser feita de diversas formas, utilizando de diferentes indicadores e diferentes métodos estatísticos (Silva et al., 2017). Neste contexto, o objetivo final ao qual a seleção será direcionada deve ser levado em conta, seja esta a investigação dos mecanismos associados, a prospecção de genes direcionados a engenharia ou ao melhoramento genético e classificação de cultivares quanto a tolerância.

Dentre as metodologias que podem ser utilizadas em programas de melhoramento para selecionar cultivares de soja tolerantes ao déficit hídrico durante a germinação e crescimento inicial de plântulas, a utilização de testes de germinação e emergência no campo, nas condições específicas onde a cultivar a ser avaliada é normalmente cultivada, é indubitavelmente a de maior acurácia. Porém, a dinamicidade do mercado de cultivares de soja atual e o custo elevado associado a experimentação a campo para um número elevado de progênies, sendo mão de obra e espaço físico os fatores mais relevantes, dificultam a prática (Borém, 2017). Desta forma, a adaptação de uma metodologia que seja viável para programas de melhoramento é indispensável.

Vários indicadores podem ser utilizados para acessar a performance de cultivares de soja ao déficit hídrico durante a germinação e crescimento inicial de plântulas (Teixeira, 2008; Dantas et al., 2017 e Kosturkova, 2008). Dentre os indicadores avaliados neste estudo, a contagem de plântulas normais do teste de germinação, conduzido em potencial negativo (PN8. 0,4MPa) pode ser considerado como o teste de maior complexidade. A avaliação da presença e viabilidade, em níveis mínimos, de todos os tecidos necessários para o desenvolvimento da semente em uma planta, sendo estes desenvolvidos em um período de tempo determinado, é a característica base do teste (Brasil, 2009). Desta forma, é possível inferir que a contagem de plântulas normais engloba, em parte, outros indicadores utilizados na avaliação da tolerância, como a quantificação do comprimento e biomassa de plântulas. Além disso, o teste de

germinação é simples, rápido e pouco dispendioso de tempo e recursos, o que garante o seu potencial como uma possível metodologia a ser utilizada em programas de melhoramento.

Todas as cultivares utilizadas neste experimento são comerciais. É importante ressaltar que o melhoramento genético de cultivares de soja voltado à tolerância ao déficit hídrico durante a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas é precário ou nulo para a grande maioria, senão todas, destas cultivares. Portanto, a prospecção de cultivares com níveis elevados de tolerância nestes genótipos é impraticável. Contudo, ainda é possível observar diferenças significativas quanto a tolerância entre os genótipos. A classificação de cultivares comerciais quanto a tolerância ao déficit hídrico durante a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas tem como objetivo direcionar cultivares específicas para regiões onde o déficit hídrico é corriqueiro durante a implantação de lavouras de soja e auxiliar programas de melhoramento na escolha de genitores que apresentem esta característica.

Na comparação de cultivares de soja quanto a tolerância durante a germinação e crescimento inicial de plântulas, é indispensável que o vigor dos lotes de sementes das diferentes cultivares sejam levados em conta, uma vez que o vigor é uma característica relacionada a capacidade da semente de suportar condições desfavoráveis, como o déficit hídrico (Finch-Savage, 2015). Desta forma, lotes de sementes de mesmo vigor devem ser usados na comparação entre cultivares visando à seleção de genótipos tolerantes à estresses abióticos durante a germinação. É importante ressaltar que diferentes lotes de sementes de alto vigor, referentes a diferentes cultivares, podem apresentar valores contrastantes de indicadores de vigor, como na contagem de plântulas normais do teste de germinação (PN8), relativos à características intrínsecas da cultivar.

Desta forma, quando da utilização da $PN8_{-0,4MPa}$, ou seja, percentagem de plântulas normais no 8º dia após a instalação do teste de germinação sob estresse hídrico, para a seleção de cultivares de soja tolerantes ao déficit hídrico durante a germinação e crescimento inicial de plântulas, as diferenças na percentagem de germinação (PN8) em lotes de sementes de alto vigor devem ser consideradas, uma vez que valores inferiores para esta variável podem estar relacionados a características intrínsecas da cultivar. Assim, sugere-se que a redução percentual entre as variáveis PN8 e $PN8_{-0,4MPa}$ deve ser utilizada para uma seleção eficiente. Nesse sentido, Teixeira (2008) também sugere que o uso da redução percentual entre testes de germinação conduzidos, porém conduzidos sob potencial 0 e -0,1 MPa, tem potencial para acessar a tolerância de cultivares de soja ao déficit hídrico durante a germinação.

Vários estudos mostram que o tamanho da semente de soja pode influenciar o vigor (Vinhali-Freitas, 2011) e a tolerância ao estresse hídrico (Soares et al., 2015; Pereira et al., 2013). Desta forma, as sementes de cada cultivar no presente trabalho foram classificadas quanto ao tamanho por meio de peneiras. Apenas as sementes contidas na peneira de maior retenção foram utilizadas nos experimentos (Tabela 1), com o objetivo de reduzir a influência dessa característica na classificação das sementes quanto aos níveis de tolerância.

A PCA é uma análise direcionada a reduzir a dimensionalidade de um grupo de variáveis correlacionadas, porém, mantendo a maior parcela possível da variação. O processo é feito a partir da criação de um novo grupo de variáveis não correlacionadas que são ordenadas de forma crescente quanto à parcela de variação presente na variação total das variáveis originais (Jolliffe, 2002). O ângulo entre os vetores está relacionado à correlação entre as variáveis em relação ao componente principal ao qual o vetor está direcionado. A proximidade entre os pontos e vetores está relacionada à performance da cultivar em relação a variável em questão (Gower, 2011) (Figura 2).

De acordo com o Componente principal 1 da análise de PCA deste estudo, dentre todas as variáveis analisadas, as variáveis GER8-0,4MPa, GER5-0,4MPa, PN5-0,4MPa e PN8-0,4MPa tiveram contribuições maiores na variabilidade total entre as cultivares (Tabela 3). A análise PCA agrupou as cultivares quanto à performance na germinação e crescimento inicial de plântulas sob déficit hídrico entre os dois componentes que representam a maior parcela da variação total, CP1 e CP2, representando 59% da variação total original.

As 27 cultivares foram agrupadas em cinco diferentes grupos pela análise PCA (Figura 3). Os grupos das cultivares M8210IPRO, TMG132RR, TG1066RR, CD206RR, M7211RR, BMXPOTENCIARR e CD224 e o grupo composto pelas cultivares TMG1288RR, TMG1180RR, CD234RR e Ra628 apresentaram maior associação positiva ao Componente 1, que representa a maior parte da variação original dentre todos os componentes gerados pela análise (36,4%). Estas mesmas cultivares apresentaram os menores padrões de redução percentual da contagem de plântulas normais entre os testes de germinação conduzidos nos potenciais 0 e -0,4MPa, o que demonstra a eficiência da técnica na avaliação da tolerância das cultivares ao estresse hídrico durante a germinação. Em outros trabalhos, a redução percentual da porcentagem de germinação de sementes de soja (Teixeira, 2008) e de outras culturas, como feijão (Ferreira, 2017) sob estresse hídrico já havia sido demonstrada.

Os grupos das cultivares M7211RR, M8210IPRO, CD206RR, TMG132RR, MXPOTENCIARR, CD224 e TG1066RR da PCA apresentou redução de 48% na germinação entre os dois potenciais; o grupo das cultivares TMG1180RR, TMG1288RR, CD234RR e Ra628 apresentou redução de 59%. Portanto, as cultivares M8210IPRO, TMG132RR, TG1066RR, CD206RR, M7211RR, BMXPOTENCIARR e CD224 foram consideradas como mais tolerantes ao déficit hídrico durante a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas. As cultivares TMG1288RR, TMG1180RR, CD234RR e Ra628 foram consideradas como de tolerância intermediária. As demais cultivares foram consideradas como mais sensíveis (Figuras 4 e 5).

O desempenho das cultivares contrastantes quanto ao nível de tolerância ao déficit hídrico durante a germinação foi avaliado. Foi observada redução da velocidade de germinação das sementes (sementes germinadas), aos cinco dias após a montagem do teste de germinação, nas cultivares classificadas como mais tolerante ao estresse hídrico (M8120IPRO e CD206RR), enquanto que nas mais sensíveis (BRS259 e BRS184) não houve diferença comparado ao controle (Figura 6). Por outro lado, o número de plântulas normais oriundas das sementes sob estresse, tanto no 5º quanto no 8º dia de avaliação, foi maior para as cultivares mais tolerantes. Esses resultados indicam que a menor velocidade de germinação das sementes sob estresse pode indicar um mecanismo de tolerância nestas cultivares, já que mesmo com maior número de sementes germinadas (emissão de radícula) nas cultivares mais sensíveis, as plântulas não se desenvolveram adequadamente.

Em relação ao crescimento das plântulas das cultivares com diferentes níveis de tolerância ao estresse hídrico, foi observado redução tanto no comprimento quanto na massa seca. Segundo Miransari (2015) Os principais efeitos do estresse hídrico no crescimento de plantas de soja estão relacionado ao menor crescimento devido ao menor turgor celular e às alterações metabólicas ligadas aos mecanismos de tolerância ao estresse, como acúmulo de prolina, proteínas LEA, poliaminas e açúcares da família da rafinose. Ainda, comparativamente, há menor redução do crescimento radicular, comparado ao da parte aérea, o que representa também um mecanismo de tolerância ao estresse, já que o maior crescimento das raízes pelas plântulas proporciona maiores chances de absorverem água em condições de campo (Ku, 2013).

A atividade enzimática foi menor nos testes conduzidos no potencial -0,4 MPa para todas as enzimas, exceto para a SOD (Figura 8). O prolongamento da fase estacionária do

processo de embebição e a redução da atividade enzimática em sementes submetidas ao déficit hídrico durante a germinação pode estar relacionado a este padrão de atividade. Testes de germinação conduzidos em potencial negativo apresentam menor disponibilidade de água quando comparados a testes conduzidos no potencial 0 MPa (controle). A menor disponibilidade de água pode prolongar o processo de embebição, a reativação do metabolismo celular e atividade enzimática em sementes (Bewley et al, 2013).

A superóxido dismutase tem sido proposta como uma enzima de grande importância em situações de estresse (Gill, 2010). Segundo Demidchik (2015), centenas de estudos mostram o aumento da atividade de SOD em planta sob condições de estresse, fato também observado no presente trabalho, porém as cultivares consideradas como mais tolerantes ao déficit hídrico na fase de germinação, M8210IPRO e CD206RR, não diferiram das demais cultivares classificadas como sensíveis BRS259 e BRS184 (Figura 8).

Segundo Mittler (2002), o estudo de plantas transgênicas que apresentam supressão do sistema de metabolização de EROs revelou que a atividade enzimática do sistema antioxidativo pode atuar de forma complexa, de maneira que a baixa atividade de uma determinada enzima pode ser compensada pela alta atividade de outras. É importante ressaltar que a resposta de cada enzima específica ao estresse oxidativo durante a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas pode variar de acordo com a espécie, cultivar, nível de estresse e estágio de desenvolvimento da plântula (Gill, 2010). Portanto, não há um padrão de resposta geral para enzimas do sistema antioxidativo em sementes sob condições de estresse oxidativo.

Dentre as enzimas analisadas, as enzimas POX, APX e SOD apresentaram médias estatisticamente iguais para as cultivares no teste conduzido no potencial -0,4 MPa (Figura 8). Para CAT, a atividade foi maior para as cultivares CD206RR e BRS184, consideradas como tolerante e sensível, respectivamente. A comparação da atividade enzimática do sistema antioxidativo entre cultivares de soja consideradas tolerantes e sensíveis ao déficit hídrico sugere que outros mecanismos de tolerância podem estar atuando e, portanto, mais estudos são necessários para o esclarecimento dos mecanismos da tolerância de sementes de soja ao déficit hídrico durante a germinação e desenvolvimento inicial das plântulas.

5. CONCLUSÕES

A PCA e a redução percentual da contagem de plântulas normais do teste de germinação discriminaram as cultivares de soja em grupos contrastantes quanto a tolerância ao déficit hídrico durante a germinação e crescimento inicial das plântulas.

As cultivares M8210IPRO, TMG132RR, TG1066RR, CD206RR, M7211RR, BMXPOTENCIARR e CD224 foram consideradas como as mais tolerantes ao estresse hídrico. As cultivares TMG1288RR, TMG1180RR, CD234RR e Ra628 foram consideradas como de tolerância intermediária. As cultivares M8644IPRO, TMG2181IPRO, M8372IPRO, TMG7062IPRO, M7739IPRO, TMG4182, M7110IPRO, TMG4185, ANTA82, BRS283, BRS184, Msoy6101, FUNDACEP 57 RR, BRS259, CD251RR e CD233 RR foram consideradas como mais sensíveis.

A redução percentual da contagem de plântulas normais entre testes de germinação conduzidos no potencial 0 e -0.4 MPa, associada à análise de componentes principais para separação em grupos com níveis diferenciados de tolerância, tem potencial como uma metodologia simples para discriminar cultivares de soja quanto a tolerância de sementes ao déficit hídrico durante a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas.

O sistema de defesa antioxidativo respondeu ao déficit hídrico com redução da atividade enzimática das enzimas peroxidase, catalase e peroxidase do ascorbato, enquanto houve aumento da atividade da enzima superóxido dismutase, independentemente do nível de tolerância das cultivares ao estresse. Assim, outros mecanismos fisiológicos/moleculares podem estar envolvidos na diferença de tolerância das cultivares e, portanto, novos estudos são necessários para a elucidação desses mecanismos.

6. REFERÊNCIAS

- 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.
- BAILLY, Christophe. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. **Seed Science Research**, v. 14, n. 2, p. 93-107, 2004.
- BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide Dismutase: Improved assays and na assay aplicable to acrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, v. 44, p. 276-287, 1971.
- BEWLEY, J. D., BRADFORD, K. J., HILHORST, H. W. M. & NONOGAKI, H. **Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy**, 3rd Edition. 133–181 (Springer, 2013).
- BOREM, A.; MIRANDA, G. V. ; Roberto Fritsche-Neto . **Melhoramento de Plantas**. 7. ed. Viçosa: Editora UFV, 2017. v. 1. 543p .
- BOUSLAMA, M.; SCHAPAUGH, W. T. Stress tolerance in soybeans. I. Evaluation of three screening techniques for heat and drought tolerance. **Crop Science**, v. 24, n. 5, p. 933-937, 1984.
- BRADFORD, Marion 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 Semente**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 395p.
- CATTIVELLI, Luigi et al. Drought tolerance improvement in crop plants: an integrated view from breeding to genomics. **Field Crops Research**, v. 105, n. 1, p. 1-14, 2008.
- CFSEMG - Comissão de fertilidade do solo do estado de Minas Gerais. Milho. In: Ribeiro, A. C.; Guimarães, P. T. G. & Alvarez V., V. H., eds. **Recomendações para o Uso de Corretivos e Fertilizantes em Minas Gerais, 5ª Aproximação**. Viçosa, MG, 1999. 250p.
- CHANCE, B.; MAEHLEY, A.C. Assay of catalases and peroxidases. **Methods Enzymology**, v. 2, p. 764-775, 1955.
- CONAB – **Conjunturas da Agropecuária**, Brasília, SOJA, 20/11/2017 a 24/11/2017
- CONAB – **Perspectivas Agropecuárias**, Brasília, v. 3, p. 1-130, set. 2015, ISSN 2318-3241.

2015

- DANTAS, F. L. et al. Strategy for selection of soybean genotypes tolerant to drought during germination. **Genetics and Molecular Research**, v. 16, n. 2, p. 1-8, 2017
- DEL LONGO, Olga T. et al. Antioxidant defences under hyperoxygenic and hyperosmotic conditions in leaves of two lines of maize with differential sensitivity to drought. **Plant and Cell Physiology**, v. 34, n. 7, p. 1023-1028, 1993.
- DEMIDCHIK, Vadim. Mechanisms of oxidative stress in plants: from classical chemistry to cell biology. **Environmental and Experimental Botany**, v. 109, p. 212-228, 2015.
- FAROOQ, M. et al. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 29, n. 1, p. 185-212, 2009.
- FERREIRA, Aureane Cristina Teixeira et al. Estresse hídrico e salino na germinação de sementes de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* cv. BRS Tumucumaque). **Revista Caatinga**, v. 30, n. 4, p. 1009, 2017.
- FINCH-SAVAGE, William E. et al. Towards a genetic understanding of seed vigour in small-seeded crops using natural variation in *Brassica oleracea*. **Plant Science**, v. 179, n. 6, p. 582-589, 2010.
- FINCH-SAVAGE, William E.; BASSEL, George W. Seed vigour and crop establishment: extending performance beyond adaptation. **Journal of experimental Botany**, v. 67, n. 3, p. 567-591, 2015.
- GIANNOPOLITIS, Constantine N.; RIES, Stanley K. Superoxide dismutases: II. Purification and quantitative relationship with water-soluble protein in seedlings. **Plant physiology**, v. 59, n. 2, p. 315-318, 1977.
- GILL, Sarvajeet Singh; TUTEJA, Narendra. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 12, p. 909-930, 2010.
- GOWER, John C.; LUBBE, Sugnet Gardner; LE ROUX, Niel J. **Understanding Biplots**. John Wiley & Sons, 2011.
- 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.

- IMEA – **Boletim Semanal Da Soja**, nº 382, dez 2015. Disponível em http://www.imea.com.br/upload/publicacoes/arquivos/R404_2015_12_04_BSSOJA.pdf
- INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION [ISTA]. 2014. **Seed Vigour Testing. International Rules for Seed Testing**, Zurich, Switzerland.
- JOLLIFFE, I.T. (2002) **Principal Component Analysis** (2nd edition). New York: Springer.
- 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 seedlings and leaves of maize (*Zea mays*). **Plant and Cell Physiology**, v. 34, n. 5, p. 713-721, 1993.
- KOSTURKOVA, G. et al. Response of bulgarian and indian soybean genotypes to drought and water deficiency in field and laboratory conditions. **General and Applied Plant Physiology**, v. 34, p. 3-4, 2008.
- KPOGHOMOU, B. K.; SAPRA, V. T.; BEYL, C. A. Screening for drought tolerance: soybean germination and its relationship to seedling responses. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 164, n. 3, p. 153-159, 1990.
- KU, Yee-Shan et al. Drought stress and tolerance in soybean. In: **A Comprehensive Survey Of International Soybean Research-Genetics, Physiology, Agronomy And Nitrogen Relationships**. Intech, 2013.
- MARCOS FILHO, Julio. Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. **Scientia Agricola**, v. 72, n. 4, p. 363-374, 2015.
- MICHEL, B.E.; KAUFMANN, M.R. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. **Plant Physiology**, v. 51, n. 6, p. 914-916, 1973.
- MIRANSARI, Mohammad (Ed.). Abiotic and Biotic Stresses in Soybean Production: **Soybean Production**. Academic Press, 2015.
- MITTLER, Ron et al. ROS signaling: the new wave? **Trends in Plant Science**, v.16, n. 6, p. 300-309, 2011.
- MITTLER, Ron. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v. 7, n. 9, p. 405-410, 2002.
- MITTLER, Ron. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v.7, n. 9, p. 405-410, 2002.

- NAKANO, Yoshiyuki; ASADA, Kozi. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and cell physiology**, v. 22, n. 5, p. 867-880, 1981.
- SILVA, F. L.; BOREM, A. (Org.) ; SEDIYAMA, T. (Org.) ; LUDKE, W. H. (Org.) . **Melhoramento da soja**. 1. ed. Viçosa: Editora UFV, 2017. v. 1. 563p .
- SOARES, Marcos et al. Estresse hídrico e salino em sementes de soja classificadas em diferentes tamanhos. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 45, n. 4, p. 370-378, 2015.
- MUTAVA, Raymond N. et al. Understanding abiotic stress tolerance mechanisms in soybean: a comparative evaluation of soybean response to drought and flooding stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 86, p. 109-120, 2015.
- NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant Cell Physiology**, v. 22, p. 867-880, 1981.
- NAKASHIMA, Kazuo; ITO, Yusuke; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, Kazuko. Transcriptional regulatory networks in response to abiotic stresses in Arabidopsis and grasses. **Plant physiology**, v. 149, n. 1, p. 88-95, 2009.
- PANDEY, Girdhar K. (Ed.). Elucidation of abiotic stress signaling in plants: **Functional Genomics Perspectives**. Springer, 2015.
- PEIXOTO, P.H.P.; CAMBRAIA, J.; SANT'ANA, R.; MOSQUIM, P.R.; MOREIRA, M.A. Aluminum effects on lipid peroxidation and on activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 11, p. 137-143, 1999.
- PEREIRA, Welison Andrade; PEREIRA, Sara Maria Andrade; DIAS, Denise Cunha Fernandes dos Santos. Influence of seed size and water restriction on germination of soybean seeds and on early development of seedlings. **Journal of Seed Science**, v. 35, n. 3, p. 316-322, 2013.
- PROJETO SOJA BRASIL. **Replântio Assombra Sojicultura De Mato Grosso**. Disponível em: <<http://www.projetosojabrasil.com.br/replantio-assombra-sojicultura-de-mato-grosso/>>. Acesso em: 10 mai. 2017.
- R Development Core Team (2017). **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org>.
- SEDIYAMA, Tuneo; SILVA, Felipe; BORÉM, Aluízio. **Soja: do plantio à colheita**. Viçosa: UFV, 2015.
- SILVA, F. L., Borém, A., Sediyaama, T., & Ludke, W. H. **Soybean Breeding**. Springer, 2017.

SMIRNOFF, Nicholas (Ed.). **Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants**. John Wiley & Sons, 2008.

TEXEIRA, Leandra Regina et al. Avaliação de cultivares de soja quanto à tolerância ao estresse hídrico em substrato contendo polietileno glicol. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 30, n. 2, 2008.

TEXEIRA, Leandra Regina et al. Avaliação de cultivares de soja quanto à tolerância ao estresse hídrico. **Revista Ceres**, v. 55, n. 3, 2008.

VINHAL-FREITAS, Isabel Cristina et al. Germinação e vigor de sementes de soja classificadas em diferentes tamanhos. **Agropecuária Técnica**, v. 32, n. 1, p. 108-114, 2011.