

Tabela 2: Análise da regressão linear múltipla para as populações fúngicas.

	BETA	B	p-level
Intercepto		-21,637	0,0049
UR	0,256	0,378	0,0000
Umidade	0,152	1,971	0,0039

Em estudo semelhante realizado por POZZI *et al.* (1995), ainda que em amostras de milho, não foi possível estabelecer uma correlação linear simples significativa entre o tempo de estocagem, fatores abióticos e a contagem de fúngica dos gêneros de *Aspergillus* e *Penicillium*. De modo que os dois gêneros mostraram uma relativa uniformidade em sua distribuição.

Os resultados obtidos permitem concluir que para o controle das espécies avaliadas os fatores abióticos alvo de controle devem ser a UR e a umidade, uma vez que apresentaram influência significativa e positiva sobre a frequência de isolamento das espécies identificadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Alimentos – Contagem de Bolores e Leveduras em Placas**. MB – 2750, setembro de 1987.
- KLICH, M.A.; PITT, J.I. **A Laboratory Guide to Common *Aspergillus* Species and their Teleomorphs**, Australia: Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization – Division of Food Processing, 1988. 116p.
- FRISVAD, J.C.; THRANE, U. Micotoxin production by food-born fungi. In: SAMSON, R.A.; HOEKSTRA, E.S.; FRISVAD, J.C.; FILTENBORG, O. **Introduction to Food-born Fungi**. Baarn: Lubrecht & Cramer Ltd, 1995. p. 251-260.
- L'VOVA, L.S.; ORLOVA, N.I.; OMEL'CHENKO, V.D. *Penicillium* - species fungi - producers of ochratoxin A in grain. **Prikladnaia Biokhimiia i Mikrobiologiia**, v. 28, n. 6, p. 889-893, 1992.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, DO ABASTECIMENTO E DA REFORMA AGRÁRIA. Comissão Técnica de Normas e Padrões. **Regras para análises de sementes**. Brasília - DF, 1992. p. 365.
- NUNES, I.L. **Micotoxinas, micoflora e seu potencial toxigênico em arroz destinado ao consumo humano**. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Fundação Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande, 2001.
- PITT, J.I. **A Laboratory Guide to Common *Penicillium* Species**, Australia: Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization – Division of Food Processing, 1988. 187p.
- PITT, J.I. Biology and ecology of toxigenic *Penicillium* species. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 504, p. 29-41, 2002.
- POZZI, C.A.; CORRÊA, B.; GAMBALI, W.; PAULA, C.R.; CHACON-RECHE, N.O.; MEIRELLES, C.A. Post-harvest and stored corn in Brazil: mycoflora interaction, abiotic factors and mycotoxin occurrence. **Food Additives and Contaminants**, v. 12, n. 3, p. 313-319, 1995.
- TONON, S.A.; MARUCCI, R.S.; JERKE, G.; GARCÍA, A. Mycoflora of paddy and milled rice produced in the region of Northeastern Argentina and Southern Paraguay. **International Journal of Food Microbiology**, v. 37, p. 231-235, 1997.

Agradecimentos: À Empresa Dryeration Indústria, Comércio, Projetos e Representações LTDA, ao IRGA, ao ICTA/UFRGS, ao CNPq e a FAPERGS.

ALTERAÇÕES ENZIMÁTICAS EM SEMENTES DE ARROZ COM DIFERENTES NÍVEIS DE VIGOR

Autores: Valdinei Sofiatti¹; Olavo Arsego¹; Evaldo Cervieri Filho¹; Mariane D'Ávila Rosenthal²; Thais Helena Maffei da Silva¹; Dario M. de Moraes³.

sufiatti@ufpel.tche.br, Barão de Santa Tecla 228, apto. 402, CEP; 96010-140, Pelotas - RS
¹Engenheiros Agrônomos, discentes do Programa de Pós-Graduação em Ciência & Tecnologia de Sementes da FAEM - UFPel. ²Engenheira Agrônoma, Dra., Programa de Pós-Graduação de Ciência & Tecnologia de Sementes da FAEM - UFPel. ³Engenheiro Agrônomo, Dr. Professor do Departamento de Botânica - UFPel.

Palavras Chave: deterioração, α -amilase, mobilização de reservas.

A perda da viabilidade da semente, com a evolução do seu processo deteriorativo, pode estar relacionada a alterações bioquímicas que conduzem a um comprometimento de suas atividades metabólicas. Algumas mudanças deteriorativas geram desorganização e perda da integridade da membrana (Delouche & Baskin, 1973), redução na capacidade de sintetizar proteínas e ácidos nucléicos (Aguilar et al., 1991), danos na taxa respiratória além de danos no metabolismo de DNA (Coello & Vazquez-Ramos, 1996).

O início do processo de deterioração das sementes é manifestado pela perda do vigor das sementes. Várias enzimas apresentam redução de sua atividade em decorrência do decréscimo da qualidade fisiológica das sementes, incluem-se as lipases, amilases, proteinases, desidrogenases e fosfatases (Bewley & Black, 1994). Ainda não está claro se, as mudanças que se observaram na atividade destas enzimas, estão baseadas na suscetibilidade específica destas a algum agente causador de estresse durante o armazenamento, ou se estas alterações, são resultado de um único evento, por exemplo, ativação de proteases, as quais afetariam a função de várias enzimas. Recentemente várias técnicas utilizadas na detecção da atividade enzimática durante o processo germinativo, tem sido utilizadas para determinar as alterações bioquímicas que ocorrem nas sementes (Vieira et al., 2000).

A enzima α -amilase (EC 3.2.1.1), importante enzima do tipo hidrolase, atua sobre a quebra de reservas de amido, um dos passos importantes na produção de energia e fornecimento dos esqueletos de carbono para novos componentes celulares durante o processo germinativo (Copeland & Mc Donald, 1995), e sua ação é responsável pela corrosão física do grânulo de amido, fazendo com que o amido na forma insolúvel presente no endosperma, passe a forma solúvel (malto-dextrinas) (Beck & Ziegler, 1991). É uma enzima hidrolítica, produzida pela camada de aleurona em resposta a ação das giberelinas, sendo secretada dentro do endosperma causando a conversão de amido em açúcares, os quais são utilizados no crescimento do embrião.

A enzima Fosfatase Ácida (FAC – EC 3.1.3.2), é uma enzima do tipo hidrolase, que atua no metabolismo de carboidratos e fosfatos, participando da mobilização de proteínas de reserva, na digestão de fosfolipídios de membranas, provocando a peroxidação desses lipídeos, e também facilitando o acesso de outras enzimas hidrolíticas aos componentes das reservas da semente, principalmente durante a germinação e crescimento da plântula, e é ativada durante a germinação podendo participar em reações de hidrólise de ésteres (Bewley & Black, 1994).

O presente trabalho teve como objetivos avaliar alterações na atividade das enzimas α -amilase (α -AMY) e fosfatase ácida (FAC) e no conteúdo de reservas da semente (AMIDO) em dois lotes de sementes de arroz da cultivar El Paso L 144 com diferentes níveis de vigor. O trabalho foi conduzido nos Laboratórios de Análise de Sementes e de Fisiologia de Sementes da Universidade Federal de Pelotas, no período de setembro a dezembro de 2002. No experimento foram utilizados dois lotes de sementes de arroz da cultivar El Paso L 144, com diferentes níveis de vigor. Para a avaliação da qualidade fisiológica das sementes realizaram-se os seguintes testes: teste de germinação (TG), primeira contagem de germinação (PCG), envelhecimento acelerado (EA), teste de frio (TF), condutividade elétrica (CE), emergência (E), índice de velocidade de germinação (IVG), índice de velocidade de emergência (IVE), comprimento de raiz (CRA) e parte aérea (CPA). A atividade enzimática foi determinada aos 0, 7 e 14 dias após a semeadura e foi determinado também o conteúdo de reservas (amido) nas sementes secas.

Na caracterização do vigor dos lotes (Tabela 1), constatou-se que a maioria dos testes apontou diferença na qualidade fisiológica entre eles. Os testes de germinação, primeira contagem de germinação, frio, envelhecimento acelerado, emergência e condutividade elétrica caracterizaram o Lote 1 como sendo o mais vigoroso. Já os testes de velocidade de germinação e emergência, comprimento de raiz primária e epicótilo não geraram informações passíveis de diferenciar os lotes, no entanto vale ressaltar que, os testes de comprimento de epicótilo e radícula somente consideram as plântulas normais, e neste caso as plântulas normais não apresentaram diferença em função do vigor das sementes.

A atividade da enzima fosfatase ácida (FAC) não foi influenciada pelo nível de vigor do lote de sementes (Tabela 2). A atividade da FAC aumentou gradativamente até o décimo quarto dia após a semeadura onde a atividade triplicou quando comparada ao tempo zero.

Tabela 1 - Caracterização da qualidade fisiológica de dois lotes (Lotes 1 e 2) de sementes de arroz cultivar El Paso L 144, pelos testes de germinação (TG), primeira contagem de germinação (PCG), índice de velocidade de germinação (IVG), envelhecimento acelerado (EA), teste de frio (TF), emergência (E), índice de velocidade de emergência (IVE), condutividade elétrica (CE), comprimento da raiz primária (CR) e comprimento da parte aérea (CPA).

LOTES	TG	PCG	EA	TF	E	IVG	IVE	CE	CR	CPA
	-----%-----					-----Índice-----	µmos/g		-----cm-----	
Lote 1	90 a	87 a	87 a	82 a	94 a	20,8 a	17,5 a	12,5 b	9,5 a	5,0 a
Lote 2	77 b	75 b	65 b	70 b	79 b	20,2 a	15,9 a	17,4 a	9,6 a	5,5 a

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan (5%).

A atividade da enzima α -amilase diferiu entre os lotes apenas aos sete dias após a semeadura, sugerindo que lotes de sementes menos vigorosas tenham sua germinação e vigor afetados pela redução da atividade dessa enzima. Nedel et. al (1996) citam que a α -amilase está dentro de um grupo de enzimas envolvidas no principal sistema de degradação de amido. Desta forma o embrião produz AG_3 que é transportado até a camada de aleurona estimulando a síntese das hidrolases, principalmente da α -amilase, que são secretadas dentro do endosperma onde, juntamente com as outras enzimas reativadas e/ou sintetizadas “de novo”, irão degradar o amido (Vieira et al, 2000). Assim a menor atividade da α -amilase mobiliza menos reservas para o embrião ou para a plântula resultando em sementes ou plântulas menos vigorosas.

As diferenças na atividade enzimática entre os lotes só foram visualizadas no sétimo dia devido à enzima estar na fase inicial do processo de síntese ou síntese “de novo” no primeiro dia do teste de germinação. Já no décimo quarto dia a atividade diminuiu substancialmente, indicando que a plântula utilizava pouca energia proveniente das reservas da semente para sobrevivência, devido provavelmente, as reservas já estarem esgotadas ou à plântula já estar apta a obtenção de energia proveniente da fotossíntese. França-Neto et al.(2000) relatam que em sementes de soja a redução da atividade de diversas enzimas como catalase, diastase, α e β amilase e desidrogenases está associada a deterioração das sementes, entretanto, não se sabe se a perda da atividade dessas enzimas é a causa da deterioração ou há outras causas que afetam a perda da atividade dessas enzimas.

Tabela 2 - Conteúdo de amido (AMIDO) e atividade das enzimas fosfatase ácida (FAC) e α -amilase (α -AMY), aos zero, sete e quatorze dias após a semeadura (DAS) de dois lotes de sementes de arroz com diferentes níveis de vigor.

LOTES	FAC			α -AMY			AMIDO
	0 DAS	7 DAS	14 DAS	0 DAS	7 DAS	14 DAS	
	-----Nm ⁻¹ g. semente ⁻¹ -----			µM amido hidrolizado /Nm ⁻¹ . g.			µg gr. sem. ⁻¹

Lote 1	3240,6 a	5213,6 a	9388,9 a	43037,5 a	29633,1 a	10504,9 a	96,69 a
Lote 2	3343,7 a	4909,7 a	8646,1 a	46540,4 a	26031,6 b	10584,6 a	103,3 a

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan (5%).

O conteúdo de reservas (amido) disponíveis a nutrição do embrião, não apresentaram diferenças significativas (Tabela 2), o que sugere que as diferenças no vigor das sementes dos dois lotes foram afetadas pela menor disponibilidade de reservas ao embrião devido a menor atividade das enzimas hidrolíticas como a α -amilase. Idéias iniciais sobre a deterioração das sementes incluíam o esgotamento das reservas da semente, no entanto, essa teoria, foi sendo abandonada, uma vez que sementes não viáveis podem apresentar reservas suficientes para a ocorrência do processo de germinação o que indica problemas associados à mobilização dessas reservas para o embrião (França-Neto et al., 2000).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

AGUILAR, R.; REYMOSO, E.; ALBORES, M. & SANCHEZ, J.E. Changes in protein synthesis in embryonic axes after long term storage of maize seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v.2, n.4, p.191-198, 1991.

BECK, E. & ZIEGLER, P. Biosynthesis and degradation of starch in higher plants. **Annual Review Plant Physiology Plant Molecular**, v.40, p. 95-117, 1991.

BEWLEY, J. D. & BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2. ed. New York: Plenum Press, 1994. 445p.

COELLO, P. & VÁZQUEZ-RAMOS, M. Maize DNA polymerase 2 (an α -type enzyme) suffers mayor damage after seed deterioration. **Seed Science Research**, Wallingford, v.6, n.1, p.1-7, 1996.

COPELAND, L.O. & Mc DONALD, M.B. **Principles of seed science and technology**. 3 ed. Michigan: Chapman & Hall, 1995, 409p.

DELOUCHE, J.C. & BASKIN C.C. Accelerated ageing techniques for predicting the relative storability of seeds lots. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.1, n.2, p.427-452, 1973.

FRANÇA-NETO, J.B.; KRZYZANOWSKI, F.C.; HENNING, A.A. & COSTA, N.P. da. Tecnologia de produção de sementes. In: DOURADO-NETO, D. & LOPES, P.P. **A cultura da soja no Brasil**. Londrina:EMBRAPA SOJA, 2000. 1 CD-ROM.

NEDEL, J.L.; ASSIS, F.N. & CARMONA, P.S. **A planta de arroz – morfologia e fisiologia**. Pelotas: UFPel, 1996. 56p. (Módulo 1 – Curso de Especialização em Produção de Sementes de Arroz Irrigado).

VIEIRA, A.R.; VIEIRA, M.das. G.G.C.; OLIVEIRA, J.A. & SANTOS, C.D. dos. Alterações fisiológicas e enzimáticas em sementes dormentes de arroz armazenadas em diferentes ambientes. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 22, n. 2, p. 53-61, 2000.