

CIRCULAR TÉCNICA

180

Londrina, PR
Maio, 2022

Importância do conteúdo de lignina da parede celular da vagem e do tegumento da semente de soja sobre o seu desempenho fisiológico e sanitário

Francisco Carlos Krzyzanowski
José de Barros França-Neto
Fernando Augusto Henning



Importância do conteúdo de lignina da parede celular da vagem e do tegumento da semente de soja sobre o seu desempenho fisiológico e sanitário¹

Lignina é o termo genérico para um grande grupo de polímeros aromáticos resultantes do acoplamento combinatório oxidativo de 4-hidroxifenilpropanoídes (Boerjan et al., 2003; Ralph et al., 2004; Vanholme et al., 2010), sendo portanto, um heteropolímero complexo consistindo principalmente de unidades de p-hidroxifenil (H), guaiacil (G) e siringil (S) formadas por acoplamento oxidativo de álcoois p-cumaril e sinapílico, respectivamente, que são produtos da via dos fenilpropanoídes (Vanholme et al., 2010; Moreira-Vilar et al., 2014; Marchiosi et al., 2020) (Figura 1).

Esses polímeros são depositados predominantemente na parede celular secundária, espessando-as. A lignina promove o revestimento para as microfibrilas de celulose e hemicelulose, resultando em maior rigidez, resistência e impermeabilidade aos tecidos lignificados. Exerce também papel de proteção aos polissacarídeos da parede celular da degradação microbiana, conferindo resistência à decomposição. Sendo o segundo polímero mais abundante na natureza, atrás somente da celulose (Polle et al., 1994) e o terceiro maior componente da parede celular e o principal componente da substância intracelular (Cowling; Kirk, 1976).

Quando o processo de lignificação é completado, geralmente coincide com a morte da célula, formando o que se denomina tecido de resistência, daí concluir-se que a lignina é um produto final do metabolismo da planta (Klock, 2014).

¹**Francisco Carlos Krzyzanowski**, engenheiro-agrônomo, Ph.D. em Tecnologia de Sementes, pesquisador da Embrapa Soja, Londrina, PR; **José de Barros França-Neto**, engenheiro-agrônomo, Ph.D. em Tecnologia de Sementes, pesquisador da Embrapa Soja, Londrina, PR; **Fernando Augusto Henning**, engenheiro-agrônomo, Dr. em Ciências e Tecnologia de Sementes/Biotecnologia em Sementes, pesquisador da Embrapa Soja, Londrina, PR.

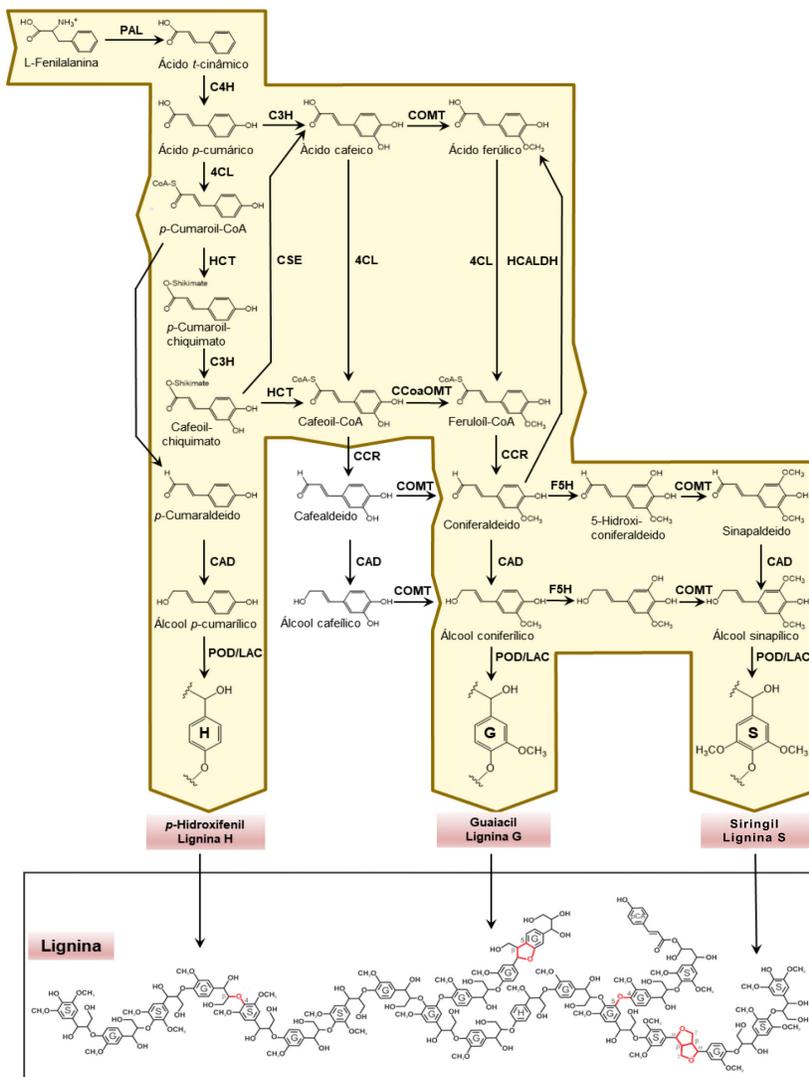


Figura 1. Principal rota biossintética em direção aos monolignóis álcoois fenilpropanílicos (álcoois p-cumaril, coniferil e sinapílico, sendo os principais denominados guaiaxil (G), siringil (S) e p-hidroxifenil (H) monolignóis). PAL: fenilalanina amônia-liase, C4H: cinamato 4-hidroxilase, 4CL: 4-cumarato:CoA ligase, HCALDH: coniferaldeído desidrogenase, HCT: 4-hidroxicinamoil-CoA: chiquimato/quinato 4-hidroxicinamoil-transferase, C3H: p-cumarato 3-hidroxilase, CSE: cafeoil chiquimato esterase, COMT: cafeato 3-O-metiltransferase, CCoAOMT: cafeoil-CoA O-metiltransferase, CCR: cinamoil-CoA redutase, F5H: ferulato 5-hidroxilase, CAD: cinamil álcool desidrogenase, POD: peroxidase, LAC: lacase.

Fontes: Boerjan et al. (2003); Vanholme et al. (2010); Marchiosi et al. (2020).

Duas metodologias analíticas para determinação de lignina estão descritas na literatura: o método do ácido sulfúrico, descrito por Bailey (1967), posteriormente modificado por Vidaure (1991) e adaptado para determinação em tegumento de soja por Alvarez et al. (1997) requer 24 horas para ser finalizado; já o método do permanganato de potássio (Van Soest; Wine, 1968) é de certa forma mais simples que o primeiro e requer apenas seis horas para ser realizado. Uma comparação entre esses dois métodos gravimétricos para a determinação do conteúdo de lignina em tegumento de soja foi realizada por Krzyzanowski et al. (2001), que concluíram que o método do ácido sulfúrico teve maior acurácia e sensibilidade nos resultados, tendo classificado as 12 cultivares avaliadas em cinco grupos distintos de conteúdo de lignina, enquanto o método do permanganato de potássio classificou-as em apenas três grupos.

Em busca de maior precisão nos resultados do conteúdo de lignina, os métodos de determinação evoluíram para o LTGA – “Lignothioglycolic acid” – ácido lignotioglicólico (Capeleti et al., 2005) e acetil bromida (Moreira-Vilar et al., 2014). Em ambos, é feita a retirada da parede celular onde a lignina se encontra para ser determinada. Sementes de soja impermeáveis à água foram relatadas como tendo maior porcentagem de conteúdo de lignina no tegumento do que as permeáveis, o que pode ser uma característica responsável pela maior qualidade (Tavares et al., 1987).

Muitos fatores contribuem para a deterioração das sementes, mas os danos físicos devido à colheita e também ao manuseio inadequados e seu consequente efeito na integridade do tegumento da semente são as principais causas (McDonald, 1985). Danos mecânicos foram os principais responsáveis pela redução da germinação e do vigor das sementes de soja no Brasil nas safras de 2014/2015 a 2018/2019, conforme relatado por França-Neto (2016) e França-Neto et al. (2017, 2018, 2019).

Como a lignina é a principal responsável pela manutenção da integridade e coesão estrutural das fibras vegetais (Butler; Bailey, 1973; Cowling; Kirk, 1976), sua importância é relevante na resistência ao dano mecânico na semente de soja, o qual é um dos principais fatores que afeta a qualidade física e fisiológica da mesma (Alvarez et al., 1997). A deposição de lignina no tecido tegumentar é importante, pois proporciona resistência mecânica, também protegendo a parede celular contra microrganismos (Rijo; Vasconcelos, 1983). Além disso, devido à sua característica de impermeabilidade / semi-permeabilidade, a lignina também protege as sementes de soja contra os

efeitos negativos das intempéries climáticas que ocorrem durante o período de pré-colheita (França-Neto et al., 2016). Diversos estudos apontam que o tegumento da semente de soja é muito fino e com baixo conteúdo de lignina, proporcionando pouca proteção ao eixo embrionário, que se encontra em posição vulnerável sob o tegumento (Gupta et al., 1973; Agrawal; Menon, 1974; França-Neto; Henning, 1984).

A causa da alta suscetibilidade a danos mecânicos de sementes de feijão branco (*Phaseolus lunatus* L.) pode estar relacionada ao seu teor de lignina, que é 1,0% do peso do tegumento, quando comparado com sementes de cor escura, onde a ocorrência de lignina é de 15% do peso do tegumento da semente (Kannenber; Allard, 1964). Agrawal e Menon (1974) relacionaram a espessura do tegumento e o teor de lignina com a suscetibilidade a danos mecânicos entre as cultivares de soja Clark 63 e Adelpina.

Danos mecânicos (Figura 2) são uma das causas de grande perda de qualidade das sementes de soja em ambientes tropicais e subtropicais (França-Neto et al., 2019). O desenvolvimento de cultivares menos sujeitas a danos mecânicos é uma importante contribuição dos melhoristas aos produtores de soja para a superação dessa limitação, que, além de melhorar a qualidade do grão, reduzindo a quantidade de microfissuras no tegumento que alteram o grau de acidez do grão e reduzem as qualidades organolépticas, alteram o comportamento da semente durante o processo de armazenamento, pois são aberturas para a entrada de umidade que irão promover o processo de deterioração (Krzyzanowski et al., 2019).

Foto: José de Barros França-Neto



Figura 2.
Semente de soja com dano mecânico.

Carbonell e Krzyzanowski (1995) desenvolveram o teste do pêndulo para a identificação de linhagens de soja com sementes resistentes aos danos mecânicos. O teste avalia a resistência das sementes aos danos mecânicos, estabelecendo índices de danos mecânicos: quanto maior o índice, maior é a resistência ao dano mecânico e melhor a qualidade fisiológica da semente. Com base nesse teste, 12 cultivares de soja em cultivo foram classificadas como resistentes, moderadamente resistentes e suscetíveis. Nessa mesma linha de pesquisa, Alvarez et al. (1997) explicaram que a resistência aos danos mecânicos dessas cultivares estava diretamente relacionada ao conteúdo de lignina no tegumento (Tabela 1 e Figura 3).

Tabela 1. Média do conteúdo de lignina do tegumento e do índice de resistência aos danos mecânicos determinados pelo teste do pêndulo para sementes de 12 cultivares de soja.

Cultivar	Conteúdo de Lignina (%)	Índice de Dano Mecânico
Doko	6,203 a ¹	494 c ¹
FT-2	6,195 a	575 b
Santa Rosa	5,733 ab	456 d
IAC-8	5,722 ab	413 e
IAS-5	5,717 ab	594 a
Paraná	5,555 ab	505 c
FT-10	5,283 bc	400 e
Bossier	5,278 bc	401 e
Paranagoiana	4,785 cd	374 f
Davis	4,620 cd	373 f
Savana	4,358 d	349 g
IAC-2	4,210 d	266 h

¹ Média que não compartilha uma letra em comum difere significativamente ao nível de probabilidade de 0,05 %, conforme determinado pelo teste de Tukey.

Fonte: Alvarez et al. (1997).

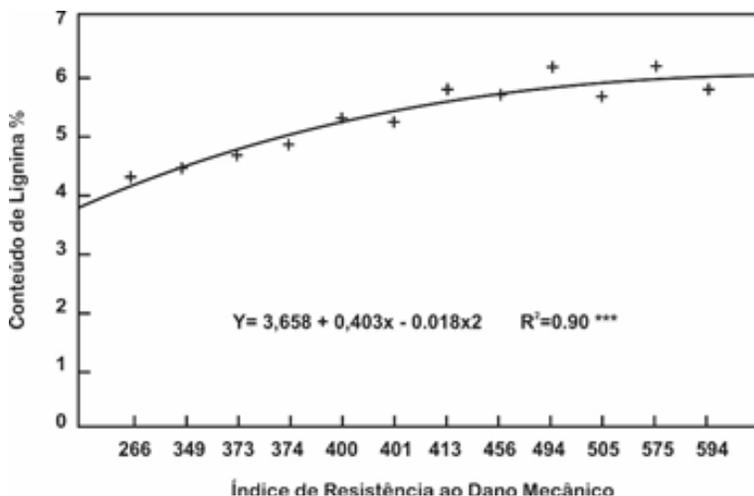


Figura 3. Análise de regressão do teor de lignina do tegumento e do índice de resistência aos danos mecânicos, determinado por meio do teste do pêndulo, para sementes de 12 cultivares de soja.

Fonte: Alvarez et al. (1997).

O conteúdo de lignina no tegumento mostrou-se elevado nas cultivares com alto índice de resistência aos danos mecânicos e vice-versa. O mesmo fato foi observado para o feijão-vagem (Bay et al., 1995). Um teor de lignina no tegumento da semente acima de 5% é um indicador seguro de resistência aos danos mecânicos para semente de soja (Alvarez et al., 1997). Com base no conhecimento do conteúdo de lignina do tegumento, é possível estabelecer uma metodologia de seleção de genótipos de soja quanto à resistência aos danos mecânicos em um programa de melhoramento para a qualidade física e fisiológica da semente de soja (Alvarez et al., 1997).

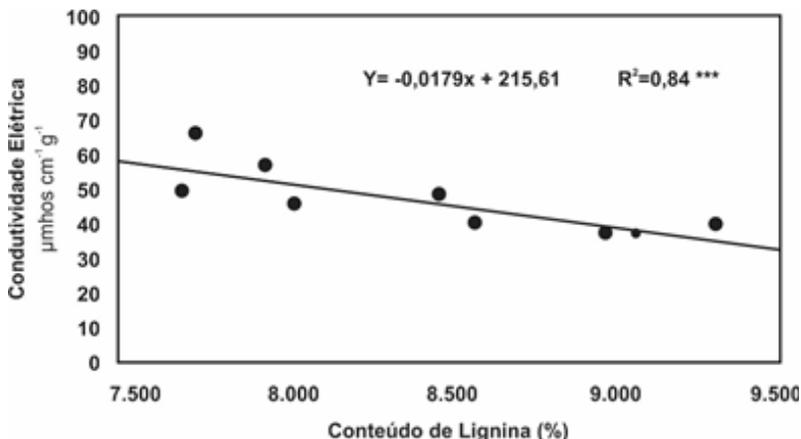
O conteúdo porcentual de lignina no tegumento também influencia a condutividade elétrica das sementes de cultivares de soja. Quanto maior o porcentual de lignina no tegumento, menor é a exsudação de açúcares e aminoácidos para a solução de imersão das sementes. O alto conteúdo de lignina é uma característica genética desejável para melhorar as qualidades física, sanitária e fisiológica da semente de soja. Menores valores de condutividade elétrica da solução de embebição da semente de soja estão diretamente relacionados com o maior teor de lignina no tegumento (Mertz-Henning et al., 2015). Panobianco et al. (1999) analisaram o conteúdo de lignina por meio

do método de permanganato de potássio o qual fornece valores maiores em relação ao método do ácido sulfúrico e relacionaram esses conteúdos altos de lignina com a alta qualidade da semente de soja com base em seus baixos índices de condutividade elétrica (Tabela 2 e Figura 4).

Tabela 2. Efeito da cultivar na condutividade elétrica e no teor de lignina do tegumento de sementes de nove cultivares de soja.

Cultivar	Condutividade ($\mu\text{mhos cm}^{-1} \text{g}^{-1}$)	Conteúdo de Lignina (%)
Santa Rosa	66 a ¹	7,74 d ¹
FT 10	57 b	7,95 d
Savana	50 c	7,69 d
Bossier	49 c	8,47 c
IAC-8	47 c	8,03 d
IAS-5	41 d	8,57 bc
Doko	41 d	9,28 a
FT2	38 d	9,05 a
Paraná	38 d	8,96 ab

Fonte: Panobianco et al. (1999).



¹Médias que não compartilham uma letra em comum diferem significativamente ao nível de probabilidade de 0,05 %, conforme determinado pelo teste de Tukey.

Figura 4. Relações entre a condutividade elétrica ($\mu\text{mhos cm}^{-1} \text{g}^{-1}$) e o percentual de conteúdo de lignina no tegumento de nove cultivares de soja.

Fonte: Panobianco et al. (1999).

Em estudo conduzido por Castro et al. (2016), em que foram avaliadas cinco cultivares de soja, observou-se que a cultivar AS 7307 RR apresentou maior teor de lignina no tegumento das sementes e menor porcentagem de danos por umidade avaliados pelo teste de tetrazólio em todas as épocas de colheita, portanto, maior desempenho fisiológico avaliado por meio dos testes de germinação e de vigor. As cultivares NK 7059 RR e SYN 1163 RR apresentam menores teores de lignina no tegumento e maiores porcentagens de danos por umidade avaliados pelo teste de tetrazólio em todas as épocas de colheita.

Seguindo essa mesma linha de estudos, Huth et al. (2016) avaliaram a suscetibilidade aos danos por intemperismo e estresse oxidativo em sementes de soja com distintos teores de lignina no tegumento. Os autores relataram que sementes com alto teor de lignina foram menos suscetíveis aos danos do intemperismo, avaliados por meio dos testes de germinação, envelhecimento acelerado e tetrazólio, bem como apresentaram menor estresse oxidativo devido às baixas atividades da superóxido dismutase, guaiacol peroxidase e peroxidação lipídica.

O momento da colheita é um fator importante que afeta a qualidade da semente da soja, principalmente quando a chuva durante o período de colheita é frequente. Bellaloui et al. (2017) avaliaram o efeito do tempo de colheita na qualidade da semente de soja (composição da semente, germinação, teor de boro do tegumento da semente e teor de lignina) em linhagens de alta germinabilidade (AG) (50 por cento exóticas), desenvolvidas sob alta temperatura. Os resultados mostraram que aos 28 dias após a maturidade da colheita (colheita atrasada), o teor de proteína da semente, ácido oleico, açúcares, boro e lignina do tegumento foram maiores em algumas das linhas de AG exóticas em comparação com as testemunhas, indicando um possível envolvimento desses constituintes da semente, especialmente o boro e a lignina do tegumento da semente, na manutenção da integridade do tegumento e na proteção do tegumento contra danos físicos. Correlações positivas altamente significativas foram encontradas entre a germinação e a proteína da semente, ácido oleico, açúcares e boro e lignina do revestimento da semente. Esses resultados devem sugerir aos melhoristas alguma vantagem na seleção para alto teor de boro e lignina no tegumento da semente (Bellaloui et al., 2017).

Cultivares de soja com elevados teores de lignina nas vagens apresentam menor taxa e velocidade de absorção de água. Vagens de soja com maior espessura de exocarpo, mesocarpo e endocarpo e elevados teores de lignina, apresentam maior tolerância à deterioração por umidade em pré-colheita e proporcionam sementes com maior viabilidade e vigor. Plantas com maiores teores de lignina nas vagens produzem sementes com menor incidência do fungo *Cercospora kikuchii* e menor teor de clorofila, principalmente quando associado a precipitações pluviais em pré-colheita (Brzezinski et al., 2022). Cultivares de soja suscetíveis (S), moderadamente resistentes (MR) e resistentes (R) ao apodrecimento de suas sementes nas vagens por *Phomopsis* foram avaliadas e observou-se que os compostos fenólicos (fenóis, lignina e isoflavonas) tinham concentrações mais elevadas nas cultivares MR e R do que nas S, indicando uma possível associação desses compostos com o mecanismo de defesa dessa doença (Bellaloui et al., 2012).

A qualidade fisiológica das sementes é reduzida ao longo do armazenamento, com maiores taxas de decréscimo no ambiente não controlado. Os metabólitos da rota dos fenilpropanoides, especialmente a lignina, interferem no potencial de armazenamento das sementes. Cultivares com maiores teores de lignina (valores médios de 14,23%) apresentam maior potencial de armazenamento, principalmente em ambiente não controlado em relação aos genótipos de tegumento amarelo, que apresentaram teores médios de 4,00% de lignina (Abati et al., 2021).

As sementes de soja de tegumento de coloração escura são reconhecidas por apresentarem melhores qualidades fisiológica e sanitária do que as sementes de tegumento amarelo. Sementes pretas de soja apresentam elevados teores de lignina e de antocianina em seus tegumentos, conforme relatado por Abati et al. (2021). A antocianina possui ação antioxidante (Ávila et al., 2012; Zabala; Vodkin, 2014; Choi et al., 2020), atuando na proteção das células, evitando a formação de radicais livres ou promovendo o sequestro ou a degradação dessas moléculas.

Estudos realizados por França-Neto et al. (1998, 1999) avaliaram o desempenho fisiológico e sanitário de sementes de soja de seis linhagens quase isogênicas de soja, diferindo unicamente quanto à coloração do tegumento: sementes pretas com teores médios de lignina de 12,18% e amarelas

com 4,75%. Essas sementes foram deterioradas em condições extremas em câmara de envelhecimento acelerado, expostas às condições de 41°C, 100% UR por 96 horas. Após a imposição desse processo, as sementes de tegumento preto apresentaram, em média, 47% a mais de emergência de plântulas em substrato de areia em relação às de tegumento amarelo. Sementes da linhagem F 84-7-30 apresentaram 70% de emergência para sementes pretas, e apenas 23% para as amarelas. Quanto à qualidade sanitária, as linhagens de tegumento preto apresentaram em média menos da metade dos índices de infecção por *Aspergillus flavus* observados para as sementes amarelas; a linhagem F 84-7-30 apresentou 20% de infecção em sementes pretas e 55% nas amarelas. Mertz et al. (2009) também concluíram que sementes de soja com tegumento preto apresentaram qualidade fisiológica superior em relação às sementes com tegumento amarelo.

Sementes segregantes de coloração marrom das cultivares de soja Embrapa 48, BRS 156 e BRS 133 foram avaliadas quanto à taxa de embebição em intervalos de três horas num período de 24 horas. Foram também avaliadas a germinação, o vigor por meio dos testes de envelhecimento acelerado e de tetrazólio, e a concentração de lignina e de proteína (Tabelas 3 a 5). Observou-se que a expressão da cor marrom no tegumento das sementes, em uma mesma cultivar de soja, devido à sua maior concentração de lignina afeta positivamente a velocidade de embebição e a qualidade fisiológica de suas sementes (Santos et al., 2007).

Tabela 3. Valores médios de lignina (%) em relação ao peso total do tegumento.

Cultivar	Lignina (%)	
	Tegumento Amarelo	Tegumento Marrom
BRS 48	2,5	5,2
BRS 156	2,3	4,4
BRS 133	2,9	6
Média	2,6	5,2

Tabela 4. Água embebida (%) pelas sementes de duas cultivares de soja, submetidas a oito períodos de embebição em intervalos de três horas em relação ao peso inicial.

Cultivar	Tegumento	Tempos de Embebição (h)							
		3 h	6 h	9 h	12 h	15 h	16 h	21 h	24 h
Embrapa 48	Amarelo	15,65 A ¹	27,84 A	38,12 A	46,53 A	62,16 A	74,18 A	80,52 A	87,01 A
Embrapa 48	Marrom	14,40 B	26,99 B	36,44 B	44,83 B	60,36 B	67,97 B	75,05 B	84,99 B
BRS 133	Amarelo	12,44 A ¹	26,90 A	34,15 A	45,37 A	59,35 A	75,37 A	75,17 A	89,52 A
BRS 133	Marrom	12,42 A	26,05 A	33,81 A	42,12 B	53,31 B	65,35 B	71,61 B	80,51 B

¹Médias seguidas de mesma letra em cada cultivar na vertical não diferem a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Fonte: Santos et al. (2007).

Tabela 5. Valores médios de vigor (%) pelo teste de tetrazólio de sementes de três cultivares de soja, em função das características do tegumento.

Cultivar	Vigor (%)		
	Tegumento Amarelo	Tegumento Marrom	Média
BRS 156	78 ^a	85	81,5 A
Embrapa 48	68	81	74,5 A
BRS 133	69	76	72,5 A
Média	71,7 b	80,7 a	

¹Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Fonte: Santos et al. (2007).

Estudos realizado por Menezes et al. (2009) sobre os aspectos químicos e estruturais da qualidade fisiológica de sementes de soja, observaram correlações positivas a 5% de probabilidade entre o teor de lignina e a porcentagem de plântulas normais no teste de envelhecimento acelerado aos 5º e 11º dias de avaliação, após a semeadura. Infere-se que a lignina tenha constituído uma proteção para as sementes e proporcionado menor deterioração. A correlação entre a velocidade de germinação e o teor de lignina foi negativa, ou seja, quanto maior o teor de lignina, menor o tempo para a germinação. Os autores observaram que a reparação mais rápida dos sistemas de membranas das sementes menos deterioradas propiciaria uma emergência mais rápida das plântulas.

De acordo com Peske e Pereira (1983), o tegumento das sementes de soja é composto por três camadas principais, assim caracterizadas, da superfície em direção aos cotilédones: camada de células paliçádicas, composta por células bem compactas, praticamente sem espaços intercelulares; camada de osteosclerídeos, ou células em ampulheta, também chamadas de células colunares, com amplos espaços intercelulares; e parênquima, composto por células parenquimatosas, que está em contato com a superfície das células dos cotilédones. A Figura 5 ilustra bem essas três camadas (Menezes et al., 2009).

Estudos de microscopia de varredura e de microscopia de luz efetuados por Menezes et al. (2009) foi observado que a lignina está presente na testa de sementes de soja, depositada em maior espessura nas paredes celulares das células paliçádicas, mas também encontrada nas paredes celulares das células em ampulheta, conforme ilustrado na Figura 5.

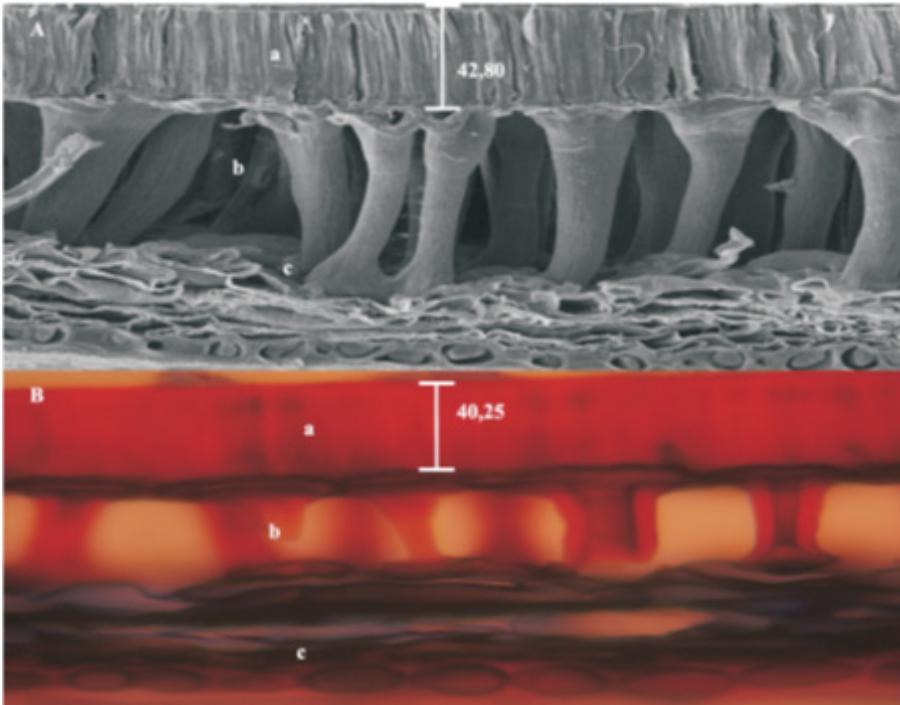


Figura 5. Comparação da espessura (μm) das camadas de células paliçádicas (A) de sementes de soja, obtida por microscopia eletrônica de varredura, com a espessura de lignina (B), obtida por microscopia de luz do híbrido B x 1. a, camada de células paliçádicas; b, camada de células em ampulheta; e c, parênquima lacunoso.

Fonte: Menezes et al. (2009).

Em relação à qualidade fisiológica da semente de soja, a deterioração por umidade, é resultante da exposição das sementes de soja às condições de intempéries climáticas em pré-colheita, devido aos ciclos alternados de condições ambientais úmidas e secas na fase final de maturação (Figura 6). Tais danos apresentam uma maior magnitude, caso ocorram em ambientes quentes, típicos de regiões tropicais e subtropicais (França-Neto; Krzyzanowski, 2018). Sementes com deterioração por umidade apresentam rugas características nos cotilédones, na região oposta ao hilo (Figura 7), ou sobre o eixo embrionário. Uma das razões pelas quais esse enrugamento ocorre com maior intensidade nesta região, deve-se à variabilidade da espessura da camada de células em ampulheta (Pereira; Andrews, 1985; Forti et

al., 2013): a sua espessura é máxima em regiões próximas ao hilo, diminuindo progressivamente ao se afastarem desta região, chegando a rudimentos na região oposta ao hilo (Figura 8). Esta condição propicia a ocorrência desse tipo de enrugamento intenso nesta região, pois quando as células de ampuheta têm uma espessura maior, isto funciona como “amortecedores”, resultando em menores índices de enrugamento; o oposto é verdadeiro. Com um maior conteúdo de lignina no tegumento das sementes, especificamente na camada das células paliçádicas, o tegumento torna-se mais rígido e, conseqüentemente, a possibilidade da ocorrência de enrugamentos mais intensos do tegumento diminui, propiciando numa menor incidência de danos causados por umidade, preservando, assim, a qualidade fisiológica das sementes.

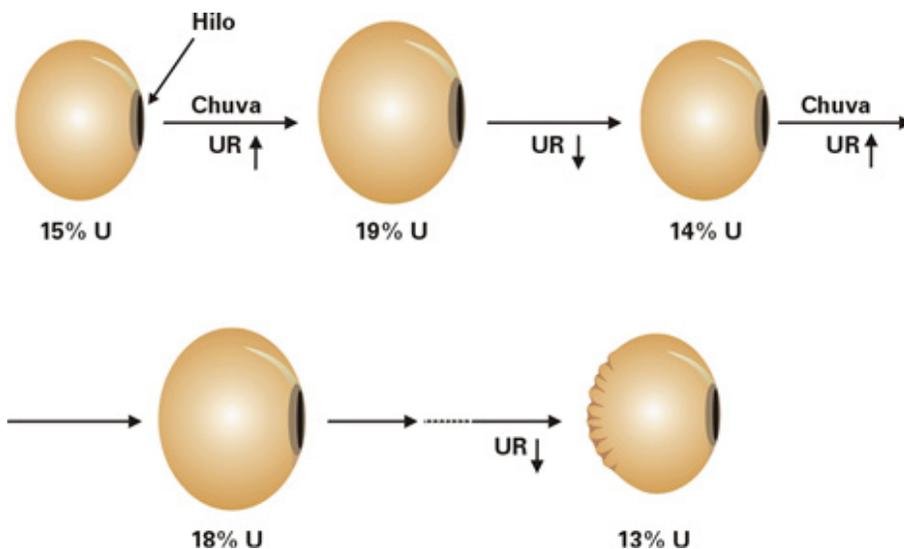


Figura 6. Processo de alterações físicas, devido à oscilação do teor de água da semente de soja em função das condições de umidade ambiental, que resultam no aparecimento de rugas na semente de soja, características da deterioração por umidade.

Fonte: França-Neto et al. (2016).



Figura 7. Sementes de soja com sintomas típicos de deterioração por umidade; à esquerda: sementes secas com enrugamento devido a esse tipo de dano; à direita, sementes de soja com sintomas típicos de deterioração por umidade, após a coloração com a solução do sal de tetrazólio

Fonte: França-Neto e Krzyzanowski (2018).

Ilustração: Danilo Estevão

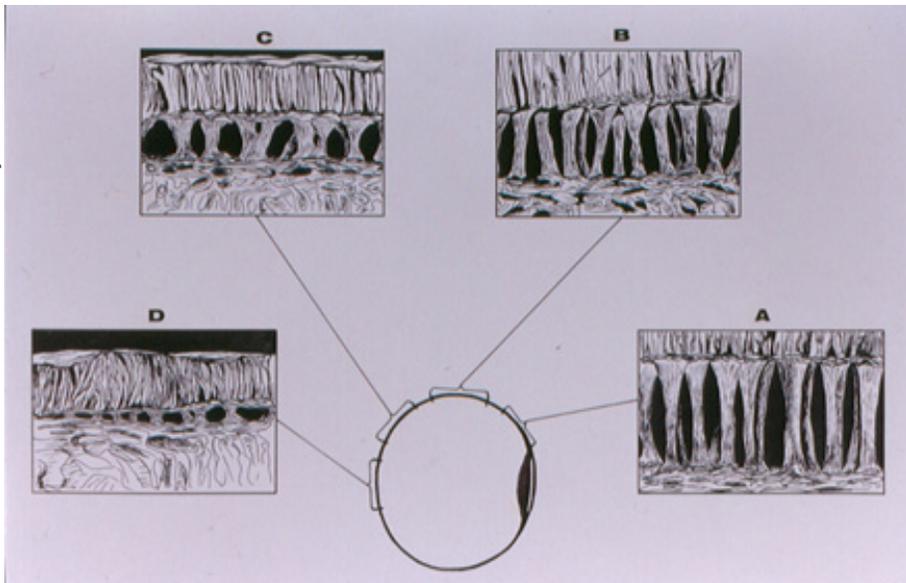


Figura 8. Ilustração do corte histológico do tegumento da soja em quatro regiões da semente: A: próximo ao hilo; B: em região intermediária entre o hilo e a região oposta ao hilo; C: em região próxima ao lado oposto ao hilo; D: na região oposta ao hilo. Adaptado de Pereira e Andrews (1985) e Forti et al. (2013).

Ilustração feita com base de fotos tiradas em microscópio eletrônico de varredura por José de Barros França-Neto.

O melhoramento genético de soja visando à obtenção de cultivares com sementes de alta qualidade é uma abordagem importante para o desenvolvimento de genótipos mais adaptados para regiões tropicais, e o conteúdo de lignina no tegumento é um parâmetro de seleção para essa característica. Considerando que muitas linhagens serão avaliadas a cada estação de cultivo, um longo período é necessário para a avaliação de um grande número de genótipos que compõem um programa de melhoramento. Esta limitação de tempo poderia influenciar a avaliação do conteúdo de lignina, se a lignina fosse degradada durante o armazenamento. Pesquisas realizadas com sementes de 12 cultivares de soja armazenadas por um ano em ambiente controlado (temperatura de 10°C e 50% de umidade relativa do ar) não mostraram diferenças entre o teor de lignina de cada cultivar, quando comparados com os resultados obtidos na colheita e após um ano de armazenamento. Esse fato indica que a determinação de lignina no tegumento da semente de soja pode ser realizada por um longo período sem qualquer viés devido à mudança em seu conteúdo (Krzyzanowski et al., 2008).

Em diversos estudos da relação entre a qualidade fisiológica de sementes de soja e o teor de lignina do tegumento, os autores utilizaram diversas metodologias de determinação de lignina: Alvarez et al. (1997) utilizaram o método do ácido sulfúrico em estudos de resistência das sementes aos danos mecânicos; Panobianco et al. (1999) empregaram o método do permanganato de potássio nas avaliações das relações entre o conteúdo de lignina e a condutividade elétrica da solução de embebição de sementes; Huth et al. (2016) usaram o método do ácido linotioglicólico (LTGA) nos estudos de danos por intemperismo e o teor de lignina em sementes de soja; e Moreira-Vilar et al. (2014) avaliaram a metodologia do brometo de acetila. Esta última metodologia, por ser mais rápida, simples e apresentar melhor recuperação de lignina em diferentes tecidos herbáceos em relação aos métodos de klason e do ácido tioglicólico, é o método mais utilizado atualmente em estudos que envolvam a determinação do conteúdo de lignina em soja.

Referências

- ABATI, J.; ZUCARELI, C.; BRZEZINSKI, C. R.; KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA-NETO, J. de B.; HENNING, F. A. Metabolites of the phenylpropanoid pathway and physiological quality of soybean seeds in storage. **Journal of Seed Science**, v. 43, e202143033, 2021, 14 p. DOI: 10.1590/2317-1545v43253585.
- AGRAWAL, P. K.; MENON, K. Lignin content and seed coat thickness in relation to seed coat cracking. **Seed Research**, v. 2, p. 64-66, 1974.
- ALVAREZ, P. J. C.; KRZYZANOWSKI, F. C.; MANDARINO, J. M. G.; FRANÇA-NETO, J. de B. Relationship between soybean seed coat lignin content and resistance to mechanical damage. **Seed Science and Technology**, v. 25, p. 209-214, 1997.
- ÁVILA, M. R.; BRACCINI, A. L.; SOUZA, C. G. M.; MANDARINO, J. M. G.; BAZO, G. L.; CABRAL, Y. C. F. Physiological quality, content and activity of antioxidants in soybean seeds artificially aged. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, n. 3, p. 387-407, 2012.
- BAILEY, R. W. Quantitative studies of ruminant digestion II. Loss of ingested carbohydrates from the reticulo rumen. **Journal of the Agriculture Research**, v. 10, p. 15-32, 1967.
- BAY, A. P. M.; TAYLOR, A. G.; BOURNE, M. C. The influence of water activity on three genotypes of snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in relation to mechanical damage resistance. **Seed Science and Technology**, v. 23, p. 583-593, 1995.
- BELLALLOU, N.; SMITH, J. R.; MENGISTU, A. Seed nutrition and quality, seed coat boron and lignin are influenced by delayed harvest in exotically-derived soybean breeding lines under high heat. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, e1563, 2017.
- BELLALLOU, N.; MENGISTU, A.; ZOBIOLE, L. H. S. Phomopsis seed infection effects on soybean seed phenol, lignin, and isoflavones in maturity group V genotypes differing in Phomopsis resistance. **Journal of Crop Improvement**, v. 26, p. 693-710, 2012.
- BOERJAN, W.; RALPH, J.; BAUCHER, M. Lignin biosynthesis. **Annual Review of Plant Biology**, v. 54, p. 519-546, 2003.
- BRZEZINSKI, C. R.; ABATI, J.; ZUCARELLI, C.; MEDRI, C.; MERTZ-HENNING, L. M.; KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA-NETO, J. de B.; HENNING, F. A. Structural analysis of soybean pods and seeds subjected to weathering deterioration in pre-harvest. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 57, e02697, 2022.
- BUTLER, G. W.; BAILEY, R. W. **Chemistry and biochemistry of herbage**. London: New York: Academic Press, 1973. v. 3. 416 p.
- CAPELETI, I.; FERRARESE, M. L. L.; KRZYZANOWSKI, F. C.; FERRARESE FILHO, O. A new procedure for quantification of lignin in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) seed coat and their relationship with the resistance to mechanical damage. **Seed Science and Technology**, v. 33, n. 2, p. 511-515, 2005.
- CARBONELL, S. A. M.; KRZYZANOWSKI, F. C. The pendulum test for screening soybean genotypes for seeds resistant to mechanical damage. **Seed Science and Technology**, v. 23, p. 331-339, 1995.

- CASTRO, E. M.; OLIVEIRA, J. A.; LIMA, A. E.; SANTOS, H. O.; BARBOSA, J. I. L. Physiological quality of soybean seeds produced under artificial rain in the pre-harvesting period. **Journal of Seed Science**, v. 38, p. 14-21, 2016.
- CHOI, Y. M.; YOON, H.; LEE, S.; KO, H. C.; SHIN, M. J.; LEE, M. C.; HUR, O. S.; O, N. Y.; DESTA, K. T. Isoflavones, anthocyanins, phenolic content, and antioxidant activities of black soybeans (*Glycine max* (L.) Merrill) as affected by seed weight. **Scientific Reports**, v. 10, e19960, 2020.
- COWLING, E. B.; KIRK, T. K. Properties of cellulose and lignocellulose materials as substrates for enzymatic conversion processes. **Biotechnology and Bioengineering Symposium**, v. 6, p. 95-123, 1976.
- FORTI, V. A.; CARVALHO, C.; TANAKA, F. A. O.; CICERO, S. M. Weathering damage in soybean seeds: assessment, seed anatomy and seed physiological potential. **Seed Science and Technology**, v. 35, n. 2, p. 213-224, 2013.
- FRANÇA-NETO, J. de B. Características fisiológicas da semente: germinação, vigor, viabilidade, danos mecânicos, tetrazólio, deterioração por umidade tetrazólio e dano por percevejo tetrazólio. In: LORINI, I. (ed.). **Qualidade de sementes e grãos comerciais de soja no Brasil - safra 2014/15**. Londrina: Embrapa Soja, 2016. p. 31-47. (Embrapa Soja. Documentos, 378).
- FRANÇA-NETO, J. de B.; HENNING, A. A. **Qualidades fisiológica e sanitária de sementes de soja**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1984. 39 p. (EMBRAPA-CNPSo. Circular Técnica, 9).
- FRANÇA-NETO, J. de B.; KRZYZANOWSKI, F. C. **Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2018. 108 p. (Embrapa Soja. Documentos, 406).
- FRANÇA-NETO, J. de B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; HENNING, A. A.; COSTA, N. P. da; WEST, S. H. Comparação da qualidade da semente de soja com tegumento preto e amarelo após exposição a condições de envelhecimento acelerado. In: EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja (Londrina, PR). **Resultados de pesquisa da Embrapa Soja 1997**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1998. p. 173-174. (EMBRAPA-CNPSo. Documentos, 118).
- FRANÇA-NETO, J. de B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; HENNING, A. A.; PÁDUA, G. P. de; 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. de B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; PÁDUA, G. P. de. Características fisiológicas da semente: vigor, viabilidade, germinação, danos mecânicos tetrazólio, deterioração por umidade tetrazólio, dano por percevejo tetrazólio e sementes verdes. In: LORINI, I. (ed.). **Qualidade de sementes e grãos comerciais de soja no Brasil - safra 2015/16**. Londrina: Embrapa Soja, 2017. p. 35-61. (Embrapa Soja. Documentos, 393).
- FRANÇA-NETO, J. de B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; PÁDUA, G. P. de; LORINI, I. Características fisiológicas da semente: vigor, viabilidade, germinação, danos mecânicos tetrazólio, deterioração por umidade tetrazólio, dano por percevejo tetrazólio e sementes verdes. In: LORINI, I. (ed.). **Qualidade de sementes e grãos comerciais de soja no Brasil - safra 2016/17**. Londrina: Embrapa Soja, 2018. p. 31-59. (Embrapa Soja. Documentos, 403).

FRANÇA-NETO, J. de B.; KRZYŻANOWSKI, F. C.; PÁDUA, G. P. de; LORINI, I. Características fisiológicas da semente: vigor, viabilidade, germinação, danos mecânicos tetrazólio, deterioração por umidade tetrazólio, dano por percevejo tetrazólio e sementes verdes. In: LORINI, I. (ed.). **Qualidade de sementes e grãos comerciais de soja no Brasil - safra 2017/2018**. Londrina: Embrapa Soja, 2019. p. 33-61. (Embrapa Soja. Documentos, 422).

FRANÇA-NETO, J. de B.; KRZYŻANOWSKI, F. C.; WEST, S. H.; HENNING, A. A.; COSTA, N. P. da. Determinação do conteúdo de lignina nos tegumentos de sementes de soja com tegumento preto e amarelo. In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 21., 1999, Dourados. **Resumos...** Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste; Londrina: Embrapa Soja, 1999. p. 235. (Embrapa Agropecuária Oeste. Documentos, 7; Embrapa Soja, Documentos, 134).

GUPTA, P. C.; MILLER, D. A.; HITTLE, C. N. Note on the effect of threshing on seed damage, seed vigor and germination in two soybean varieties. **Indian Journal of Agricultural Science**, v. 43, p. 617-618, 1973.

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

KANNENBERG, L. M.; ALLARD, R. W. An association between pigment and lignin formation in the seed coat of the lima bean. **Crop Science**, v. 4, p. 621-622, 1964.

KLOCK, U. **Lignina**: Disciplina Química da Madeira. Curitiba: UFPR/DEFT, 2014. 76 p. Disponível em: <http://www.madeira.ufpr.br/disciplinasklock/quimicadamadeira/lignina20132.pdf>. Acesso em: 11 nov. 2021.

KRZYŻANOWSKI, F. C.; FRANÇA-NETO, J. de B.; MANDARINO, J. M. G.; KASTER, M. Evaluation of lignin content of soybean seed coat stored in a controlled environment. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, p. 220-223, 2008.

KRZYŻANOWSKI, F. C.; FRANÇA-NETO, J. B.; LORINI, I. Características físicas do grão: dano mecânico não aparente, dano mecânico pelo teste de tetrazólio e grãos partidos. In: LORINI, I. (ed.). **Qualidade de sementes e grãos comerciais de soja no Brasil - safra 2017/2018**. Londrina: Embrapa Soja, 2019. p. 129-142. (Embrapa Soja. Documentos, 422).

KRZYŻANOWSKI, F. C.; FRANÇA-NETO, J. de B.; MANDARINO, J. M. G.; KASTER, M. Comparison between two gravimetric methods to determine the lignin content in soybean seed coat. **Seed Science and Technology**, v. 29, p. 619-624, 2001.

MARCHIOSI, R.; DOS SANTOS, W.D.; CONSTANTIN, R.P.; LIMA, R.B.; SOARES, A.R.; FINGER-TEIXEIRA, A.; MOTA, T.R.; OLIVEIRA, D.M.; FOLETTO-FELIPE, M.P.; ABRAHÃO, J.; FERRARESE-FILHO, O. Biosynthesis and metabolic actions of simple phenolic acids in plants. **Phytochemistry Reviews**, v. 19, p. 865-906, 2020.

McDONALD JR, M. B. Physical seed quality of soybean. **Seed Science and Technology**, v. 13, p. 601-609, 1985.

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

- MERTZ, L. M.; HENNING, F. A.; CRUZ, H. L.; MENEGHELLO, G. E.; FERRARI, C. S.; ZIMMER, P. D. Diferenças estruturais entre tegumentos de sementes de soja com permeabilidade contrastante. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 1, p. 23-29, 2009.
- MERTZ-HENNING, L. M.; NAGASHIMA, A. I.; KRZYZANOWSKI, F. C.; BINNECK, E.; HENNING, F. A. Relative quantification of gene expression levels associated with lignin biosynthesis in soybean seed coat. **Seed Science and Technology**, v. 43, p. 445-455, 2015.
- MOREIRA-VILAR, F. C.; SIQUEIRA-SOARES, R. C.; FINGER-TEIXEIRA, A.; OLIVEIRA, D. M.; FERRO, A. P.; ROCHA, G. J.; FERRARESE, M. L. L.; SANTOS, W. D.; FERRARESE-FILHO, O. The acetyl bromide method is faster, simpler and presents best recovery of lignin in different herbaceous tissues than klason and thioglycolic acid methods. **PLoS One**, v. 9, e110000, 2014.
- PANOBIANCO, M.; VIEIRA, R. D.; KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA-NETO, J. de B. Electrical conductivity of soybean seed and correlation with seed coat lignin content. **Seed Science and Technology**, v. 27, p. 945-949, 1999.
- PEREIRA, L. A. G.; ANDREWS, C. H. Comparison of non-wrinkled and wrinkled soybean seedcoats by scanning electron microscopy. **Seed Science and Technology**, v. 13, n. 3, p. 853-860, 1985.
- PESKE, S. T.; PEREIRA, L. A. G. Tegumento da semente de soja. **Tecnologia de Sementes**, v. 6, p. 23-34, 1983.
- POLLE, A.; OTTER, T.; SEIFERT, F. Apoplastic peroxidases and lignification in needles of Norway spruce (*Picea abies* L.). **Plant Physiology**, v. 106, p. 53-60, 1994.
- RALPH, L. K.; BRUNOV, G.; LU, F.; KIM, H.; SCHATZ, P. F.; MARITA, J. M.; HATFIELD, R. D.; RALPH, S. A.; CHRISTENSEN, J. H. Lignins: natural polymers from oxidative coupling of 4-hydroxyphenylpropanoids. **Phytochemistry Review**, v. 3, p. 29-60, 2004.
- RIJO, L.; VASCONCELOS, I. Formação de calose e de lignina em combinações incompatíveis *Coffea sp. - H. vastatrix*. In: SIMPÓSIO SOBRE FERRUGEM DO CAFEIEIRO, 1983, Oeiras, Portugal. **Comunicações...** Oeiras: CIFC, 1983. p. 269-281.
- SANTOS, E. L.; POLA, J. N.; BARROS, A. S. R.; PRETE, C. E. C. Qualidade fisiológica e composição química das sementes de soja com variação na cor do tegumento. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, p. 20-26, 2007.
- TAVARES, D. M.; MIRANDA, M. A. C.; UMINO, C. Y.; DIAS, G. M. Características estruturais do tegumento de sementes de linhagens de soja permeável e impermeável. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 10, p. 147-153, 1987.
- VAN SOEST, P. J.; WINE, R. H. The determination of lignin and cellulose in acid-detergent fibre with permanganate. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 51, p. 780-785, 1968.
- VANHOLME, R.; DEMEDTS, B.; MORREEL, K.; RALPH, J.; BOERJAN, W. Lignin biosynthesis and structure. **Plant Physiology**, v. 153, p. 895-905, 2010.
- VIDAURE, J. C. **Otimização do processo de pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar com peróxido de hidrogênio alcalino e sua hidrólise por enzima celulolíticas**. 1991. 130 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

ZABALA, G.; VODKIN, L. O. Methylation affects transposition and splicing of a large CACTA transposon from a MYB transcription factor regulating anthocyanin synthase genes in soybean seed coats. **PLoS One**, v. 9, e111959, 2014.

Exemplares desta edição
podem ser adquiridos na:

Embrapa Soja

Rodovia Carlos João Strass, s/nº Acesso
Orlando Amaral, Distrito de Warta
Caixa Postal: 4006
CEP: 86085-981
Londrina, PR
(43) 3371-6000
www.embrapa.br/soja
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

1ª edição

PDF digitalizado (2022)

Embrapa

MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



Comitê Local de Publicações
da Embrapa Soja

Presidente

Alvadi Antonio Balbinot Junior

Secretária-Executiva

Regina Maria Villas Bôas de Campos Leite

Membros

Claudine Dinali Santos Seixas, Edson Hirose,

Ivani de Oliveira Negrão Lopes, José de Barros

França Neto, Liliane Márcia Mertz-Henning, Marco

Antonio Nogueira, Mônica Juliani Zavaglia Pereira

e Norman Neumaier

Supervisão editorial

Vanessa Fuzinato Dall'Agnol

Normalização bibliográfica

Valéria de Fátima Cardoso

Projeto gráfico da coleção

Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica

Vanessa Fuzinato Dall'Agnol

Foto da capa

Antonio Neto