

MÉTODO DA PEROXIDASE PARA IDENTIFICAÇÃO DE CULTIVARES DE SOJA¹

NILTON P. DA COSTA, LUIZ A.G. PEREIRA, JOSÉ DE B. FRANÇA NETO²

RESUMO. Com a finalidade de apresentar uma técnica alternativa de identificação varietal, a ação da enzima peroxidase no tegumento da semente de soja foi determinada em 47 cultivares plantadas atualmente no Brasil. As cultivares foram separadas em dois grupos: com alta atividade, designada como reação positiva, e baixa atividade, caracterizada como reação negativa. Das 47 cultivares observadas, 33 apresentaram reações positivas, e 13, negativas. Uma delas apresentou reações tanto positivas quanto negativas, sendo isso devido, provavelmente, à mistura varietal.

Termos para indexação: soja, semente, peroxidase, identificação de cultivares.

ABSTRACT. PEROXIDASE ACTIVITY AS AND AID FOR THE IDENTIFICATION OF SOYBEAN CULTIVARS.

With the purpose of showing an alternative technique in differentiating soybean cultivars, the seed coat peroxidase activity was measure in 47 cultivars, actually in use in Brazil. The cultivars were grouped into two classes: High peroxidase activity, also called as positive reaction, and low activity, characterized as negative reaction. From the 47 studied cultivars, 33 evidenced positive reaction, 13 negative, and one of them manifested both positive and negative reactions, probable due to varietal mixture.

Index terms: soybean, seed, peroxidase, cultivar, identification.

INTRODUÇÃO

Muitas cultivares de soja são de difícil identificação, devido ao grande número de características em comum. Isto é uma consequência do desenvolvimento de cultivares provenientes de uma estreita base genética. Tal identificação torna-se

¹ Trabalho apresentado no I Congresso Brasileiro de Sementes, Curitiba, PR., 21/11 a 02/12/79.

² Eng.^{os} Agr.^{os}, M. Sc. do - Centro Nacional de Pesquisa de Soja. EMBRAPA, Caixa Postal, 1061 - 86.100 - Londrina, PR.

ainda mais complexa para o analista de sementes, quando este se defronta com pequenas variações de coloração e formato do hilo e de tonalidade e brilho do tegumento. Essas características tornam-se, então, insuficientes para a identificação segura de cultivares. É, portanto, necessária a adoção de métodos complementares que facilitem tal reconhecimento.

A enzima peroxidase ocorre na maioria dos tecidos vivos. É amplamente distribuída no reino vegetal, estando relacionada com regulação do nível do ácido indolacético (Siegel & Galston, 10), mecanismos de resistência a doenças (Lovrekovich et al. (7) e Tomiyama & Stahama (11), regulação da permeabilidade das membranas (De Jong, 3), formação da parede celular (De Jong, 4) e dormência das sementes, quando envolvida no controle da entrada de oxigênio pelo tegumento (Major & Roberts, 8).

Buttery & Buzzell (1), foram os autores da primeira tentativa de identificação de cultivares de soja, utilizando dois métodos baseados na atividade da enzima peroxidase. O primeiro baseou-se na utilização da eletroforese e o segundo foi um teste rápido, utilizado e descrito no presente trabalho. Eles observaram que as cultivares de soja poderiam ser separadas em dois grupos com base na atividade, alta ou baixa, da peroxidase no tegumento. Buzzell & Buttery (2), após a realização de análise genética, relataram que tal atividade é controlada por um gene maior dominante. Alta atividade da presença de, pelo menos, um alelo dominante (EpEp ou Epep), enquanto que baixa atividade resulta da presença do para recessivo (epep).

Larsen & Benson (6), com base em testes de eletroforese, indicaram que a atividade da peroxidase no tegumento da soja decrescia com o aumento do período de armazenamento da semente. Entretanto, Payne (9) relatou que a atividade da peroxidase, quando determinada pelo método rápido, não é afetada pela qualidade da semente ou pelas condições de armazenagem.

Dunleavy & Ramarage URS (5), caracterizaram cultivares de soja pela ação da peroxidase em tecidos de raízes e de folhas em diversas épocas de desenvolvimento. Nesse trabalho, três níveis foram utilizados: alto, médio e baixo.

O objetivo do presente trabalho foi o de tentar caracterizar, através da peroxidase nos tegumentos, 47 cultivares atualmente em uso no Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

O procedimento utilizado foi o mesmo preconizado por Buttery & Buzzell (1). Para cada cultivar, utilizaram-se oito repetições de uma semente cada. Retirou-se o tegumento de cada semente, tomando-se o cuidado de não deixar nenhum fragmento do eixo embrionário, ou dos cotilédones, adeiro ao mesmo, o qual foi colocado num tubo de ensaio juntamente com dez gotas de uma solução 0,5% de gua-

iacol. Após dez minutos , adicionou-se uma gota de água oxigenada a 40 volumes; a formação ou não de coloração foi observada após 30 a 40 segundos, sendo mais evidente após alguns minutos. As cultivares com alta atividade da peroxidase no tegumento produziram uma cor marron avermelhada intensa, designada como reação positiva, enquanto, após o mesmo período, as cultivares dotadas de baixa atividade não mostraram alteração quanto a coloração, caracterizando a reação negativa.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da presente pesquisa estão contidos na Tabela 1, sendo complementados com as características relativas às colorações de flor, pubescência e hilo.

Das 47 cultivares estudadas, 33 apresentaram reação positiva e 13 revelaram reação negativa; no entanto, a cultivar 'Ivai' foi a única que consistentemente manifestou as duas reações , a positiva e a negativa. A causa desta reação atípica está, relacionada com a presença de mistura varietal ou com alguma segregação. Dados semelhantes a estes foram relatados por Payne (9), o qual, estudando a ação da enzima peroxidase no tegumento de 55 cultivares de soja utilizadas no Estado de Maryland, Estados Unidos, observou que uma das cultivares demonstrou reações positiva e negativa , o que foi também atribuído à mistura varietal.

CONCLUSÕES

Pelos resultados obtidos, pode-se concluir :

1. O método da peroxidase pode ser utilizado na diferenciação de algumas cultivares de soja utilizadas no Brasil.
2. Por se tratar de uma metodologia simples, qualquer laboratorista prático pode utilizá-lo na caracterização das cultivares.

TABELA 1. Caracterização de 47 cultivares de soja através da colocação da flor, do hilo e da pubescência, e da atividade da peroxidase no tegumento.

Cultivar	Atividade da Peroxidase	Cor da Flor	Cor da Pubescência	Cor do Hilo
Andrews	+	branca	marrom	marrom
Bienville	+	púrpura	marrom	marrom
Bossier	-	púrpura	marrom	preto
BR-1	+	branca	marrom	marrom
BR-2	-	púrpura	cinza	marrom claro
BR-3	-	púrpura	cinza	marrom claro

BR-4	-	púrpura	cinza	marrom claro
Bragg	-	branca	marrom	preto
Campos Gerais	-	púrpura	cinza	preto imperfeito
Cobb	+	branca	cinza	marrom claro
Coker 136	-	púrpura	marrom	marrom claro
Cristalina	+	púrpura	cinza	marrom claro e preto imperfeito
Davis	+	branca	cinza	marrom claro
Flórida	+	branca	cinza	marrom claro
Hampton	-	púrpura	cinza	preto imperfeito e marrom claro
Hardee	+	branca	cinza	marrom claro
IAC-2	+	branca	cinza	marrom claro
IAC-3	-	púrpura	marrom	preto
IAC-4	+	branca	cinza	marrom claro
IAC-5	+	púrpura	marrom	preto
IAC-6	+	púrpura	marrom	marrom
IAC-7	-	púrpura	cinza	marrom claro
IAS-1	+	púrpura	marrom	preto
IAS-2	-	branca	marrom	marrom
IAS-3 (Delta)	+	púrpura	marrom	marrom
IAS-4	+	branca	cinza	marrom claro
IAS-5	+	branca	cinza	marrom claro
Industrial	+	branca	marrom	marrom
Ivaí	± _a	púrpura	cinza	marrom
Lancer	+	púrpura	cinza	preto imperfeito
Mineira	+	púrpura	cinza	marrom claro
Missões	+	branca	cinza	marrom claro
Pampeira	+	branca	cinza	marrom claro
Paraná	+	branca	cinza	marrom claro
Pérola	+	púrpura	cinza	marrom claro
Planalto	+	púrpura	cinza	marrom claro
Prata	+	branca	marrom	marrom claro
Santa Rosa	+	branca	marrom	marrom
Sant'Ana	-	branca	marrom	preto
São Luiz	+	branca	cinza	marrom claro
Sulina	-	púrpura	cinza	preto imperfeito
UFV-1	+	púrpura	marrom	marrom
UFV-2	+	branca	cinza	marrom claro
UFV-3	+	púrpura	cinza	marrom claro
União	+	púrpura	marrom	marrom
Viçosa	+	púrpura	marrom	marrom
Vila Rica	+	branca	cinza	marrom claro

a. ambas reações + e -.

REFERÊNCIAS

1. BUTTERY, B.R. & BUZZELL, R. I. Peroxidase activity in seeds of soybean varieties. *Crop Sci.*, 8 (6):722-5, 1968.
2. BUZZELL, R.I. & BUTTERY, B.R. Inheritance of peroxidase activity in soybean seed coats. *Crop Sci.*, 9(3): 387-8, 1969.
3. DE JONG, D.W. Speculation on the mechanisms of ion transport in roots, based upon indirect evidence from histochemical studies. *Bot. Gaz.* 127:17-26, 1966.
4. _____ An investigation of the role of plant peroxidase in cell wall development by the histochemical method. *J. Histochem. Cytochem.* 15:336-46, 1967.
5. DUNELAVY, J.M. & RAMARAGE URS, N.V. Peroxidase activity in roots and leaves of soybeans. *Crop Sci.*, 18(1): 104-8, 1978.
6. LARSEN, A.L. & BENSON, W.C. Variety specific variants of oxidative enzymes from soybeans seed. *Crop Sci.*, 10:493-5, 1970.
7. LOVREKOVICH, L; LOVREKOVICH, H. & STAHAMANN, M.A. The importance of peroxidase in the Wildfire disease. *Phytopath.* 58:193-8, 1968.
8. MAJOR, W. & ROBERTS, E.H. Dormancy in cereal seeds. II. The nature of the gaseous exchange in imbibed barley and rice seeds. *J. Exp. Bot.* 19:90-101, 1967.
9. PAYNE, R.C. Seed coat peroxidase activity as an aid in differentiating soybean cultivars. *The Newsletter of the Assoc. of Off. Seed Anal.* 50(1): 45-5, 1976.
10. SIEGEL, S.M. & GALSTON, A. W. Peroxidase genesis in plant tissues and its relation to idolacetic acid destruction. *Arch. Biochem. Biophys.* 54:102-3, 1955.
11. TOMIYAMA, K. & STAHAMAN, M.A. Alteration of oxidative enzyme in potato tuber tissue by infection with *Phytophthora infestans*. *Plant Physiol.* 39:483-90, 1964.