

PATRÍCIA MARINI MADRUGA

Atividade respiratória e bioquímica de sementes de arroz
submetidas a diferentes temperaturas

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (área do conhecimento: Fisiologia Vegetal).

Orientador: Dario Munt de Moraes

Co-Orientador (es): Luciano do Amarante
Nei Fernandes Lopes

Pelotas, 2010

Dados de catalogação na fonte:
Ubirajara Buddin Cruz – CRB 10/901
Biblioteca de Ciência & Tecnologia - UFPel

M183a Madruga, Patrícia Marini
 Atividade respiratória e bioquímica de sementes de arroz submetidas a diferentes temperaturas / Patrícia Marini Madruga ; orientador Dario Munt de Moraes ; co-orientador Luciano do Amarante e Nei Fernandes Lopes. – Pelotas, 2010. – 49f. ; tab. – Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal. Instituto de Biologia. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2010.

1.Fisiologia vegetal. 2.Sementes. 3.Arroz. 4.Respiração.
5.Qualidade fisiológica. 6.Enzimas. I.Moraes, Dario Munt de.
II.Amarante, Luciano do. III.Lopes, Nei Fernandes. IV.Título.

CDD: 633.18

Banca examinadora:

Dr. Dario Munt de Moraes (UFPel).....

Dr. Sidnei Deuner (UFPel).....

Dr^a. Claudete Miranda Abreu (FURG).....

Dr. Daniel Fernandez Franco (EMBRAPA).....

Aos meus pais Germano Luiz Marini e Vanda Maria Marini.

A minha irmã Naciele Marini

Ao meu afilhado João Pedro

Ao meu esposo Eduardo de Avila Madruga.

Dedico

Agradecimentos

À Deus por mais esta conquista!

À Universidade Federal de Pelotas pela oportunidade de participar do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Ensino Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Professor Dr. Dario Munt de Moraes pela orientação, amizade e apoio na condução e elaboração deste trabalho.

Ao Professor Dr. Luciano do Amarante pela co-orientação, por todos os conhecimentos transmitidos ao longo deste trabalho, amizade e palavras de apoio.

Ao professor Nei Fernandes Lopes pela co-orientação e amizade.

À Prof^a. Dr^a. Claudete Miranda Abreu, pela amizade e apoio dedicados.

A minha avó Irene Szezecinski, pelo estímulo, reconhecimento e fé transmitidos.

A minha “tia-sogra”, Carmem Lúcia de Avila Madruga, pelo apoio, paciência e amizade de sempre.

Às minhas grandes amigas, Caroline Leivas Moraes e Cristina Ferreira Larré, companheiras do dia a dia, que sempre estiveram prontas para ajudar e, principalmente, me escutar com toda paciência, vocês são muito especiais!

Às colegas e amigas, Milene Conceição Lima, Maria da Graça de Souza Lima, Cristina Rodrigues Mendes e Rita de Cássia Pinheiro de Moraes pela saudosa convivência.

A todos os funcionários do Departamento de Botânica: Luiza, Rudinei, Suzi, Sandra, Ari, Serginho e Honório pela agradável convivência.

E a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para que este trabalho fosse concluído da melhor maneira possível.

Resumo

MADRUGA, Patrícia Marini. **Atividade respiratória e bioquímica de sementes de arroz submetidas a diferentes temperaturas**. 2010. 49f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas - RS.

A respiração e a atividade enzimática são fundamentais para o desenvolvimento normal do processo de germinação e preparo para o crescimento subsequente do embrião. Sabendo que estes eventos são influenciados principalmente pela temperatura, e que esta pode interferir na viabilidade da semente, o objetivo desta pesquisa foi determinar a atividade respiratória de sementes e atividade enzimática de plântulas de arroz cultivar BRS 7 Taim cujas sementes foram previamente submetidas a diferentes temperaturas (15; 25; 30 e 35°C) durante 24h, bem como, relacionar estas variáveis com a qualidade fisiológica das sementes. A taxa respiratória e a atividade enzimática das enzimas glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) e malato desidrogenase (MDH) foram determinadas nas sementes e plântulas, respectivamente. Além de testes considerados eficientes para identificar o potencial de desempenho das sementes como germinação (G), primeira contagem da germinação (PCG), índice de velocidade de germinação (IVG), condutividade elétrica (CE), comprimento de parte aérea (CPA) e raiz (CR), assim como massa seca de parte aérea (MSPA) e raiz (MSR). A qualidade fisiológica das sementes e plântulas foi influenciada pela temperatura. A taxa respiratória das sementes e a atividade das enzimas glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) e malato desidrogenase (MDH) nas plântulas de arroz, oriundas de sementes previamente expostas a diferentes temperaturas foi mais alta em 35°C, porém, isto não significa melhor eficiência destes processos, visto que a baixa qualidade fisiológica das sementes de arroz foi detectada nos testes de referência (G, PCG, IVG, CPA, CR, MSPA, MSR e CE) das sementes que foram expostas a 35°C, afetando o crescimento inicial das plântulas e a capacidade destas em acumular biomassa seca. Portanto, conclui-se que as sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim tiveram sua maior qualidade fisiológica na temperatura de 25°C e em 15; 30 e 35°C apresentaram menor qualidade de sementes. Em relação a atividade respiratória e enzimática, as sementes mostraram relação com a viabilidade e o vigor das sementes.

Palavras-chave: Semente. Respiração. Qualidade fisiológica. Enzimas.

Abstract

MADRUGA, Patrícia Marini. **Respiratory and biochemistry activities of Rice seeds under different temperatures**. 2010. 49f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas -RS.

Respiration and enzymatic activity are essential for normal development of the germination process and preparation for the subsequent growth of the embryo. Knowing that these events are mainly influenced by temperature, and this can interfere with seed viability, the goal of this research was to determine the respiratory rates of seeds and enzymes activities of rice seedlings BRS 7 Taim, whose seeds were previously subjected to different temperatures (15; 25; 30 and 35°C) for 24h, and to relate these variables with the seed quality. The respiratory rates and activities glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) and malate dehydrogenase (MDH) were determined in seeds and seedlings, respectively, and testing efficient in identifying the potential performance of the seeds as germination (G), first count germination (FCG), germination speed index (GSI), electrical conductivity (EC), length of shoot (SLA) and roots (RL) and dry weight of shoot (SDW) and root (RDW). The physiological quality of seeds and seedlings was influenced by different temperatures. The respiratory rates of seeds and the activity of the enzymes glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) and malate dehydrogenase (MDH) in the rice seedlings, grown from seeds previously exposed to several temperatures was highest at 35°C, but this did not mean better efficiency of these processes, whereas the low physiological quality of rice seeds was detected in tests of reference (G, FCG, GSI, SL, RL, SDW, RDW and EC) of the seeds that were exposed to 35°C, affecting the initial growth of seedlings and the capacity these accumulate in biomass. Therefore, it is concluded that seeds of rice BRS 7 Taim had their higher physiological quality in a temperature of 25°C and at 15; 30 and 35°C had lower quality seeds. In relation to respiratory activities and the enzyme showed relations hip with seed viability and vigor.

Keywords: Seed. Respiration. Physiological quality. Enzymes.

Lista de Figuras

- Figura 1 Germinação (A), primeira contagem de germinação (B) e índice de velocidade de germinação (C) de sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim submetidas a diferentes temperaturas (15; 25; 30 e 35°C) durante 24h. Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Botânica/UFPel, Pelotas, RS, 2009..... 26
- Figura 2 Comprimento de parte aérea (A) e massa seca de parte aérea (B), comprimento de raiz (C) e massa seca de raiz (D) de plântulas de arroz cultivar BRS 7 Taim em função das temperaturas (15; 25; 30 e 35°C) durante 24h. Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Botânica/UFPel, Pelotas, RS, 2009..... 29
- Figura 3 Condutividade elétrica ($\mu\text{Sm}^{-1}\text{g}^{-1}$) em sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim, submetidas a diferentes temperaturas (15; 25; 30 e 35°C) durante 24h, nos períodos de 3h (A) e 24h (B) de embebição. Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Botânica/UFPel, Pelotas, RS, 2009..... 32
- Figura 4 Taxa respiratória de sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim submetidas a diferentes temperaturas (15; 25; 30 e 35°C) durante 24h. Laboratório de análise de Sementes do Departamento de Botânica/UFPel, Pelotas, RS, 2009..... 34
- Figura 5 Atividade da enzima malato desidrogenase (MDH) em plântulas de arroz cultivar BRS 7 Taim aos cinco dias (—) e 14 dias (---) após a semeadura (DAS) de sementes previamente submetidas às temperaturas de 15; 25; 30 e 35°C durante 24h. Laboratório de Bioquímica Vegetal do Departamento de Bioquímica/ Instituto de Química e Geociências/UFPel, Pelotas, RS, 2009..... 37

- Figura 6 Atividade da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) em plântulas de arroz cultivar BRS 7 Taim cinco dias (—) e 14 dias (---) após a semeadura (DAS) de sementes previamente submetidas a diferentes temperaturas (15; 25; 30 e 35°C) durante 24h. Laboratório de Bioquímica Vegetal do Departamento de Bioquímica/Instituto de Química e Geociências/UFPel, Pelotas, RS, 2009..... 40

Lista de Tabelas

Tabela 1	Análise de variância para o caráter germinação (G); primeira contagem de germinação (PCG) e índice de velocidade de germinação (IVG) em sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim submetidas a diferentes condições de temperatura (15; 25; 30 e 35°C) durante 24h. Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Botânica/UFPel, Pelotas, RS, 2009.....	22
Tabela 2	Valores médios para o caráter germinação (G); primeira contagem de germinação (PCG) e índice de velocidade de germinação (IVG) em sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim submetidas a diferentes condições de temperatura (15; 25; 30 e 35°C) durante 24h. Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Botânica/UFPel, Pelotas, RS, 2009.....	23
Tabela 3	Análise de variância para os caracteres comprimento de parte aérea e das raízes (CPA e CR); massa seca de parte aérea e raízes (MSPA e MSR); em sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim submetidas a diferentes temperaturas (15; 25; 30 e 35°C) durante 24h. Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Botânica/UFPel, Pelotas, RS, 2009.....	27
Tabela 4	Valores médios do comprimento de parte aérea e de raízes (CPA e CR) e da massa seca de parte aérea e de raízes (MSPA e MSR) em sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim submetidas a diferentes temperaturas (15; 25; 30 e 35°C) durante 24h. Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Botânica/UFPel, Pelotas, RS, 2009.....	28
Tabela 5	Análise de variância para o caráter condutividade elétrica (CE) em sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim submetidas a diferentes temperaturas (15; 25; 30 e 35°C) durante 24h. Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Botânica/UFPel, Pelotas, RS, 2009.....	30

Tabela 6	Análise de médias para o caráter condutividade elétrica (CE) em sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim submetidas a diferentes temperaturas (15; 25; 30 e 35°C) durante 24h. Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Botânica/UFPel, Pelotas, RS, 2009.....	31
Tabela 7	Análise de variância da taxa de respiração em sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim submetidas a diferentes temperaturas (15; 25; 30 e 35°C) durante 24h. Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Botânica/UFPel, Pelotas, RS, 2009.....	33
Tabela 8	Taxas de respiração em sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim submetidas a diferentes temperaturas (15; 25; 30 e 35°C) durante 24h. Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Botânica/UFPel, Pelotas, RS, 2009.....	33
Tabela 9	Análise de variância para a atividade das enzimas malato desidrogenase (MDH) e glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) em plântulas de arroz cultivar BRS 7 Taim oriundas de sementes submetidas a diferentes temperaturas (15; 25; 30 e 35°C) durante 24h. Laboratório de Bioquímica Vegetal do Departamento de Bioquímica/Instituto de Química e Geociências/UFPel, Pelotas, RS, 2009.....	35
Tabela 10	Análise de médias para a atividade da enzima malato desidrogenase (MDH) em plântulas de arroz cultivar BRS 7 Taim oriundas de sementes submetidas a diferentes temperaturas (15; 25; 30 e 35°C) durante 24h. Laboratório de Bioquímica Vegetal do Departamento de Bioquímica/Instituto de Química e Geociências/UFPel, Pelotas, RS, 2009.....	36
Tabela 11	Atividade média da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) em plântulas de arroz cultivar BRS 7 Taim oriundas de sementes submetidas a diferentes condições de temperatura (15; 25; 30 e 35°C) durante 24h. Laboratório de Bioquímica Vegetal do Departamento de Química e Geociências/UFPel, Pelotas, RS, 2009.....	39

Sumário

Resumo.....	5
Abstract.....	6
Lista de Figuras.....	7
Lista de Tabelas.....	9
Sumário.....	11
1 Introdução.....	12
2 Material e métodos.....	16
2.1- Experimento 1: Qualidade fisiológica de sementes de arroz submetidas a diferentes condições de temperatura.....	16
2.2- Experimento 2: Atividade respiratória de sementes de arroz submetidas a diferentes condições de temperatura.....	18
2.3- Experimento 3: Atividade de enzimas respiratórias em plântulas provenientes de sementes previamente submetidas a diferentes condições de temperatura.....	20
2.4- Delineamento experimental.....	21
3 Resultados e Discussão.....	22
4 Conclusões.....	42
5 Referências.....	43

1 INTRODUÇÃO

A germinação da semente é considerada como a retomada das atividades metabólicas do eixo embrionário, o qual se encontrava em repouso nas fases finais do processo de maturação, porém, quando estimulado por condições do ambiente, desenvolve-se, ocorrendo então o rompimento do tegumento pela radícula. Essa é uma fase crítica do biociclo vegetal pelo fato do processo estar associado a vários fatores de natureza extrínseca (fatores do ambiente físico) e intrínseca, ou seja, a processos fisiometabólicos (POPINIGIS, 1977; BEWLEY; BLACK, 1994; SANTOS, 1999; MARCOS FILHO, 2005).

O processo de germinação compreende uma seqüência de reações bioquímicas onde as substâncias de reserva são desdobradas, transportadas e resintetizadas no eixo embrionário. Após a hidratação das sementes ocorre um incremento no metabolismo, observado pelo aumento da taxa respiratória e ativação de enzimas respiratórias e hidrolíticas (HÖFS et al., 2004).

A temperatura influencia o metabolismo das sementes, alterando processos bioquímicos ou fisiológicos, existindo temperaturas limitantes e ótimas para a germinação. A temperatura é responsável não somente pela velocidade de germinação como também pelo percentual final de germinação (CARVALHO et al., 2001; FERRAZ-GRANDE; TAKAKI, 2001; MEDEIROS-SILVA et al., 2002; SOCOLOWSKI ; TAKAKI, 2004).

Cada espécie possui um espectro de temperaturas em que a germinação irá ocorrer, embora à faixa de 20°C a 30°C mostre-se adequada para a germinação de grande número de espécies subtropicais e tropicais (BORGES; RENA, 1993). A temperatura ótima proporciona a máxima porcentagem de germinação no menor espaço de tempo (BEWLEY; BLACK, 1994). Sob temperatura baixa, a embebição

pode ocorrer, mas poderá não ser seguida pelo crescimento do embrião, ou promover ainda danos ao embrião ou as plântulas, também poderão impedir a conclusão do processo. Similarmente, altas temperaturas podem permitir a embebição, mas não permitem o crescimento do embrião e o estabelecimento da plântula (BRADBEER, 1988). Estas diferenças de comportamento na germinação, em relação à temperatura, estão em função da qualidade fisiológica da semente, ou seja, seu grau de maturidade fisiológica na colheita ou do progresso da deterioração.

A qualidade da semente compreende uma série de características e atributos que determinam o seu valor para semeadura, dentre as características mais relevantes, são consideradas as de natureza genética, física, fisiológica e sanitária que influenciam na capacidade da semente em originar plantas vigorosas e representativas da cultivar (MAIA et al., 2007).

O vigor das sementes é o reflexo do conjunto de características que determinam o seu potencial fisiológico, ou seja, a capacidade de apresentar desempenho adequado quando expostas as condições diferentes de ambiente (MARCOS FILHO, 1994). A perda do vigor das sementes esta relacionada com os eventos iniciais da seqüência de deterioração, a qual proporciona alterações fisiológicas, bioquímicas, físicas e citológicas, culminando com a morte da semente (MARCOS FILHO, 2005).

A temperatura e a umidade são as principais causas da deterioração da semente. Como a semente apresenta respostas fisiológicas e bioquímicas variáveis em temperaturas diferentes, é recomendável determinar a influência desta na qualidade fisiológica de cada espécie de interesse (NASCIMENTO, 2000).

Desta forma, torna-se relevante o uso de testes rápidos que possibilitem a detecção dos estágios iniciais da deterioração, relacionados ao sistema de membranas, atividade enzimática e redução dos mecanismos energéticos (LAMARCA, 2009).

Dentre os vários métodos utilizados para a avaliação da deterioração, uma das alternativas é submeter às sementes à medição de sua atividade respiratória e enzimática em condições de diferentes temperaturas.

A atividade respiratória é a principal produtora de energia para a continuidade do metabolismo. A respiração celular é dividida em três etapas: glicólise, ciclo de Krebs e cadeia de transporte de elétrons (FLOSS, 2006). O processo de respiração consiste na oxidação de substâncias orgânicas num sistema celular com a liberação

gradativa de energia, por meio de uma série de reações, tendo oxigênio molecular como aceptor final de elétrons. A respiração é a primeira atividade metabólica, acompanhando a re-hidratação da semente, que de valores ínfimos, sobe a níveis bastante elevados, poucas horas após o início da embebição (POPINIGIS, 1977; FERREIRA ; BORGUETTI, 2004; MARENCO ; LOPES, 2005, MENDES, 2008).

Diante disso, é possível inferir que a temperatura, pode influenciar na viabilidade e no vigor da semente interferindo, por exemplo, na sua atividade respiratória e enzimática. Sementes de soja colhidas antes da maturação fisiológica possuem menor atividade respiratória na fase inicial do processo de germinação, tendo menor potencial de vigor, neste caso há relação entre vigor e atividade respiratória de sementes (MILES, 1986). Portanto, dentre as diferentes formas de verificação da qualidade fisiológica em sementes, o processo de respiração tem merecido especial atenção, pela alta relação entre este fenômeno e a qualidade da semente (MENDES, 2008).

Diferentes temperaturas conduzem a mudanças na atividade enzimática, alterando a taxa respiratória e indicando também transformações degenerativas nas sementes. Como exemplo, em sementes de soja, a alta atividade da enzima álcool desidrogenase verificada por Bock (1999), indica aumento na respiração anaeróbica em função do acréscimo no grau de hidratação das sementes. As alterações na fisiologia das sementes estão indiretamente relacionadas com a integridade das membranas celulares, as quais dependem da natureza das enzimas e proteínas estruturais de cada espécie, no entanto, essas variações em nível de membranas nem sempre podem ser avaliadas por testes de germinação e vigor (VIEIRA, 1996). Logo, uma alternativa bastante enriquecedora seria também avaliar a resposta ao estresse por temperatura nas sementes, por meio da expressão da atividade de certas enzimas associadas à hidrólise de reservas, como a degradação de amido e síntese de açúcares no endosperma ou à biossíntese de tecidos novos, processos essenciais para a germinação (DEVI et al., 2007). Diversos trabalhos foram desenvolvidos no sentido de avaliar as mudanças nas atividades de enzimas que ocorrem nas sementes e plântulas estressadas. Normalmente, nesses trabalhos são utilizadas enzimas importantes no processo de respiração celular, como por exemplo, a malato desidrogenase (COUTINHO et al., 2007).

Dentre as alterações enzimáticas mais freqüentes durante o processo de deterioração, destacam-se mudanças na atividade de enzimas respiratórias, o que

acarreta problemas à respiração e atividades gerais de síntese, provocando, conseqüentemente, problemas na germinação e no vigor da semente. Diante do exposto acima, é interessante verificar a influência de diferentes temperaturas na atividade de algumas enzimas respiratórias como a glicose-6-fosfato desidrogenase, que atua na rota alternativa das pentoses monofosfatadas, sendo responsável pela manutenção de um nível adequado de NADPH nas células (LIN et al., 2005), e a enzima malato desidrogenase, que catalisa a conversão de malato à oxaloacetato, tendo importante função dentro do ciclo de Krebs, além de participar do movimento de malato através da membrana mitocondrial em outros compartimentos celulares (SPINOLA et al., 2000).

Portanto, a finalidade desta pesquisa foi determinar possíveis alterações na atividade respiratória e enzimática de sementes e plântulas de arroz da cultivar BRS 7 Taim submetidas a diferentes temperaturas, bem como, relacionar estas variáveis com a qualidade fisiológica da semente.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório Didático e de Pesquisa em Sementes do Departamento de Botânica e no Laboratório de Bioquímica Vegetal do Departamento de Bioquímica da Universidade Federal de Pelotas (UFPel). Foram utilizadas sementes de arroz irrigado (*Oryza sativa*) da cultivar BRS 7 Taim, da safra de 2008, obtidas no centro de pesquisa Agropecuária de Clima Temperado -CPACT - EMBRAPA. A atividade respiratória, enzimática e a viabilidade e o vigor das sementes e plântulas de arroz foram determinadas submetendo as sementes às temperaturas de 15; 25; 30 e 35°C durante 24h.

2.1- EXPERIMENTO 1: Qualidade fisiológica de sementes de arroz submetidas a diferentes condições de temperatura

Os testes de qualidade fisiológica (viabilidade e vigor de sementes), foram realizados após a obtenção das diferentes temperaturas da massa de sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim: 15; 25; 30 e 35°C. As sementes foram armazenadas na temperatura de estudo por um período de 24h e, em seguida, foram submetidas aos seguintes testes:

2. 1.1- Teste de germinação

Este teste foi conduzido com 200 sementes (quatro subamostras de 50 sementes) para cada repetição, totalizando quatro repetições. Como substrato foi utilizado rolos de papel especial para germinação. Os substratos foram previamente umedecidos com água destilada na proporção de 2,5 vezes a sua massa inicial e

mantidos em germinador a 25°C, conforme as Regras de Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem de germinação, evidenciando o número de plântulas classificadas como normais.

2.1.2 - Primeira contagem de germinação

Este teste foi conduzido juntamente com o teste de germinação, sendo a primeira contagem para o arroz aos cinco dias após a semeadura. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais;

2.1.3 - Índice de velocidade de germinação

Este teste foi realizado conjuntamente com o teste de germinação (BRASIL, 2009). Contagens diárias foram realizadas a partir da protrusão da radícula pelo tegumento da semente, até que o número de plântulas emersas permanecesse constante e o resultado foi obtido pela média dos índices das repetições.

O último dia de contagem para este teste foi o mesmo prescrito pelas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), para o teste de germinação. O cálculo da velocidade de germinação (IVG) foi efetuado de acordo com Maguire (1962) utilizando a seguinte fórmula: $IVG = G1/N1 + G2/N2 + \dots + Gi/Ti$, onde, G1, G2, Gi referem-se ao número de plântulas germinadas ocorrida a cada dia, sendo, T1, T2, Ti o tempo em dias de semeadura da primeira, segunda e última contagem.

2.1.4- Comprimento da parte aérea e das raízes das plântulas

Os dados relativos ao comprimento da parte aérea e das raízes foram obtidos pela média de 40 plântulas por repetição ao final do teste de germinação. A medição do comprimento foi obtida com auxílio de uma régua graduada e os resultados expressos em mm plântula⁻¹.

2.1.5 - Massa seca de parte aérea e das raízes das plântulas

Ao final do teste de germinação foi realizada a determinação da massa seca das plântulas, a qual foi obtida gravimetricamente em estufa a $70 \pm 1^\circ\text{C}$ até obter massa constante e os resultados expressos em mg plântula⁻¹.

2.1.6 - Condutividade elétrica

Para este teste foram utilizadas quatro subamostras de 25 sementes por repetição, sendo quatro repetições por tratamento, ou seja, para cada temperatura testada. Primeiramente, foi determinada a massa das sementes secas, as quais foram colocadas em copos de béquer com 80mL de água deionizada e mantidas em germinador com temperatura constante de 25°C. Após os períodos de três e 24h, os recipientes foram retirados do germinador, suavemente agitados e, imediatamente, realizadas as leituras em condutímetro de bancada Digimed CD-21. Também, foi realizada a leitura da água deionizada.

Para a obtenção do valor da condutividade elétrica da solução contendo as sementes foi subtraído o valor da condutividade lida no condutímetro do valor da leitura da água deionizada, dividindo-se o valor obtido pela massa seca das 25 sementes, sendo os resultados expressos em $\mu\text{Sm}^{-1}\text{g}^{-1}$ de sementes utilizando a metodologia descrita por Krzyzanowski, (1991).

2.2 - EXPERIMENTO 2: Atividade respiratória de sementes de arroz submetidas a diferentes condições de temperatura

2.2.1- Atividade respiratória (AR)

A atividade respiratória das sementes de arroz da cultivar BRS 7 Taim foi determinada no aparelho de Pettenkofer, variando a temperatura da massa das sementes (15; 25; 30 e 35°C), por um período de 24h.

Para a obtenção das diferentes temperaturas da massa de sementes de arroz da cultivar BRS 7 Taim (15; 25; 30 e 35°C), e, posterior medição da respiração, 100 gramas de sementes de arroz foram colocadas em um frasco armazenador de amostra do aparelho de Pettenkofer, juntamente com um termômetro. Os frascos com as sementes foram levados para câmara tipo BOD na temperatura desejada, onde permaneceram pelo período de 24h.

A metodologia para a medição da atividade respiratória de sementes foi descrita por Mendes (2008), com modificações.

A liberação de CO₂ pelas sementes foi medida em aparelho de Pettenkofer, constituído por dois frascos lavadores de gases contendo hidróxido de sódio, cuja finalidade foi reter o CO₂ do ar do ambiente; um frasco para armazenamento das sementes isento de CO₂ do ar ambiente e um frasco contendo hidróxido de bário, que reage com o CO₂ proveniente da atividade respiratória das sementes resultando na formação de carbonato de bário, precipitado branco, formado na amostra que é quantificado por titulação. Os frascos estavam interligados por mangueira de silicone e esta acoplada a uma trompa aspiradora de ar. O fluxo de ar foi regulado por meio de uma torneira, de modo que permitiu regular a velocidade do ar por meio da contagem de bolhas formadas nos frascos.

Após o tempo de exposição das sementes às temperaturas de 15; 25; 30 e 35°C durante 24h, as sementes foram colocadas para embeber no frasco de armazenamento por 60min, em banho-maria. Em seguida foi retirado o excesso de água e conectou-se o frasco de armazenamento aos demais frascos, o que permitiu registrar a atividade respiratória, calculada pela quantidade de dióxido de carbono liberado por grama de semente por hora (CO₂ liberado g⁻¹ semente h⁻¹). Após o período de permanência no aparelho, foram coletadas três alíquotas de BaCO₃, em cada repetição. As amostras recém coletadas em erlenmeyer, após receber duas gotas de fenolftaleína, foram submetidas a titulação com ácido clorídrico HCl 0,1N. No ponto de viragem, foi registrado o volume de HCl gasto em cada uma das repetições, o qual está diretamente relacionado com a quantidade de CO₂ fixado pela solução de BaOH, utilizado para a determinação da atividade respiratória das sementes, uma vez que o dióxido de carbono fixado é proveniente do seu processo de respiração.

O cálculo final da atividade respiratória foi realizado com base na média de quatro repetições, cujo resultado foi expresso em quantidade de CO₂ liberado por grama de semente por hora (μgCO_2 liberado g⁻¹ semente h⁻¹), utilizando-se a seguinte equação: $N \times D \times 22$, sendo, N= normalidade do ácido usado (HCl 0,1N); D a diferença entre a prova em branco e a amostra e 22 = normalidade do CO₂.

2.3 - Experimento 3: Atividade de enzimas respiratórias em plântulas provenientes de sementes previamente submetidas a diferentes condições de temperatura

Plântulas oriundas de sementes submetidas a diferentes temperaturas, provenientes do experimento 1, foram utilizadas para a determinação das enzimas malato desidrogenase (EC 1.1.1.37) e glicose-6-fosfato desidrogenase (EC 1.1.1.49) aos cinco e 14 dias após a semeadura (DAS).

2.3.1- Obtenção do extrato enzimático bruto

O extrato enzimático bruto para a determinação das atividades da malato desidrogenase (EC 1.1.1.37) e glicose-6-fosfato desidrogenase (EC 1.1.1.49) foi obtido pela homogeneização de aproximadamente 0,800g de material vegetal (parte aérea e raízes das plântulas) em nitrogênio líquido e polivinilpirrolidona (PVPP 1% p/v), seguida pela adição de 10mL de tampão de extração TRIS 0,1M, pH 7,5, contendo EDTA 3mM e DTT 1mM. O homogenato foi centrifugado a 10.000 x g, por 20min, à temperatura de 4°C ± 1°C, segundo McCUE et al. (2000), com modificações. O sobrenadante obtido foi dessalinizado em coluna sephadex G-25 médio (PD 10; Amersham Pharmacia Biotech) para remover possíveis moléculas como açúcares redutores, inibidores, entre outros, que pudessem interferir nas leituras. O eluido foi em seguida, utilizado nos ensaios para a determinação da atividade das enzimas. Todas as etapas necessárias ao processo de extração foram executadas à temperatura de 4°C, em câmara fria.

2.3.2- Determinação da atividade da malato desidrogenase (EC 1.1.1.37)

A posição de equilíbrio da reação catalisada pela enzima malato desidrogenase (MDH) favoreceu a redução de oxaloacetato para malato. A determinação da atividade foi, então, baseada na medida da razão de oxidação de NADH (decrécimo em densidade óptica a 340nm) na presença da enzima e de oxaloacetato. A atividade da malato desidrogenase foi determinada, segundo metodologia descrita por Ochoa (1955), com modificações, pela adição de 25µL do

extrato enzimático ao meio de reação constituído de 200 μ L NADH 0,1mM; 300 μ L de oxaloacetato 0,253mM e tampão de ensaio TRIS 0,1M, pH 7,5 em um volume final de 3000 μ L, a 25°C. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 340nm e os resultados expressos por μ mol de NAD⁺ oxidado g⁻¹ MF min⁻¹.

2.3.3- Determinação da atividade da glicose-6-fosfato desidrogenase (EC1.1.1.49)

A atividade da glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) foi determinada pela adição de 200 μ L de extrato enzimático ao meio de reação constituído de 100 μ L NADP 0,2mM; 100 μ L de MgCl₂ 3,3mM, 100 μ L glicose-6-fosfato 3,3mM e tampão de ensaio TRIS 0,1M, pH 7,5 em um volume total de 3000 μ L, a 25°C. A atividade da G6PDH foi determinada por meio do monitoramento do aumento da absorbância em 340nm como resultado da redução de NADP⁺, sendo os resultados expressos em μ mol de NADPH g⁻¹ MF min⁻¹ (DUKE et al. 1977).

2.4 – Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os dados relativos às variáveis mensuradas foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Além dessas análises, os dados foram submetidos à análise de regressão polinomial utilizando-se o software SAS (2002).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância (Tab. 1) mostrou que a temperatura teve efeito significativo ($p \leq 0,05$) na porcentagem de germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG) e no índice de velocidade de germinação (IVG), ocorrendo respostas diferenciadas na G, PCG e IVG em relação às temperaturas testadas. O coeficiente de variação foi baixo, refletindo o adequado controle das técnicas experimentais, proporcionando confiabilidade nos resultados obtidos.

Tabela 1 - Análise de variância para o caráter germinação (G); primeira contagem de germinação (PCG) e índice de velocidade de germinação (IVG) em sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim submetidas a diferentes condições de temperatura (15; 25; 30 e 35°C) durante 24h. Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Botânica/UFPel, Pelotas, RS, 2009

Fonte de variação	GL	QM		
		G (%)	PCG (%)	IVG
Temperatura (T)	3	195,68*	242,52*	83,70*
ERRO	11	5,53	0,60	0,31
Média Geral	-	8,84	25,21	15,84
CV (%)	-	2,87	3,08	3,52

* Significativo a 5% de probabilidade de erro. GL = Graus de liberdade; QM = Quadrado Médio; CV = Coeficiente de variação, em porcentagem.

Os valores médios obtidos de G, PCG e IVG em resposta as diferentes temperaturas (15; 25; 30 e 35°C) estão apresentados na Tab.2.

Tabela 2 - Valores médios para o caráter germinação (G); primeira contagem de germinação (PCG) e índice de velocidade de germinação (IVG) em sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim submetidas a diferentes condições de temperatura (15; 25; 30 e 35°C) durante 24h. Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Botânica/UFPel, Pelotas, RS, 2009

Temperatura	G (%)	PCG (%)	IVG
15°C	86,62 A	19,57 C	12,69 C
25°C	87,87 A	33,52 A	20,67 A
30°C	80,26 B	30,11 B	18,76 B
35°C	72,62 C	17,66 D	11,26 D

*Médias seguidas de letras maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

A porcentagem de germinação de sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim, foi maior e sem diferenças significativas nas sementes submetidas por 24h as temperaturas de 15 e 25°C, diminuindo significativamente nas temperaturas mais elevadas de 30 e 35°C (Tab. 2).

Cada espécie apresenta uma temperatura mínima, máxima, e ótima para a germinação, e dentro de cada espécie, podem existir diferenças marcantes entre as cultivares quanto à germinação nas diferentes temperaturas (NASCIMENTO, 2000). Temperaturas muito baixas ou muito altas poderão alterar tanto a velocidade quanto a porcentagem final de germinação. Os resultados encontrados por Steiner et al. (2009), que avaliaram o efeito de diferentes temperaturas sobre a porcentagem de germinação de sementes de rabanete, evidenciaram que a temperatura de 35°C influenciou negativamente a germinação de duas das cinco cultivares testadas. A qualidade das sementes de coentro, submetidas a várias temperaturas (15; 20; 25; 30 e 35°C), foi melhor entre 15 e 25°C, ocorrendo a porcentagem máxima de germinação nesse intervalo de temperatura, sendo praticamente nula a 35°C em todas as cultivares avaliadas (PEREIRA et al., 2005). Estes resultados corroboram com os resultados desta pesquisa, onde o estresse provocado nas sementes de arroz da cultivar BRS 7 TAIM evidenciaram o mesmo comportamento com apenas 24h de exposição dessas sementes nesta temperatura.

Em beterraba, rúcula e salsa baixas temperaturas (10 a 15°C) reduzem a germinação, enquanto a temperatura de 25°C proporciona maior germinação total (GOMES et al., 2005). Por outro lado, sementes de cenoura expostas a altas

temperaturas (35 a 40°C) podem atrasar ou inibir a germinação, comprometendo o seu estabelecimento no campo (NASCIMENTO ; PEREIRA, 2007a, PEREIRA et al., 2007). Também, em sementes de almeirão a germinação é drasticamente reduzida em baixas temperaturas (10°C) (PINTO JÚNIOR et al., 2009). Embora estes relatos tenham sido feitos com sementes e condições de germinação diferentes deste estudo, é válido ressaltar que independente da espécie e do gênero, as plantas de maneira geral, respondem melhor à germinação em temperaturas no intervalo de 15 a 25°C, o que pôde também ser comprovado nos resultados deste experimento, onde as sementes foram estressadas por 24h em diferentes temperaturas e colocadas para germinar segundo RAS, (2009).

Ao contrário destes resultados, Garcia e Diniz (2003), avaliando o comportamento germinativo de espécies do gênero *Vellozia* sp. em diferentes temperaturas, verificaram que as menores porcentagens de germinação ocorreram a 15°C, quando comparadas com temperaturas mais elevadas (20; 25; 30 e 35°C). Do mesmo modo, ocorre com o efeito de diferentes temperaturas na germinação de sementes de *Heliocarpus popayanensis* L., onde três lotes de sementes não evidenciaram a germinação em temperaturas abaixo de 17,1°C, sendo as temperaturas ótimas para a análise desses lotes compreendidas no intervalo de 28,1°C e 30,2°C, e, portanto, considerado o ideal para a germinação desta espécie (BRANCALION et al., 2008).

O teste de primeira contagem de germinação, geralmente é utilizado como um teste de vigor, devido à sua simplicidade e por ser conduzido juntamente com o teste de germinação. A velocidade de germinação pode ser utilizada para identificar cultivares com emergência mais rápida em campo ou em estufa, minimizando assim as condições adversas que ocorrem durante a germinação e estabelecimento de plântulas (STEINER et al., 2009).

As sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim germinaram mais rapidamente quando submetidas a temperatura de 25°C (Tab. 2), o que também foi observado por Stefanello. (2005), avaliando o efeito de diferentes temperaturas na primeira contagem de germinação de sementes de anis (*Pimpinella anisum*) e funcho (*Foeniculum vulgare*), onde obtiveram as germinações mais rápidas em temperaturas de 20 e 25°C, sendo que para as duas espécies estudadas houve redução do número de plântulas normais na temperatura de 30°C. Já as sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim mostraram redução na primeira contagem de germinação quando as sementes

foram estressadas por 24h nas temperaturas de 15 e 35°C. A redução do poder germinativo identificado nestas temperaturas possivelmente, decorreu de um declínio da velocidade do processo, uma vez que o tempo prolongado para o início da germinação originou plântulas com tamanho reduzido em relação às obtidas nas demais temperaturas de 25 e 30°C. Desse modo, a temperatura influencia no tempo para o início do processo de germinação da maioria das sementes, modificando a velocidade das reações químicas que irão acionar o desdobramento, o transporte e a ressíntese de substâncias para a plântula (BASKIN ; BASKIN, 1988, BEWLEY ; BLACK, 1994).

Em relação ao índice de velocidade de germinação (Tab. 2), foi possível determinar que as sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim apresentaram menor IVG quando submetidas por 24h as temperaturas de 15 e 35°C. Ao contrário destes resultados, Carvalho e Nakagawa. (2000), relatam que com temperaturas mais altas a velocidade de absorção de água e as reações químicas são superiores e as sementes demonstraram maior germinação. Entretanto, altas temperaturas podem diminuir o índice de velocidade de germinação, causando desorganização do processo germinativo, sendo que o número de sementes que conseguem completá-lo vai diminuindo rapidamente, devido aos efeitos causados sobre atividade de enzimas e das restrições de acesso ao oxigênio (MARCOS FILHO, 1986).

A relação entre as temperaturas e os valores médios das variáveis germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG) e índice de velocidade de germinação (IVG), são apresentados na Fig. 1. A análise dos dados dessas variáveis permitiu evidenciar tendência quadrática, com altos coeficientes de determinação ($R^2 \geq 0,89$; $p \leq 0,05$). A germinação mostrou as melhores porcentagens quando as sementes foram expostas às temperaturas de 20-25°C (Fig. 1A), enquanto a primeira contagem de germinação e o índice de velocidade de germinação atingiram o ponto máximo aos 25°C (Fig. 1B e 1C).

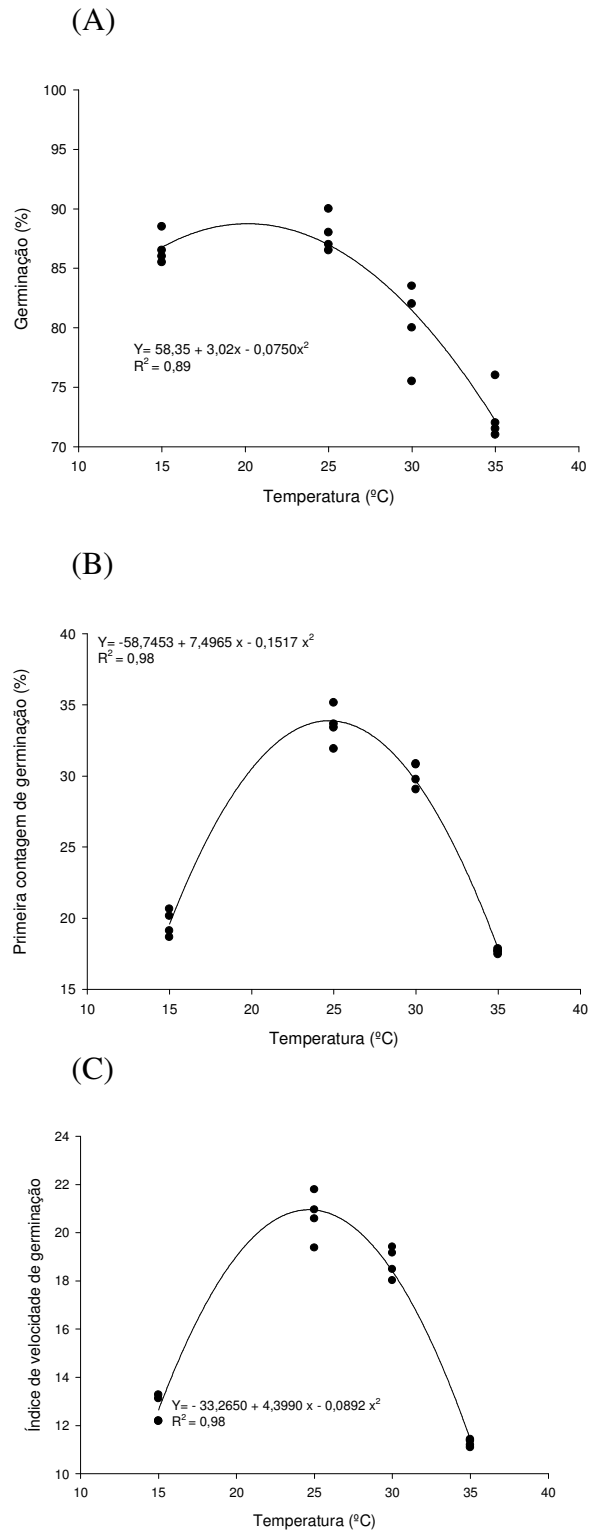


Figura 1 - Germinação (A), primeira contagem de germinação (B) e índice de velocidade de germinação (C) de sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim submetidas a diferentes temperaturas (15; 25; 30 e 35°C) durante 24h. Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Botânica/UFPel, Pelotas, RS, 2009.

A análise de variância (Tab. 3) evidenciou, pelo teste F, efeitos significativos ao nível de 5% de probabilidade, para as variáveis comprimento de parte aérea e das raízes (CPA e CR) e massa seca de parte aérea e das raízes (MSPA e MSR) das plântulas de arroz cultivar BRS 7 Taim provenientes das sementes submetidas às temperaturas de 15; 25; 30 e 35°C durante 24h.

Esses resultados mostraram que ocorreram diferenças significativas em relação a estas variáveis de crescimento, quando as sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim são submetidas às temperaturas avaliadas.

Tabela 3 - Análise de variância para os caracteres comprimento de parte aérea e das raízes (CPA e CR); massa seca de parte aérea e raízes (MSPA e MSR); em sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim submetidas a diferentes temperaturas (15; 25; 30 e 35°C) durante 24h. Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Botânica/UFPel, Pelotas, RS, 2009

Fonte de variação	GL	QM			
		CPA mm plântula ⁻¹	CR mm plântula ⁻¹	MSPA mg plântula ⁻¹	MSR mg plântula ⁻¹
Temperatura (T)	3	5,45	34,55*	0,00031*	0,00021*
ERRO	11	0,09	0,63	0,0000088	0,0000051
Média Geral	-	7,64	9,96	0,03	0,02
CV (%)	-	4,07	7,97	7,59	8,02

*Significativo a 5% de probabilidade de erro. GL = Graus de liberdade; QM = Quadrado Médio; CV = Coeficiente de variação, em porcentagem.

O comprimento da parte aérea e de raízes das plântulas de arroz da cultivar BRS 7 Taim, assim como a massa seca da parte aérea e de raízes (Tab. 4) foram superiores quando as sementes foram expostas à temperatura de 25°C, durante 24h.

Tabela 4 - Valores médios do comprimento de parte aérea e de raízes (CPA e CR) e da massa seca de parte aérea e de raízes (MSPA e MSR) em sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim submetidas a diferentes temperaturas (15; 25; 30 e 35°C) durante 24h. Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Botânica/UFPel, Pelotas, RS, 2009

Temperatura	CPA mm plântula ⁻¹	CR mm plântula ⁻¹	MSPA mg plântula ⁻¹	MSR mg plântula ⁻¹
15°C	8,12 B	9,45 B	0,041 B	0,030 B
25°C	9,06 A	14,08 A	0,049 A	0,037 A
30°C	6,88 C	9,21 B	0,036 B	0,024 C
35°C	6,51 C	7,11 C	0,028 C	0,020 C

*Médias seguidas de letras maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Em contrapartida, essas variáveis foram menores nos tratamentos com temperaturas de 15; 30 e 35°C, sendo a temperatura de 25°C significativamente superior tanto no comprimento quanto na massa seca de ambas as partes (Tab. 4). Estes resultados, de modo geral, estão de acordo com as demais avaliações da qualidade de sementes realizadas neste estudo (Tab. 2 e 6).

Diante disso, pode-se inferir que sementes de arroz da cultivar BRS 7 Taim quando submetidas a temperaturas baixas (15°C) e a temperaturas superiores a 30°C têm sua qualidade reduzida. Além desta tendência observada nas curvas de regressão, os resultados, relacionando o comprimento e a massa seca da parte aérea e raiz com diferentes temperaturas, indicam que todas as equações apresentadas permitiram obter estimativas satisfatórias dos dados relativos a estas variáveis, com coeficientes de determinação acima de 0,80 ($p \leq 0,05$) (Fig. 2).

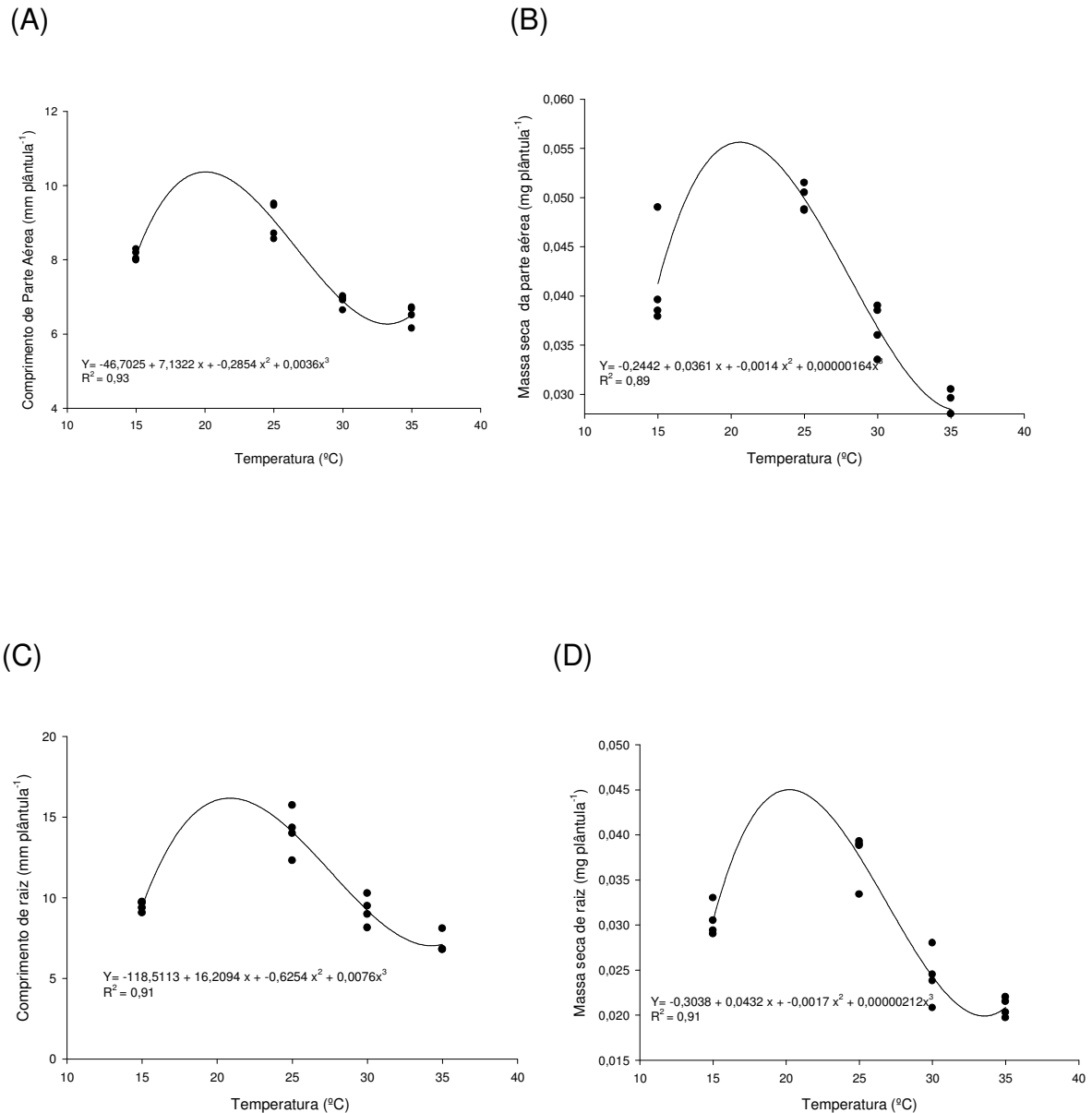


Figura 2 - Comprimento de parte aérea (A) e massa seca de parte aérea (B), comprimento de raiz (C) e massa seca de raiz (D) de plântulas de arroz cultivar BRS 7 Taim em função das temperaturas (15; 25; 30 e 35°C) durante 24h. Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Botânica/UFPel, Pelotas, RS, 2009.

Resultados semelhantes foram obtidos em estudos com sementes de três cultivares de alface, submetidas a diferentes temperaturas (20; 25; 30 e 35°C), sendo 35°C a temperatura menos eficiente, por impedir a germinação das sementes, enquanto que para duas das três cultivares avaliadas foi evidenciado maior comprimento de plântula nas temperaturas de 20 e 25°C (MENEZES et al., 2000).

Conseqüentemente, o que demonstra maior vigor dessas sementes, visto que sementes de alto vigor originam plântulas com maior taxa de crescimento devido a melhor capacidade de metabolização de reservas (DAN et al., 1987).

A temperatura exerce forte influência no desenvolvimento da planta de arroz, com conseqüência na produtividade de grãos. Valores altos de temperatura do ar, maior que 35°C, concorrem para o aumento da respiração e, como efeito, diminuem o crescimento da planta de arroz e a produtividade da cultura (SILVA, 2010).

A análise de variância para a condutividade elétrica (CE) mensurada em sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim é apresentada na Tab. 5. Esta análise possibilitou identificar a interação dupla entre os fatores de tratamento (Temperatura x Período) para o caráter mensurado (CE). Isto indica que há modificações neste caráter durante os diferentes períodos e em cada temperatura nas quais as sementes foram submetidas.

Tabela 5 - Análise de variância para o caráter condutividade elétrica (CE) em sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim submetidas a diferentes temperaturas (15; 25; 30 e 35°C) durante 24h. Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Botânica/UFPel, Pelotas, RS, 2009

Fonte de Variação	GL	QM
		CE ($\mu\text{Sm}^{-1}\text{g}^{-1}$)
Temperatura (T)	3	10,89*
Período (P)	1	316,33*
T x P	3	3,00*
ERRO	23	
Média Geral	-	8,39
CV (%)	-	6,96

*Significativo a 5% de probabilidade de erro. GL = Graus de liberdade; QM= Quadrado médio.

A condutividade elétrica da solução aumentou significativamente ($p < 0,05\%$) com o incremento no tempo de permanência das sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim na água deionizada, três e 24h de incubação (Tab. 6). O aumento da temperatura da massa de sementes (25; 30 e 35°C) com três horas de incubação não tiveram efeito na permeabilidade das membranas celulares, pois não ocorreram diferenças significativas quanto à lixiviação de solutos (Tab. 6). Com 24h de incubação observa-se que, com o aumento da temperatura, ocorreu incremento

significativo na condutividade elétrica, indicando, alterações na permeabilidade das membranas e como consequência maior lixiviação de eletrólitos (Tab. 6).

Tabela 6 - Análise de médias para o caráter condutividade elétrica (CE) em sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim submetidas a diferentes temperaturas (15, 25, 30 e 35°C) durante 24h. Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Botânica/UFPel, Pelotas, RS, 2009

Temperatura	CE ($\mu\text{Sm}^{-1}\text{g}^{-1}$)	
	Período	
	3h	24h
15°C	3,92 Bb	9,69 Ca
25°C	5,54 Ab	10,99 Ca
30°C	5,94 Ab	11,81 Ba
35°C	5,53 Ab	13,64 Aa

* Médias seguidas de letra maiúscula na coluna e minúsculas na linha diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Estes resultados indicam que maior temperatura de embebição provoca aumento da energia de ativação das moléculas, alterando a viscosidade da água e, conseqüentemente, aumentando os valores de condutividade elétrica (VIEIRA, 1994). De acordo com Pádua e Vieira (2001), a exsudação de constituintes celulares está inversamente associada ao vigor, com base em três fatores: reflete a perda da integridade das membranas, representa a conseqüente perda de compartimentalização dos constituintes celulares e constitui excelente substrato para o desenvolvimento de microrganismos.

De maneira geral, temperaturas elevadas provocam diminuição do suprimento de aminoácidos livres, da síntese protéica e das reações anabólicas, podendo desnaturar proteínas e alterar a permeabilidade das membranas (RILEY, 1981). Enquanto, temperaturas baixas reduzem a velocidade de mobilização das reservas das sementes, bem como a lixiviação de solutos para o meio externo.

Os resultados encontrados para o teste de condutividade elétrica podem ser observados por meio das curvas de regressão para ambos os períodos de avaliação na Fig. 3. Em 3h, a curva de regressão ajustada gerada pela resposta das sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim à temperatura apresentou efeito ascendente até 30°C (Fig. 3A). O valor relativamente elevado obtido para o coeficiente de determinação

($R^2 = 0,95$; $p \leq 0,05$) em 24h de embebição das sementes permitiu concluir que o modelo cúbico apresentou um bom ajuste em relação aos dados observados, com tendência para crescer de forma exponencial com o aumento da temperatura (Fig. 3B).

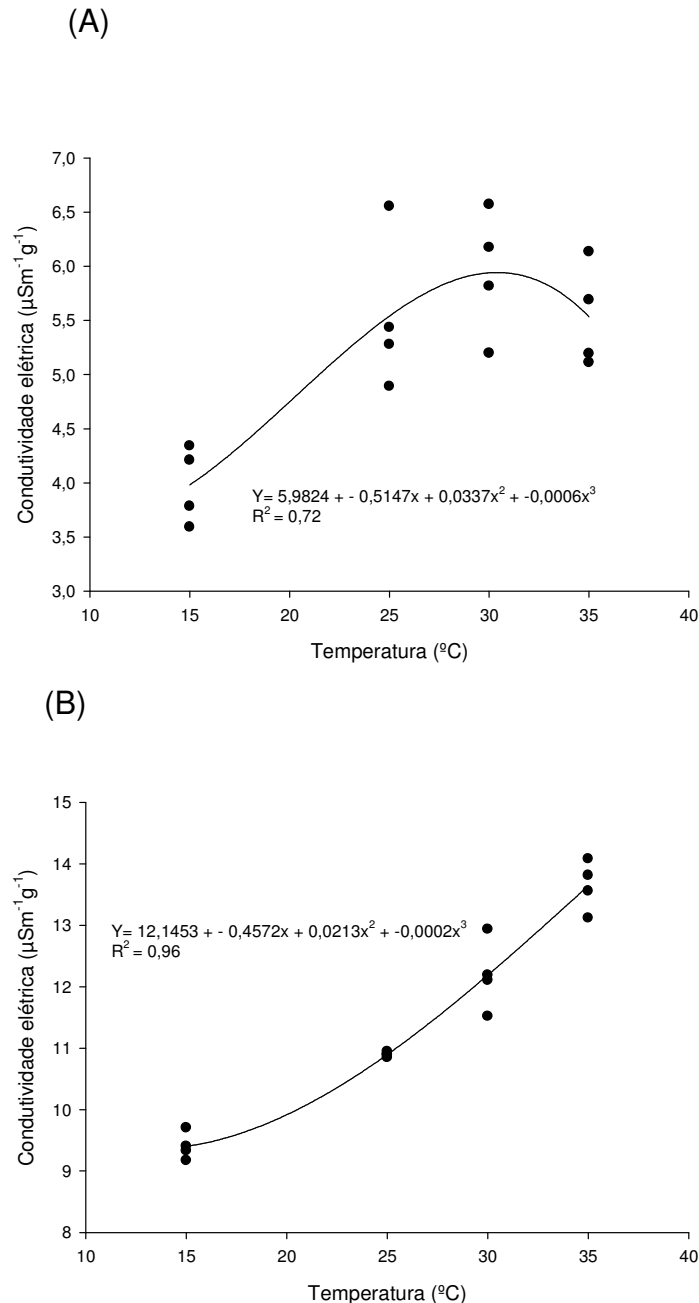


Figura 3 - Condutividade elétrica ($\mu\text{Sm}^{-1}\text{g}^{-1}$) em sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim, submetidas a diferentes temperaturas (15; 25; 30 e 35 $^{\circ}\text{C}$) durante 24h, nos períodos de 3h (A) e 24h (B) de embebição. Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Botânica/UFPel, Pelotas, RS, 2009.

A análise de variância mostra que houve diferenças significativas ($p \leq 0,05$) na atividade respiratória mensurada em sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim em função das temperaturas a que foram submetidas por 24h (Tab.7).

Tabela 7 - Análise de variância da taxa de respiração em sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim submetidas a diferentes temperaturas (15; 25; 30 e 35°C) durante 24h. Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Botânica/UFPel, Pelotas, RS, 2009

Fonte de Variação	GL	QM
		Taxa de respiração (μgCO_2 liberado g^{-1} de semente h^{-1})
Temperatura (T)	3	732,91*
ERRO	11	50,79
Média Geral	-	48,53
CV (%)	-	14,68

*Significativo a 5% de probabilidade de erro. GL = Graus de liberdade; QM = Quadrado Médio; CV = Coeficiente de variação em porcentagem.

As taxas respiratórias das sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim aumentaram com o incremento na temperatura a qual foram submetidas durante 24h (Tab.8). As sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim tiveram menor taxa respiratória quando expostas por 24h à temperatura de 15°C e 25°C e maior quando expostas à 30 e 35°C (Tab. 8). Também, neste intervalo de temperatura (15 a 35°C) a taxa respiratória cresceu de forma exponencial, ou seja, à medida que aumentou a temperatura de exposição das sementes se verificou aumento da respiração (Fig. 4).

Tabela 8 - Taxas de respiração em sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim submetidas a diferentes temperaturas (15; 25; 30 e 35°C) durante 24h. Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Botânica/UFPel, Pelotas, RS, 2009

Temperatura	Taxa de respiração ($\mu\text{g CO}_2$ liberado g^{-1} semente h^{-1})
15°C	36,727 B*
25°C	38,133 B
30°C	54,388 A
35°C	64,900 A

*Médias seguidas de letras maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

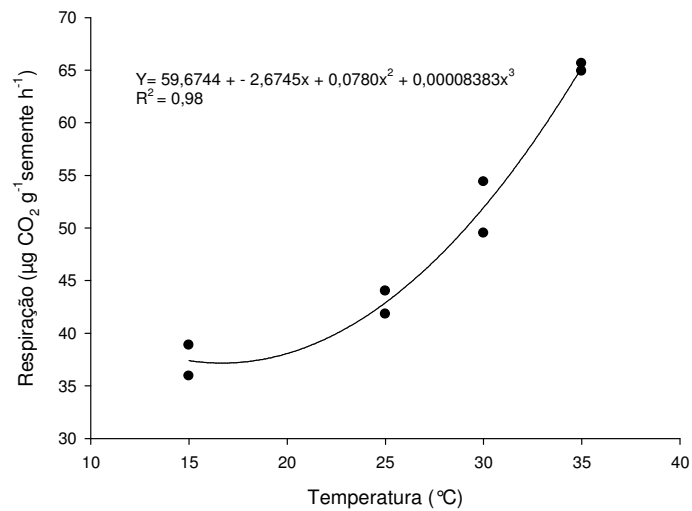


Figura 4 - Taxa respiratória de sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim submetidas a diferentes temperaturas (15; 25; 30 e 35°C) durante 24h. Laboratório de análise de Sementes do Departamento de Botânica/UFPel, Pelotas, RS, 2009.

Portanto, pode-se inferir que existe relação entre atividade respiratória e os demais testes de avaliação da qualidade fisiológica (Tab. 2, 4 e 6), uma vez que sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim expostas a altas temperaturas (30 e 35°C) apresentaram menor qualidade. Mendes et al. (2009) avaliando a atividade respiratória de sementes de soja cultivar A 8000 RG em temperatura ambiente (25°C) como método alternativo na diferenciação do vigor de lotes de sementes, evidenciaram relação com testes de qualidade fisiológica (germinação, primeira contagem de germinação, condutividade elétrica, comprimento de parte aérea e raiz, massa seca de parte aérea e raiz).

Os resultados verificados para a atividade respiratória das sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim submetidas às diferentes temperaturas (15; 25; 30 e 35°C) podem ser reforçados pelos resultados obtidos pelo teste de condutividade elétrica, o qual revelou tendência a perda de permeabilidade das membranas celulares nas temperaturas de 30 e 35°C após 24h de incubação, o que evidencia maior velocidade do processo de deterioração dessas sementes.

É importante ressaltar que a deterioração das sementes, diminui o vigor das mesmas e, portanto, resulta em sementes de menor qualidade fisiológica. No entanto, a deterioração ocorre de forma gradativa, manifestando nas sementes uma seqüência de eventos de origem bioquímica ou fisiológica, tais como danificação aos sistemas de permeabilidade das membranas, o que figura entre os primeiros eventos

da deterioração e tem fortes relações com o aumento na taxa respiratória dos tecidos, mudanças na atividade enzimática, redução de tecidos de reserva, queda na velocidade e na capacidade de germinação e diminuição no crescimento de plântulas normais (DELOUCHE, 2002). Muito embora, esses eventos apresentam diferentes exigências de temperatura.

A deterioração e o vigor estão fisiologicamente ligados, e constituem parâmetros recíprocos da qualidade das sementes, assim, à medida que a deterioração avança, o vigor diminui. A deterioração é o processo de envelhecimento e morte da semente, enquanto que o vigor é o principal componente da qualidade, diretamente afetado pelo processo de deterioração (DELOUCHE, 2002, MARCOS FILHO, 2005).

Os resultados submetidos à análise de variância para as atividades das enzimas glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) e malato desidrogenase (MDH), mensuradas em plântulas de arroz, mostraram diferenças significativas ($p \leq 0,05$) na atividade dessas enzimas no que tange aos tratamentos de temperatura (T) e período (P) e sua interação (TXP) (Tab. 9). Isto indica, que houve modificações na ação das enzimas durante os diferentes períodos e em cada temperatura a qual as sementes foram submetidas.

Tabela 9 - Análise de variância para a atividade das enzimas malato desidrogenase (MDH) e glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) em plântulas de arroz cultivar BRS 7 Taim oriundas de sementes submetidas a diferentes temperaturas (15; 25; 30 e 35°C) durante 24h. Laboratório de Bioquímica Vegetal do Departamento de Bioquímica/Instituto de Química e Geociências/UFPel, Pelotas, RS, 2009

Fonte de Variação	GL	QM	
		MDH	G6PDH
Temperatura (T)	3	2034,343*	0,059*
Período (P)	1	1157,959*	0,036*
T x P	3	229,305*	0,051*
ERRO	23	18,212	0,005
Média Geral	-	36,201	0,415
CV (%)	-	11,788	17,308

*Significativo a 5% de probabilidade de erro. GL = Graus de liberdade; QM = Quadrado Médio; CV = Coeficiente de variação, em porcentagem.

A atividade da enzima malato desidrogenase (MDH) aumentou significativamente com o incremento da temperatura tanto aos cinco dias após a semeadura (DAS) quanto aos 14 dias após a semeadura (DAS). A atividade da enzima MDH foi maior nas plântulas de arroz cultivar BRS 7 Taim oriundas de sementes que foram expostas à temperatura de 35°C e menor em 15°C na primeira contagem de germinação, aos 5 DAS, enquanto aos 14 DAS esta enzima apresentou maior atividade em 30 e 35°C e menor em 15 e 25°C (Tab. 10).

Tabela 10 - Análise de médias para a atividade da enzima malato desidrogenase (MDH) em plântulas de arroz cultivar BRS 7 Taim oriundas de sementes submetidas a diferentes temperaturas (15; 25; 30 e 35°C) durante 24h. Laboratório de Bioquímica Vegetal do Departamento de Bioquímica/Instituto de Química e Geociências/UFPel, Pelotas, RS, 2009

Temperatura	Atividade da enzima MDH ($\mu\text{mol de NAD}^+ \text{g}^{-1} \text{MF min}^{-1}$)	
	Períodos (DAS)	
	5 dias	14 dias
15°C	14,550 Ca*	16,253 Ba
25°C	45,583 Ba	21,310 Bb
30°C	48,870 Ba	37,572 Aa
35°C	59,864 Aa	45,608 Ab

*Médias seguidas de letra maiúscula na coluna e minúsculas na linha diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

A atividade da enzima MDH apresentou curvas com comportamento cúbico para ambos os períodos de observação, cinco e 14 DAS (Fig. 5). De maneira geral, pela curva de regressão, nota-se tendência de maior atividade desta enzima nas plântulas que tiveram suas sementes previamente expostas à 35°C, indicando, desta forma, seu ponto máximo na função cúbica nesta temperatura para ambos os períodos analisados (Fig. 5). Os valores relativamente elevados obtidos para os coeficientes de determinação, aos cinco DAS ($R^2 = 0,95$; $p \leq 0,05$) e aos 14 DAS ($R^2 = 0,92$; $p \leq 0,05$), permite concluir que o modelo cúbico apresentou um bom ajuste dos dados para atividade desta enzima.

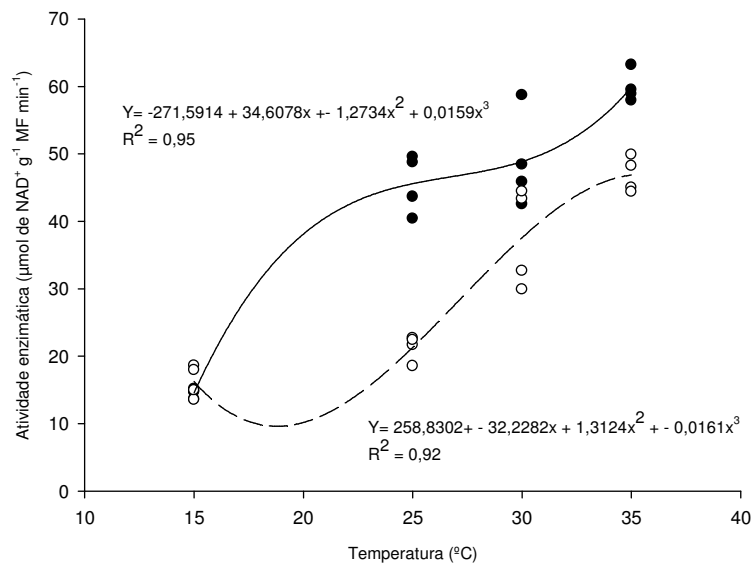


Figura 5 - Atividade da enzima malato desidrogenase (MDH) em plântulas de arroz cultivar BRS 7 Taim aos cinco dias (—) e 14 dias (---) após a semeadura (DAS) de sementes previamente submetidas às temperaturas de 15; 25; 30 e 35 $^{\circ}\text{C}$ durante 24h. Laboratório de Bioquímica Vegetal do Departamento de Bioquímica/ Instituto de Química e Geociências/UFPel, Pelotas, RS, 2009.

A enzima malato desidrogenase catalisa a conversão de malato a oxaloacetato, tendo uma importante função de produção de NADH no Ciclo de Krebs durante o processo de respiração, além de participar do movimento de malato através da membrana mitocondrial e outros compartimentos celulares. Geralmente é de natureza constitutiva com atividade não limitante em todas as organelas e no citoplasma (SPINOLA et al., 2000). De maneira geral, o aumento de sua atividade nas plântulas oriundas de sementes expostas a 35 $^{\circ}\text{C}$ pode ser devido ao aumento de sua atividade em diferentes compartimentos celulares. Isto pode ter ocorrido em virtude do aumento da respiração nas sementes que se encontram em processo deteriorativo avançado, uma vez que as enzimas envolvidas na respiração podem ser ativadas em sementes de baixa qualidade (SHATTERS et al., 1994). Além disso, possíveis alterações bioquímicas que acompanham a deterioração em sementes de *Eucalyptus grandis* em resposta ao envelhecimento artificial e natural, indicam que a atividade da enzima malato desidrogenase aumenta gradualmente com o tempo de armazenamento, mostrando-se mais alta nas plântulas provenientes de sementes envelhecidas artificialmente (submetidas a 42 $^{\circ}\text{C}$ por 96 horas) do que nas sementes armazenadas por 5; 10 e 15 anos (CAMARGO et al., 2000), o que evidencia que a

temperatura é fator de grande influência na deterioração das sementes e plântulas. Semelhantemente, Santos et al., (2005), avaliando modificações bioquímicas em sementes de feijão em condições de armazenamento, constataram que as cultivares mais vigorosas tiveram atividade enzimática da malato desidrogenase estável ou diminuída, o que também foi constatado nesta pesquisa, sendo as plântulas de arroz mais vigorosas foram as submetidas as temperaturas entre 15 e 25°C (Tab. 4 e 6), onde ocorreu reduzida atividade da MDH.

Por meio da atividade enzimática, também pode ser avaliada as transformações degenerativas nas sementes e plântulas. A manifestação do vigor da semente e, conseqüentemente, de suas plântulas depende da eficiência dos processos metabólicos de síntese, apoiados por atividade respiratória eficiente, a qual depende de disponibilidade adequada de reservas acumuladas. As alterações dos níveis dessas reservas conduzem à limitação da disponibilidade de substratos para a respiração, provocando decréscimo da germinação e do vigor da semente, com reflexos diretos em suas plântulas (MARCOS FILHO, 2005).

Embora as plântulas de arroz cultivar BRS 7 Taim tenham evidenciado de maneira geral maior atividade enzimática em 35°C, isto não demonstra que houve maior eficiência da atividade respiratória nesta temperatura, pois a alta atividade da MDH ocorrida a 35°C não favoreceu o crescimento inicial das plântulas, mostrando nesta temperatura menor crescimento e massa seca de parte aérea e raiz (Tab. 4). Isto pode ser devido ao rápido consumo das reservas das sementes logo no início do processo de germinação, o que pode ter diminuído a eficiência respiratória, pois possíveis alterações das substâncias de reserva das sementes prejudicam seu aproveitamento nos processos de síntese e de liberação de energia para continuar o processo germinativo eficientemente, evidenciando a deterioração das sementes.

Taxas elevadas de respiração aceleram o consumo de reservas, levando à rápida senescência dos tecidos (PATANÉ et al., 2006). Do mesmo modo, sementes de arroz expostas a 35°C por 24h tiveram o crescimento e o metabolismo das plântulas afetados negativamente nesta temperatura, tendo menor vigor, em contrapartida, a menor atividade da enzima malato desidrogenase ocorreu na menor temperatura (15°C).

Na menor temperatura a respiração aconteceu de forma mais lenta e as reservas, por sua vez, não foram utilizadas de forma rápida, o que favoreceu seu desdobramento e, a conseqüente utilização pelas plântulas.

A atividade da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase, aos cinco dias após a semeadura (DAS) foi superior nas plântulas de arroz cultivar BRS 7 Taim quando as sementes foram expostas às temperaturas de 25; 30 e 35°C, não diferindo significativamente entre si, porém, diferiram na temperatura de 15°C (Tab. 11). Aos 14 DAS, a ação enzimática foi diferente, sendo constatada maior atividade quando as sementes foram expostas a 25 e 30°C (Tab. 11).

Tabela 11 - Atividade média da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) em plântulas de arroz cultivar BRS 7 Taim oriundas de sementes submetidas a diferentes condições de temperatura (15; 25; 30 e 35°C) durante 24h. Laboratório de Bioquímica Vegetal do Departamento de Química e Geociências/UFPel, Pelotas, RS, 2009

Temperatura	Atividade da enzima G6PDH ($\mu\text{mol de NADPH g}^{-1} \text{MF min}^{-1}$)	
	Períodos (DAS)	
	5 dias	14 dias
15°C	0,251 Bb*	0,327 Bb
25°C	0,466 Aa	0,504 Aa
30°C	0,499 Aa	0,388 ABab
35°C	0,579 Aa	0,304 Bb

*Médias seguidas de letra maiúscula na coluna e minúsculas na linha diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

A representação das equações de regressão cúbica com o devido ajuste do coeficiente de determinação (R^2 ; $p \leq 0,05$), geradas pela resposta da atividade da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase em plântulas de arroz cultivar BRS 7 Taim, para ambos os períodos (cinco e 14 DAS), estão apresentadas na Fig.6. Com base na curva referente aos cinco DAS, a variação da atividade da enzima G6PDH em plântulas de arroz, indicou que o ponto mínimo na curva de regressão mostra que a enzima G6PDH apresentou menor atividade em 15°C, com tendência de maior atividade nas demais temperaturas, mostrando que a atividade da G6PDH aumentou de forma ascendente à medida que a temperatura aumentou. A curva referente aos 14 DAS, mostrou tendência de maior atividade da enzima G6PDH nas temperaturas entre 20-25°C, com declínio de sua atividade nas temperaturas extremas de 15 e 35°C (Fig. 6).

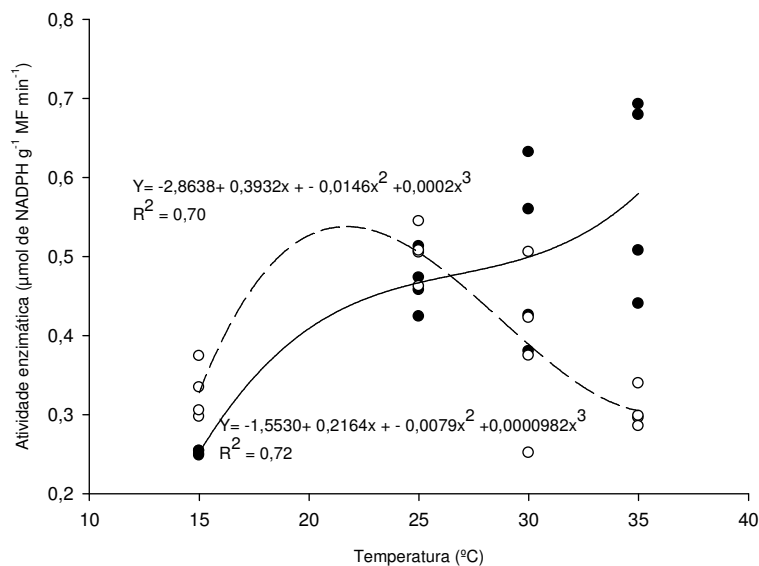


Figura 6 - Atividade da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) em plântulas de arroz cultivar BRS 7 Taim cinco dias (—) e 14 dias (---) após a semeadura (DAS) de sementes previamente submetidas a diferentes temperaturas (15; 25; 30 e 35 $^{\circ}\text{C}$) durante 24h. Laboratório de Bioquímica Vegetal do Departamento de Bioquímica/Instituto de Química e Geociências/UFPeI, Pelotas, RS, 2009.

A resposta das plantas a baixas temperaturas resulta no aumento da capacidade de ocorrer à rota das pentoses monofosfatadas e, conseqüentemente, a atividade de sua enzima reguladora G6PDH (van Heerden et al., 2003), porém, isto não foi verificado neste trabalho.

A enzima glicose-6-fosfato desidrogenase é de suma importância para a sobrevivência celular, pois participa da regulação do ciclo das pentoses, sendo responsável pela manutenção de nível adequado de NADPH nas células, além de gerar alguns metabólitos intermediários importantes para o metabolismo anabólico e reações de detoxificação (LIN et al., 2005). Também, a maioria das plantas submetidas a ambientes estressantes, tais como altas ou baixas temperaturas, mostra diminuição da atividade da G6PDH e menor produção de NADPH, culminando com um declínio nas atividades de algumas enzimas antioxidantes NADPH-dependentes (ascorbato peroxidase, dehidroascorbato redutase e glutatona redutase), o que resulta em graves danos à estrutura da membrana celular (KOCSY et al. 2001; KEVERS et al. 2004, LIN et al. 2004). Do mesmo modo, os resultados obtidos neste experimento, especialmente considerando as análises realizadas aos

14 DAS, mostraram que a atividade da enzima G6PDH diminuiu na temperatura máxima testada de 35°C (Tab. 11), o que sugere ser esta temperatura demasiadamente estressante para o processo de germinação da cultivar de arroz BRS 7 Taim, causando redução da atividade da enzima G6PDH.

A temperatura é fator de grande influência na respiração, pois acima de 35°C os tecidos vegetais apresentam diminuição da eficiência respiratória, em função de danos aos sistemas de membranas e desnaturação de enzimas (TAIZ; ZEIGER, 1998). No entanto, o fato da enzima G6PDH ter maior atividade quando exposta a temperatura de 35°C aos cinco DAS não significa que a atividade respiratória fosse eficiente naquela fase, visto que os testes de vigor por meio da avaliação do comprimento de parte aérea e raiz, massa seca de parte aérea e raiz mostraram que nesta temperatura as plântulas apresentaram menor qualidade em relação às temperaturas menores testadas (15; 25 e 30°C) (Tab. 4). Diante desses dados, acredita-se que as sementes expostas a 35°C estejam entrando num processo de declínio das funções metabólicas, afetando o vigor das plântulas.

Dentre as proteínas, as enzimas desempenham importante papel no processo de deterioração de sementes e a atividade pode ser indicativa da perda de qualidade (BRANDÃO JÚNIOR, 1996). Em função da desorganização das membranas celulares, as sementes através do aumento da quantidade de lixiviados durante o processo de embebição podem diminuir a qualidade (LIN, 1988; MARCOS FILHO et al., 1990), resultando, por sua vez, em plântulas de menor vigor. Embora, a atividade da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase não tenha sido mensurada nas sementes, é interessante ressaltar que as sementes submetidas a 35°C tiveram maior condutividade elétrica (Tab. 6), demonstrando maior desorganização dos sistemas de membranas e maior liberação de exsudatos pelas sementes e, conseqüentemente, menor qualidade fisiológica destas.

4. CONCLUSÕES

- As sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim têm melhor qualidade fisiológica quando expostas à 25°C, durante 24h;
- As atividades respiratórias e enzimáticas aumentam em função da temperatura a que as sementes são expostas;
- As atividades respiratórias e enzimáticas apresentam relação com a qualidade fisiológica das sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim expostas a diferentes temperaturas, durante um período de 24h.

5. REFERÊNCIAS

BASKIN, C.C.; BASKIN, J.M. Germination ecophysiology of herbaceous plant species in a temperate region. **American Journal of Botany**, v.7, p.286-305, 1988.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. New York and London: Plenum Press, 1994. 445p.

BOCK, F.L. **Resposta a nível molecular do envelhecimento artificial, natural e pré-condicionamento de sementes de soja**. 1999. 27f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS.

BORGES, E.E.L.; RENA, A.B. Germinação de sementes. In: AGUIAR, I.B.; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B. (Coord.) **Sementes florestais tropicais**. Brasília: ABRATES, p.83-136, 1993.

BRADBEER, J. W. **Seed dormancy and germination**. Glasgow: Blackie, 1988. 146 p.

BRANCALION, P.H.S.; NOVENBRE, A.D.L.C.; RODRIGUES, R.R.; CHAMA, H. M. C. P. Efeito da luz e de diferentes temperaturas na germinação de sementes de *Heliocarpus popayanensis* L. **Revista Árvore**, v.32, p.225-232, 2008.

BRANDÃO JUNIOR, D.S. **Eletroforese de proteína e isoenzima na avaliação da qualidade de semente de milho**. 1996. 110 p. Dissertação - (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: SNAD/CLAV, 2009. 398p.

CAMARGO, M.L.P.; MORI, E. S.; ODA, E.J.M.S.; LIMA, G.P. Atividade enzimática em plântulas de *Eucalyptus grandis* provenientes de sementes envelhecidas artificialmente e naturalmente. **Revista Ciência Florestal**, Santa Maria, v.10, p.113-122, 2000.

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

CARVALHO, P.G.B.de; BORGHETTI, F.; BUCKERIDGE, M.S.; MORHY, L.; FERREIRA-FILHO, E.X. Temperature dependent germination and endo-b-mannanase activity in sesame seeds. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v.13, p.139-148, 2001.

COUTINHO, W.M.; SILVA-MANN, R.; VIEIRA, M.G.G.C.; MACHADO, C.F.; MACHADO, J.C. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de milho submetidas a termoterapia e condicionamento fisiológico. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, p.458-464. 2007.

DAN, E.L.; MELLO, V.D.C.; WETZEL, C.T. Transferência de matéria seca como método de avaliação do vigor de sementes de soja. **Revista Brasileira de sementes**, v.9, p.45-55, 1987.

DELOUCHE, J.C.; BASKIN, C.C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. **Seed Science and Technology**, v.1, p.427-452, 1973.

DELOUCHE, J.C. Germinação, deterioração e vigor da semente. **Seed News**, v.6, p.1-7, 2002.

DEVI, R.; MUHJRAL, N.; GUPTA, A.K.; KAUR, N. Cadmium induced changes in carbohydrate status and enzymes of carbohydrate metabolism, glycolysis and pentose phosphate pathway in pea. **Environmental and Experimental Botany**, v.61. p.167-174, 2007

DUKE S.H.; SCHRADER L.E.; MILLER M.G. Low temperature effects on soybean (*Glycine max* L.) mitochondrial respiration and several dehydrogenase during imbibition and germination. **Plant Physiology**. v.60, p.716-722, 1977

FERRAZ-GRANDE, F. G.A.; TAKAKI, M. Temperature dependent seed germination of *Dalbergia nigra* Allem (Leguminosae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v.44, p.401-404, 2001.

FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 323p.

FLOSS, E.L. **Fisiologia das plantas cultivadas**. Editora:UPF, 3^o edição, Santa Maria – RS, 2006. 751p.

GARCIA, S.Q.; DINIZ, I.S.S. Comportamento germinativo de três espécies de *Vellozia* da serra do Cipó, MG. **Acta botânica brasileira**. v.17, p.487-494. 2003.

GOMES, E.M.L.; NASCIMENTO, W.M.; FREITAS, R.A. Germinação de sementes de beterraba, rúcula e salsa sob diferentes temperaturas. **Horticultura Brasileira**, Suplemento 2. CD-ROM. Trabalho apresentado no 45^o Congresso Brasileiro de Olericultura, 2005.

HÖFS, A.; SCHUCH, L.O.B.; PESKE, S.T.; BARROS, A.C.S.A. Emergência e crescimento de plântulas de arroz em resposta à qualidade fisiológica de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, v.26, p.92-97, 2004.

KEVERS, C.; FRANCK, T.; STRASSER, R.J.; DOMMES, J.; GASPAR, T. Hyperhydricity of micropropagated shoots: a typically stress-induced change of physiological state. **Plant Cell Tiss Org Cult**, v.77, p.181-191, 2004

KOCSY, G., GALIBA, G., BRUNOLD, C. Role of glutathione in adaptation and signaling during chilling and cold acclimation in plants. **Physiology Plant**, v.113, p.158-164, 2001.

KRZYZANOWSKI, F.C.; FRANÇA-NETO, J.B.; HENNING, A.A. Relato dos testes de vigor disponíveis para grandes culturas. **Informativo ABRATES**, Londrina, v.1, p.15-50,1991.

LAMARCA, E.V. **Taxas respiratórias e velocidade de deterioração de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. em função de variações hídricas e térmicas**. 2009. 106p. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, São Paulo-SP.

LIN, S.S. Efeito do período de armazenamento na lixiviação eletrolítica dos solutos celulares e qualidade fisiológica de sementes de milho (*Zea mais* L) e feijão (*Phaseolus vulgaris* L. **Revista Brasileira de Sementes**, Viçosa, v.10, n.1, p.59-67, 1988.

LIN, S.Z.; ZHANG, Z.Y.; LIN, Y.Z.; ZHANG, Q.; GUO, H. The role of calcium and calmodulin in freezing-induced freezing resistance of *Populus tomentosa* cuttings. **Journal of Plant Physiology and molecular biology**, v.30, p.59-68, 2004b

LIN, S.Z.; ZHANG, Z.Y.; LIU, W.; LIN, Y.Z.; ZHANG, O.; ZHU, B. Role of glucose-6-phosphate dehydrogenase in freezing-induced freezing resistance of *Populus suaveolens*. **Journal of plant physiology and molecular biology**, v.31, p.34-40, 2005

MAIA, A.R.; LOPES, J.C.; TEIXEIRA, C.O. Efeito do envelhecimento acelerado na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de trigo. **Ciência agrotécnica**, Lavras, v.31, p.678-684, 2007.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection aid evolution for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, p.176-177, 1962.

McCUE, P.; ZHENG, Z.; PINKHAM, J.L.; SHETTY, K. A model for enhanced pea seedling vigour following low pH and salicylic acid treatments. **Process Biochemistry**. v.35, p.603-613, 2000.

MARCOS FILHO, J. **Germinação de sementes**. In: Cícero S. M., MARCOS FILHO, J.; SILVA, W.R. Atualização em produção de sementes. Campinas: Fundação Cargill, p.11-39, 1986.

MARCOS FILHO, J.; SILVA, W.R. da; NOVENBRE, A.D.C.; CHAMMA, H.M.C.P. Estudo comparativo de métodos para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja, com ênfase ao teste de condutividade elétrica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 25, n.12, p.1805-1815, dez. 1990.

MARCOS FILHO, J. Utilização de testes de vigor em programas de controle de qualidade de sementes. **Informativo Abrates**, Londrina, v.4, p.33-35, 1994.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq, 2005, 495p.

MARENCO, R.A.; LOPES, N.F. **Fisiologia vegetal**; fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral. Viçosa: UFV, 2005. 451p.

MEDEIROS-SILVA, L.M. de; RODRIGUES, T. de J.D.; AGUIAR, I.B. de. Efeito da luz e da temperatura na germinação de sementes de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Allemão). **Revista Árvore**, Viçosa, v.26, p.691-697, 2002.

MENEZES, N.L.; SANTOS, O.S.; NUNES, E.P.; SCHMIDT, D. Qualidade fisiológica de sementes de alface submetidas a diferentes temperaturas na presença e ausência de luz. **Ciência Rural**, v.30, p.941-945, 2000

MENDES, C.R. **Atividade respiratória como método alternativo na diferenciação do vigor de lotes de sementes**. 2008. 21p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS.

MENDES, C.R.; MORAES, D. M.; LIMA, M.G.S.; LOPES, N. F. Respiratory activity for the differentiation of vigor on soybean seeds lots. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, p.171-176, 2009

MILES, D.F. Effects of the stage of development and the disiccation environment on soybean seed quality respiration during germination. **Sciences and Engineering**, Lexington, v.49, n.9, 1986.

NASCIMENTO, W.M. Temperatura x germinação. **Seed news**, v.4, p.44-45, 2000.

NASCIMENTO, W.M; PEREIRA, R.S. Preventing thermo-inhibition in carrot by seed priming. **Seed Science & Technology**, v.35, p.503-506, 2007a.

OCHOA, S. Malic deshydrogenase from pig heart, IN: S. P. COLOWINCK; N. O. KAPLAN (EDs), **Methods in enzymology**, New York: Academic Press. p.735-739, 1955.

PÁDUA, G.P.; VIEIRA, R.D. Deterioração de sementes de algodão durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.23, p.255-262, 2001.

PATANÉ, C., CAVALLARO, V., AVOLA, G. D'AGOSTA, G. Seed respiration of sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] during germination as affected by temperature and osmoconditioning. **Seed Science Research**, v.16, p.251-260, 2006.

PEREIRA, R.S; MUNIZ, M.F.B.; NASCIMENTO, W.M. Aspectos relacionados à qualidade de sementes de coentro. **Horticultura Brasileira, Brasília**, v.23, p.703-706, 2005.

PEREIRA, R.S; NASCIMENTO, W.M; VIEIRA, J.V. Germinação e vigor de sementes de cenoura sob condições de altas temperaturas. **Horticultura Brasileira**, v.25, p. 215-219, 2007.

PINTO JUNIOR, A.S.; STEINER, F.; SCHMIDT, M.A.H., DRANSKI, J.A.; RHEINHEIMER, A.R.; ZOZ, T., ECHER, M.M.; GUIMARÃES, V.F. Germinação de sementes de almeirão sob temperaturas adversas. **Horticultura Brasileira**, v.27 p.12325-1238, 2009.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: Ministério da Agricultura – AGIPLAN, 1977,p.97-105

RILEY, G.J.P. Effects of high temperature on protein synthesis during germination of Maize (*Zea mays* L.). **Revista Planta**, v.151, p.75-80, 1981.

SANTOS, S.R.G. **Efeito da temperatura na germinação de sementes de *Sebastiania commersoniana* (Baill.) Smith & Downs (Branquilho)**. 1999. 76f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

SANTOS, C.M.R.; MENEZES, N.L.; VILLELA, F.A. Modificações fisiológicas e bioquímicas em sementes de feijão no armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, v.27, p.104-114, 2005.

SAS LEARNING EDITION. Program SAS - Getting started with the SAS Learning Edition. **Cary SAS Publishing**, North Carolina, 2002, 200p.

SILVA, S.C. Cultivo do arroz irrigado no estado de Tocantins. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Arroz/ArrozIrrigadoTocantins/clima.htm#tasa> Acesso em 02-04-2010.

SOCOLOWSKI, F.; TAKAKI, M. Germination of *Jacaranda mimosifolia* (D. Don - Bignoniaceae) seeds: effects of light, temperature and water stress. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v.47, p.785-792, 2004.

SHATTERS, R.G.Jr.; ABDELGHANY, A.; ELBAGOURY, O. Soybean seed deterioration and response to priming: changes in specific enzyme activities in extracts from dry and germinating seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 4, p.33-41, 1994.

SPINOLA, M.C.M.; CICERO, S.M.; MELO, M. Alterações bioquímicas e fisiológicas em sementes de milho causadas pelo envelhecimento acelerado. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.57, p.263-270, 2000.

STEINER, F.; PINTO JÚNIOR, A.S.; ZOZ, T.; GUIMARÃES, V. F.; DRANSKI, J.A.L.; RHEINHEIMER, A.R. Germinação de sementes de rabanete sob temperaturas adversas. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. v.4, p.430-434, 2009.

STEFANELLO, R. **Efeito da luz, temperatura e estresse hídrico no potencial fisiológico de sementes de anis, funcho e endro**. 2005. 57p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. 2.ed. Sunderland: Sinauer Associates, 1998, 793p.

van HEERDEN P.D.R.; De VILLIERS, M.F.; van STADEN, J.; KRUGER, G.H.J. Dark chilling increases glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in soybean leaves. **Physiology Plant**, v.119, p.221-230, 2003

VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 164p.

VIEIRA, M.G.G.C. **Utilização de marcadores moleculares no monitoramento da qualidade sanitária e nível de deterioração de sementes de algodoeiro**. 1996. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG.