

ATIVIDADE DESIDROGENATIVA EM SEMENTES

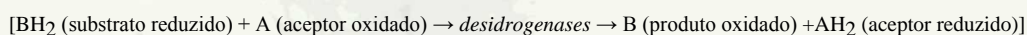
INTRODUÇÃO

A avaliação da viabilidade das sementes é um procedimento importante em estudos relacionados à germinação. Testes que fornecem resultados rápidos são utilizados para a tomada de decisões nas diferentes etapas da produção e na análise da viabilidade e da germinabilidade das sementes. O interesse no estabelecimento de métodos rápidos para avaliar a viabilidade das sementes, principalmente na compra, no manuseio e durante o beneficiamento e armazenamento, levou ao desenvolvimento do teste de tetrazólio.

Alguns corantes podem agir como aceptores de hidrogênio, mudando de cor com a sua redução. Por exemplo, sais de tetrazólio são incolores (ou amarelos) e solúveis quando oxidados e produzem sais de trifenil-formazana, insolúveis e vermelhos, quando reduzidos. Com o uso de sais de tetrazólio, é possível verificar-se *in situ* a atividade das desidrogenases, uma vez que as formazanas precipitam-se onde essas enzimas ocorrem. A presença de desidrogenases ativas é considerada sinal de vitalidade do tecido vegetal. As desidrogenases são enzimas oxidorreduzases catalisadoras da transferência de hidrogênios e de um par de elétrons de um substrato reduzido, que é oxidado na reação, para uma molécula receptora de elétrons que, por sua vez, é reduzida.

A respiração aeróbica envolve a glicólise, o ciclo de Krebs e a cadeia de transporte de elétrons (CTE). As desidrogenases participam de reações em todas essas etapas. Por exemplo, na glicólise, a *gliceraldeído-3-P-desidrogenase* promove a conversão do gliceraldeído-3-P em 1,3-bifosfoglicerato. As *desidrogenases do piruvato*, do *isocitrato*, do *alfa-cetoglutarato*, do *succinato* e do *malato*, atuam em diferentes reações do ciclo de Krebs. Por sua vez, a *NADH-desidrogenase*, também denominada Complexo I, e a *NADH-quinona oxidorreductase*, participam da cadeia respiratória. Pela sua participação na respiração, as atividades das desidrogenases são indicadores importantes da viabilidade das sementes.

As desidrogenases catalisam reações do tipo:



O teste do tetrazólio é um procedimento rápido e de grande importância para a avaliação da qualidade das sementes, porque, além de indicar a vitalidade, também pode fornecer informações sobre o vigor e ainda identificar problemas fitossanitários, além de detectar a ocorrência de danos mecânicos que podem comprometer a germinabilidade das sementes. Todavia, para a utilização desse teste, torna-se necessário o estabelecimento de padrões de coloração pelo tetrazólio para cada espécie avaliada, o que exige estudos prévios relacionados à morfologia interna das sementes e testes de germinação em campo, para que os padrões estabelecidos em laboratórios se tornem precisos.

OBJETIVOS

Determinar a ocorrência e a localização de desidrogenases ativas em sementes de milho e de feijão. Ilustrar a aplicabilidade do teste do tetrazólio para se estimar a germinabilidade de sementes.

MATERIAIS

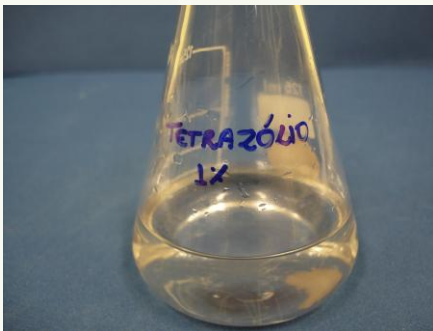
- Grãos de milho e de feijão embebidos por 12 a 24 horas.



- Banho-maria



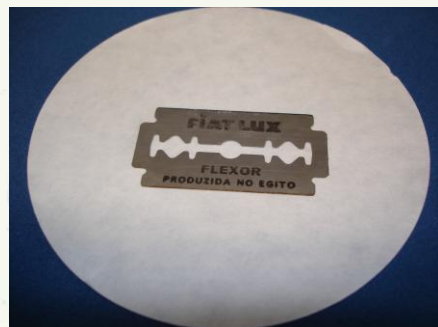
- Solução de tetrazólio (cloreto de trifeniltetrazólio) a 1% (p/v)



- Tubos de ensaio (2,5 x 12,5 cm)



- Estilete ou lâmina de barbear nova



PROCEDIMENTOS

Separe 10 sementes de milho e de feijão, embebidas de véspera, e deixe-as em água fervente por 5 minutos. Com um estilete ou com uma lâmina de barbear nova, corte cada grão de milho longitudinalmente, num plano perpendicular às faces achatadas, expondo o eixo maior do embrião. Faça o mesmo procedimento com as sementes de feijão, cortando-as longitudinalmente, a partir do hilo, separando os dois cotilédones. Faça o mesmo tipo de corte em outras sementes embebidas de milho e de feijão, mas não submetidas à fervura. Conserve os quatro grupos em tubos de ensaio separados e identificados.

Adicione aos tubos de ensaio contendo os grãos cortados solução de cloreto de trifeniltetrazólio a 1%, em quantidade suficiente para cobrir os grãos. Transfira os tubos de ensaio para banho-maria, a 30°C, para acelerar a reação. Observe as mudanças de cor que ocorrem com o tempo (30 a 60 minutos). Faça um esquema da distribuição da coloração vermelha nas sementes vivas.