



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E BIODIVERSIDADE**

**QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE
CULTIVARES DE ALFACE SOB DIFERENTES
TEMPERATURAS NA GERMINAÇÃO**

FERNANDO ARAUJO DE ALMEIDA

2016



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E BIODIVERSIDADE**

FERNANDO ARAUJO DE ALMEIDA

**QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE
CULTIVARES DE ALFACE SOB DIFERENTES
TEMPERATURAS NA GERMINAÇÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Sergipe, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agricultura e Biodiversidade, área de concentração em Agricultura e Biodiversidade, para obtenção do título de “Mestre em Ciências”.

Orientador
Prof.^a Dr.^a Renata Silva-Mann

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE – BRASIL
2016

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

A447q Almeida, Fernando Araujo de
Qualidade fisiológica de sementes de cultivares de alface sob diferentes temperaturas na germinação / Fernando Araujo de Almeida; Orientadora Renata Silva-Mann. – São Cristóvão, 2016.
42 f.: il.

Dissertação (mestrado em Agricultura e Biodiversidade) – Universidade Federal de Sergipe, 2016.

1. Alface. 2. Germinação. 3. Fisiologia vegetal. I. Silva-Mann, Renata, orient.
II. Título.

CDU 635.52

FERNANDO ARAUJO DE ALMEIDA

**QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE CULTIVARES DE ALFACE SOB
DIFERENTES TEMPERATURAS NA GERMINAÇÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Sergipe, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agricultura e Biodiversidade, área de concentração em Agricultura e Biodiversidade, para obtenção do título de “Mestre em Ciências”.

APROVADA em 27 de abril de 2016.

Prof. Dr. Arie Fitzgerald Blank
UFS

Prof.^a Dr.^a Heloisa Oliveira dos Santos
UFLA



Prof.^a Dr.^a Renata Silva-Mann
UFS
(Orientadora)

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE – BRASIL

Aos que mais amo na minha vida

A minha esposa, Ana Flávia por sempre me estimular nesta caminhada.

OFEREÇO

*Aos meus pais, José Fernandes de Almeida e Anaiza de
Sousa Araujo,
por me incentivar a desbravar os caminhos que a vida oferece.*

*Ao meu querido irmão,
Fabrício Araujo de Almeida pelo
apoio sempre demonstrado.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por tornar este sonho possível e por sempre me dar forças para lutar em prol dos meus objetivos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Biodiversidade, por sempre procurar formar profissionais capacitados às exigências do atual mercado de trabalho.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Agricultura por possibilitar a realização do experimento de Mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de mestrado no início do curso.

À minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Renata Silva-Mann por seu apoio e paciência durante estes dois anos. Seus conselhos e ensinamentos me levaram a concluir este trabalho.

À Prof^a. Dr^a. Heloisa Oliveira dos Santos por acreditar no meu potencial e abrir as portas do Laboratório de Central de Sementes (LAS) do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras, para que todo o experimento fosse conduzido. A sua receptividade, orientação e ensinamentos foram essenciais para a realização deste sonho. Ah, sua maestria na arte de viver é ímpar, levarei comigo por toda a vida.

Ao prof. Wilson Maluf que cedeu as sementes para a realização deste trabalho.

A Daniel Ornelas e Ricardo Manoel pelos ensinamentos. A Anderson Pereira que contribuiu para desenvolver parte dos experimentos e pelos momentos de descontração.

A todos do LAS do Departamento de Agricultura da UFLA que me acolheram de braços abertos no momento que mais precisei e tornaram os meus dias mais leves, especialmente, aos técnicos do laboratório, Jaqueline e Geraldo, os quais disponibilizaram todos os materiais que necessitei utilizar no laboratório sem hesitar.

A Rucyan que gentilmente disponibilizou parte do seu tempo para compartilhar seus conhecimentos teórico-práticos sobre análise proteômica. Sou grato por todo o auxílio que me concedeu durante todo o tempo que estive no LAS.

A todos do grupo do Grupo de Pesquisa em Conservação, Melhoramento e Gestão de Recursos Genéticos - GENAPLANT, principalmente, Maria Lícia Ribeiro que tenho uma grande admiração pela sua dedicação e persistência nos objetivos.

Aos meus colegas de Pós-Graduação, em especial, Bruno e Fabiany que sempre estiveram à disposição para a construção do meu aprendizado na pesquisa, a amizade e companheirismo.

Às minhas tias, Givalda Fernandes e Maria Alice, por sempre me estimularem nos estudos e torcerem pelo meu sucesso.

Enfim, a todos aqueles que participaram direta ou indiretamente dessa conquista, meu muito obrigado!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	ii
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	iii
RESUMO	iv
ABSTRACT	v
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	2
2.1 Aspectos gerais da cultura da alface (<i>Lactuca sativa</i> L.).....	2
2.2 Resistência a altas temperaturas em germoplasma de alface.....	2
2.3 Influência da temperatura na germinação de sementes de alface	3
2.4 Dormência em sementes	4
2.5 Função das enzimas durante a germinação	5
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	7
3.1 Local e material vegetal	7
3.2 Análises fisiológicas e bioquímicas	7
3.3 Análises estatísticas	8
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	9
5. CONCLUSÕES.....	21
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22
ANEXO	30

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Perfil eletroforético para a enzima esterase em sementes de cultivares de alface em função da temperatura de germinação. UFS, São Cristóvão, Sergipe, 2016	15
2	Perfil eletroforético para a enzima catalase em sementes de cultivares de alface em função da temperatura de germinação. UFS, São Cristóvão, Sergipe, 2016	16
3	Perfil eletroforético para a enzima glutamato oxalacetato transferase em sementes de cultivares de alface em função da temperatura de germinação. UFS, São Cristóvão, Sergipe, 2016	17
4	Perfil eletroforético para a enzima malato desidrogenase em sementes de cultivares de alface em função da temperatura de germinação. UFS, São Cristóvão, Sergipe, 2016	19
5	Perfil eletroforético para a enzima álcool desidrogenase em sementes de cultivares de alface em função da temperatura de germinação. UFS, São Cristóvão, Sergipe, 2016	20
6	Perfil eletroforético para a enzima piruvato descarboxilase em sementes de cultivares de alface em função da temperatura de germinação. UFS, São Cristóvão, Sergipe, 2016	20

LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
1	Teste de germinação (%) aos sete dias, primeira contagem da germinação (%), teste de germinação (%) aos onze dias, velocidade de germinação e índice de velocidade de germinação em dias, em cultivares de alface (<i>Lactuca sativa</i> L.), em função da temperatura. UFS, São Cristóvão, Sergipe, 2016	9
2	Variações na densidade (pixels) de alelos enzimáticos para perfis eletroforéticos detectadas por software ImageJ em cultivares de alface, em função da temperatura. UFS, São Cristóvão, Sergipe, 2016.....	14

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ADH	Álcool desidrogenase
ATP	Adenosina trifosfato
B.O.D	Biochemical Oxygen Demand/ Demanda Bioquímica de Oxigênio
CAT	Catalase
DAG	Departamento de Agricultura
EST	Esterase
g	Gramas
GOT	Glutamato oxalacetato transferase
h	Horas
IVG	Índice de velocidade de germinação
LAS	Laboratório Central de Sementes
MDH	Malato desidrogenase
NAD ⁺	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo oxidado
NADH	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo reduzido
PDC	Piruvato descarboxilase
UFLA	Universidade Federal de Lavras
UFS	Universidade Federal de Sergipe

RESUMO

ALMEIDA, Fernando Araujo de. **Qualidade fisiológica de sementes de cultivares de alface sob diferentes temperaturas na germinação**. São Cristóvão: UFS, 2016. 42p. (Dissertação – Mestrado em Agricultura e Biodiversidade). *

O objetivo neste trabalho foi avaliar a fisiologia e bioquímica de sementes de alface por meio da germinação e expressão das enzimas álcool desidrogenase (ADH), malato desidrogenase (MDH), catalase (CAT), esterase (EST), piruvato descarboxilase (PDC) e glutamato oxalacetato transferase (GOT) em diferentes temperaturas. Sementes de quatro cultivares de alface foram submetidas aos testes de germinação e primeira contagem nas temperaturas de 20, 25, 30, 35, 40 e 42°C. Foram calculados o índice de velocidade de germinação (IVG), a porcentagem de germinação, e avaliadas a expressão das enzimas álcool desidrogenase (ADH), malato desidrogenase (MDH), catalase (CAT), esterase (EST), piruvato descarboxilase (PDC) e glutamato oxalacetato transferase (GOT). Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 4x6, testando quatro cultivares e seis temperaturas, com quatro repetições. Os maiores valores de germinação e vigor foram observados para a cv. Everglades, à temperatura de 35°C, comprovando a termotolerância. A enzima catalase pode ser considerada marcadora para identificação de cultivares de alface termotolerantes. A cultivar Everglades tem potencial para utilização em programas de melhoramento de alface com vistas à tolerância a altas temperaturas durante a germinação.

Palavras-chave: *Lactuca sativa* L.; isoenzimas; termotolerância.

* Comitê Orientador: Prof.^a Dr.^a Renata Silva-Mann – UFS (Orientador). Prof.^a Dr.^a Heloisa Oliveira dos Santos. Prof. Dr. Arie Fitzgerald Blank.

ABSTRACT

ALMEIDA, Fernando Araujo. **Physiological quality of lettuce cultivars seeds under different temperatures on germination.** São Cristóvão: UFS, 2016. 42p. (Dissertation – Master Science in Agriculture and Biodiversity). *

The objective of this study was to evaluate the physiology and biochemistry of lettuce seed through germination and expression of the enzymes alcohol dehydrogenase (ADH), malate dehydrogenase (MDH), catalase (CAT), Esterase (EST), pyruvate decarboxylase (PDC) and glutamate oxalacetate transferase (GOT) at different temperatures. Seeds of four lettuce cultivars were submitted to germination and the first germination was tested under the temperatures of 20, 25, 30, 35, 40 and 42°C. The germination speed index (IVG), the percentage of germination were estimated, and the expression of the enzyme alcohol dehydrogenase (ADH), malate dehydrogenase (MDH), catalase (CAT), esterase (EST), pyruvate decarboxylase (PDC) and glutamate oxalacetate transferase (GOT) evaluated. The experimental design was completely randomized, in a 4x6 factorial scheme, with four cultivars and six different temperatures, with four replications. The highest values of germination and vigor were observed for cv. Everglades at 35°C, proving the thermotolerance. The catalase may be considered a marker for identification of thermotolerant lettuce cultivars. Cultivar Everglades has potential for use in lettuce breeding programs aiming at temperature tolerance during germination.

Keywords: *Lactuca sativa* L.; isoenzymes; thermotolerance.

* Supervising Committee: Prof.^a Dr. ^a Renata Silva-Mann – UFS (Orientador). Prof.^a Dr. ^a Heloisa Oliveira dos Santos. Prof. Dr. Arie Fitzgerald Blank.

1. INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa* L.) é uma espécie que possui elevado valor econômico e tem sido apreciada pela população mundial, geralmente, na forma de saladas e sanduíches.

A temperatura ótima para germinação das sementes de alface está em torno de 20°C (NASCIMENTO, 2003). Em geral, temperaturas acima de 30°C afetam a germinação e podem ocasionar a dormência das sementes. Assim, como na maior das regiões do Brasil, especialmente no Nordeste, predomina temperaturas altas por todo o ano, a germinação das sementes de alface pode ser reduzida e, conseqüentemente, comprometer o estande no campo, resultando em prejuízos para o produtor.

O comprometimento da germinação das sementes de alface quando embebidas pode se dar sob condições de temperaturas elevadas, com a termoinibição que é um processo reversível, uma vez que a germinação ocorre quando a temperatura se reduz a um nível adequado. Pode também ocorrer a inibição completa da germinação com a termodormência (KOZAREWA et al., 2006). Esses fenômenos acontecem em virtude da manutenção da rigidez do endosperma, que acaba restringindo a protrusão da radícula (NASCIMENTO et al. 2003).

Atualmente, uma das preocupações dos melhoristas é obter cultivares resistentes a termodormência das sementes, principalmente ao se considerar que a cultura tem sido plantada em diversas regiões do nordeste do Brasil que possuem altas temperaturas.

Além das alterações fisiológicas causadas pelas altas temperaturas nas sementes, ocorrem ainda alterações nos padrões enzimáticos. Logo, é importante analisar as enzimas que estão relacionadas com a germinação de sementes de alface, sob a temperatura ótima e crítica para esta cultura, e observar diferenças nos perfis eletroforéticos que poderão auxiliar na identificação de genótipos termotolerantes.

Desta forma, objetivou-se no presente trabalho avaliar a qualidade fisiológica de sementes e diferenças nas atividades bioquímicas de enzimas na germinação sob diferentes temperaturas, para quatro cultivares de alface.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Aspectos gerais da cultura da alface (*Lactuca sativa* L.)

A alface (*Lactuca sativa* L.) é uma planta herbácea anual pertencente à família Asteraceae (Compositae), que é uma das maiores famílias e apresenta diversas plantas com flores (BOO et al., 2011). É uma espécie autógama, possuindo $2n=2x=18$ cromossomos (MOHEBODINI et al., 2011). Originária de regiões de clima temperado, sul da Europa e Ásia Ocidental (FILGUEIRA, 2003).

Sendo a hortaliça folhosa mais consumida no Brasil, ela é produzida em cinturões verdes próximos aos grandes centros consumidores por causa de sua rápida perecibilidade no período pós-colheita, devido ao seu alto teor de água e grande área foliar (SANTOS et al., 2001). A alface é uma razoável fonte de vitaminas, cujo aproveitamento pelo organismo é favorecido por ser consumida crua (CAETANO et al., 2001).

As raízes desta hortaliça quando conduzidas em sistema de transplântio, apresentam ramificações finas e curtas, penetrando apenas os primeiros 25 cm de solo (FIGUEIRA, 2003), sendo a maior parte encontrada na faixa de 0-20 cm de profundidade, entretanto, quando semeadas diretamente nos canteiros, são do tipo pivotante, as quais podem atingir até 60 cm de profundidade. É uma planta dicotiledônia, consumida *in natura* durante sua fase vegetativa. Ao surgir a fase reprodutiva a planta emite uma inflorescência que é uma panícula constituída por diversos botões florais denominados de capítulos (RYDER, 1986; KRÍSTKOVÁ et al., 2008).

A alface é uma cultura que possui ciclo curto, possibilitando várias colheitas durante um mesmo ano, o que acarreta benefícios do ponto de vista social, garantindo a renda ao longo de todo o ano levando a sustentabilidade do sistema de produção. Com a modernização da agricultura, tornou-se mais fácil a produção da alface nas diversas regiões, mas ainda persistem fortes limitações. A maior parte das cultivares comercializadas é sensível ao calor, o que resulta na emissão da haste floral precocemente (FILHO et al., 2009).

A qualidade das características agrônômicas da cultura da alface depende de condições edafoclimáticas que podem ser favoráveis ou desfavoráveis, sendo favoráveis ambientes com temperaturas amenas ou baixas, solos com boa estrutura física e ricos em nutrientes, devido à planta ser muito exigente em água (SILVA et al., 2011). Outro fator essencial para que a cultura se desenvolva e obtenha plantas com características desejáveis é que o solo possua textura média (BATISTA et al., 2012; OLFATI et al., 2011).

Apesar dos trabalhos de melhoramento de alface no Brasil terem alcançado resultados significativos e contribuído para o plantio desta espécie, em quase todo o país, ainda persistem alguns problemas, como o florescimento precoce, geralmente, em condições de verão ou nas regiões com temperaturas mais elevadas (SILVA et al., 2008) e a termodormência das sementes, ou seja, a dormência imposta pela germinação em condições de alta temperatura. Assim, é de fundamental importância a busca de alternativas para possibilitar a produção de alface de qualidade durante todo o ano, visando o desenvolvimento de tecnologias de sementes ajustadas aos diferentes genótipos.

2.2 Resistência a altas temperaturas em germoplasma de alface

A identificação de germoplasmas de alface resistentes a temperaturas elevadas é uma alternativa para obter a produção desta olerícola durante todo o ano em regiões que a temperatura ultrapassa os 30°C, como na maior parte das regiões do Brasil. A alface tipo lisa é uma alternativa de mercado ao produtor, apresentando vantagens como a existência de materiais com resistência ao calor e ao pendoamento (FILGUEIRA, 2003), o que pode contribuir para a competitividade dos produtores (DIAMANTE et al., 2013).

Apesar da alface tipo lisa apresentar vantagens para o cultivo em regiões de altas temperaturas, as cultivares tipo crespa continuam sendo estudadas para estas regiões. Em trabalho visando avaliar o comportamento de cultivares de alface crespa em regiões tropicais observou-se que as cultivares Cinderela, Marisa e Elba são promissoras para o cultivo na região, no período de outubro a novembro, apesar de terem apresentado uma leve tendência ao alongamento do caule. A cultivar Simpson Elite também apresentou boa produção de massa fresca, diâmetro da planta, além de um menor tamanho do caule, mostrando tolerância a temperaturas mais elevadas. Em relação à característica comprimento do caule que indica resistência ao pendoamento, verificou-se maior desempenho das cultivares Vanda e Isabela, destacando que estas podem ser mantidas por um período maior no campo (SANTOS et al.)

A alface pode ser classificada em duas classes relacionadas com a temperatura: termosensível ou termotolerante. As cultivares termotolerantes podem germinar acima de 90% a 36°C na presença de luz (NASCIMENTO et al., 2002). Desta forma, vários programas de melhoramento têm trabalhado no intuito de obter genótipos de alface tolerantes a altas temperaturas. Em estudo realizado por Nascimento et al. (2012) com vinte cultivares de alface em condições de temperatura ideal 20°C, temperatura intermediária 27,5°C e temperatura crítica 35°C foram identificados dois genótipos termotolerantes, Vitória de Verão e Camila, obtendo germinação acima de 90% nas temperaturas favorável e crítica máxima.

Outras cultivares de alface tem sido identificadas como termotolerantes. Como observado no estudo realizado por Catão et al. (2014) com oito cultivares de alface Everglades, Babá de Verão, Elisa, Luiza, Grand Rapids, Hortência, Salinas 88 e Rubete, onde confirmou-se a termotolerância para a cultivar Everglades a 35°C. Assim, esta cultivar pode ser cultivada pelos produtores em regiões de altas temperaturas.

Em estudo com as cultivares comerciais de alface Vitória, Brasil 303, Elisa e Babá sob altas temperaturas em cultivo protegido em três épocas de plantio na região norte-fluminense verificou-se que as cultivares Vitória e Elisa podem ser recomendadas para plantio em cultivo protegido na região Norte-Fluminense, quaisquer que sejam as épocas de cultivo (SILVA et al., 1999). Por outro lado, ao avaliar o comportamento de cultivares de alface do tipo americana Delícia, Teresa, Lucy Brown, Raider Plus, Mauren e Angelin sob clima tropical no município de Cáceres-MT, em duas épocas de colheita observou-se que as cultivares Teresa e Delícia foram as mais indicadas para as condições climáticas de Cáceres – MT, e a colheita deve ser realizada aos 67 dias após a semeadura (SOUZA et al., 2013). Apesar do crescente número de trabalhos sobre termotolerância em sementes de alface, ainda é necessário desenvolver novas pesquisas para identificar possíveis genótipos resistentes a altas temperaturas.

2.3 Influência da temperatura na germinação de sementes de alface

As sementes de alface são sensíveis à temperatura e à umidade do meio em que germinam (BERTAGNOLLI et al., 2003; CATÃO et al., 2014). Desta forma, quando semeada sob elevadas temperaturas, em estufas ou no campo, as sementes de alface podem exibir redução da germinação ou da uniformidade de emergência das plântulas, as quais poderão reduzir a produtividade e, conseqüentemente, o lucro do produtor (NASCIMENTO, 2002).

As sementes de alface são reconhecidamente problemáticas em termos de qualidade fisiológica, revelando alta sensibilidade às condições de ambiente, frequentemente inadequadas para a ocorrência de rápida emergência e desenvolvimento inicial da planta. Um dos mais importantes sintomas do declínio da qualidade fisiológica é a lentidão do processo de germinação, acompanhada pelo aumento do período decorrido entre a germinação da primeira e da última semente de um lote e, conseqüente, desuniformidade entre plântulas de um mesmo lote (EIRA, 1990).

As primeiras horas de embebição de água pelas sementes de alface são as mais críticas e devem ocorrer sob temperaturas mais amenas. Desta forma, a probabilidade de ocorrer

aumento na germinação será sempre maior nas sementes embebidas sob baixas temperaturas, do que naquelas embebidas sob altas temperaturas (NASCIMENTO, 2002). Além disso, esta espécie pode apresentar redução na percentagem de germinação devido à presença de dormência nas sementes.

Quando ocorrem condições de altas temperaturas durante a embebição das sementes de alface, pode ser observado a termoinibição, um processo reversível, uma vez que a germinação ocorre quando a temperatura reduz para um nível mais adequado e/ou a termodormência, também chamada de dormência secundária, onde as sementes não germinarão, mesmo após a redução da temperatura (CANTLIFFE et al., 2000).

O mecanismo de ação da germinação de sementes de alface em altas temperaturas parece estar relacionado com o enfraquecimento do endosperma, o qual permite o crescimento do embrião em temperaturas elevadas. As primeiras horas de embebição são críticas para sementes de alface germinarem sob condições de altas temperaturas devido o embrião estar completamente incluído dentro do endosperma onde a radícula deve penetrar para crescer e terminar a germinação (NASCIMENTO, 2003; NASCIMENTO et al., 2004).

De acordo com Sung et al. (2008) o endosperma se apresenta como o principal órgão que impede o crescimento do embrião em sementes de alface e, para que possa ocorrer à germinação, há a necessidade que o embrião consiga romper as barreiras físicas que as envolvem. Porém, segundo Hacısalihoglu et al. (1999) o embrião não possui essa capacidade para romper essas barreiras. Desta forma, a atividade de enzimas faria o enfraquecimento da parede que envolve o embrião, tornando seu desenvolvimento possível (CATÃO, 2014).

De acordo com Sung et al. (2008) e Catão et al. (2014) a enzima que esta envolvida no enfraquecimento da parede celular do endosperma de sementes de alface é a endo- β -mananase (SUNG et al., 2008). Existem relatos da relação entre a atividade da endo- β -mananase antes da protrusão radicular e a diminuição da resistência do endosperma com a germinação em altas temperaturas (NASCIMENTO et al., 2001).

2.4 Dormência em sementes

A dormência de sementes é definida como a inabilidade da semente germinar quando submetida a condições favoráveis de germinação que são água, luz, temperatura e oxigênio.

Fatores localizados nos tecidos extra-embriônicos participam do controle da dormência, como no caso da dormência tegumentar, a qual é influenciada pelas características anatômicas dos envoltórios. Desta forma, a semente é dormente apenas devido aos tecidos que envolvem o embrião que exercem uma restrição que o embrião não pode vencer. Esse tipo de dormência é denominado de exógena. Por outro lado, em alguns casos, a remoção das estruturas que envolvem o embrião não permite que esse germine normalmente, pois o embrião encontra-se dormente, a qual é denominada de dormência endógena (NASCIMENTO; CRODA; LOPES, 2012).

O estágio de desenvolvimento e maturação das sementes, no qual se estabelece a dormência varia entre espécies. Além disso, as sementes podem apresentar dormência primária ou secundária. Estes são processos independentes, uma vez que a semente pode adquirir a dormência secundária sem ter sido dormente ou após ter superado a dormência primária (NASCIMENTO, 2002).

A dormência primária se instala na fase de desenvolvimento ou maturação das sementes, enquanto estas ainda se encontram fisiologicamente ligadas à planta mãe. Desta forma, os mecanismos que levam a esse tipo de dormência são genéticos, podendo ser de natureza física ou fisiológica, de forma que as sementes de algumas espécies não germinam logo após a colheita (FOLEY & FENNIMORE, 1998; SHU et al., 2013; VAISTIJ et al., 2013).

A dormência primária possibilita a desuniformidade na germinação de sementes. Por outro lado, contribui para várias espécies, pois, impede a germinação de sementes na própria

planta, caso as condições climáticas sejam favoráveis (FINCH-SAVAGE; LEUBNER-METZGER, 2006).

A temperatura ótima para a germinação das sementes de genótipo de alface é de cerca de 20°C (NASCIMENTO, 2003). De acordo com Gray (1975) a depender do genótipo a alface pode germinar com temperatura de 5 a 33°C. As sementes de alface apresentam termoinibição em temperaturas superiores a 28-30°C (BERRIE, 1966; THOMPSON, 1979; GONAI, 2003). As sementes desta cultura são comercializadas quando a porcentagem de germinação é igual ou superior a 70% (MAPA, 1986).

Vários métodos para reduzir o problema da termoinibição têm sido propostos, incluindo a utilização de germoplasmas tolerantes, ajuste do ambiente de produção de sementes, utilização de reguladores vegetais e condicionamento osmótico das sementes (BUFALO et al., 2012).

2.5 Função das enzimas durante a germinação

A qualidade fisiológica de sementes de alface pode ser afetada pela alta temperatura a qual esta semente está sujeita no momento da germinação, sendo essa característica importante durante o processo de seleção realizado nos programas de melhoramento.

Da maturidade fisiológica até a sementeira, as sementes estão sujeitas a perda da qualidade fisiológica, devido às alterações que ocorrem em níveis fisiológicos, de transcritos e proteicos. Quando as sementes são expostas a altas temperaturas no decorrer do processo de germinação estas alterações podem ser aceleradas. Na maioria das vezes a deterioração é imperceptível na fase inicial e manifesta-se no decorrer do tempo, provocando reflexos negativos no vigor (FRANZIN et al., 2004).

A alteração no funcionamento das membranas, por altas temperaturas, compromete as rotas metabólicas das plantas, com relação à respiração e a fotossíntese. Na fotossíntese resultam alterações nas propriedades físico-químicas dos tilacóides, além de induzir um aumento na fluidez da matriz lipídica (RAISON et al., 1982), o que possibilita a desestruturação da membrana celular. Além disso, pode comprometer o transporte de elétrons para a cadeia transportadora na respiração gerando um desequilíbrio iônico. Esse desequilíbrio resulta em radicais livres e, por consequência, produção de espécies reativas de oxigênio (EROS).

O efeito sinalizador ou destrutivo de EROS depende de suas concentrações, assim como dos locais de produção e interação com compostos relacionados a outros estresses na planta (GECHEV, 2006). Existem diversas situações ambientais capazes de produzir estresse oxidativo, logo, a produção de EROS pode ser considerada como uma característica universal do estresse (CARRILLO e VALE, 2005).

Os compostos antioxidantes são substâncias que atuam em baixas concentrações em substratos oxidáveis favorecendo a inibição da lipoperoxidação (HALLIWELL, 1995) e também influenciam na qualidade fisiológica das sementes. As sementes, em geral são ricas em ácidos graxos essenciais, fibras e compostos fenólicos, que exercem atividade antioxidante.

Sabe-se que algumas espécies reativas de oxigênio se classificam como radicais livres por apresentarem elétrons desemparelhados na sua estrutura, fazendo com que reajam avidamente com moléculas biológicas, como proteínas e lipídeos, podendo ainda alterar suas atividades. O efeito final gerado depende não só do compartimento que está sendo afetado, mas do tipo de ERO que está reagindo (DROGE, 2002).

Outras enzimas também estão associadas à qualidade fisiológica de sementes, tais como a malato desidrogenase (MDH), que desempenha papel significativo no ciclo de Krebs, uma vez que catalisa a conversão de malato a oxaloacetato produzindo NADH, que é um produto fundamental na produção de ATP e de compostos intermediários essenciais ao funcionamento das células (TAIZ e ZEIGER, 2004). A ADH é uma enzima que está relacionada com a respiração anaeróbica, promovendo redução do acetaldeído a etanol

(BUCHANAM et al., 2005). O acetaldeído acelera a deterioração das sementes (ZHANG et al., 1994), portanto, com o aumento da atividade da ADH as sementes ficam mais protegidas contra a ação deletéria deste composto.

Sabe-se ainda que as enzimas removedoras de radicais livres também desempenham papel importante na qualidade de sementes, a exemplo da Catalase (CAT). De acordo com Lehninger (2006) a CAT é enzima intracelular, encontrada no glioxissoma nos vegetais, com capacidade de transformar formas reativas de oxigênio em formas inofensivas.

A esterase (EST) é uma enzima envolvida em reações de hidrólises de ésteres, estando diretamente ligada ao metabolismo dos lipídios, como os fosfolipídios totais de membrana (SANTOS et al., 2005).

Em espécies da família Asteraceae alguns trabalhos evidenciam a eficiência das isoenzimas. A facilidade de análise de isoenzimas, o tornam um ótimo candidato a marcador, no que diz respeito ao girassol (SOUZA et al., 2001). Em trabalho realizado com cultivares de alface observou que a cultivar Everglades apresentou padrões cinéticos específicos a 20 e 35°C, tendo relação direta, tanto com a germinação à alta temperatura quanto com a maior atividade da enzima endo- β -mananase (CATÃO et al., 2014).

Além de proteínas com função catalítica (enzimas) existem também proteínas que desempenham papel estrutural fundamental nas sementes. As proteínas do tipo *Late Embryogenesis Abundant* (LEA), proteínas abundantes nos últimos estádios de desenvolvimento, são ricas em glicina e outros aminoácidos hidrofílicos e apresentam poucos resíduos hidrofóbicos, sendo extraídas em condições de alta temperatura. Essas proteínas resistentes ao calor têm sido associadas com a tolerância a altas temperaturas (BLACKMAN et al., 1991; KIGEL & GALILI, 1995).

De acordo com Rezende (2013), são poucos os relatos sobre a estimação de parâmetros genéticos e fenotípicos ligados a termoinibição em sementes de alface, ou qualquer informação envolvendo apenas a espécie *Lactuca sativa* L., corroborando para que maior número de iniciativas neste tipo de pesquisa sejam promovidas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local e material vegetal

A pesquisa foi conduzida no Laboratório Central de Sementes do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, MG. Foram utilizadas sementes das cultivares de alface: Babá de Verão, Elisa, Grand Rapids e Everglades, esta última termotolerante (NASCIMENTO et al., 2001; KOZAREWA et al., 2006; CATÃO et al., 2014).

As sementes das quatro cultivares de alface foram produzidas em ambiente protegido, no município de Ijací (localizado na latitude 21°9'24"S, longitude 44°55'34"W, à altitude 889 m) estado de Minas Gerais, no verão de 2015. O clima da região é tropical de altitude e a precipitação média anual é de 1.530 mm.

Para a produção das sementes de alface foi utilizado o espaçamento de 0,4 m entre plantas e 0,6 m entre fileiras (CATÃO et al., 2014). Todos os tratos culturais foram feitos conforme recomendação para a cultura. Após a colheita as sementes foram secas até teor de água próximo a 8%.

3.2 Análises fisiológicas e bioquímicas

Avaliou-se as seguintes variáveis:

Teor de água das sementes: foi avaliado em estufa, a 105°C, durante 24 horas, utilizando-se duas subamostras de 2g para cada tratamento, conforme as Regras para Análise de Sementes – RAS (BRASIL, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem média por tratamento.

Teste de germinação: a semeadura foi realizada sobre duas folhas de papel para germinação em caixas, umedecidas com água, na proporção de 2,5 vezes o peso do substrato seco, em caixas plásticas tipo gerbox. As caixas com as sementes foram mantidas em câmaras do tipo *biochemical oxygen demand* (BOD) sob regime alternado de luz (12 horas no escuro e 12 horas na presença de luz), a 20, 25, 30, 35, 40 e 42°C. Aos 4 e 7 dias, procedeu-se a avaliação, segundo Brasil (2009). Para o acompanhamento do vigor das sementes realizou-se avaliação até o 11º dia de germinação. Cada tratamento foi composto de quatro subamostras de 50 sementes. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

As avaliações da *velocidade de germinação* (%G) e do *índice de velocidade de germinação* (IVG) foram realizadas simultaneamente aos testes de germinação, anotando-se, diariamente e no mesmo horário, o número de plântulas que apresentavam dois folíolos completamente abertos. Aos 7 dias, procedeu-se a avaliação, segundo Brasil (2009). A velocidade de germinação foi calculada de acordo com Edmond e Drapala (1958) pela expressão:

$$VG = \frac{(N_1 G_1) + (N_2 G_2) + \dots + (N_n G_n)}{(G_1 + G_2 + \dots + G_n)}$$

VG = Velocidade de germinação

N₁ = número de dias para a primeira contagem;

G₂ = número de sementes germinadas computadas na primeira contagem;

N₂ = número de dias para a segunda contagem;

G₂ = número de sementes germinadas na segunda contagem;

N_n = número de dias para a última contagem;

G_n = número de sementes germinadas na última contagem.

O índice de velocidade de germinação foi determinado de acordo com Maguire (1962), conforme segue:

$$IVG = G_1/N_1 + G_2/N_2 + \dots + G_n/N_n$$

IVG = Índice de velocidade de Germinação (sementes. dia⁻¹);

G1, G2, Gn= número de sementes germinadas computadas na primeira contagem, na segunda contagem e na última contagem;

N1, N2, Nn= número de dias da sementeira à primeira, a segunda e a enésima contagem.

Para a extração das isoenzimas álcool desidrogenase (ADH - EC 1.1.1.1), malato desidrogenase (MDH - EC 1.1.1.37), catalase (CAT - EC 1.11.1.6), esterase (EST - EC 3.1), piruvato descarboxilase (PDC - EC 3.1.21) e glutamato oxalacetato transferase (GOT - EC 2.6.1.1) foram adicionados 250 mL de tampão de extração, que se constitui de Tris HCL 0,2 M pH 8 e 0,1% de β-mercaptoetanol às subamostras de 100 mg do material macerado. A eletroforese em géis de poliacrilamida foi desenvolvida em sistema descontínuo (7,5% gel separação e 4,5% gel de concentração). O sistema tampão gel/eletrodo utilizado foi Tris-glicina pH 8,9.

Para proceder a corrida eletroforética, foram aplicados na canaleta do gel 50 mL de cada sobrenadante e a corrida realizada aos 4°C a 150 V, por 4 horas. Ao término da corrida, os géis foram revelados na presença dos substratos específicos para as determinadas enzimas (ALFENAS, 1998).

Para se verificar diferenças nas concentrações enzimáticas nos géis empregou-se a densidade dos alelos nos perfis eletroforéticos, que foi determinada por pixels, empregando o software ImageJ (RASBAND, 2016).

3.3 Análises estatísticas

Os experimentos foram montados em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x6, testando quatro cultivares Everglades, Grand Rapids, Elisa e Babá de Verão e seis diferentes temperaturas (20, 25, 30, 35, 40 e 42°C), com 4 repetições de 50 sementes. Os dados previamente submetidos aos testes de normalidade dos resíduos e homocedasticidade das variâncias, foram submetidos à análise de variância e as medias comparadas entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa estatístico SISVAR® (FERREIRA, 2000). A avaliação dos padrões enzimáticos foi feita de acordo com a intensidade das bandas.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores dos teores de água das sementes das diferentes cultivares, após a secagem variaram de 5,2 a 6,3%, percentuais também relatados por Barbosa et al. (2011) e Catão et al. (2014) em diferentes lotes de sementes de alface.

Com base na análise de variância (ANEXO I) foi possível observar diferenças significativas entre as cultivares para as diferentes temperaturas ($p < 0,05$) (TABELA 1).

TABELA 1: Teste de germinação (%) aos sete dias, primeira contagem da germinação (%), teste de germinação (%) aos onze dias, velocidade de germinação e índice de velocidade de germinação em dias, em cultivares de alface (*Lactuca sativa* L.), em função da temperatura. UFS, São Cristóvão, Sergipe, 2016.

Cultivar	Temperatura (°C)			
	20	25	30	35
Germinação (%) aos sete dias				
Everglades	100 Aa	100 Aa	94 Aa	71 Ab
Grand Rapids	83 Ba	80 Ba	55 Bb	2 Cc
Elisa	80 Ba	75 Ba	7 Cb	6 Bb
Babá de Verão	77 Ba	65 Cb	7 Cc	4 Bc
CV (%)	10,16			
Primeira contagem da germinação (%) aos quatro dias				
Everglades	99 Aa	87 Aa	92 Aa	10 Ab
Grand Rapids	12 Cc	42 Ca	29 Bb	0 Ac
Elisa	76 Ba	63 Bb	5 Cc	0 Ac
Babá de Verão	66 Ba	57 Ba	6 Cb	0 Ab
CV (%)	22,72			
Germinação (%) aos 11 dias				
Everglades	100 Aa	100 Aa	94 Aa	33 Ab
Grand Rapids	81 Ba	81 Ba	64 Bb	2 Bc
Elisa	82 Ba	76 Ba	8 Cb	6 Bb
Babá de Verão	78 Ba	66 Cb	8 Cc	4 Bc
CV (%)	10,40			
Velocidade de germinação (dias)				
Everglades	4 Aa	4 Aa	4 Aa	5 Aa
Grand Rapids	5 Ba	5 Ba	6 Ca	9 Cb
Elisa	4 Aa	5 Ba	5 Ba	7 Bb
Babá de Verão	4 Aa	5 Ba	5 Ba	8 Bb
CV (%)	1,46			
Índice de Velocidade de Germinação (IVG)				
Everglades	12,16 Aa	11,42 Aa	10,33 Aa	3,35 Ab
Grand Rapids	6,70 Ca	5,41 Cb	4,13 Cc	2,09 Cd
Elisa	9,54 Ba	8,76 Ba	6,49 Bb	3,11 Bc
Babá de Verão	9,76 Ba	8,87 Bb	6,61 Bc	3,03 Bd
CV (%)	1,37			

Médias seguidas por letras iguais, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, não diferem pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Vale ressaltar a importância de se ter o teor de água entre os lotes testados com a menor variação possível, uma vez que quando ocorrem variações entre os valores de teor de água pode haver variações que venham a acelerar o processo de deterioração, e formação de produtos que acarretam danos imediatos, a exemplo dos radicais livres, mascarando o resultado final, conforme descrito por Marcos Filho et al. (2015).

Verifica-se que para temperatura de 20°C, recomendada para a germinação de sementes de alface, foram obtidas porcentagens de germinação acima de 70% para todas as cultivares, valor este considerado mínimo para comercialização de sementes desta espécie.

Em trabalho empregando método de análise de hormônios vegetais e metabólitos hormonais associadas com a dormência das sementes e germinação em alface (*Lactuca sativa* L. cv. Grand Rapids), utilizando extratos de sementes, foi possível detectar a termodormência à 33°C em vez de 23°C. Sementes germinando transitoriamente acumulam altos níveis de ABA-GE (ABA- β -D-glicosil). O ABA na forma livre é encontrado principalmente no citosol, enquanto o ABA-GE se acumula no vacúolo, podendo servir como uma forma de estoque de ABA. Por outro lado, a termodormência de sementes, transitoriamente, acumulou níveis elevados de ácido di-hidrofásico (DPA) após 7 dias a 33°C. GA₁ e GA₃ foram detectados durante a germinação e níveis de GA₁ aumentaram durante o crescimento pós-germinativo. Depois de vários dias de incubação, as sementes termo latentes exibiram uma acumulação notável de ácido indol acético (IAA) transitória, que não ocorrem em sementes em germinação, a 23°C. Os autores concluíram que o metabolismo dos hormônios em sementes termodormentes é surpreendentemente ativo e, é significativamente, diferente do que aquele das sementes em germinação (CHIWOCHA et al., 2003).

Na temperatura de 25°C, notou-se valores de germinação inferiores a 70% apenas a cultivar Babá de verão. Em experimento visando a avaliação da influência do ambiente durante a floração e na formação sementes nas cultivares Saladin e Sabine, comprovou-se que, o potencial de germinação do embrião de sementes produzidas em condições frias, são menos hábeis para continuar a germinação em altas temperaturas, embora existam algumas diferenças entre as cultivares, tais como a tolerância à altas temperaturas na germinação, depois da maturação das sementes (DREW e BROCKLEHURST, 1990).

O controle de germinação em cultivares fotossensíveis, especialmente cv. Grand Rapids, sugere que pode se dever unicamente ao endosperma. No entanto, em estudos verifica-se que dois sistemas separados possam controlar a germinação em alface, para se evitar a germinação de sementes fotossensíveis que se encontram localizadas em situações desfavoráveis, como por exemplo, solo muito profundo e outra para evitar germinação, se a temperatura do solo for muito alta. No entanto, a elucidação destes dois mecanismos deve ser avaliada em outros estudos, considerando também as variações em diferentes cultivares, as quais requerem uma investigação mais aprofundada (DREW e BROCKLEHURST, 1990), em níveis bioquímicos, fisiológicos e moleculares.

Para as temperaturas de 30°C e 35°C observou-se maior porcentagem de germinação para a cultivar Everglades, a qual é considerada termotolerante por germinar sob temperaturas elevadas. Estes resultados estão de acordo com Kozarewa et al. (2006) e Catão et al. (2014) que em seus trabalhos caracterizam essa cultivar como termotolerante.

Pode-se constatar, que mesmo nas temperaturas de 40 e 42°C não houve germinação para as cultivares testadas, o que evidencia que as sementes de alface, quando submetidas a germinação sob temperaturas elevadas, têm germinação nula. Corroborando com Nascimento et al. (2012), que relatou a germinação nula das sementes da maioria dos genótipos de alface sob temperaturas acima de 30°C.

Em todas as cultivares houve redução da porcentagem de germinação quando a temperatura foi elevada de 20°C para 35°C, com redução de 29% para a cultivar Everglades, em 81% para a cultivar Grand Rapids, 74% para a cultivar Elisa e 73% para a cultivar Babá de Verão. Assim, pode-se inferir que a elevação da temperatura afetou a qualidade das sementes, no entanto, em menor escala para a cultivar Everglades.

O objetivo nos testes de vigor é a distinção entre lotes comercializáveis, com percentual de germinação situado dentro de padrões comerciais (KIKUTI & MARCOS FILHO, 2012). Assim, é possível afirmar que na temperatura de 20°C as cultivares Everglades e Elisa obtiveram resultados acima do padrão médio comercial de germinação ao quarto dia

de avaliação. No entanto, na temperatura de 25°C, observou-se maior vigor apenas a cultivar Everglades.

Ainda na primeira contagem da germinação, verificou-se que nas temperaturas de 20°C e 25°C houve maior vigor para a cultivar Everglades enquanto que; vigos intermediários para as cultivares Elisa e Babá de Verão e, por último, a cultivar Grand Rapids com menor vigor.

A partir da temperatura de 30°C houve redução no potencial fisiológico das sementes de todas as cultivares trabalhadas, com redução de 82% para a cultivar Everglades, 29% para a cultivar Grand Rapids, 5% para a cultivar Elisa e 6% para a cultivar Babá de Verão. Esta redução de vigor pode estar relacionada à deterioração causada por temperaturas elevadas (KIKUTI e MARCOS FILHO, 2012).

Observou-se ainda que na temperatura de 30°C a cultivar Everglades manteve o vigor acima do padrão mínimo comercial. Logo, esta cultivar pode ser parâmetro para uso como testemunha em testes de valor de cultivo e uso (VCU) para comparação, visando o registro de novos genótipos potenciais para regiões tropicais, que possuem temperaturas elevadas na maior parte do ano como no Nordeste brasileiro.

Na temperatura de 35°C, notou-se vigor inferior ao padrão comercial para todas as cultivares e nas temperaturas de 40°C e 42°C não houve germinação. As diferenças encontradas, podem ser atribuídas provavelmente à menor velocidade de absorção de água e oxigênio pelas sementes de alface sob temperaturas elevadas (FRANZIN et al., 2004). Outro fator a se considerar é que mitoses em alface ocorrem em cada um dos meristemas primários de tecido do hipocótilo-radícula, principalmente dentro dos 0,5 mm apicais da radícula. A este respeito, os embriões termo dormentes assemelham-se a raízes crescentes de mudas de alface. Estes resultados demonstram que a atividade mitótica e expansão localizada, quer separadamente ou em conjunto, pode ocorrer no embrião sem germinação (FOARD e HABER, 1966).

Ao realizar a avaliação do teste de germinação aos sete dias verificou-se emissão de radícula nas sementes das cultivares Elisa e Babá de Verão. Por conta disso, seguiu-se com a avaliação da germinação até o 11º dia.

Notou-se redução da germinação com o incremento de 5°C, nas temperaturas de 20°C e 25°C, exceto as cultivares Everglades e Grand Rapids que mantiveram o percentual de germinação. De acordo com Nascimento (2003), a temperatura ótima para o estabelecimento de plântulas de alface está em torno de 20°C, o que pode ter favorecido a manutenção deste percentual de germinação.

No entanto, ao comparar o percentual da germinação das cultivares Elisa e Babá de Verão, obtidas no sétimo e 11º dia, verificou-se que, nesta última, houve incremento na germinação para as temperaturas de 20°C, 25°C e 30°C, o que evidencia a lentidão dessas cultivares para germinar e, conseqüentemente, isto pode implicar em prejuízo na uniformização do estabelecimento de plântulas no campo.

É válido ressaltar que a avaliação do percentual de germinação no 11º dia não resultou em germinação aos 40°C e 42°C, o que pode estar relacionado à dormência de sementes quando submetidas a temperaturas adversas, nas quais as sementes de alface podem ser induzidas à dormência em condições de temperaturas elevadas (NASCIMENTO e CANTLIFFE, 2002).

Para todas as cultivares a melhor velocidade de germinação foi observada quando as sementes foram submetidas à temperatura de 20°C, visto que esta temperatura é a recomendada para a germinação de sementes de alface. Verifica-se ainda que, nas temperaturas de 25°C e 30°C, a cultivar Everglades manteve a velocidade de germinação obtida a 20°C por ser uma cultivar termotolerante.

Apesar da redução na velocidade de germinação a 35°C, notou-se o menor número de dias para germinar para cultivar Everglades quando comparada com as demais cultivares. Resultado semelhante foi encontrado por Bertagnolli (2003) ao estudar o desempenho

fisiológico de sementes nuas e peletizadas de alface da cv. Karla sob diferentes potenciais hídricos e temperaturas, a 35°C não ocorreu germinação.

Observou-se que com a elevação da temperatura houve redução no índice de velocidade de germinação para todas as cultivares, sendo que nas temperaturas acima de 35°C não houve desenvolvimento de plântulas normais. Estes resultados corroboram com os relatados por Catão et al. (2014) ao analisar o efeito da temperatura em sementes de alface das cultivares Everglades, Babá de Verão, Elisa, Luiza, Grand Rapids, Hortência, Salinas 88 e Rubete.

Resultados semelhantes também foram obtidos por Bertagnolli et al. (2003) e Bufalo et al. (2012), ao analisar o desempenho de sementes de alface submetidas ao estresse térmico. Os autores observaram que, em temperaturas iguais ou superiores a 25°C, houve decréscimo na velocidade e na percentagem de germinação. Desta forma, pode-se afirmar que os melhores resultados do índice de velocidade de germinação obtidos neste teste coincidem com a temperatura indicada, 20°C, pelas Regras de Análise de Sementes (BRASIL, 2009) para obtenção de um estande de plântulas de alface uniforme e rápido.

É válido ressaltar que alterações na temperatura durante a germinação podem acarretar no aceleração do processo deteriorativo da planta, fazendo com que a mesma não feche o seu ciclo, bem como reduzindo a qualidade das sementes produzidas; e ainda pode interferir na qualidade do produto final, como é o caso da alface. Pesquisas em condições de alta temperatura, por exemplo, afetam negativamente a germinação e o estabelecimento de plântulas. A germinação de sementes de vinte cultivares de alface em condições de temperatura ideal 20°C, temperatura intermediária 27,5°C e temperatura crítica 35°C foram realizadas. Alguns genótipos termotolerantes como Vitória de Verão e Camila foram identificados, obtendo germinação acima de 90% nas temperaturas: favorável e crítica máxima. Estes genótipos poderiam ser utilizados como fonte genética de tolerância à germinação a altas temperaturas. Demonstrando a importância de sempre se caracterizar germoplasma para a tolerância à altas temperaturas (NASCIMENTO; CRODA; LOPES, 2012).

A deterioração é um processo determinado por uma série de alterações fisiológicas, bioquímicas, físicas e citológicas, com início a partir da fecundação, que ocorre de maneira progressiva, determinando a queda da qualidade e culminando com a morte da semente ou da planta (MARCOS FILHO, 2015). As principais alterações relacionadas ao processo de deterioração são degradação e inativação de enzimas (COPELAN e McDONALD, 2001), redução da atividade respiratória (FERGUSON et al., 1990) e perda de integridade das membranas celulares (McDONALD, 1999). Copeland e McDonald (2001) destacaram que para detectar o início da deterioração das sementes, as avaliações mais sensíveis são aquelas relacionadas à atividade de algumas enzimas.

Sementes de alface têm curto tempo de armazenamento e termoinibição acima de 25°C. O condicionamento osmótico (hidratação controlada seguida de secagem) contribui para minimizar a inibição térmica, aumentando a temperatura máxima de germinação, mas reduz a longevidade de sementes de alface. A deterioração controlada (CD) ou condições de armazenamento de envelhecimento acelerado (isto é, temperatura elevada e umidade relativa) são usados para estudar a longevidade das sementes e prever a longevidade sob condições de armazenamento convencionais. Sementes de uma população de linha pura (RIL) recombinante derivada de um cruzamento entre *L. sativa* cv. Salinas × *L. serriola* UC96US23 foram utilizadas para identificar locos de características quantitativas (QTLs) associados com a longevidade de sementes sob CD e condições de armazenamento convencionais. Vários QTLs associados à longevidade foram identificados em ambas as condições de armazenamento convencional e CD. No entanto, a longevidade não foi correlacionada com condições de armazenamento, sugerindo que os processos de deterioração em condições de CD não são preditivos de envelhecimento em condições de armazenamento convencionais. Além disso, os mesmos QTLs não foram identificados quando as populações de RIL foram

cultivadas em diferentes anos, indicando que a longevidade de sementes de alface é fortemente afetada pelo ambiente de produção (SCHWEMBER e BRADFORD, 2010).

A germinação de sementes envolve a utilização de diferentes enzimas para o metabolismo. Pode-se pensar que a suplementação exógena destas enzimas poderia suprir a necessidade e contribuir para a germinação. No entanto, trabalho usando como tratamentos soluções enzimáticas comerciais: (1) Alcalase® e Celluclean® (propósito catalisam a hidrólise de ligações peptídicas e títulos de beta 1,3 e 1,4 glucana presente na celulose, respectivamente), (2) Pectinex® (finalidade dilui pectina, libertando açúcares), (3) Alcalase® (finalidade para catalisar ligações peptídicas), (4) e Pectinex® Alcalase® (finalidade para catalisar ligações peptídicas e para libertar açúcares), (5) e Alcalase® Ban® (finalidade de catalisar ligações peptídicas e hidrólise das ligações alfa 1,4 - glicosídica dextrina formando de preferência como produto), (6) Spirizyme® (enzima glucoamilase: 1,4 glucano alfa-glicosidase) e (7) de controle (água destilada isenta de enzimas) foram realizados visando à avaliação da germinação de todos os tratamentos em quatro dias após a semeadura. Comprovou-se que a aplicação exógena de enzimas industriais em sementes de alface não aumenta a velocidade e porcentagem de germinação das sementes (PIMENTEL et al., 2012).

No entanto, alterações endógenas têm sido relatadas em enzimas relacionadas à germinação e deterioração em sementes. Condições ambientais desfavoráveis (alta temperatura, alta umidade, seca, congelamento, sal etc.) durante o desenvolvimento, no armazenamento e em campo podem reduzir a germinação, vigor e qualidade de sementes de culturas em campo (EGLI et al., 2005).

A termoinibição é um problema de produção comum, mas os esforços não têm sido focados na melhoria das características de germinação de sementes, em parte devido à falta de ferramentas para selecionar de forma eficiente para fenótipos melhorados. No entanto, a exploração da variação presente para termoinibição em populações de *Lactuca* é a identificação de genes candidatos e marcadores genéticos associados, que forneçam uma visão sobre os fatores fisiológicos, que controlam a sua imposição e contribuam para o desenvolvimento de cultivares de alface com tolerância a altas temperaturas (ARGYRIS et al., 2011).

Dentre as enzimas que podem ser utilizadas para identificar alterações no sistema de membranas celulares tem-se as esterases. As esterases (EC.3.1.1.1, hidrolases do éster carboxílico) são enzimas hidrolíticas, que catalisam a hidrólise de vários tipos de ésteres. Estas são amplamente distribuídas em múltiplas formas, em plantas, animais e micro-organismos. Em plantas, estas enzimas têm um papel definido, ativamente envolvida no crescimento e desenvolvimento, estomática circulação, a resistência inseticida contra a infecção, o amadurecimento dos frutos, expansão celular, reprodução, processos de metabolitos secundários, bem como a hidrólise do éster contendo moléculas de xenobióticos (DUBEY et al., 2000). Várias formas de esterase catalisam a hidrólise de ésteres carboxílicos de cadeia curta. Os ácidos graxos foram demonstrados em vários tecidos vegetais incluindo sementes (SCHWARTZ et al., 1964; CHANDRASHEKHARIAH et al., 2014).

As esterases são representativas nas membranas celulares, hidrolisando os ésteres de membranas atuando assim, diretamente no metabolismo de lipídios. Sua presença quando identificada demonstra a existência de peroxidação de lipídios, visto que realiza a hidrólise de ésteres. Além da degradação, sua expressão está diretamente ligada ao metabolismo de lipídios da membrana (MERTZ et al., 2009).

As variações nas intensidades dos alelos nos perfis enzimáticos variaram entre os diferentes tratamentos (TABELA 2).

TABELA 2: Variações na densidade (pixels) de alelos enzimáticos para perfis eletroforéticos detectadas por software ImageJ em cultivares de alface, em função da temperatura. UFS, São Cristóvão, Sergipe, 2016.

Cultivares	Densidade dos alelos isoenzimáticos							
	Enzimas	EST		CAT	GOT	MDH	ADH	PDC
	Temperatura (°C)	<i>Est1</i>	<i>Est2</i>	<i>Cat1</i>	<i>Got1</i>	<i>Mdh1</i>	<i>Adh1</i>	<i>Pdc1</i>
<i>Everglades</i>	20	46*	36*	109**	41	126	197**	198**
	25	55	38	62	40	118	170	30
	30	66	49	78	46**	125	177	21
	35	58	47	62	35*	129**	188	23
	40	56	44	59*	38	125	174	18*
	42	71**	53**	103	42	103*	164*	19
<i>Grand Rapids</i>	20	50	32	102**	33*	68*	145*	24
	25	49*	31*	91	42	85	159	31
	30	55	32	74	51	97**	164**	23
	35	53	26	75	52**	79	154	26**
	40	55	32	59	42	94	157	20*
	42	58**	42**	54*	50	87	162	20*
<i>Elisa</i>	20	67	44*	46	45*	129**	184	15*
	25	69	53	47**	46	117	187**	16
	30	76**	60	41	47	97	173	28**
	35	71	50	37	50	98	180	22
	40	68	56	35	46	65	143	23
	42	63*	60**	33*	53**	53*	135*	19
<i>Babá de Verão</i>	20	66	49	53	51	72	140	20
	25	66	46	55**	48*	66	134*	19
	30	63*	44*	38	55	64*	137	20
	35	67	50	36*	55**	71	144	21**
	40	70	54	38	52	80	159**	16*
	42	86**	74**	41	50	101**	146	18

Est – Esterase; Cat – Catalase; Got – Glutamato oxaloacetato transferase; Mdh – Malato desidrogenase; Adh – Álcool desidrogenase; Pdc – Piruvato descarboxilase.

* alelos com menor densidade e ** alelos com maior densidade.

Para a enzima esterase, pouca enzima tem sido liberada inicialmente com 24h de embebição e após 48h de embebição. A atividade total de esterases de sementes de alface embebidas de 0 a 10h, foi determinada ser igual as sementes embebidas por 16h. Sementes a 10 e 40°C liberam pouca enzima, particularmente entre 24 e 48h. Muito pouca ou nenhuma enzima é liberada antes da protrusão da radícula ou depois da emergência da radícula. A maior parte das enzimas liberadas é derivada a partir do tecido de endosperma, mas é possível que uma pequena parte de esterases vem do embrião. As esterases são apenas um dos componentes do fluido extra-embriônico e o seu papel parece estar relacionada à regulação da integridade física das sementes (CHANDRA & TOOLE, 1977).

No presente estudo verificou-se maiores atividades para esterase para as cv. *Everglades*, *Grand Rapids* e *Babá de Verão* a 42°C, com excessão para a cv. *Elisa*, que teve maior atividade a 30°C. No entanto, as menores atividades foram identificadas para *Everglades* a 20°C; para *Grand Rapids* a 25°C; para *Elisa* a 42°C e *Babá de Verão* à 30°C.

Segundo Basavarajappa et al. (1991), sendo a peroxidação de lipídios um evento associado aos danos de membrana de sementes, alterações nos padrões da esterase evidenciam a ocorrência de eventos deteriorativos, que podem contribuir para a redução da germinação das sementes. Esta enzima é acumulada antes do processo de germinação para prevenir a ação de radicais livres no início da deterioração, podendo reduzir sua expressão durante este processo devido à sua ação hidrolítica na liberação de ácidos graxos que são usados na beta

oxidação, como fonte de energia para a germinação. Ressalta-se ainda que muitos desses lipídeos são constituintes de membranas, cuja degradação aumenta com a deterioração (MARCOS FILHO, 2005).

A metil esterase de pectina (PME) (EC 3.1.1.11), também encontrada em sementes, catalisa a hidrólise de grupos éster de metila de pectinas da parede celular. O papel desta enzima foi avaliado na determinação de dormência e germinação de sementes de cedro amarelo (*Chamaecyparis nootkatensis* [D. Don] Spach). A atividade da PME não foi detectada em sementes dormentes, mas foi induzida e aumentada gradualmente durante refrigeração húmida; alta atividade coincidiu com a quebra de dormência e germinação. A sua atividade foi positivamente correlacionada com o grau de quebra de dormência de sementes de cedro amarelo. A enzima foi produzida em diferentes partes das sementes e em sementes em diferentes momentos, germinação e crescimento pós-germinativo, com duas isoformas, tanto básicas com pontos isoelétricos de 8,7 e 8,9 e a mesma massa molecular de 62 kD. Estas isoformas básicas não foram relatadas em embriões e em megagametófitos seguintes a quebra da dormência, e foram significativamente suprimidas pelo ácido abscísico. A giberelina teve um efeito estimulador sobre as atividades destas isoformas em embriões e megagametófitos de sementes intactas na fase germinativa. Os autores sugerem que a PME desempenha um papel no enfraquecimento do megagametófito, permitindo a emergência da radícula e da conclusão da germinação (REN e KERMODE et al., 2000).

Em trabalho visando avaliar o poder alelopático de extratos de tiririca (*Cyperus rotundus* L.) sobre a germinação e vigor assim como na atividade das enzimas envolvidas no processo de germinação de sementes de milho, feijão, soja e alface, observou-se menor atividade da enzima esterase nas sementes submetidas à germinação em substrato contendo 100 g L^{-1} e em soja menor atividade dessa enzima foi observada nas concentrações de 0 e 100 g L^{-1} . Já para as espécies de feijão e milho não houve alterações na atividade da esterase sob as diferentes concentrações de extrato, durante o processo germinativo (MUNIZ et al., 2007).

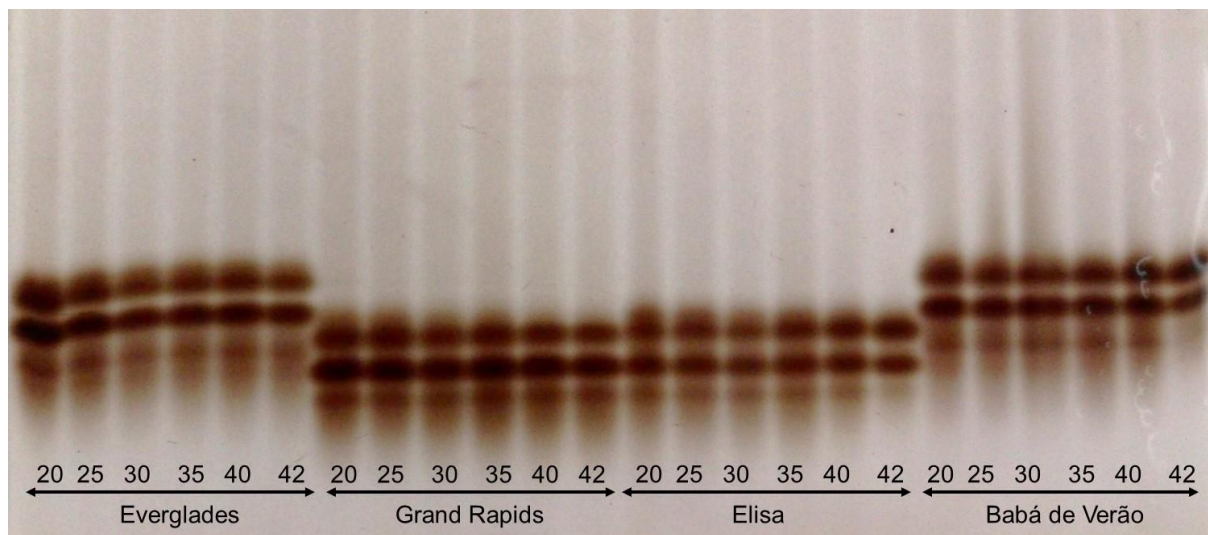


FIGURA 1: Perfil eletroforético para enzima esterase em sementes de quatro cultivares de alface sob diferentes temperaturas (°C). UFS, São Cristóvão, Sergipe, 2016.

Observou-se que com o aumento da temperatura a enzima esterase apresentou cinética semelhante para as cultivares Everglades e Babá de Verão. Comportamento semelhante foi observado para ‘Grand Rapids’ e ‘Elisa’, que diferiram das anteriormente citadas (FIGURA 1).

Para a enzima catalase as maiores atividades foram identificadas entre 20 e 25°C para todas as cultivares. A principal função da catalase é o de catalisar a decomposição H_2O_2 . A catalase e peroxidase estão presentes em sementes secas.

Segundo Fridovich (1986), a catalase, por ser uma enzima envolvida no processo de remoção do peróxido de hidrogênio, desempenha controle desses peróxidos endógenos por meio do ciclo óxido-redução. Sendo assim, a redução na expressão dessa enzima, poderá resultar na diminuição da prevenção de danos oxidativos. Ao exemplo do ocorrido com as sementes de alface para todas as cultivares trabalhadas, com o aumento da temperatura na germinação. Sendo assim, a enzima catalase pode ser utilizada para a avaliação da deterioração em sementes de alface quando estas forem submetidas a diferentes temperaturas durante a germinação (FIGURA 2).

Presumivelmente, a função da catalase é antioxidante e atua na manutenção de concentrações intracelulares de H_2O_2 em níveis estacionários (TAN et al., 2002). Estudo em sementes de pepino, indica claramente a atividade das enzimas antioxidantes e seu papel significativo no fornecimento de defesa antioxidante (ZHANG et al., 2013).

É válido ressaltar que as sementes de alface cultivar Everglades apresentaram comportamento diferenciado para CAT, ou seja, alta atividade a 20°C, valores intermediários entre as temperaturas de 25 a 40°C, e voltando a apresentar alta atividade nesta última temperatura. Isso podendo estar associado à ação antioxidante para os eventos de termotolerância, quando comparado as demais cultivares.

Em sementes submetidas a altas temperaturas durante a germinação houve redução de atividade dessa enzima, como observado nas sementes das cultivares Elisa e Babá de verão. Por ser a CAT uma das enzimas *scavenger*, ou seja, removedora de peróxidos, a perda da atividade dessa enzima pode, parcialmente, esclarecer o fato das sementes colocadas para germinar fora da sua faixa ótima, acumularem mais peróxidos, e estes atuarem negativamente nos processos de desenvolvimento, ou seja, na germinação.

Os resultados observados nesta pesquisa reforçam os de Corte et al. (2010) e Nakada et al. (2010), os quais verificaram aumento da peroxidação de lipídios com o aumento da deterioração das sementes. Assim, a redução da atividade da catalase (CAT) pode tornar as sementes mais sensíveis aos efeitos dos radicais livres e aumentar a formação de peróxido nas células, tornando as sementes mais sujeitas à perda de viabilidade. Isso pode ser confirmado pela redução da germinação com o aumento da temperatura, as quais as sementes são expostas.

Diferentes estressores, bióticos e abióticos, muitas vezes resultam na produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), incluindo o superóxido (O_2^-), oxigênio atômico ($1O_2$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxilo ($OH\cdot$), que podem causar danos as proteínas, lipídios e DNA (MOLLER e KRISTENSEN, 2004).

A temperatura nas quais as sementes estão submetidas no período de germinação podem contribuir para redução do conteúdo de água no microambiente onde a semente se encontra, e consequentemente na própria semente. Tal fato pode levar a peroxidação de lipídeos de membrana. Em sementes de *Mimusops elengi* houve aumento na peroxidação lipídica e coincidiu com a diminuição no conteúdo de água das sementes (TANG, 2012).

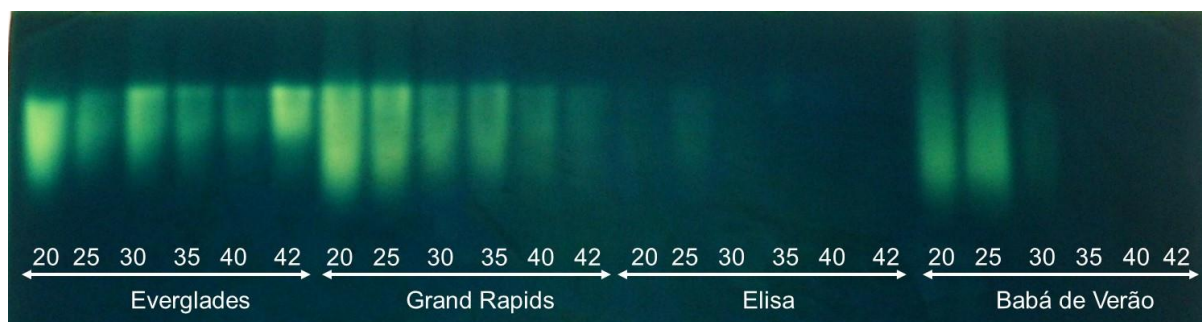


FIGURA 2: Perfil eletroforético para a enzima catalase em sementes de quatro cultivares de alface sob diferentes temperaturas de germinação. UFS, São Cristóvão, Sergipe, 2016.

A atividade de Glutamato oxalacetato transferase foi maior entre 30 e 35°C para as cultivares Everglades, Grand Rapids e Babá de Verão, com exceção para a cultivar Elisa, na qual se constatou maior atividade a 42°C.

A enzima glutamato oxalacetato transferase (GOT) participa do metabolismo de aminoácidos (BRANDAO-JUNIOR; CARVALHO; VIEIRA, 1999), é uma fonte de energia para o desenvolvimento do embrião e da descarboxilação, via ciclo do ácido málico, na transformação de aspartato em ácido oxalacético e malato, durante a fixação do gás carbônico pelas plantas (MENEZES, 2005; TUNES et al., 2010). Além disso, esta enzima está relacionada ao metabolismo do nitrogênio e à síntese protéica durante o processo de retomada do crescimento do embrião (MALONE et al., 2007; PEDÓ, 2015) como também esta envolvida no processo respiratório das sementes (MUNIZ et al., 2007).

De acordo com Malone et al. (2007) por esta enzima estar diretamente envolvida no metabolismo do nitrogênio (N), é possível que variações ocorram à medida que acontece a síntese e degradação de aminoácidos durante o processo de germinação. Por conta disso, a enzima GOT tem uma participação no metabolismo protéico durante a germinação e por todo o ciclo de vida da planta.

Observa-se maior expressão desta enzima entre as temperaturas de 20°C a 30°C para a maioria das cultivares, o que pode estar relacionada a maior síntese de aminoácidos das sementes durante o processo metabólico na germinação das sementes, a qual apresentou maiores resultados neste intervalo de temperatura (FIGURA 3).

No trabalho realizado por Tunes et al. (2011) com duas cultivares de cevada colhidas em três épocas, observou-se que nas plântulas esta enzima não apresentou atividade, em ambas as cultivares, quando colhidos aos 118 dias após a semeadura (DAS). Quando a colheita foi realizada aos 129 DAS, a enzima estava presente apenas na cultivar Scarlett, no entanto, aos 140 DAS a GOT foi observada em ambas as cultivares.

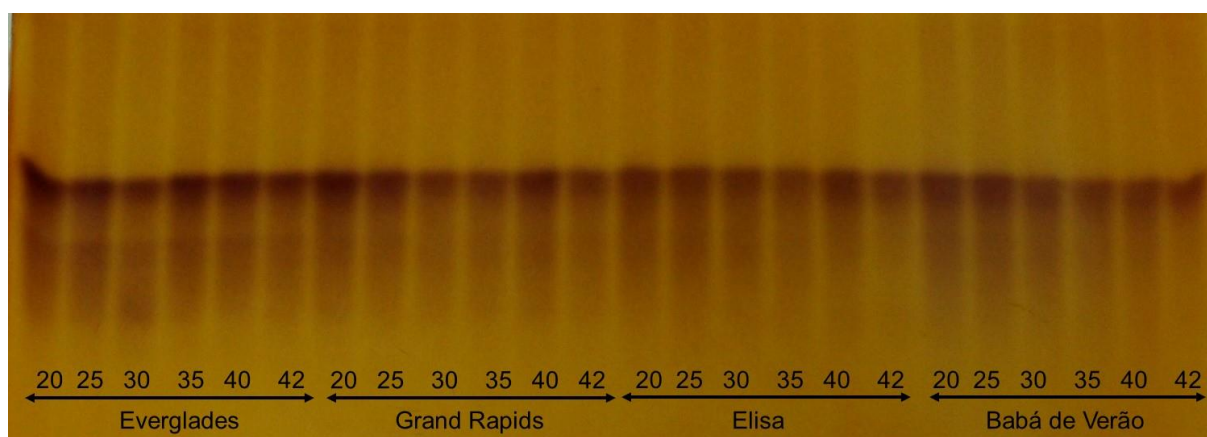


FIGURA 3: Perfil eletroforético para a enzima glutamato oxalacetato transferase (GOT) em sementes de quatro cultivares de alfaca sob diferentes temperaturas de germinação. UFS, São Cristóvão, Sergipe, 2016.

Durante as últimas décadas muitos fatores importantes envolvidos na termotolerância foram identificados em nível de transcritos, proteínas e metabólitos (MITTLER et al., 2012). Parece que a capacidade de termotolerância pode ser conseguida por modulação dos níveis de expressão, tais genes "sensíveis" antes das respostas pela exposição ao calor (GROVER et al., 2013; BOKSZCZANIN e FRAGKOSTEFANAKIS, 2013).

Reservas de sementes que são mobilizadas após a germinação são utilizados como recursos de energia e novos blocos de construção para apoiar o desenvolvimento da muda até que se torne foto autotrófica (BEWLEY et al., 2013).

Devido ao impacto dos vários estresses e do processo de envelhecimento das sementes sobre a expressão de enzimas antioxidantes e atividade de genes, nos últimos anos, estas

ferramentas bioquímicas e genéticas têm sido utilizadas como marcadores de qualidade de sementes (TSANIKLIDIS et al., 2015).

No entanto, existem alguns relatos indicando que o envelhecimento de sementes submetidas a diferentes temperaturas, têm um efeito sobre as atividades de enzimas que não são classificadas como enzimas antioxidantes, tais como β -amilase e malato-desidrogenase do arroz e de milho, respectivamente (NANDI et al, 1995; MARINI et al., 2012; TSANIKLIDIS et al., 2015).

Para MDH as maiores atividades foram comprovadas para a cv. Everglades 35°C; Grand Rapids 30°C; Elisa 20° e Babá de Verão 42°C.

A malato desidrogenase (MDH) atua na catalização da reação de malato a oxaloacetato no ciclo de Krebs (IMOLESI et al., 2001), sendo responsável pelo fornecimento de energia ao catalisar a conversão dos triacilgliceróis armazenados em glicose e em outros metabólitos essenciais para o processo germinativo (PEDÓ, 2015). Assim, esta enzima pode atuar gerando energia nos processos metabólicos com a germinação de sementes.

No entanto, as variações da atividade da isoenzima MDH, especialmente sob estresse, não são ainda completamente exploradas, provavelmente devido ao fato da enzima existir como vários isoenzimas (oito isoenzimas MDH putativas relatadas em *Arabidopsis*), localizadas em várias organelas da célula (BEELER et al., 2014; TSANIKLIDIS et al., 2015).

De acordo com Taiz e Zeiger (2004) a MDH ocorre na matriz mitocondrial e no citoplasma das células. Nas mitocôndrias atua nas duas reações finais do ciclo do ácido cítrico, o fumarato é hidratado para produzir malato, que em seguida é oxidado pela MDH, para regenerar Oxaloacetato (OAA) e, conseqüentemente, produzir outra molécula de NADH. A produção de Oxaloacetato será capaz de reagir com outro radical de acetil-CoA e continuar o ciclo, o NADH produzido será oxidado na fosforilação oxidativa para produção de ATP. No citoplasma, a MDH catalisa a reação de oxaloacetato para malato produzindo NAD^+ que é necessário para a glicólise (TAIZ & ZEIGER, 2004; MACHADO et al., 2006).

De uma maneira geral, foi possível observar que não ocorreu alteração na expressão da enzima malato desidrogenase, exceto para a cultivar Babá de Verão. Para esta houve maior intensidade de expressão da enzima malato desidrogenase na temperatura de 42°C, o que pode ter ocorrido devido ao aumento da respiração das sementes com a elevação da temperatura. Assim, pode-se inferir que as cultivares que apresentaram maior vigor no teste de germinação apresentaram a expressão desta enzima estável (FIGURA 4).

A MDH também tem sido muito utilizada em trabalhos de sementes envelhecidas pelo envelhecimento acelerado. De acordo com Spinola et al. (2000), a enzima manteve seus padrões isoenzimáticos inalterados com o avanço do processo deteriorativo das sementes de milho pelo envelhecimento acelerado.

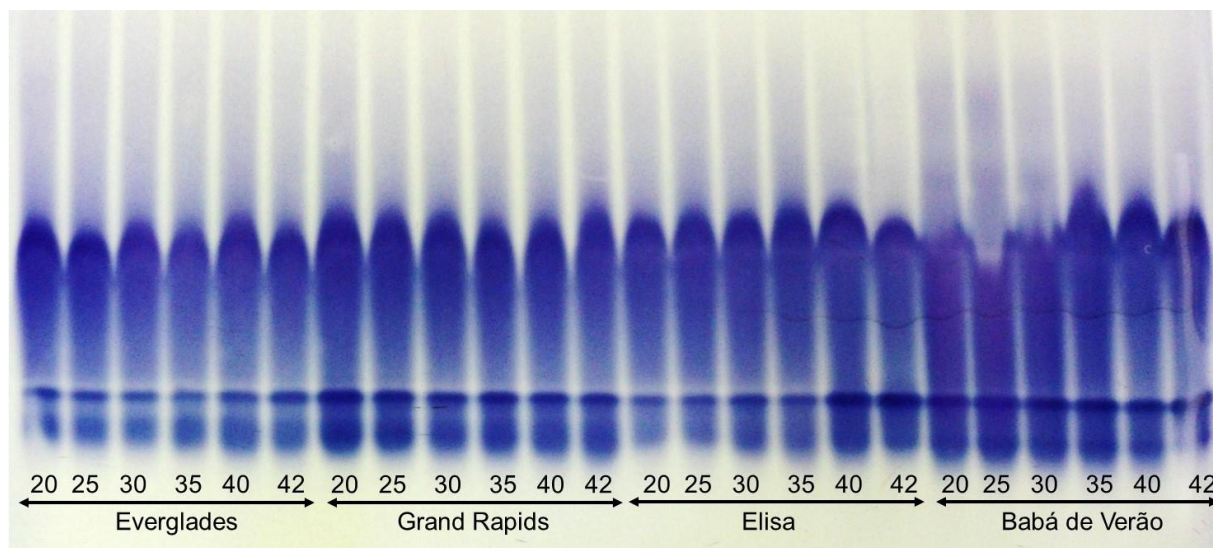


FIGURA 4: Perfil eletroforético para a enzima malato desidrogenase em sementes de quatro cultivares de alface sob diferentes temperaturas de germinação. UFS, São Cristóvão, Sergipe, 2016.

De acordo com Faria et al. (2003) a enzima álcool desidrogenase (ADH) atua no processo respiratório, removendo substâncias tóxicas das sementes, como acetaldeído e etanol, que são produzidos quando as células passam a respirar anaerobicamente. Nos estádios iniciais da germinação, a degradação do amido é realizada num processo quase totalmente anaeróbico, até que a casca da semente é rompida pela saída do eixo embrionário (ALDASORO & NICOLÁS, 1980).

A enzima ADH foi avaliada em maior atividade para a cv. Everglades a 20°C; Grand Rapids a 30°C; Elisa a 25°C e Babá de Verão a 40°C.

Nota-se neste trabalho que maior expressão da enzima ADH ocorreu, para a cultivar Babá de Verão, nas temperaturas de 40°C e 42°C. Ao observar os resultados do teste de germinação, verifica-se que neste intervalo de temperatura as sementes não germinaram por estarem dormentes. Assim, pode-se inferir que as sementes passaram a realizar respiração anaeróbica. Além disso, as cultivares Grand Rapids e Babá de Verão apresentaram bandas intensas entre as temperaturas de 20°C e 30°C, o que indica maior impermeabilidade do tegumento das sementes dificultado a entrada de oxigênio na semente e, consequentemente, favorecendo a rota de respiração anaeróbica (FIGURA 5).

No trabalho de Tunes et al. (2011) a expressão da enzima ADH, nas sementes, foi bastante pronunciada, o que sugere intensa atividade de respiração anaeróbica. Porém, nas plântulas, em geral, não foi observada a sua atividade.

Em outro trabalho ao avaliar o comportamento de dois lotes de sementes de sucupira-preta (A, B) durante a embebição não foi observada atividade da ADH nas sementes do lote A nas primeiras horas de embebição. Entretanto, após 72 horas, observou-se intensa atividade, decrescendo a partir desse período. No lote B, uma alta atividade da enzima foi detectada em sementes no início da absorção de água, com uma tendência de diminuição da atividade nas fases finais de embebição (ALBUQUERQUE et al., 2009).

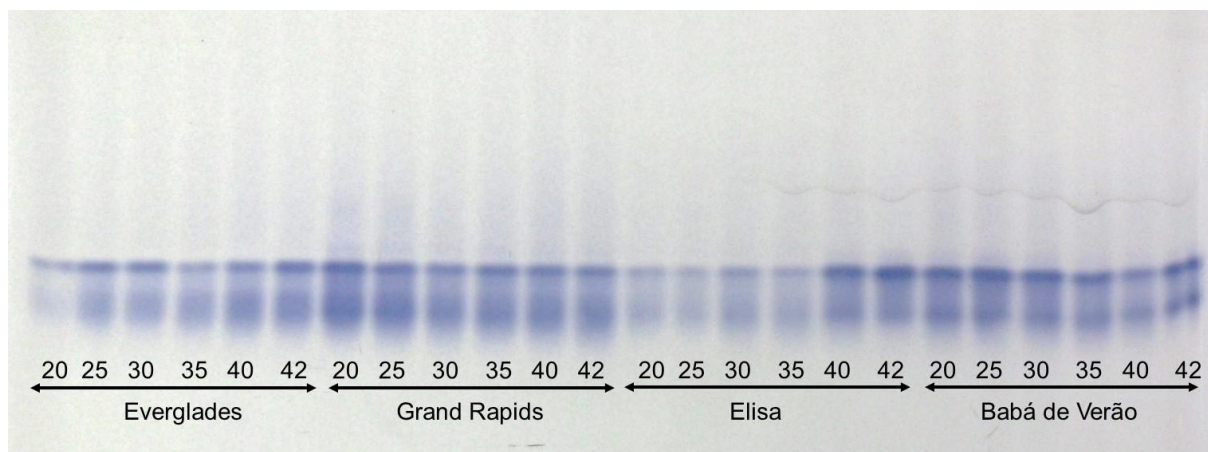


FIGURA 5: Perfil eletroforético para a enzima álcool desidrogenase em sementes de quatro cultivares de alface sob diferentes temperaturas de germinação. UFS, São Cristóvão, Sergipe, 2016.

Maior atividade para a enzima piruvato descarboxilase foi constatada para a cv. Everglades a 20°C; Grand Rapids a 35°C; Elisa a 25°C e Babá de Verão a 40°C.

A enzima piruvato descarboxilase participa do metabolismo anaeróbico na fase da glicólise, quando atua convertendo o acetaldeído que então é reduzido a etanol pela ADH. Esta enzima atua quebrando o piruvato presente no citosol das células produzindo o acetaldeído.

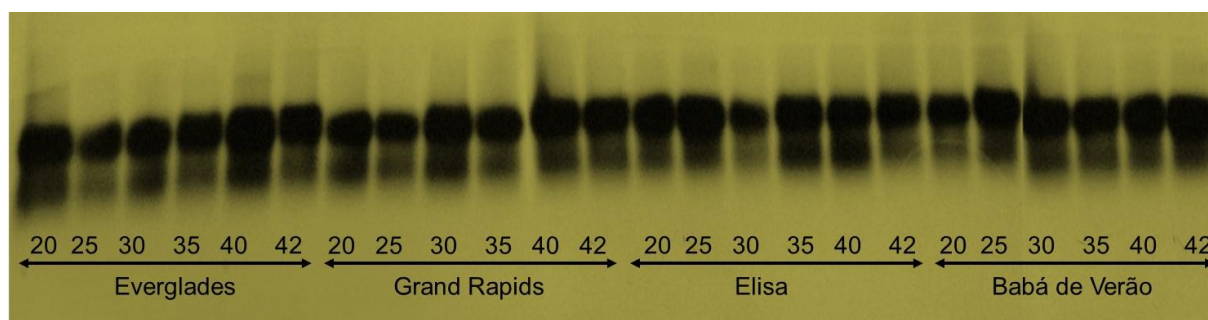


FIGURA 6: Perfil eletroforético para a enzima piruvato descarboxilase em sementes de quatro cultivares de alface sob diferentes temperaturas de germinação. UFS, São Cristóvão, Sergipe, 2016.

É válido ressaltar que esta enzima é precursora da enzima álcool desidrogenase, diante disto, é possível observar relação direta entre a expressão destas duas enzimas (FIGURA 6).

5. CONCLUSÕES

A temperatura de germinação de 35°C limita a germinação de sementes das cultivares de alface Elisa, Grand Rapids e Babá de Verão, exceto para a cultivar Everglades que apresenta germinação acima do padrão comercial nesta temperatura, portanto, é considerada como termotolerante.

A cultivar Everglades é genótipo potencial para uso em programas de melhoramento visando a produção de genótipos para plantio em regiões do nordeste brasileiro.

A enzima catalase pode ser considerada marcadora para identificação de cultivares de alface termotolerantes.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, K. S. et al. Alterações fisiológicas e bioquímicas durante a embebição de sementes de sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides* Kunth.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.1, p.12-19, 2009.
- ALDASORO, I.; NICOLÁS, G. Fermentative products and dark CO₂ fixation during germination of seeds of *Cicer arietinum*. **Phytochemistry**, Pullman, v.19, p.3-5, 1980.
- ALFENAS, A. C. (Ed.). **Eletroforese e marcadores bioquímicos em plantas e microrganismos**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2006. 627p.
- ARGYRIS, J.; TRUCO, M. J.; OCHOA, O.; McHALE, L.; DAHAL, P.; DEYNZE, A. V.; MICHELMORE, R. W.; BRADFORD, K. J. A gene encoding an abscisic acid biosynthetic enzyme (LsNCED4) collocates with the high temperature germination locus Htg6.1 in lettuce (*Lactuca* sp.). **Theoretical and Applied Genetics**. v.122, n.1, p.95-108, 2011.
- BARBOSA, R. M.; COSTA, D. S.; SÁ, M. E. Envelhecimento acelerado em sementes de alface. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.41, n.11, p.1899-1902, Nov, 2011.
- BASAVARAJAPPA, B.S.; SHETTY, H.S.; PRAKASH, H.S. Membrane deterioration and other biochemical changes, associated with accelerated ageing of maize seeds. **Seed Science and Technology**, v.19, n.2, p.279-286, 1991.
- BATISTA, M.A.V.; VIERIA, L.A.; SOUSA, J.P.; FREITAS, J.D.B.; NETO, F.B. Efeito de diferentes fontes de adubação sobre a produção de alface no município de Iguatu-CE. **Revista Caatinga**, v.25, n.3, p.8-11, 2012.
- BERRIE, A.M.M. The effect of temperature and light on the germination of lettuce seeds. **Physiologia Plantarum**, v.19, n.2 p.429-436, 1966.
- BERTAGNOLLI, C.M.; MENEZES, N.L.; STORK, L.; SANTOS, O.S.; PASQUALLI, L. L. Desempenho de sementes nuas e peletizadas de alface (*Lactuca sativa* L.) submetidas a estresses hídrico e térmico. **Revista Brasileira de Sementes**, v.25, n.1, p.7-13, 2003.
- BEWLEY, J. D.; K. J. BRADFORD, K. J.; HILHORST, H.W.M.; NONOGAKI, H. **Seeds—physiology of development Germination and Dormancy**. 3.ed. Springer, 2013, 392p.
- BHAVITK, K. P.; SWAMY, M. N.; SWAMY, N. R.; CHANDRASHEKHARAI, K. S. PURIFICATION AND CHARACTERIZATION OF ESTERASE FROM THE SEEDS OF *Caesalpinia mimosoides*. **Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences**. v.2, n.6, p.635-641, 2014.
- BLACKMAN, S.A.; WETTLAUFER, S.H.; OBENDORF, R.L.; LEOPOLD, A.C. Maturation proteins associated with desiccation tolerance in soybean. **Plant Physiology**, v.96, n.3, p.868-874, 1991.
- BOKSZCZANIN, K. L.; FRAGKOSTEFANAKIS, S. Perspectives on deciphering mechanisms underlying plant heat stress response and thermotolerance. **Frontiers in Plant Science**. v.4, p.315. 2013.

BOUCHER, V.; BUITINK, J.; BOUDET, J.; HOEKSTRA, F. A.; HUNDERTMARK, M.; RENARD, D.; LEPRINCE, O. MtPM25 in an atypical hydrophobic late embryogenesis-abundant protein that dissociates cold and desiccation-aggregated proteins. **Plant Cell and Environment**, v.33, n.3, p.418-430, 2010.

BRANDAO-JUNIOR, D. S.; CARVALHO, M. L. M.; VIEIRA, M. G. G. C. Variações eletroforéticas de proteínas e isoenzimas relativas à deterioração de sementes de milho envelhecidas artificialmente. **Revista Brasileira de Sementes**.v.21, n.1, p.114-121, 1999.

BRADFORD, K. J. Germination improvement and avoidance of thermodormancy through osmotic treatment of seeds. Report to the California Iceberg Lettuce Advisory Board's Research Program, **Annual Reports**, 1984-1985, p. 61-72, 1985.

BUFALO, J.; AMARO, A.C.E.; ARAÚJO, H.S. de; CORSATO, J.M.; ONO, E.O.; FERREIRA, G.; RODRIGUES, J.D. Períodos de estratificação na germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa* L.) sob diferentes condições de luz e temperatura. **Semina: Ciências Agrárias**, v.33, n.3, p.931-940, 2012.

BOO, H.; HEO, B.; GORINSTEIN, S.; CHON, S. Positive effects of temperature and growth conditions on enzymatic and antioxidant status in lettuce plants. **Plant Science**, v.4, n.181, p.479-484, 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: Departamento Nacional de Defesa Vegetal, 2009. 394p.

BUFALO, J.; AMARO, A.C.E.; ARAUJO, H.S.; CORSATO, J.M.; ONO, E.O.; FERREIRA, G.; RODRIGUES, J.D. Períodos de estratificação na germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa* L.) sob diferentes condições de luz e temperatura. **Semina: Ciências Agrárias**, v.33, n.3, p.931-940, 2012.

CAETANO, L. C. S.; FERREIRA, J. M.; ARAUJO, M. L.; SILVA, V. V.; LEAL, M. A. de A.; ANDRADE, W. E. B.; COELHO, R. G.; CUNHA, H. C.; SARMENTO, W. R. M.; CUNHA, H.; STORCH, M.; COSTA, R. A.; SILVA, J. A. C. **A cultura da alface: perspectivas, tecnologias e viabilidade**. Niterói: PESAGRO-RIO, 2001. 23 p.

CANTLIFFE, D.J.; SUNG, Y.; NASCIMENTO, W.M. Lettuce seed germination. **Horticultural Reviews**, v. 24, p.229-275, 2000.

CATÃO, H.C.R.M.; GOMES, L.A.A.; SANTOS, H.O.; GUIMARÃES, R.M.; FONSECA, P.H.F.; CAIXETA, F. Aspectos fisiológicos e bioquímicos da germinação de sementes de alface em diferentes temperaturas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.49, n.4, p.316-322, 2014.

CHANDRA, G. R.; TOOLE, V. K. **Plant Physiology**. Vol. 59, 1977.

CHIWOCHA, S. D. S.; ABRAMS, S. R.; AMBROSE, S. J.; CUTLER, A. J.; LOEWEN, M.; ROSS, A. R. S.; KERMODE, A. R. A method for profiling classes of plant hormones and their metabolites using liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry: an analysis of hormone regulation of thermodormancy of lettuce (*Lactuca sativa* L.) seeds. **The Plant Journal**, v.35, n.3, p.405-417, 2003.

COPELAND, L.O.; McDONALD, M.B. **Principles of seed science and technology**. 4 ed. New York: Chapman & Hall, 2001. 467p.

CORTE, V.B.; BORGES, L. E. E.; LEITE, H. G.; LEITE, I.T.A. Qualidade fisiológica de sementes de *Melanoxylon brauna* envelhecidas natural e artificialmente. **Scientia Forestalis**, v.38, n.86, p.181-189, 2010.

DIAMANTE, M.S.; SEABRA JÚNIOR, S.; INAGAKI, A.M.; SILVA, M.B.D.; DALLACORT, R. Produção e resistência ao pendoamento de alfaces tipo lisa cultivadas sob diferentes ambientes. **Revista Ciência Agronômica**, v.44, n.1, p.133-140, 2013.

DREW, R. L. K.; BROCKLEHURST, P. A. Effects of Temperature of Mother-plant Environment on Yield and Germination of Seeds of Lettuce (*Lactuca sativa*). **Annals of Botany**, v.66, n.1, p.63-71, 1990.

DROGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiological Reviews**, v.82, n.1, p.47- 95, 2002.

DUBEY, J. P.; VENTURINI, L.; VENTURINI, M. C.; SPEER, C. A. Isolation of *Sarcocystis speeri* Parasite from the South American Opossum (*Didelphis albiventris*) from Argentina. **Journal of Parasitology**, v.86, n.1, p.160-163, 2000.

DUTTA, S.; BRADFORD, K.J.; NEVINS, D.J. Cell-wall auto hydrolysis in isolated endosperms of lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Plant Physiology**, Lancaster, v.104, n.2, p.623-628, 1994.

EDMOND, J. B.; DRAPALA, W. J. The effects of temperature, sand and soil, and acetone on germination of okra seed. **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**, v.71, p. 428- 434, 1958.

EGLI, D. B.; TEKRONY, D. M.; HEITHOLT, J. J.; RUPE, J. Air temperature during seed filling and soybean seed germination and vigor. **Crop Science**. v.45, n.4, p.1329-1335, 2005.

EIRA, M.T.S.; MARCOS FILHO, J. Condicionamento fisiológico de sementes de alface: I. Efeitos sobre a germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, v.12, n.1, p.9-27, 1990.

FARIA, L.C.; COSTA, J.G.C.; RAVA, C.A.; PELOSO, M.J.D.; MELO, L.C.; CARNEIRO, G.E.S.; SOARES, D.M.; DÍAZ, J.L.C.; ABREU, A.F.B.; FARIA, J.C.; SARTORATO, A.; SILVA, H.T.; BASSINELLO, P.Z.; ZIMMERMANN, F.J.P. **BRS Requite: nova cultivar de feijoeiro comum de tipo de grão carioca com retardamento do escurecimento do grão**. 1ed. Goiás, EMBRAPA Arroz e Feijão. 65p.

FERGUSON, J.M.; TEKRONY, D.M.; EGLI, D.M. Changes during early soybean seed and axes deterioration: II. Lipids. **Crop Science**, v.30, n.1, p.179-182. 1990.

FILGUEIRA, F.A.R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 2. ed. Viçosa, MG: UFV, 2003.

FILHO, J.L.S.C.; GOMES, L.A.A.; MALUF, W.R. Tolerância ao florescimento precoce e características comerciais de progênies F4 de alface do cruzamento Regina 71 x Salinas 88. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.31, n.1, p.37-42, 2009.

FINCH-SAVAGE, W.E.; LEUBNER-METZGER, G. Seed dormancy and the control of germination. **The New Phytologist**, v.171, n.3, p.501-523, 2006.

FOARD, D. E.; HABER, A. H. Mitoses in thermodormant lettuce seeds with reference to histological location, localized expansion, and seed storage. **Planta**, v.71, n.2, p.160-170, 1966.

FOLEY, M. E.; FENNIMORE, S. A. Genetic basis for seed dormancy. **Seed Science Research**, v.8, n.2, p.173-182, 1998.

FRANZIN, S.M.; MENEZES, N.L.; GARCIA, D.C.; ROVERSI, T. Avaliação do vigor de sementes de alface nuas e peletizadas. **Revista Brasileira de Sementes**, v.26, n.2, p.114-118, 2004.

FRIDOVICH, I. Superoxide radical and superoxide dismutases. **Annual Review of Biochemistry**, v.64, p.97-112. 1995.

GECHEV, T.S. et al. Reactive oxygen species as signals that modulate plant stress responses and programmed cell death. **BioEssays**, Cambridge, v.28, n.11, p.1091-1101, 2006.

GRAY, D. Effects of temperature on the germination and emergence of lettuce (*Lactuca sativa* L.) varieties. **HortScience**, v.50, n.4, p.349- 361, 1975

HACISALIHOGU, G.; TAYLOR, A.G.; PAINE, D.H.; HILDEBRAND, M.B.; KHAN, A.A. Embryo elongation and germination rates as sensitive indicators of lettuce seed quality: Priming and aging studies. **Hortscience**, v.34, n.7, p.1240–1243, 1999.

IMOLESI, A.S.; PINHO, É.V.R.V.; PINHO, R.G.V.; VIEIRA, M.G.G.C.; CORRÊA, R.S.B. Efeito da adubação nitrogenada em características morfo-agronômicas e nos padrões eletroforéticos de proteínas e isoenzimas de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v.23, n.1, p.17-25, 2001.

KIKUTI, A. L. P.; MARCOS FILHO, J. Seed vigour tests for lettuce seeds. **Horticultura Brasileira**, v.30, n.1, p.44-50, 2012.

KOZAREWA, I. et al. High maturation temperature of lettuce seeds during development increased ethylene production and germination at elevated temperatures. **Journal of the American Society of Horticultural Science**, Alexandria, v.131, n.4, p.564-570, 2006.

KŘÍSTKOVÁ, E.; DOLEŽALOVÁ, I.; LEBEDA, A.; VINTER, V.; NOVOTNÁ, A. Description of morphological characters of lettuce (*Lactuca sativa* L.) genetic resources. **Hort Science**, v.35, n.3, p.113-129, 2008.

LEHNINGER, A.L. **Lehninger principles of biochemistry**. 4.ed. São Paulo. 2006, 1202p.

MACHADO, R. F.; BARROS, A.C.S.A; ZIMMER, P. D.; AMARAL, A.S. Reflexos do mecanismo de ação de herbicidas na qualidade fisiológica de sementes e na atividade enzimática em plântulas de arroz. **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, n.3, p.151-160, 2006.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, n.1, p.176-177, 1962.

MALONE, G.; ZIMMER, P.D.; MENEGHELLO, G.E.; CASTRO, M.A.S.; PESKE, S. T. Expressão diferencial de isoenzimas durante o processo de germinação de sementes de arroz em grandes profundidades de semeadura. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, n.1, p.61-67, 2007.

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Londrina: Abrates, 2015. 659p.

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

MARINI, P., MORAES, C.L., MARINI, N., MORAES, D.M., AMARANTE, L. Physiological and biochemistry changes in seeds of rice subjected to heat stress. **Revista Ciência Agronômica**, v.43, n.4, p.722-730, 2012.

McDONALD, M. B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. **Seed Science and Technology**, v.22, n.3, p.531-539, 1999.

MERTZ, L.M.; HENNING, F.A.; ZIMMER, P.D. Bioprotetores e fungicidas químicos no tratamento de sementes de soja. **Revista Ciência Rural**, v.39, n.1, p. 13-18, 2009.

MENEZES, M. **Identificação de cultivares de milho, feijão, algodão e soja por meio de enzimas e de proteínas resistentes ao calor**. 2005. 91f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - **MAPA**, **Portaria 457, DOU**, 18 de dezembro de 1986. 19653p.

MOHEBODINI, M.; JAVARAN, M.J.; MAHBOUDI, F.; ALIZADEH, H. Effects of genotype, explant age and growth regulators on callus induction and direct shoot regeneration of Lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Australian Journal of Crop Science**, v.5, n.1, p.92, 2011.

MOLLER, I. M.; KRISTENSEN, B. K. Protein oxidation in plant mitochondria as a stress indicator. **Photochemical & Photobiological Sciences**. v.3, n.8, p.730-735, 2004.

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.

NAKADA, P.G.; OLIVEIRA, J.A.; MELO, L.C.; SILVA, A.A.; SILVA, P.A.; PERINA, F.P. Desempenho durante o armazenamento de sementes de pepino submetidas a diferentes métodos de secagem. **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, n.3, p.42-51, 2010.

NANDI, S.; DAS, G.; SEN-MANDI, S. β -amylase activity as an index for germination potential in rice. **Annals of Botany**, v.75, n.5, p.463-467, 1995.

NASCIMENTO, W.M.; CRODA, M.D.; LOPES, A.C.A. Produção de sementes, qualidade fisiológica e identificação de genótipos de alface termotolerantes. **Revista Brasileira de Sementes**, v.34, n.3, p.510-517, 2012.

- NASCIMENTO, W.M.; CANTLIFFE, D.J.; HUBER, D.J. Ethylene evolution and endo-beta-mannanase activity during lettuce seed germination at high temperature. **Scientia Agricola**, v.61, n.2, p.156-163, 2004.
- NASCIMENTO, W. M.; CANTILIFFE, D. J.; HUBER, D. J. Thermotolerance in Lettuce Seeds: Association with Ethylene and Endo- β -mannanase. **Journal of the American Society for Horticultural Science**. v. 125, n.4, p.518–524, 2000.
- NASCIMENTO, W.M. Preventing thermoinhibition in a thermosensitive lettuce genotype by seed imbibition at low temperature. **Scientia Agricola**, v.60, n.3, p.477-480, 2003.
- NASCIMENTO, W.M.; CANTLIFFE, D.J. Germinação de sementes de alface sob altas temperaturas. **Horticultura Brasileira**, v.20, n.1, p.103-106. 2002.
- NASCIMENTO, W.M. **Germinação de sementes de alface**. Circular Técnica, 29. Embrapa Hortaliças, Brasília, 2002. 10p.
- NASCIMENTO, W.M.; CANTLIFFE, D.J.; HUBER, D.J. Endo- β -mannanase activity and seed germination of thermosensitive and thermotolerance lettuce genotypes in response to seed priming. **Seed Science Research**, v.11, n.3, p.255-264, 2001.
- OLFATI, J.; SAADATIAN, M.; PEYVAST, G.; MALAKOUTI, S.; KIANI, A.; POOR-ABDOLLAH, M. Effect of Harvesting Date on Yield and Quality of Lettuce. **Advances in Environmental Biology**, v.5, n.7, p.1647-1650, 2011.
- PEDÓ, T.; MARTINAZZO, E.G.; AUMONDE, T.Z.; VILLELA, F.A. Desempenho de sementes, vigor e expressão isoenzimática em plântulas de teosinto (*Euchlaena mexicana* Schrader) sob efeito da restrição hídrica. **Revista Brasileira de Biociências**, v.13, n.1, p.5-9, 2015.
- PIMENTEL, M. A.; VASCONCELLOS, M.C.; PENHA, R.O.; GUERRA, E. P.; SILVA, A. L. L. Ação de diferentes enzimas na germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa* L.) – Asteraceae. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**. v.3, n.3, p.1-4, 2012.
- RABBANI, A.R.C.; SILVA-MANN, R.; FERREIRA, R.A.; PESSOA, A.M.S.; BARROS, E.S.; MESQUITA, J.B. Restrição hídrica em sementes de moringa (*Moringa oleifera* L.). **Revista Científica UDO Agrícola**, v.12, n.3, p.563-569, 2012.
- RAISON, J.K.; ROBERTS, J.K.M.; BERRY, J.A. Correlations between thermal stability of chloroplast (thylakoid) membranes and the composition and fluidity of their polar lipids upon acclimation of the higher plant *Nerium oleander*, to growth temperature. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.688, n.1, p.218-228, 1982.
- RASBAND, W.S., **ImageJ**, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <http://imagej.nih.gov/ij/>, 1997-2016.
- REN, C.; KERMODE, A. R. An Increase in Pectin Methyl Esterase Activity Accompanies Dormancy Breakage and Germination of Yellow Cedar Seeds. **Plant Physiology**. v.124, n.1, p.231-242, 2000.
- REZENDE, M. T. **Tolerância ao florescimento precoce e à termoinibição em genótipos de alface**. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2013. 51p.

RYDER, E. Lettuce breeding. In: BASSETT, M.J. (Ed.). **Breeding Vegetable crop**. Gainesville: AVI Publishing Company, INC, v.1, 1986. p.433-474.

SANTOS, C. L.; JUNIOR, S. S.; LALLA, J. G.; THEODORO, V. C. A.; NESPOLI, A. Desempenho de cultivares de alface tipo crespa sob altas temperaturas em Cáceres-MT. **Agrarian**, v.2, n.3, p.87-98, 2009.

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.

SANTOS, R.H.S.; SILVA, F.; CASALI, V.W.D.; CONDÉ, A. R. Conservação pós-colheita de alface cultivada com composto orgânico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, n.3, p.521-525. 2001.

SCHWEMBER, A.R.; BRADFORD, K. J. Quantitative trait loci associated with longevity of lettuce seeds under conventional and controlled deterioration storage conditions. **Journal of Experimental Botany**, p.1-14, 2010. doi:10.1093/jxb/erq248

SCHWARTZ, H.M.; BIEDRON, S.I.; VON HOLDT, M. M.; REHM, S. A study of some plant esterases. **Phytochemistry**. v.3, n.2, p.189-200, 1964.

SHU, K.; ZHANG, H.; WANG, S.; CHEN, M.; WU, Y.; TANG, S et al. ABI4 Regulates Primary Seed Dormancy by Regulating the Biogenesis of Absciscic Acid and Gibberellins in Arabidopsis. **PLoS Genet**, v.9, n.6, 2013.

SILVA, S.A. **Caracterização da produção de alface e seleção de genótipos adaptados no Município de Itabaiana**. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão-SE, 2011.

SILVA, E. C.; LEAL, N. R.; MALUF, R. Avaliação de cultivares de alface sob altas temperaturas em cultivo protegido em três épocas de plantio na região norte-fluminense. **Ciência e Agrotecnologia**, v.23, n.3, p.491-499, 1999.

SILVA, R.R.; GOMES, L.A.A.; MONTEIRO, A.B.; MALUF, W.R.; FILHO, J.L.S.C.; MASSAROTO, J.A. Linhagens de alface-crespa para o verão resistentes ao *Meloidogyne javanica* e ao vírus mosaico-da-alface. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, n.10, p.1349-1356, 2008.

SOUZA, A. L.; JUNIOR, S. S.; DIAMANTE, M. S.; SOUZA, L. H. C.; NUNES, M. C. M. Comportamento de cultivares de alface americana sob clima tropical. **Revista Caatinga**, Mossoró, v.26, n.4, p.123-129, 2013.

SOUZA, R.F.; CONTEL, E.P.B. Análise da variabilidade de isoenzimas em acessos e cultivares de girassol. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.36, n.5, p.771-779, 2001.

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

SUNG, Y.; CANTLIFFE, D.J.; NAGATA, R.T.; NASCIMENTO, W.M. Structural changes in lettuce seed during germination at high temperature altered by genotype, seed maturation temperature, and seed priming. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.133, n.2, p.300-311, 2008.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Califórnia: Cummings, 2004. 719p.

TAN, D. X.; HARDELAND, R.; MANCHESTER, L. C.; KORKMAZ, A.; MA, S.; ROSALES-CORRAL, S.; REITER, R. J. Functional roles of melatonin in plants, and perspectives in nutritional and agricultural science. **Journal of Experimental Botany**. v.63, n.2, p.577–597, 2002.

TANG, A. Desiccation-induced changes in viability, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activity in *Mimulus elengi* seeds. **African Journal of Biotechnology**. v.11, n.44, p.10255-10261, 2012.

THOMPSON, P. A.; COX, S. A.; SANDERSON, R. H. Characterization of the germination responses to temperature of lettuce (*Lactuca sativa* L.) achenes. **Annals of Botany**, v.43, n.3, p.319-334, 1979.

TSANIKLIDIS, G.; DERMITZAKI, E.; NIKOLOPOULOU, A. E.; DARAWSHEH, M.K.; AIVALAKIS, G. Cotton seed storage effects on vigour and activities of NAD⁺-dependent isocitrate dehydrogenase, malate dehydrogenase and β -amylase in seedlings. **Seed Science and Technology**, v.43, n.1, p.111-120, 2015.

TUNES, L.M.; BADINELLI, P.G.; BARROS, A.C.S.A.; MENEGHELLO, G.E.; AMARANTE, L. Influência dos diferentes períodos de colheita na expressão de isoenzimas em sementes de cevada. **Revista Ceres**, v.58, n.2, p.178-184, 2011.

TUNES, L. M.; PEDROSO, D. C.; MENEGHELLO, G. E.; CASTRO, M. A. S.; BARROS, A. C. S. A.; BADINELLI, P. G.; MUNIZ, M. F. B. Perfil enzimático em sementes de cevada em resposta a diferentes concentrações salinas. **Interciência**, v.35, n.5, p.369-373, 2010.

VAISTIJ, F.E.; GAN, Y.; PENFIELD, S. et al. Differential control of seed primary dormancy in *Arabidopsis* ecotypes by the transcription factor SPATULA. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. v.110, n.26, p.10866–10871, 2013.

VERTUCCI, C.W.; FARRANT, J. M. Acquisition and loss of desiccation tolerance. In: KIGEL, J.; GALILI, G. (Ed.). **Seed development and germination**. New York: Marcel Dekker, 1995. p.237-271.

ZHANG, N.; ZHAO, B.; ZHANG, H. J.; WEEDA, S.; YANG, C.; YANG, Z. C.; REN, S.; GUO, Y. D. Melatonin promotes water-stress tolerance, lateral root formation, and seed germination in cucumber (*Cucumis sativus* L.). **Journal of pineal research**. v.54, n.1, p.15–23, 2013.

ZHANG, M.; MAEDA, Y.; FUTIHATA, Y.; NORAMURA, Y.I, ESASHI, Y. A mechanism of seed deterioration in relation to volatile compounds evoked by dry seeds themselves. **Seed Science Research**, v.4, n.1, p.49-56, 1994.

ANEXO

ANEXO 1A – Resumo da análise de variância de Germinação (%) aos sete dias, primeira contagem de germinação (%) aos quatro dias, Germinação (%) aos 11 dias, Velocidade de Germinação, Índice de velocidade de germinação.

QUADRADOS MÉDIOS						
F.V.	G.L.	%G (7 dias)	PCG	%G (11 dias)	VG	IVG
Tratamento	3	3697.930556*	5267.000000*	4213.666667*	70,94528*	69,2548*
Temperatura	5	23607.141667*	14815.100000*	24888.466667*	299,2584*	248,255*
Trat. X Temp.	15	1110.763889*	1678.500000*	1085.200000*	35,2584*	26,2584*
Resíduo	72	11.958333	36.944444	14.083333	2,58422	1,9531
CV (%)		10,16	22.72	10,40	1,46	1,37

** F significativo a 1% de probabilidade

* F significativo a 5% de probabilidade

^{ns} F significativo a 5% de probabilidade