

Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de arroz submetidas ao estresse térmico¹

Physiological and biochemistry changes in seeds of rice subjected to heat stress

Patrícia Marini^{2*}, Caroline Leivas Moraes², Naciele Marini³, Dario Munt de Moraes⁴ e Luciano do Amarante⁴

RESUMO - O objetivo deste trabalho foi analisar o efeito de diferentes temperaturas na atividade respiratória, enzimática e em processos relacionados à qualidade fisiológica de sementes de arroz, bem como utilizar a relação entre esses parâmetros como forma de caracterizar o início do processo de deterioração de sementes. As sementes foram expostas por 24 h às temperaturas de 15; 25; 30 e 35 °C, e conduzidas aos testes de germinação, primeira contagem de germinação, índice de velocidade de germinação, comprimento e massa seca da parte aérea e raiz, condutividade elétrica, atividade respiratória e enzimática. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) com posterior análise de regressão polinomial. As sementes de arroz apresentaram diminuição na germinação e no vigor a partir de temperaturas superiores a 25 °C. A atividade respiratória aumentou com o aumento de temperatura, o mesmo ocorreu com a atividade das enzimas aos cinco dias após a semeadura (variando de 14,55 a 59,86 $\mu\text{mol de NAD}^+ \text{g}^{-1} \text{MF min}^{-1}$ para a malato desidrogenase e de 0,25 a 0,57 $\mu\text{mol de NADPH g}^{-1} \text{MF min}^{-1}$ para a glicose-6-fosfato desidrogenase). Portanto, pode-se concluir que os testes bioquímicos avaliados podem ser utilizados para identificar o início do processo deteriorativo das sementes de arroz e que temperaturas superiores a 25 °C depreciam a qualidade destas sementes.

Palavras-chave: *Oryza sativa*. Temperatura. Respiração. Malato-desidrogenase. Glicose-6-fosfato-desidrogenase.

ABSTRACT - The purpose of this research was to analyze the effect of different temperatures on the respiratory activity, enzymatic and in process related to the physiological quality of rice seeds, and use the relationship between these parameters to characterize the beginning of the deterioration process of seeds. The seeds were exposed during 24 h and conducted tests for germination, first count germination, index the germination speed, length and dry weight of shoot and roots, electrical conductivity, respiratory activity and activity of the enzymes. The experiment was completely randomized with four replicates and the averages compared by Tukey test ($p \leq 0.05$) with subsequent analysis of regression. Rice seeds showed that the germination and vigor were reduced above 25 °C temperatures. Respiratory activity increased with increasing temperature, the same occurred with study enzymes activity in at five days after sowing (ranging from 14.55 at 59.86 $\mu\text{mol of NAD}^+ \text{g}^{-1} \text{MF min}^{-1}$ for at malate dehydrogenase and 0.25 at 0.57 $\mu\text{mol of NADPH g}^{-1} \text{MF min}^{-1}$ for glucose-6-phosphate dehydrogenase). Therefore, it can be concluded that the evaluated biochemical tests can be used to identify the beginning of the deteriorating process of rice seeds and that temperatures above 25 °C can depreciate the quality of these seeds.

Key words: *Oryza sativa*. Temperature. Respiration. Malate-dehydrogenase. Glucose-6-phosphate-dehydrogenase.

*Autor para correspondência

¹Recebido para publicação em 01/08/2011; aprovado em 11/03/2012

Parte da Tese de Doutorado do primeiro autor apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Pelotas no ano de 2010

²Departamento de Botânica/Universidade Federal de Pelotas/UFPel, Pelotas-RS, Brasil, marinipati@gmail.com, caroline.moraes@gmail.com

³Programa de Pós-graduação em Agronomia/Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel/FAEM/UFPel, Pelotas-RS, Brasil, nacy_marini@hotmail.com

⁴Departamento de Botânica/UFPel, Caixa postal 354, Pelotas-RS, Brasil, 96.010-900, moraesdm@ufpel.tche.br, lucianoamarante@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

O Brasil é um país de condições climáticas diversificadas entre suas regiões, pois apresenta variações de temperatura que podem causar estresse alterando processos bioquímicos e fisiológicos nas sementes, que, conseqüentemente, acarretarão problemas na produtividade das culturas.

Cada espécie possui um espectro de temperatura limitante e ótima, não somente para o percentual final de germinação como também para a velocidade de germinação em que esta irá ocorrer (SOCOLOWSKI; TAKAKI, 2004). Em temperaturas baixas, a embebição pode ocorrer, mas poderá não ser seguida pelo crescimento do embrião, ou ainda, induzir danos a ele ou às plântulas, impedindo a conclusão do processo. Altas temperaturas podem permitir a embebição, mas não permitem o crescimento do embrião e o estabelecimento da plântula (MATHEUS; LOPES, 2009). 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 em nível de membranas. No entanto, essas variações em nível de membranas nem sempre podem ser avaliadas por testes de germinação e vigor (COUTINHO *et al.*, 2007).

O principal desafio das pesquisas sobre testes de vigor está na identificação de parâmetros relacionados à deterioração de sementes, que precedam a perda da capacidade germinativa. Dentro deste contexto, e tendo o conhecimento de que a temperatura influencia na viabilidade e no vigor da semente, interferindo no seu processo respiratório, a verificação da qualidade fisiológica em sementes, através deste processo tem merecido especial atenção, pela alta relação entre este fenômeno e a qualidade da semente (MENDES *et al.*, 2009).

Aliado a esta importante relação que pode evidenciar os processos iniciais da sequência de deterioração de sementes e, visto que as alterações na fisiologia das sementes estão indiretamente relacionadas com a integridade de suas membranas celulares (CARVALHO *et al.*, 2009), as quais, por sua vez, dependem da natureza das enzimas e proteínas estruturais de cada espécie, uma alternativa enriquecedora seria avaliar, também, a resposta ao estresse por temperatura nas sementes, através 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). Alguns trabalhos estão sendo desenvolvidos no sentido de avaliar essas 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 enzima malato desidrogenase (COUTINHO *et al.*, 2007; PATANÉ *et al.*, 2006; SANTOS *et al.*, 2005).

Diante desses fatos, 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 no ciclo de Krebs da respiração celular, além de participar do movimento de malato através da membrana mitocondrial em outros compartimentos celulares (TUNES *et al.*, 2011).

Portanto, a finalidade desta pesquisa foi analisar o efeito de diferentes temperaturas na atividade respiratória, enzimática e em processos relacionados à qualidade fisiológica de sementes de arroz, bem como utilizar a relação entre esses parâmetros para caracterizar o início do processo de deterioração de sementes.

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Fisiologia de 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 (*Oryza sativa*) cultivar BRS 7 Taim, obtidas no centro de pesquisa Agropecuária de Clima Temperado -CPACT- EMBRAPA.

Os testes de viabilidade e vigor foram realizados após o armazenamento da massa de sementes de arroz nas diferentes temperaturas (15; 25; 30 e 35 °C) de estudo por 24 horas e, em seguida, foram submetidas aos seguintes testes: Teste de germinação: conduzido com 200 sementes (quatro subamostras de 50 sementes) para cada repetição, totalizando quatro repetições. Como substrato foram utilizados rolos de papel germitest, os quais 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; Primeira contagem de germinação: conduzido juntamente com o teste de germinação, sendo a primeira contagem para o arroz aos cinco dias após a semeadura e os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais; o Índice de velocidade de germinação (IVG) foi realizado, conjuntamente, com o teste de germinação, e as contagens diárias realizadas a partir da protusão da radícula pelo tegumento da semente, até que

o número de plântulas emersas permanecesse constante. O último dia de contagem para este teste foi o mesmo prescrito para o teste de germinação e o cálculo do IVG foi efetuado de acordo com Maguire (1962). Os comprimentos da parte aérea e raízes foram obtidos pela média de 40 plântulas por repetição ao final do teste de germinação. A medição destes comprimentos foram obtidos com o auxílio de uma régua graduada em cm e os resultados expressos em mm plântula⁻¹; A massa seca da parte aérea e raízes foi realizada ao final do teste de germinação, determinando-se a massa seca de 40 plântulas por tratamento obtidas gravimetricamente, em estufa a 70 ± 1 °C até obter massa constante, sendo os resultados expressos em mg plântula⁻¹. Na determinação da condutividade elétrica foram utilizadas 400 sementes por tratamento (quatro subamostras de 25 sementes para cada repetição), totalizando quatro repetições. A massa das sementes secas foram determinadas e colocadas em Becker com 80 mL de água deionizada e mantidas em germinador com temperatura constante de 25 °C. Após 24 horas foram realizadas as leituras em condutivímetro de bancada Digimed CD-21, sendo os resultados expressos em dS m⁻¹ (KRZYZANOWSKI; FRANÇA-NETO; HENNING, 1991). A atividade respiratória das sementes de arroz foi determinada no aparelho de Pettenkofer. Foram colocadas 100 gramas de sementes de arroz em um frasco armazenador, o qual foi levado para câmara tipo BOD na temperatura desejada (15; 25; 30 e 35 °C), permanecendo nesta por 24 horas. Após este período, foi realizada a medição da respiração das sementes, segundo metodologia descrita por Mendes *et al.* (2009).

Aos cinco e aos 14 dias após a sementeira (DAS), as plântulas oriundas das sementes submetidas às diferentes temperaturas no teste de germinação, foram coletadas para avaliar a atividade das enzimas respiratórias malato desidrogenase (EC 1.1.1.37) e glicose-6-fosfato desidrogenase (EC 1.1.1.49). O extrato enzimático bruto para a determinação das atividades de ambas as enzimas foi obtido pela homogeneização de aproximadamente 0,800 g de material vegetal (parte aérea e raízes das plântulas) em nitrogênio líquido e polivinilpirrolidona (PVPP 1 % p/v), seguida pela adição de 10 mL de tampão de extração Tris-HCl 0,1 M, pH 7,5, contendo EDTA 3 mM e DTT 1 mM. Após a maceração do material vegetal, o mesmo foi centrifugado a 10.000 x g, por 20 min, à temperatura de 4 ± 1 °C, segundo McCue *et al.* (2000). O sobrenadante obtido foi dessalinizado em coluna sephadex G-25 médio (PD 10; Amersham Pharmacia Biotech) para remover possíveis moléculas que pudessem interferir nas leituras. O eluído foi 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. A atividade da malato desidrogenase (MDH) foi determinada segundo metodologia descrita por

Ochoa (1955) com modificações, pelo monitoramento da oxidação do NADH a 340 nm 25 °C. A reação foi iniciada pela adição de 25 µL do extrato enzimático ao meio de reação contendo NADH 0,1 mM; oxaloacetato 0,253 mM e tampão Tris-HCl 0,1M, pH 7,5 em um volume final de 3 mL. Os resultados foram expressos em µmol de NAD⁺ g⁻¹ MF min⁻¹. A atividade da glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) foi determinada segundo metodologia descrita por Duke *et al.* (1977), pelo monitoramento da redução de NADP⁺ a 340 nm 25 °C. A reação foi iniciada pela adição de 200 µL de extrato enzimático ao meio de reação contendo NADP⁺ 0,2 mM; MgCl₂ 3,3 mM, glicose-6-fosfato 3,3 mM e tampão Tris-HCl 0,1 M, pH 7,5 em um volume total de 3 mL. Os resultados foram expressos em µmol de NADPH g⁻¹ MF min⁻¹.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os dados relativos às variáveis mensuradas foram submetidos à análise de variância com posterior regressão polinomial.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

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

O maior percentual de germinação das sementes foi verificado na temperatura de 25 °C, sendo afetado negativamente nas temperaturas superiores estudadas (30 e 35 °C) (Figura 1A). Estes resultados indicaram que temperaturas superiores a 25 °C são prejudiciais para desencadear o processo germinativo, favorecendo a deterioração das sementes.

Estudando o efeito de diferentes temperaturas sobre a porcentagem de germinação de sementes de rabanete Steiner *et al.* (2009), encontraram que a temperatura de 35 °C influenciou negativamente a germinação de duas das cinco cultivares testadas. Em sementes de coentro, (PEREIRA *et al.*, 2005) e cenoura (PEREIRA *et al.*, 2007), constataram que a germinação foi praticamente nula na mesma temperatura (35 °C) nas cultivares das espécies avaliadas o que corrobora com os resultados desta pesquisa.

Os dados referentes ao vigor, determinado pelo índice de velocidade de germinação e primeira contagem de germinação das sementes de arroz mostraram maior

desempenho na temperatura de 25 °C (Figura 1B e 1C). Quando as sementes foram submetidas às temperaturas de 15 e 35 °C apresentaram menor vigor. A redução do poder germinativo identificado na temperatura de 15 °C pode ter ocasionado menor velocidade de embebição da água, não causando o amolecimento do tegumento e em consequência a protrusão da radícula, caracterizando

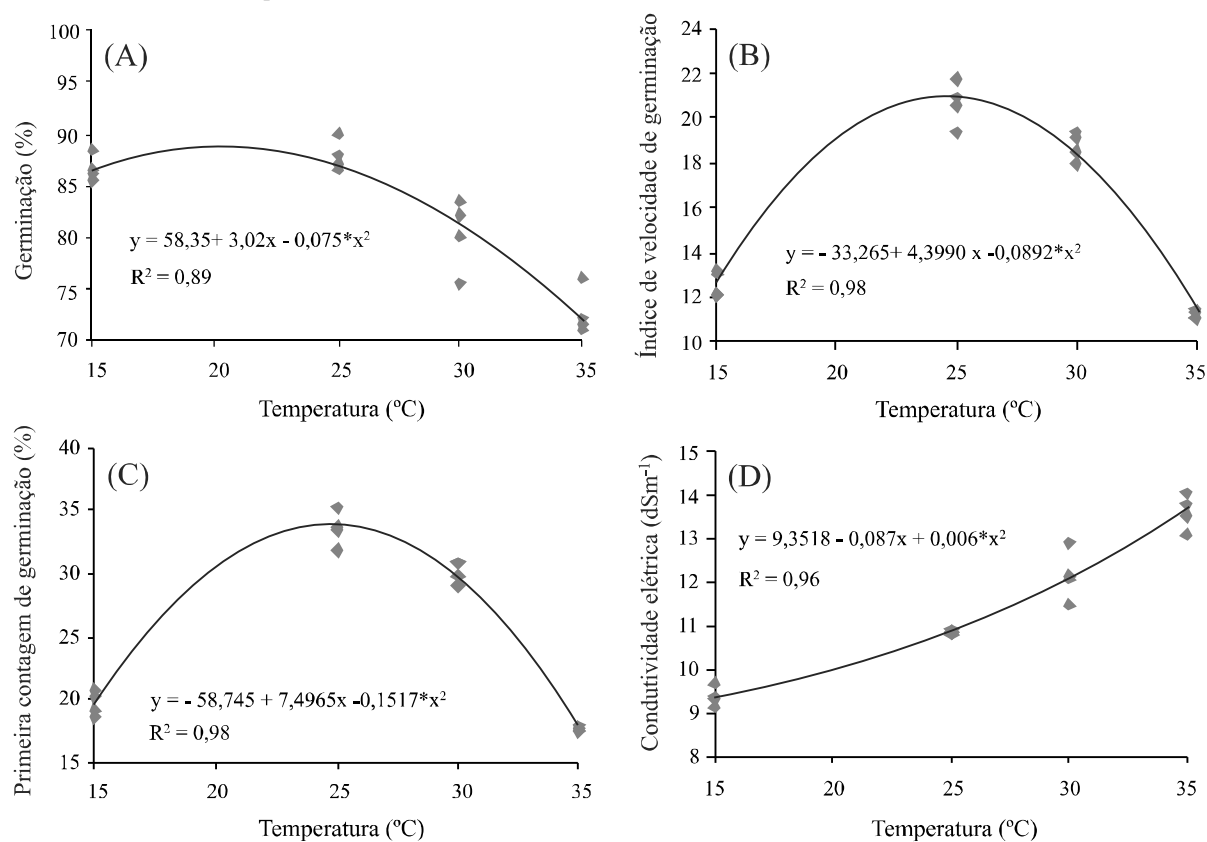
uma condição não ideal para desencadear o processo germinativo e o estabelecimento das plântulas. Já, a temperatura de 35 °C foi elevada o suficiente para causar danos ao sistema de membranas celulares, o que pode ser constatado pelos dados obtidos no teste de condutividade elétrica (Figura 1D), ocasionando redução na germinação e na velocidade de germinação das sementes.

Tabela 1 - Análise de variância para o caráter germinação (G); primeira contagem de germinação (PCG), índice de velocidade de germinação (IVG) e condutividade elétrica (CE) em sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim submetidas a diferentes condições de temperatura (15; 25; 30 e 35 °C) durante 24 horas

Fonte de variação	GL	QM			
		G	PCG	IVG	CE
Temperatura (T)	3	195,68*	242,52*	83,70*	10,89*
Erro	11/12**	5,53	0,60	0,31	0,40
Média Geral	-	8,84	25,21	15,84	11,53
CV (%)	-	2,87	3,08	3,52	5,49

*Significativo ao nível de 5 %, pelo teste F (p < 0,05). GL = Graus de liberdade; QM = Quadrado Médio; CV = Coeficiente de variação, em porcentagem; ** Erro para a variável condutividade elétrica

Figura 1 - Germinação (A), índice de velocidade de germinação (B), primeira contagem de germinação (C) e condutividade elétrica (D) de sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim submetidas a diferentes temperaturas (15; 25; 30 e 35 °C) durante 24 horas. *significativo ao nível de 5 % pelo teste F



Os dados referentes à condutividade elétrica, em 24 horas de embebição, podem ser observados por meio da curva de regressão (Figura 1D), onde o valor relativamente elevado obtido para o coeficiente de determinação ($R^2 = 0,96$; $p \leq 0,05$) permitiu concluir que o modelo quadrático apresentou um bom ajuste em relação aos dados observados.

As altas temperaturas (30 e 35 °C) demonstraram alterações na permeabilidade das membranas e, como consequência, propiciaram maior lixiviação de eletrólitos quando comparadas às temperaturas menores, demonstrando avançado estágio de deterioração das sementes, fato confirmado pelos testes de germinação, índice de velocidade de germinação e primeira contagem de germinação (Figura 1A, 1B e 1C) respectivamente.

Estes resultados indicam que o aumento da temperatura ocasiona aumento da energia de ativação das moléculas, alterando a viscosidade da água e, conseqüentemente, aumentando os valores de condutividade elétrica (ALVES; SÁ, 2009).

A análise de variância evidenciou, pelo teste F, efeitos significativos ao nível de 5%, para as variáveis comprimento da parte aérea e das raízes e massa seca da parte aérea e das raízes das plântulas de arroz cultivar BRS 7 Taim (Tabela 2) provenientes das sementes submetidas às temperaturas de 15; 25; 30 e 35 °C durante 24 horas.

O comprimento e a massa seca da parte aérea e das raízes das plântulas de arroz (Figura 2) nas temperaturas 15; 30 e 35 °C diminuíram, podendo estar relacionado com o processo de deterioração das sementes e, de modo geral, estão de acordo com as demais avaliações da qualidade de sementes realizadas neste estudo (Figura 1).

A análise de variância indica 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 24 horas (Tabela 3).

Os resultados demonstraram que as sementes da cultivar estudada apresentaram menor atividade respiratória quando expostas por 24 horas à temperatura de 15 °C e maior quando expostas a 25; 30 e 35 °C (Figura 3).

Neste intervalo de temperatura (25 a 35 °C) a atividade respiratória cresceu de forma exponencial, ou seja, à medida que aumentou a temperatura de exposição das sementes ocorreu aumento da respiração. A partir deste resultado pode-se inferir que existe relação entre atividade respiratória e a qualidade fisiológica das sementes (Figura 1 e 2), visto que, as sementes de arroz expostas a altas temperaturas (30 e 35 °C) apresentaram menor qualidade fisiológica. Esta observação pode ser reforçada, principalmente, pelos resultados obtidos no teste de condutividade elétrica, o qual revelou tendência à perda da permeabilidade das membranas celulares nas temperaturas de 30 e 35 °C após 24 horas de incubação, o que evidencia maior velocidade do processo de deterioração e está relacionado à alta respiração das sementes expostas a estas temperaturas.

Avaliando a atividade respiratória de sementes de soja cultivar A 8000 RG na temperatura de 25 °C, Mendes *et al.* (2009) também observaram relação entre a respiração e a qualidade fisiológica das 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 sequência 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 (SANTOS *et al.*, 2004).

Tabela 2 - Análise de variância para as variáveis 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 24 horas

Fonte de variação	GL	QM			
		CPA	CR	MSPA	MSR
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 ao nível de 5 %, pelo teste F ($p < 0,05$). GL = Graus de liberdade; QM = Quadrado Médio; CV = Coeficiente de variação, em porcentagem

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 24 horas. *significativo ao nível de 5% pelo teste F

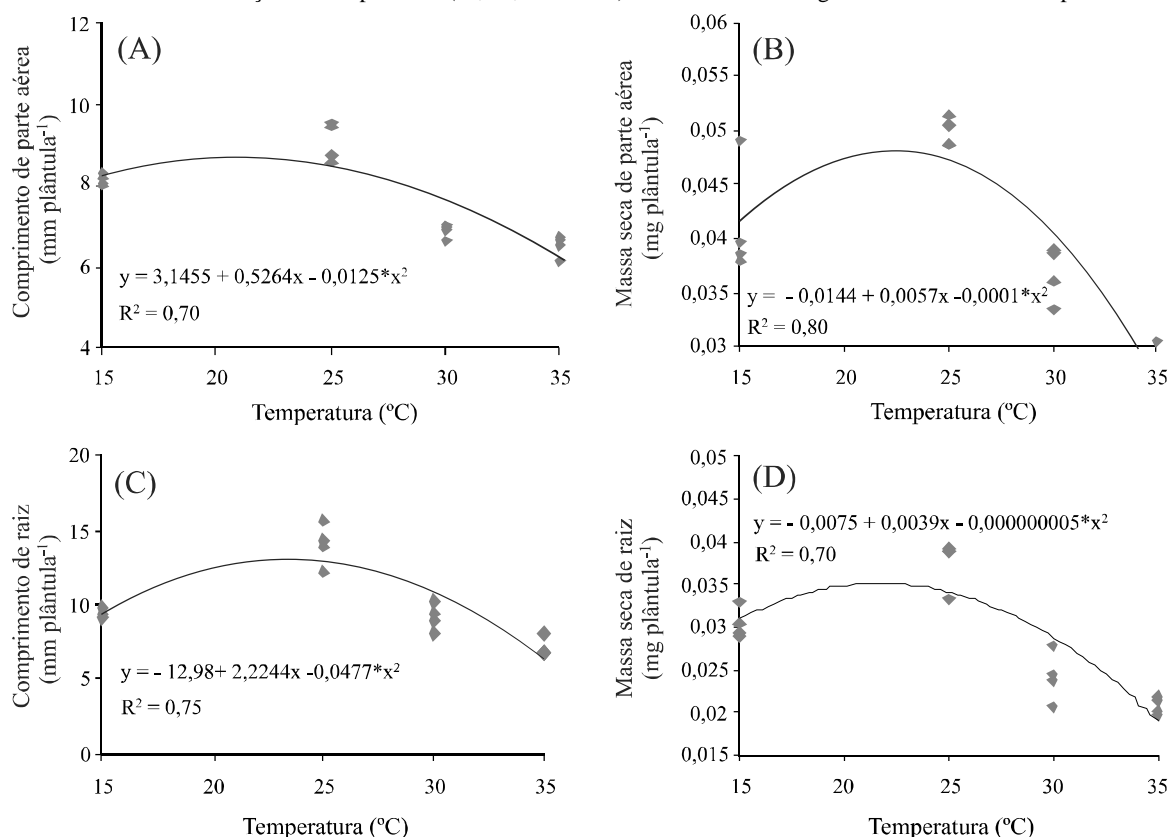


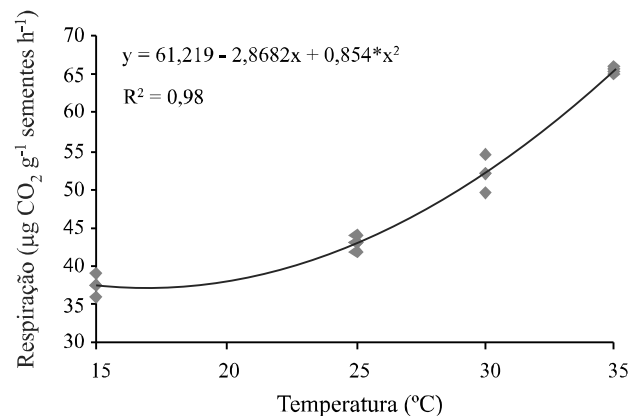
Tabela 3 - Análise de variância da taxa de respiração em sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim submetidas a diferentes temperaturas (15; 25; 30 e 35 °C) durante 24 horas

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 ao nível de 5 %, pelo teste F ($p < 0,05$). GL = Graus de liberdade; QM = Quadrado Médio; CV = Coeficiente de variação, em porcentagem

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, apresentaram

Figura 3 - Taxa respiratória de sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim submetidas a diferentes temperaturas (15; 25; 30 e 35 °C) durante 24 horas. *significativo ao nível de 5% pelo teste F



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) (Tabela 4). Isto indica que houve modificações na ação das enzimas

Tabela 4 - 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 24 horas

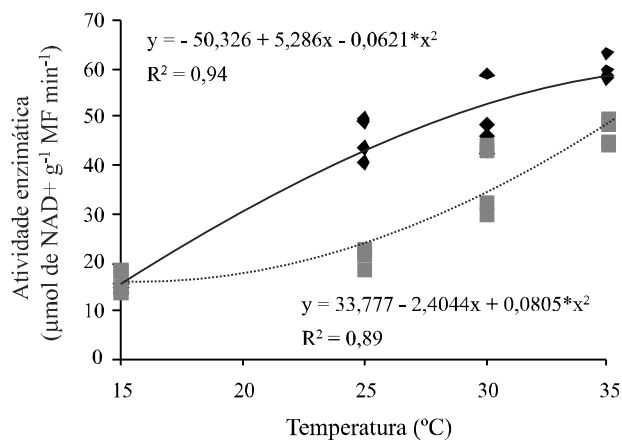
Fonte de Variação	GL	QM	
		MDH	G6PDH
Temperatura (T)	3	2034,343*	0,059*
Período (P)	1	1157,959*	0,036*
T x P	3	229,305*	0,051*
Erro	23	18,212	0,005
Média Geral	-	36,201	0,415
CV (%)	-	11,788	17,308

*Significativo ao nível de 5 %, pelo teste F (p < 0,05). GL = Graus de liberdade; QM = Quadrado Médio; CV = Coeficiente de variação, em porcentagem

durante os dois períodos e em cada temperatura a qual as sementes foram submetidas.

A atividade da enzima malato desidrogenase (MDH) aumentou significativamente com o incremento da temperatura tanto aos cinco 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 quando avaliadas aos cinco DAS, enquanto aos 14 DAS esta enzima apresentou maior atividade em 30 e 35 °C e menor em 15 e 25 °C (Figura 4). Os valores relativamente elevados obtidos

Figura 4 - 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 24 horas. *significativo ao nível de 5 % pelo teste F

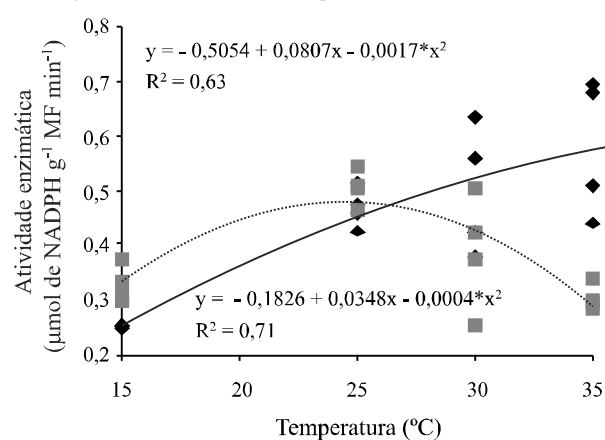


para os coeficientes de determinação, aos cinco DAS ($R^2 = 0,94$; $p \leq 0,05$) e aos 14 DAS ($R^2 = 0,89$; $p \leq 0,05$), permitem concluir que o modelo quadrático apresentou um bom ajuste dos dados para atividade desta enzima.

O aumento da atividade da MDH nas plântulas oriundas de sementes expostas a 35 °C pode ter ocorrido em virtude do aumento da respiração dessas sementes (Figura 3), que, provavelmente, já se encontravam em processo deteriorativo avançado, uma vez que as enzimas envolvidas na respiração podem ser ativadas em sementes de baixa qualidade (SANTOS *et al.*, 2005). O que também foi observado nesta pesquisa, onde as plântulas de arroz mais vigorosas foram aquelas submetidas às temperaturas mais baixas, entre 15 e 25 °C (Figuras 1 e 2) onde ocorreu reduzida atividade da MDH.

A maior atividade enzimática evidenciada a partir de 25 °C não favoreceu o crescimento inicial das plântulas, pois a partir dessa temperatura o crescimento e massa seca de parte aérea e raiz diminuíram (Figura 2). Provavelmente houve transformações degenerativas que levaram ao rápido consumo das reservas das sementes logo no início do processo de germinação (PATANÉ *et al.*, 2006), o que pode ter diminuído a eficiência respiratória, conduzindo ao menor aproveitamento nos processos de síntese, provocando decréscimo da germinação e do vigor das sementes, com reflexos direto em suas plântulas. Na menor temperatura (15 °C) a respiração aconteceu de forma mais lenta e as reservas, por sua vez, não foram utilizadas de forma rápida, o que pode ter favorecido seu desdobramento e, a sua consequente utilização pelas plântulas.

Figura 5 - 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 24 horas*significativo ao nível de 5 % pelo teste F



A atividade da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH), aos cinco dias após a semeadura (DAS) foi superior e sem diferenças significativas nas plântulas de arroz cultivar BRS 7 Taim quando as sementes foram expostas às temperaturas de 25; 30 e 35 °C (Figura 5) porém, quando foram expostas a 15 °C a atividade diminuiu significativamente, o que pode ser evidenciado na curva de regressão ajustada para esta enzima.

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), o que não foi observado nesta pesquisa nas plântulas avaliadas aos cinco DAS, visto que neste período de avaliação a maior atividade dessa enzima foi observada nas plântulas que tiveram suas sementes expostas às temperaturas maiores.

Entretanto, a maior atividade da enzima G6PDH observada na temperatura de 35 °C aos cinco DAS não significou que a atividade respiratória tenha sido eficiente, visto que os testes de vigor por meio da avaliação da condutividade elétrica (Figura 1D), comprimento e massa seca de parte aérea e raiz (Figura 2), mostraram que nesta temperatura as sementes e plântulas apresentaram menor qualidade fisiológica em relação às temperaturas menores testadas e, possivelmente, estivessem entrando num processo de declínio das funções metabólicas, afetando o vigor das plântulas.

Em contrapartida, a curva de regressão referente aos 14 DAS, mostrou tendência de maior atividade da enzima G6PDH nas temperaturas entre 20 e 25 °C, com declínio de sua atividade nas temperaturas extremas de 15 e 35 °C. O que pode ser explicado pelo fato da maioria das plantas submetidas a ambientes estressantes, tais como altas ou baixas temperaturas, mostrarem diminuição da atividade da G6PDH e menor produção de NADPH, culminando com um declínio nas atividades de algumas enzimas antioxidantes NADPH-dependentes, o que resulta em graves danos à estrutura da membrana celular afetando a qualidade das sementes (KEVERS *et al.*, 2004; KOCSY; GALIBA; BRUNOLD, 2001; LIN *et al.*, 2004; LIN *et al.*, 2005).

Desta forma, os resultados obtidos pela atividade das enzimas malato desidrogenase e glicose-6-fosfato desidrogenase, aliados às análises de atividade respiratória, viabilidade e vigor possibilitaram detectar estádios iniciais de deterioração nas sementes de arroz submetidas a estresse térmico.

CONCLUSÕES

1.A atividade respiratória e enzimática mostra alta relação com a qualidade fisiológica das sementes

de arroz cultivar BRS 7 Taim expostas às diferentes temperaturas;

2.A atividade respiratória e enzimática constituem importantes indicativos da perda de qualidade de sementes e podem ser utilizadas para a identificação de parâmetros relacionados à deterioração de sementes;

3.Temperaturas superiores a 25 °C depreciam a qualidade fisiológica das sementes de arroz cultivar BRS 7 Taim.

REFERÊNCIAS

- ALVES, C. Z.; SÁ, M. E. de. Teste de condutividade elétrica na avaliação do vigor de sementes de rúcula. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 01, p. 203-215, 2009.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: SNAD/CLAV, 2009. 398 p.
- CARVALHO, L. F. *et al.* Influência da temperatura de embebição da semente de soja no teste de condutividade elétrica para avaliação da qualidade fisiológica. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 41, n. 01, p. 9-17, 2009.
- COUTINHO, W. M. *et al.* Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de milho submetidas a termoterapia e condicionamento fisiológico. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, n. 06, p. 458-464, 2007.
- DEVI, R. *et al.* Cadmium induced changes in carbohydrate status and enzymes of carbohydrate metabolism, glycolysis and pentose phosphate pathway in pea. **Environmental and Experimental Botany**, v. 61, n. 02, 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, n. 05, p. 716-722, 1977.
- KEVERS, C. *et al.* Hyperhydricity of micropropagated shoots: a typically stress-induced change of physiological state. **Plant Cell Tiss Org Cult**, v. 77, n. 02, 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, n. 02, 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**, v. 01, n. 02, p. 15-50, 1991.
- LIN, S. Z. *et al.* The role of calcium and calmodulin in freezing-induced freezing resistance of *Populus tomentosa* cuttings. **Journal of Plant Physiology and molecular biology**, v. 30, n. 01, p. 59-68, 2004.
- LIN, S. Z. *et al.* Role of glucose-6-phosphate dehydrogenase in freezing-induced freezing resistance of *Populus suaveolens*. **Journal of plant physiology and molecular biology**, v. 31, n. 01, p. 34-40, 2005.

- MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection aid evolution for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 02, n. 02, p. 176-177, 1962.
- McCUE, P. *et al.* A model for enhanced pea seedling vigour following low pH and salicylic acid treatments. **Process Biochemistry**, v. 35, n. 06, p. 603-613, 2000.
- MATHEUS, M. T.; LOPES, J. C. Temperaturas cardinais para a germinação de sementes de *Erythrina variegata* L.. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 03, p. 115-122, 2009.
- MENDES, C. R. *et al.* Respiratory activity for the differentiation of vigor on soybean seeds lots. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 02, p. 171-176, 2009.
- OCHOA, S. Malic deshydrogenase from pig heart. In: COLOWINCK, S. P.; KAPLAN, N. O. (Ed.). **Methods in enzymology** New York: Academic Press, 1955. p. 735-739.
- PATANÉ, C. *et al.* Seed respiration of sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] during germination as affected by temperature and osmoconditioning. **Seed Science Research**, v. 16, n. 04, p. 251-260, 2006.
- PEREIRA, R. S; MUNIZ, M. F. B.; NASCIMENTO, W. M. Aspectos relacionados à qualidade de sementes de coentro. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 03, 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, n. 02, p. 215-219, 2007.
- SANTOS, C. M. R.; MENEZES, N. L.; VILLELA, F. A. Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de feijão envelhecidas artificialmente. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 26, n. 01, p. 110-119, 2004.
- 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, n. 01, p. 104-114, 2005.
- 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**, v. 47, n. 05, p. 785-792, 2004.
- STEINER, F. *et al.* Germinação de sementes de rabanete sob temperaturas adversas. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 04, n. 04, p. 430-434, 2009.
- TUNES, L. M. *et al.* Influência dos diferentes períodos de colheita na expressão de isoenzimas em sementes de cevada. **Revista Ceres**, v. 58, n. 02, p. 178-184, 2011.
- VAN HEERDEN P. D. R. *et al.* Dark chilling increases glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in soybean leaves. **Physiology Plant**, v. 119, n. 01, p. 221-230, 2003.