

DESEMPENHO DE SEMENTES E EXPRESSÃO ISOENZIMÁTICA EM PLÂNTULAS DE FEIJÃO SOB INFLUÊNCIA DE ALTAS TEMPERATURAS DE GERMINAÇÃO

GUILHERME MENEZES SALAU¹; FILIPE FACIN²; FÁBIO CARDONA DA MOTA²; EMANUELA GARBIN MARTINAZZO²; TIAGO PEDÓ; FELIPE KOCH; FRANCISCO AMARAL VILLELA²; TIAGO ZANATTA AUMONDE³

¹ Universidade Federal de Pelotas – guilherme.m.salau@gmail.com

² Universidade Federal de Pelotas – filipe.facin@hotmail.com.br; fabio_cardona_mota@hotmail.com; emartinazzo@gmail.com; tiago.pedo@gmail.com; felipe.koch@hotmail.com; francisco.villela@ufpel.edu.br;

³ Universidade Federal de Pelotas – tiago.aumonde@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O feijão é uma espécie amplamente difundida e cultivada em grande parte dos Estados brasileiros. No Rio Grande do Sul, a espécie é caracterizada pelo cultivo em pequenas propriedades e a produtividade é considerada baixa, fato atribuído em parte, a oscilações de ambiente (CONAB, 2012).

A avaliação de genótipos de feijão frente a condições estressoras de ambiente, que podem exercer reflexos negativos na produtividade e na qualidade de sementes é fundamental para a melhor compreensão de respostas diferenciais de desempenho. Os efeitos ocasionados por temperaturas inadequadas podem ser avaliados pela porcentagem e velocidade de germinação (LABOURIAU & PACHECO, 1979), sendo a maior germinação, atribuída a melhor utilização das reservas e ao eficiente sistema enzimático hidrolítico em sementes (ZIMMER, 2012).

O estudo do desempenho de genótipos de feijão sob influência de temperaturas desfavoráveis de germinação, constitui importante ferramenta na determinação da expressão do vigor de sementes. Desta maneira, a avaliação do perfil eletroforético de isoenzimas pode constituir importante ferramenta na avaliação da qualidade da semente (MUNIZ et al., 2007). Desse modo, a avaliação da esterase é importante por estar envolvida em reações de hidrólises de ésteres, estando diretamente ligada ao metabolismo dos lipídios e fosfolipídios totais de membrana (SANTOS et al., 2005).

Desse modo, o trabalho objetivou avaliar o efeito de temperaturas elevadas na germinação de sementes e na expressão da esterase em plântulas de genótipos de feijão.

2. METODOLOGIA

O experimento foi conduzido no Laboratório Didático de Análise de Sementes e estruturas de apoio do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Pelotas. Foram empregadas sementes dos genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.): Carioca, BRS Expedito e IPR Tuiuiú.

A germinação foi avaliada por meio do emprego de quatro amostras com oito subamostras de 50 sementes, dispostas para germinar em rolos, formados por três folhas de papel *germitest*, umedecidas com água destilada 2,5 vezes a massa seca do papel seco. As sementes foram dispostas para germinar em câmara de germinação do tipo B.O.D. com período luminoso de 12 horas e nas temperaturas de 25, 30 e 35 °C. As avaliações foram efetuadas aos nove dias

após a semeadura e os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais, conforme as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

O teste de primeira contagem de germinação (PCG) foi conduzido conjuntamente ao teste de germinação e avaliado aos cinco dias após a semeadura (Brasil, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

O índice de velocidade de germinação (IVG) foi obtido a partir de contagens diárias das sementes germinadas (protrusão radicular mínima de 3 a 4 mm). As contagens foram realizadas até a obtenção do número constante de sementes germinadas. O IVG foi calculado de acordo com VIEIRA & CARVALHO (1994).

Para a avaliação da expressão da isoenzima esterase, foram coletadas 10 plântulas ao final dos testes de germinação, aos nove dias após a semeadura. A expressão da isoenzima foi determinada pelo sistema de eletroforese vertical em gel de poliacrilamida e para isso, as plântulas foram maceradas separadamente em gral de porcelana, em banho de gelo. Após, 200 mg do macerado de cada amostra foi transferido para tubos de microcentrifuga e acrescidos de solução extratora (Borato de Lítio 0,2 M a pH 8,3 + Tris Citrato+0,2 M à pH 8,3) + 0,15% de 2-mercaptoetanol) na proporção 1:2 (*m/v*). Os sistemas de coloração utilizados foram os descritos por SCANDÁLIOS (1969) e ALFENAS (1998), enquanto, a interpretação dos resultados foi por análise visual dos géis, presença ou ausência e intensidade de expressão das bandas.

O delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado, com oito repetições em esquema fatorial 3 x 3, para cada genótipo. Os dados foram submetidos à análise de variância e submetidos ao teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve interação entre os genótipos e altas temperaturas apenas para a o teste de germinação. Para o genótipo Tuiuiú as sementes de feijoeiro sob efeito da temperatura de 35°C apresentaram as maior porcentagem de germinação e para o genótipo Carioca, a maior germinação ocorreu sob temperatura de 25 e 35 °C (Tabela 1). Para o genótipo Expedito, a germinação foi reduzida com o incremento da temperatura, tendo este genótipo atingido os menores valores comparativamente aos demais nas temperaturas de 30 e 35 °C.

Tabela 1. Germinação (G), primeira contagem (PCG), índice de velocidade (IVG) e velocidade de germinação (VG) de sementes de genótipos de feijão submetidos a três temperaturas de desenvolvimento. UFPel, Pelotas, 2014

Temperatura (°C)	G(%)			PCG(%)			IVG		
	Tu	Ca	Ex	Tu	Ca	Ex	Tu	Ca	Ex
25	96Bab	99Aa	97ABa	78Cc	97Aa	83Bb	47,1Bb	49,3Aa	47,8ABa
30	94Ab	90Bb	86Cb	90Ab	87Ab	83Bb	39,9Ac	26,8Cb	29,3Bc
35	98 Aa	99Aa	87Bb	95Aa	97Aa	87Ba	49,3Aa	41,5Cc	44,5Bb
CV(%)	2,78			2,67			3,42		

¹Médias seguidas da mesma letra, maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($\leq 5\%$). Sendo: Tu = Tuiuiú; Ca = Carioca; Ex = Expedito.

A primeira contagem de germinação demonstrou que o aumento da temperatura ocasionou redução da expressão do vigor das sementes dos três

genótipos (Tabela 1). Os resultados da primeira contagem foram similares aos do teste de germinação. As sementes dos três genótipos na temperatura de 30 °C apresentaram menores valores quando comparada a temperatura de 35 °C.

O índice de velocidade de germinação, na temperatura de 30 °C foi menor em sementes de feijão dos genótipos Carioca, Expedito e Tuiuiú, respectivamente (Tabela 1). Na temperatura de 35 °C foram observados os maiores resultados para o genótipo Tuiuiú e na temperatura de 25 °C, o maior índice de velocidade de germinação foi observado no Expedito e Carioca que não diferiram estatisticamente entre si. Os maiores índices de velocidade de germinação permitem inferir que os genótipos com maior índice apresentaram superior número de sementes germinadas por dia.

A expressão da isoenzima esterase foi distinta em plântulas desenvolvidas sob as diferentes temperaturas de germinação (Figura 1). Na temperatura de 25 °C houve maior intensidade na expressão das bandas (3 alelos). A temperatura de 30 °C resultou na menor intensidade de expressão de bandas comparativamente a temperatura de 25 °C (3 alelos). No entanto, na temperatura de 35 °C houve a menor expressão de bandas (*EST7*; *EST8*) quando comparadas as demais temperaturas. O menor número de bandas foi observado nas plântulas do genótipo Tuiuiú comparativamente às plântulas dos genótipos Carioca e Expedito, esta enzima está envolvida em reações de hidrólise de ésteres e estreitamente relacionada ao metabolismo de lipídios (SANTOS et al., 2005).

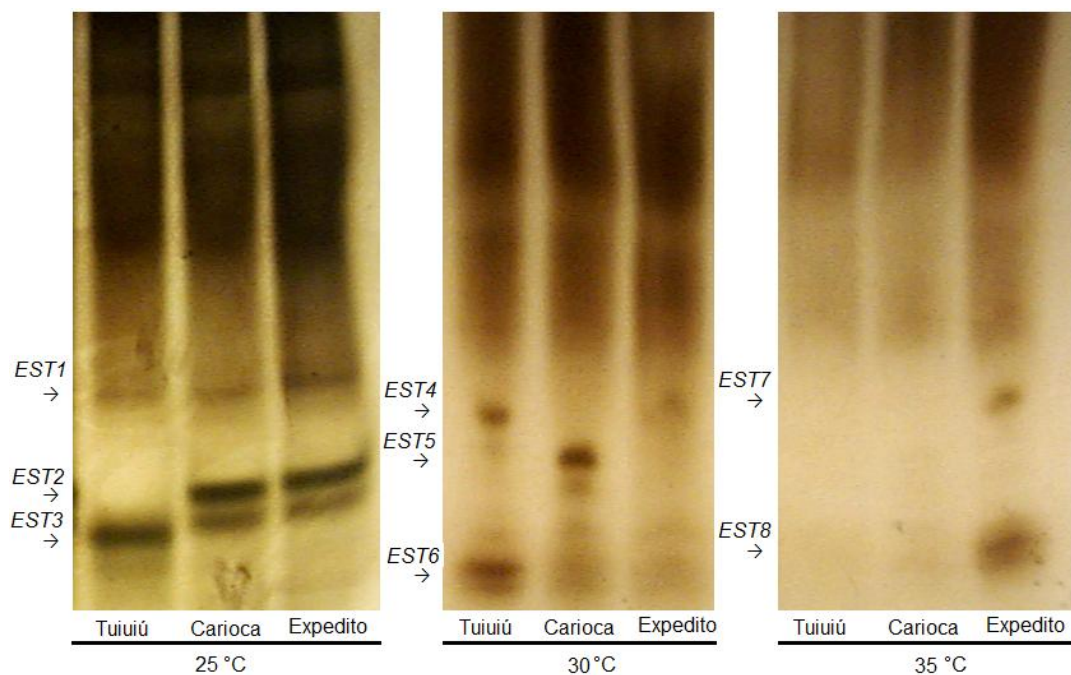


Figura 1. Expressão da isoenzima esterase em plântulas de três genótipos de feijão desenvolvidas sob três temperaturas de germinação.

4. CONCLUSÕES

O desempenho germinativo de sementes e expressão da isoenzima esterase em plântulas de feijão em resposta a alta temperatura é dependente do genótipo. Temperaturas mais elevadas resultam em maior dano ao processo germinativo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFENAS, A.C. ***Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos.*** Viçosa: UFV, 574p, 1998.

BRASIL. Ministério da Agricultura e reforma Agrária. **Regras para análise de sementes.** SNDA/DNDV/CLAV, p. 365, 2009.

CONAB - **Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento de safra brasileira: grãos, nono levantamento, junho 2012.** Brasília, 2012. Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/12_06_12_16_15_32_boletim_portugues_junho_2012.pdf. Acesso 07/07/2014.

LABOURIAU, L.G. & PACHECO, A. On the frequency of isothermal germination in seeds of *Dolichos biflorus* L. **Plant and Cell Physiology**, v.19, p.507-512, 1978.

MUNIZ, F. R.; CARDOSO, M. G.; PINHO, É. V. R. V.; VILELA, M. Qualidade fisiológica de sementes de milho, feijão, soja e alface na presença de extrato de tiririca. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 2, p. 195-204, 2007.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados na avaliação de plântulas. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. (ed.) **Testes de vigor em sementes.** Jaboticabal: FUNEP, 1994. p.49-85.

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.1, p.104-114, 2005.

SCANDÁLIOS, J.G. Genetic control of multiple molecular forms of enzymes in plants: a review. **Biochemical Genetics**, v.3, n.1, p.37-79, 1969.

SINHÁ, S.; SAXENA, R. Effect of iron on lipid peroxidation, and enzymatic and nonenzymatic antioxidants and bacoside-a content in medicinal plant bacopa monnieri l. **Chemosphere**, v.62, p.1340-1350, 2006.

ZIMMER, P.D. Fundamentos da qualidade de sementes. In: PESKE, S.T.; VILLELA, F.A.; MENEGHELLO, G.E. (Eds.). 3 ed. **Sementes: Fundamentos Científicos e Tecnológicos.** UFPel, 2012. p.106-160.