

Aspectos fisiológicos e bioquímicos da germinação de sementes de alface em diferentes temperaturas

Hugo Cesar Rodrigues Moreira Catão⁽¹⁾, Luiz Antônio Augusto Gomes⁽¹⁾, Heloisa Oliveira dos Santos⁽¹⁾, Renato Mendes Guimarães⁽¹⁾, Pedro Henrique Faria Fonseca⁽¹⁾ e Franciele Caixeta⁽¹⁾

⁽¹⁾Universidade Federal de Lavras, Departamento de Agricultura, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000 Lavras, MG, Brasil. E-mail: hugocatao@yahoo.com.br, laagomes@dag.ufla.br, heloisasantos@dag.ufla.br, renatomg@dag.ufla.br, pedro_fonseca90@hotmail.com, francielecaixeta@yahoo.com.br

Resumo – O objetivo deste trabalho foi avaliar os padrões eletroforéticos das proteínas resistentes ao calor e a atividade da enzima endo- β -mananase durante a germinação de sementes de alface, em alta temperatura. Sementes de oito cultivares de alface foram submetidas aos testes de germinação, primeira contagem e emergência em duas temperaturas, 20 e 35°C. Foram calculados o índice de velocidade de germinação (IVG) e o índice de velocidade de emergência (IVE). Avaliou-se, também, a expressão das proteínas resistentes ao calor e da enzima endo- β -mananase, para todos os tratamentos. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2x8, com duas temperaturas e oito cultivares. A maior germinação é observada a 35°C na cultivar Everglades, considerada termotolerante. Os padrões de proteínas resistentes ao calor em sementes de alface apresentam bandas específicas na cultivar Everglades, a 35°C. A atividade da enzima endo- β -mananase é maior na cultivar Everglades, nessa temperatura. Essa cultivar tem potencial para utilização em programas de melhoramento de alface com vistas à tolerância a altas temperaturas durante a germinação.

Termos para indexação: *Lactuca sativa*, endo- β -mananase, proteínas tolerantes ao calor, termoinibição.

Physiological and biochemical aspects of lettuce seed germination at different temperatures

Abstract – The objective of this work was to evaluate the electrophoretic patterns of heat-tolerant proteins and the activity of the endo- β -mannanase enzyme during lettuce seed germination, at high temperature. Seeds of eight lettuce cultivars were subjected to germination, first count, and emergence tests at two temperatures, 20 and 35°C. The index of germination speed (IVG) and the emergence rate index (IVE) were calculated. The expression of heat-tolerant proteins and of the endo- β -mannanase enzyme was also evaluated for all treatments. The experimental design was completely randomized, in a 2x8 factorial arrangement, with two temperatures and eight cultivars. The highest germination is observed at 35°C in the Everglades cultivar, considered thermotolerant. The patterns of heat-tolerant proteins in lettuce seeds present specific bands in the Everglades cultivar, at 35°C. The activity of the endo- β -mannanase enzyme is higher in the Everglades cultivar, at this temperature. This cultivar has potential for use in lettuce breeding programs aiming for tolerance to high temperatures during germination.

Index terms: *Lactuca sativa*, endo- β -mannanase, heat-tolerant proteins, thermoinhibition.

Introdução

As sementes de alface (*Lactuca sativa* L.) são sensíveis às variações da umidade e da temperatura do meio em que germinam (Bertagnolli et al., 2003), o que ocasiona problemas na germinação, má qualidade e atraso na produção de mudas (Bufalo et al., 2012), e, conseqüentemente, queda na produtividade, com prejuízos diretos para o produtor (Nascimento et al., 2012). Diante disso, a identificação de genótipos

capazes de germinar em temperaturas mais elevadas torna-se de grande importância como subsídio para o desenvolvimento de programas de melhoramento de alface, para regiões tropicais e subtropicais, com vistas à obtenção de cultivares mais tolerantes e de melhor qualidade quanto à germinação.

De acordo com Finch-Savage & Leubner-Metzger (2006), a dormência em sementes é controlada pelo genótipo associado a: fatores ambientais, como temperatura; fatores físicos, como espessura do

tegumento; e regulação de hormônios, como ácido abscísico e giberelina. Quando as sementes de alface são expostas a temperaturas elevadas durante a embebição, pode ocorrer inibição temporária (termoinibição) ou completa da germinação (termodormência), em razão do enrijecimento do endosperma que acaba restringindo a protrusão da radícula (Kozarewa et al., 2006; Nascimento et al., 2012). Silva et al. (2004) afirmam que, quando as sementes têm sua germinação limitada pelo endosperma, há necessidade do enfraquecimento desse tecido para que haja a protrusão da radícula, sendo esse papel desempenhado por enzimas como a endo- β -mananase.

A parede celular do endosperma das sementes de alface é constituída, principalmente, de galactomananos, e a enzima endo- β -mananase faz parte do mecanismo de degradação (Nascimento et al., 2004). Assim, pode-se inferir que a maior atividade dessa enzima, em cultivares germinadas em altas temperaturas, está relacionada à termotolerância da semente.

A análise da expressão de enzimas e proteínas pode proporcionar a discriminação das cultivares, o que possibilita identificar variações relacionadas a fatores abióticos, como temperaturas elevadas de germinação. Dessa forma, é possível identificar marcadores que possam se tornar ferramenta para seleção de materiais tolerantes a altas temperaturas de germinação (Roveri José et al., 2004).

Os marcadores mais estudados na adaptação dos organismos à condição de estresse são as proteínas tolerantes ao calor, a exemplo das “heat shock proteins” (HSP) (Andrade et al., 2013). Essa é uma ferramenta essencial para a identificação de cultivares que tolerem temperaturas elevadas, uma vez que essas proteínas conservam sua natureza, além de manter suas propriedades físicas e abundância em condições de estresse (Roveri José et al., 2004). Segundo Roveri José et al. (2005), essas proteínas têm sido relacionadas à preservação e ao reparo das estruturas macromoleculares durante a desidratação ou a reidratação, respectivamente.

O objetivo deste trabalho foi avaliar os padrões eletroforéticos das proteínas resistentes ao calor e a atividade da enzima endo- β -mananase durante a germinação de sementes de alface, em alta temperatura.

Material e Métodos

A pesquisa foi realizada em área experimental no Município de Ijaci, MG, e no Laboratório Central de Sementes do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras, MG.

O processo de produção de sementes de alface foi conduzido entre outubro de 2011 e fevereiro de 2012, em área da Fazenda Palmital, Ijaci, MG (21°9'24"S, 44°55'34"W), cujo solo é classificado como Latossolo Vermelho de textura argilosa.

Foram utilizadas mudas de diferentes cultivares de alface: Everglades, Baba de Verão, Elisa e Luiza (lisa), Grand Rapids e Hortênciã (crespa), e Salinas 88 e Rubete (americana), semeadas em bandejas de isopor de 128 células contendo substrato comercial Multiplant Hortaliças (Terra do Paraíso Ltda., Holambra, SP). Após 21 dias, as mudas foram transplantadas para canteiros em área sob cultivo protegido.

Durante o processo de produção de sementes, as temperaturas média máxima e mínima do ar, medidas a 1,5 m do solo, foram, respectivamente, de 45,6 e 31,2°C. Tais condições ambientais influenciam a dormência das sementes de alface, tornando necessário que as sementes sejam produzidas com monitoramento da temperatura. Antes da realização dos testes, as sementes das diferentes cultivares foram submetidas à determinação do teor de água em porcentagem, conforme descrito em Regras para análise de sementes (2009). Em seguida, avaliou-se sua qualidade fisiológica e bioquímica, nas temperaturas de 20 e 35°C. Para o teste de germinação, a semeadura foi realizada sobre duas folhas de papel mata-borrão, umedecidas com água, na proporção de 2,5 vezes o peso do substrato seco, em caixas de plástico do tipo gerbox. As caixas com as sementes foram mantidas em câmaras do tipo “biochemical oxygen demand” (BOD), em regime alternado de luz e temperatura, 12 horas no escuro e 12 horas na presença de luz, a 20 e 35°C. Para avaliação do vigor, no quarto dia realizou-se a primeira contagem de germinação. A primeira contagem foi realizada em conjunto com o teste de germinação. No sétimo dia, observou-se germinação total e procedeu-se à avaliação das plântulas, segundo Regras para análise de sementes (2009). Foram analisadas quatro subamostras de 50 sementes de cada cultivar. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais no teste de germinação. O teste de tetrazólio foi realizado nas sementes remanescentes (sementes que não

germinaram) do teste de germinação, sendo retirados os tegumentos e os embriões submetidos ao teste de tetrazólio. A coloração foi realizada em solução de 2,3,5-trifenil cloreto de tetrazólio em concentração de 1%, durante 3 horas no escuro, a 30°C. Após este período e verificação da coloração, os embriões foram lavados em água corrente e mantidos submersos em água até sua avaliação, quando foram analisados individualmente para determinar sua viabilidade. A interpretação foi realizada de acordo com Regras para análise de sementes (2009), e os resultados, expressos em porcentagem de sementes viáveis.

Para a avaliação da emergência, a semeadura foi realizada em caixas de plástico do tipo gerbox, contendo substrato comercial Multiplant Hortaliças (Terra do Paraíso Ltda., Holambra, SP), com capacidade de retenção de água ajustada para 60%. As caixas gerbox foram mantidas em BODs, nas temperaturas de 20 e 35°C, com fotoperíodo de 12 horas no escuro e 12 horas na presença de luz. Colocou-se, no interior de cada BOD, um recipiente contendo água para manter a umidade. Foram utilizadas quatro subamostras de 50 sementes de cada cultivar. Foram realizadas avaliações diárias a partir do início da emergência, tendo-se computado o número de plântulas emergidas até a estabilização do estande (Queiroz et al., 2011).

As avaliações da velocidade de germinação e de emergência foram realizadas simultaneamente aos testes de germinação e de emergência, tendo-se computado, diariamente e no mesmo horário, o número de plântulas que apresentavam dois folíolos completamente abertos. Os cálculos dos índices foram realizados com fórmula proposta por Maguire (1962). Todos os testes, com exceção do teor de água, foram aplicados após as sementes terem sido submetidas aos tratamentos de 20 e 35°C.

Para a extração das proteínas resistentes ao calor e da enzima endo- β -mananase, três amostras de sementes de alface de cada tratamento foram colocadas para embeber em caixas de plástico sobre papel mata-borrão umedecido com água destilada, em quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato seco, conforme Regras para análise de sementes (2009), por um período de 5 horas, a 20 e 35°C, em câmara do tipo BOD. Após a embebição, 150 sementes de cada tratamento foram maceradas em cadinho com nitrogênio líquido e polivinilpirrolidona (PVP). Foram adicionados 100 mg do pó macerado

a 1.000 μ L de tampão de extração (50 mmol L⁻¹ tris-HCl, pH 7,5; 500 mmol L⁻¹ de NaCl; 5 mmol L⁻¹ de MgCl₂; 1 mmol L⁻¹ PMSF); em seguida, microtubos de 2 mL foram agitados em vortex e centrifugados a 12.000 g por 30 min, a 4°C. O sobrenadante foi, então, incubado em banho-maria a 85°C por 15 min e novamente centrifugado por 30 min. O sobrenadante foi vertido em microtubos, e o pellet foi descartado. Antes da aplicação, os microtubos contendo 70 mL do extrato de proteína + 40 mL do tampão da amostra (5 mL de glicerol, 2,5 mL de solução tampão do gel concentrador e 2,5 mg de azul de bromofenol, para completar o volume para 25 mL de água destilada) foram levados ao banho-maria, em ebulição, por 5 min (Alfenas, 2006). Em seguida, foram aplicados 50 μ L de cada amostra em gel de poliacrilamida SDS-Page a 12,5% (gel separador) e 6% (gel concentrador), e a revelação, para detecção das proteínas resistentes ao calor, foi conduzida como em Alfenas (2006).

Para a enzima endo- β -mananase, em cada microtubo com 100 mg de pó de cada amostra, foram adicionados 300 μ L de tampão de extração – 0,1 mol L⁻¹ Hepes por 0,5 mol L⁻¹ de NaCl e ácido ascórbico (5 mg de ácido ascórbico por mL de tampão), pH 8,0. Em seguida, os microtubos foram centrifugados por 30 min a 12.000 g, e 2 μ L do sobrenadante foram aplicados em gel contendo 6 mL de “locust bean gum” (LBG), 0,24 g de agarose e 24 mL de tampão pH 5,0 (1 mol L⁻¹ de ácido cítrico por 0,4 mol L⁻¹ de Na₂HPO₄ 2H₂O). As alíquotas foram aplicadas em furos de 2 mm feitos no gel de poliacrilamida com auxílio de furador. O gel foi incubado por 21 horas em geladeira e revelado como descrito em Silva et al. (2004). A atividade da enzima endo- β -mananase foi calculada segundo Downie et al. (1994). A avaliação dos padrões proteicos foi realizada de acordo com a intensidade das bandas, tendo-se utilizado transiluminador de luz branca, modelo TFP-C/WL (Biosystems, Curitiba, PR).

Nos testes para a avaliação da qualidade fisiológica das sementes de alface, utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2x8, cujos fatores foram duas temperaturas (20 e 35°C) e oito cultivares de alface, com quatro repetições. Para a atividade da enzima endo- β -mananase também foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, em triplicata, sendo os tratamentos compostos por oito cultivares de alface, em duas temperaturas de embebição (20 e 35°C). Foi realizada análise de

variância para todos os testes, com uso do programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2011). Para a comparação entre as médias, empregou-se o teste de Scott & Knott, a 5% de probabilidade.

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), em diferentes lotes de sementes de alface. Houve diferenças significativas entre as cultivares e entre as temperaturas, assim como para a interação dos fatores avaliados (Tabela 1).

Em todas as cultivares, a emergência e a percentagem e velocidade de germinação a 35°C apresentaram menores valores, o que indica dormência da semente nessa temperatura. Resultados semelhantes também foram obtidos por Argyris et al. (2011) e Deng & Song (2012), ao analisar a dormência, em sementes de alface, causada por temperaturas elevadas.

Nascimento et al. (2012), ao avaliar a germinação de sementes de alface em altas temperaturas, também relataram diferenças entre cultivares. Houve redução na germinação e no vigor das sementes quando a temperatura de germinação foi elevada de 20 para 35°C. A alta temperatura afetou a qualidade das sementes, porém em menor intensidade na cultivar Everglades. Percentagens reduzidas de germinação e emergência de plântulas em temperaturas elevadas podem estar associadas à dormência (termodormência), pois, durante a avaliação do teste de germinação, observou-se a presença de sementes embebidas sem protrusão

radicular. Por meio do teste de tetrazólio, verificou-se que a maioria das sementes embebidas estavam viáveis (Tabela 2). De acordo com Dias & Alves (2008), o teste de tetrazólio e a germinação são complementares, e, em conjunto, permitem avaliar a qualidade fisiológica das sementes por meio de sua viabilidade. Na temperatura de 35°C, constatou-se que as sementes estavam termodormentes.

A 20°C, as cultivares Elisa e Salinas 88 apresentaram as menores percentagens de germinação, além de baixo vigor, obtidas pelo teste de emergência e pelos índices de velocidade de germinação e de emergência. Ao contrário do observado no presente trabalho, Villela et al. (2010) concluíram que a cultivar Elisa apresentou elevados índices de germinação e de vigor.

Na temperatura de 20°C, recomendada para a germinação de sementes de alface, foram obtidas as maiores percentagens de germinação, com valores acima de 80%, considerado mínimo para comercialização de sementes dessa espécie. Já a 35°C, apenas a cultivar Everglades manteve valores de germinação de 74%, o que está de acordo com trabalhos que caracterizam essa cultivar como termotolerante (Nascimento et al., 2004; Kozarewa et al., 2006). A germinação das cultivares Luiza e Elisa, a 35°C, foi intermediária em relação à das demais cultivares, que foram inibidas (termoinibidas). No entanto, há relatos de alta viabilidade e vigor das sementes da cultivar Luiza, a 35°C (Villela et al., 2010). Para Nascimento et al. (2012), acima de 30°C, a germinação das sementes da maioria dos genótipos de alface é errática ou completamente inibida. Isso ocorre por causa do enfraquecimento do endosperma

Tabela 1. Testes de primeira contagem de germinação (PCG), germinação e emergência, e índices de velocidade de germinação (IVG) e de velocidade de emergência (IVE), em oito cultivares de alface (*Lactuca sativa*), em função da temperatura de 20 e de 35°C⁽¹⁾.

Cultivar	PCG (%)		Germinação (%)		Emergência (%)		IVG		IVE	
	20	35	20	35	20	35	20	35	20	35
Luiza	94aA	11bB	94aA	21bB	90aB	17bB	23,3aD	2,6bB	9,1aC	1,5bB
Elisa	78aC	9bB	82aC	23bB	78aC	13bB	18,5aE	2,8bB	6,35aF	1,0bB
Grand Rapids	96aA	0bC	97aA	2bC	88aB	0bC	37,2aB	0,1bC	6,9aE	0,0bC
Baba de Verão	96aA	3bC	98aA	4bC	91aB	0bC	31,7aC	0,4bC	7,9aD	0,0bC
Hortência	98aA	0bC	98aA	0bC	84aC	0bC	41,9aA	0bC	7,8aD	0,0bC
Rubete	97aA	0bC	99aA	0bC	95aA	0bC	23,0aD	0bC	10,5aB	0,0bC
Salinas 88	87aB	0bC	90aB	0bC	80aC	0bC	22,9aD	0bC	7,4aD	0,0bC
Everglades	98aA	60bA	99aA	74bA	98aA	65bA	44,4aA	24,1bA	11,1aA	5,7bA
CV (%)	7,79		6,12		6,31		10,96		7,70	

⁽¹⁾Médias seguidas por letras iguais, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, não diferem pelo teste de Scott & Knott, a 5% de probabilidade.

das sementes, o que impede o crescimento do embrião e restringe a protrusão radicular (Sung et al., 2008).

Em estudos realizados com alface, Franzin et al. (2004) mostraram que a emergência de plântulas pode ser usada na avaliação do potencial fisiológico de sementes. No presente trabalho, esse teste também permitiu diferenciar o vigor das sementes e observar o maior vigor das sementes da cultivar Everglades, em ambas as temperaturas.

Os índices de velocidade de germinação e de emergência também foram reduzidos quando se aumentou a temperatura para 35°C. Bertagnolli et al. (2003) e Bufalo et al. (2012), ao analisar o desempenho de sementes de alface submetidas ao estresse térmico, também concluíram que, em temperaturas iguais ou superiores a 25°C, houve redução na velocidade e na porcentagem de germinação, e, que a 35°C, ocorreu paralisação da germinação das sementes.

A maior atividade da enzima endo- β -mananase ocorreu nas sementes da cultivar Everglades embebidas a 35°C, seguida das cultivares Elisa e Luiza (Tabela 3). A cultivar Hortência foi a que apresentou menor atividade dessa enzima. Schwember & Bradford (2010) observaram que a cultivar Dark Green Boston, considerada termossensível, também apresentou menor atividade da endo- β -mananase. De acordo com Nascimento et al. (2004), essa enzima é responsável pelo enfraquecimento das paredes celulares do endosperma das sementes de alface quando germinadas a temperaturas elevadas; com isso, genótipos termotolerantes apresentam maior atividade enzimática do que aqueles termossensíveis.

Tabela 2. Número de sementes remanescentes (N) e viabilidade (%) de sementes de oito cultivares de alface (*Lactuca sativa*) pelo teste de tetrazólio, em função da temperatura de germinação de 20 e de 35°C.

Cultivar	N ⁽¹⁾	20°C		N	35°C	
		Viáveis (%)	Mortas (%)		Viáveis (%)	Mortas (%)
Luiza	12	0	100	158	83	17
Elisa	36	36	64	154	49	51
Grand Rapids	6	25	75	196	82	18
Baba de Verão	4	67	33	192	90	10
Hortência	4	75	25	200	47	53
Rubete	2	0	100	200	52	48
Salinas 88	20	16	84	200	68	32
Everglades	2	0	100	52	87	13

⁽¹⁾Sementes não germinadas do teste de germinação, em um total de 200 sementes.

Os resultados de maior atividade da endo- β -mananase seguem a tendência dos maiores resultados de germinação, a 20°C, nas cultivares avaliadas (Tabela 1) e nos resultados obtidos por Nascimento et al. (2004).

A temperatura, durante o processo de embebição, alterou a expressão das proteínas tolerantes ao calor (Figura 1). Nas bandas proteicas analisadas, os padrões eletroforéticos foram diferentes nas cultivares termotolerantes e termossensíveis. Roveri José et al. (2005) sugeriu que a habilidade ou a falta de algum fator para expressar as proteínas HSP, por si só, não pode ser tomada como indicativo de que as sementes

Tabela 3. Atividade da enzima endo- β -mananase (picomol por min g⁻¹) em oito cultivares de alface (*Lactuca sativa*), em função da temperatura de embebição de 20 e de 35°C⁽¹⁾.

Cultivar	Temperatura de embebição	
	20°C	35°C
Luiza	1.707,5aB	962,5bC
Elisa	1.592,5aC	1.115,0bB
Grand Rapids	1.882,5aA	535,0bD
Baba de Verão	1.865,0aA	565,0bD
Hortência	1.895,0aA	315,0bF
Rubete	1.907,5aA	372,5bE
Salinas 88	1.822,5aB	447,5bE
Everglades	1.920,0aA	1.545,0aA
CV (%)	9,84	

⁽¹⁾Médias seguidas de letras iguais, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, não diferem pelo teste de Scott & Knott, a 5% de probabilidade.

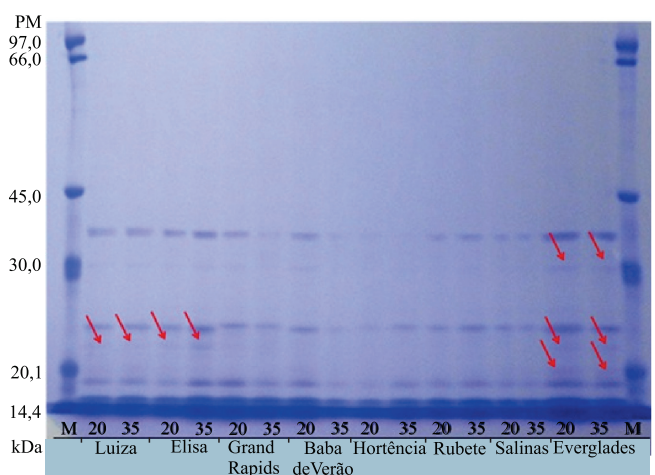


Figura 1. Perfil eletroforético de proteínas resistentes ao calor que indica bandas específicas extraídas de sementes de oito cultivares de alface (*Lactuca sativa*), em função da temperatura de embebição de 20 e de 35°C.

de uma espécie em particular podem ou não resistir à desidratação. Entretanto, foi possível verificar a presença de bandas específicas quando as sementes foram embebidas a 35°C, com destaque para a cultivar Everglades. Conforme Queitsch et al. (2000), todos os organismos, embora sintetizem HSP em resposta ao calor, apresentam grande variação no balanço de proteínas sintetizadas na tolerância ao estresse.

Ressalta-se que a cultivar Everglades, além de apresentar bandas específicas a 20 e 35°C, também apresentou maior quantidade dessas proteínas, tendo relação direta, tanto com a germinação à alta temperatura quanto com a maior atividade da enzima endo- β -mananase. Dessa forma, esse material pode ser considerado termotolerante, quando comparado às demais cultivares testadas. Nessa perspectiva, a cultivar Everglades torna-se importante para utilização em programas de melhoramento de alface, para obtenção de cultivares de melhor qualidade quanto à germinação, em regiões tropicais e subtropicais.

Conclusões

1. A mais alta germinação é observada na cultivar de alface Everglades, na temperatura de 35°C; e as cultivares Luiza e Elisa são intermediárias quanto à tolerância a altas temperaturas de germinação.

2. A atividade da enzima endo- β -mananase é maior na cultivar Everglades, a 35°C.

3. Os genótipos termotolerantes são identificados por meio do perfil de proteínas resistentes ao calor.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig), à Universidade Federal de Lavras (Ufla) e à HortiAgro Sementes S/A, pelo apoio financeiro e pela viabilização da pesquisa.

Referências

ALFENAS, A.C. (Ed.). **Eletroforese e marcadores bioquímicos em plantas e microrganismos**. 2.ed. ampl. e atual. Viçosa: Ed. da UFV, 2006. 627p.

ANDRADE, T.; VON PINHO, E.V.; VON PINHO, R.G.; OLIVEIRA, G.E.; ANDRADE, V.; FERNANDES, J.S. Physiological quality and gene expression related to heat-resistant

proteins at different stages of development of maize seeds. **Genetics and Molecular Research**, v.12, p.3630-3642, 2013. DOI: 10.4238/2013.September.13.7.

ARGYRIS, J.; TRUCO, M.J.; OCHOA, O.; MCHALE, L.; DAHAL, P.; VAN DEYNZE, A.; 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, p.95-108, 2011. DOI: 10.1007/s00122-010-1425-3.

BARBOSA, R.M.; COSTA, D.S. da; SÁ, M.E. de. Envelhecimento acelerado em sementes de alface. **Ciência Rural**, v.41, p.1899-1902, 2011. DOI: 10.1590/S0103-84782011005000138.

BERTAGNOLLI, C.M.; MENEZES, N.L. de; STORK, L.; SANTOS, O.S. dos; 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, p.7-13, 2003. DOI: 10.1590/S0101-31222003000100002.

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, p.931-940, 2012. DOI: 10.5433/1679-0359.2012v33n3p931.

DENG, Z.; SONG, S. Sodium nitroprusside, ferricyanide, nitrite and nitrate decrease the thermo-dormancy of lettuce seed germination in a nitric oxide-dependent manner in light. **South African Journal of Botany**, v.78, p.139-146, 2012. DOI: 10.1016/j.sajb.2011.06.009.

DIAS, M.C.L. de L.; ALVES, S.J. Avaliação da viabilidade de sementes de *Panicum maximum* Jacq pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, v.30, p.152-158, 2008. DOI: 10.1590/S0101-31222008000300019.

DOWNIE, B.; HILHORST, H.W.M.; BEWLEY, J D. A new assay for quantifying endo- β -d-mannanase activity using congo red dye. **Phytochemistry**, v.36, p.829-835, 1994. DOI: 10.1016/S0031-9422(00)90446-1.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, p.1039-1042, 2011. DOI: 10.1590/S1413-70542011000600001.

FINCH-SAVAGE, W.E.; LEUBNER-METZGER, G. Seed dormancy and the control of germination. **New Phytologist**, v.171, p.501-523, 2006. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2006.01787.x.

FRANZIN, S.M.; MENEZES, N.L. de; GARCIA, D.C.; WRASSE, C.F. Métodos para avaliação do potencial fisiológico de sementes de alface. **Revista Brasileira de Sementes**, v.26, p.63-69, 2004. DOI: 10.1590/S0101-31222004000200009.

KOZAREWA, I.; CANTLIFFE, D.J.; NAGATA, R.T.; STOFFELLA, P.J. High maturation temperature of lettuce seeds during development increased ethylene production and germination at elevated temperatures. **Journal of the American Society of Horticultural Science**, v.131, p.564-570, 2006.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination – aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, p.176-177, 1962. DOI: 10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x.

- NASCIMENTO, W.M.; CANTLIFFE, D.J.; HUBER, D.J. Ethylene evolution and endo- β -mannanase activity during lettuce seed germination at high temperature. **Scientia Agricola**, v.61, p.156-163, 2004. DOI: 10.1590/S0103-90162004000200006.
- 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, p.510-517, 2012. DOI: 10.1590/S0101-31222012000300020.
- NONOGAKI, H.; MATSUSHIMA, H.; MOROHASHI, Y. Galactomannan hydrolyzing activity develops during priming in the micropylar endosperm tip of tomato seeds. **Physiologia Plantarum**, v.85, p.167-172, 1992. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1992.tb04719.x.
- QUEIROZ, L.A.F.; VON PINHO, E.V. de R.; OLIVEIRA, J.A.; FERREIRA, V. de F.; CARVALHO, B.O.; BUENO, A.C.R. Época de colheita e secagem na qualidade de sementes de pimenta Habanero Yellow. **Revista Brasileira de Sementes**, v.33, p.472-481, 2011. DOI: 10.1590/S0101-31222011000300010.
- QUEITSCH, C.; HONG, S.W.; VIERLING, E.; LINDQUIST, S. Heat shock protein 101 plays a crucial role in thermotolerance in Arabidopsis. **Plant Cell**, v.12, p.479-492, 2000. DOI: 10.1105/tpc.12.4.479.
- REGRAS para análise de sementes. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2009. 395p.
- ROVERI JOSÉ, S.C.B.; VON PINHO, E.V. de R.; SALGADO, K.C. de C.; VON PINHO, R.G. Identificação de cultivares de milho por meio de proteínas resistentes ao calor. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.3, p.1-9, 2004.
- ROVERI JOSÉ, S.C.B.; VON PINHO, E.V. de R.; VON PINHO, R.G.; SILVEIRA, C.M. da. Padrão eletroforético de proteínas resistentes ao calor em sementes de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, p.115-121, 2005. DOI: 10.1590/S0100-204X2005000200003.
- SCHWEMBER, A.R.; BRADFORD, K.J. A genetic locus and gene expression patterns associated with the priming effect on lettuce seed germination at elevated temperatures. **Plant Molecular Biology**, v.73, p.105-118, 2010. DOI: 10.1007/s11103-009-9591-x.
- SILVA, E.A.A. da; TOOROP, P.E.; VAN AELST, A.C.; HILHORST, H.W. Abscisic acid controls embryo growth potential and endosperm cap weakening during coffee (*Coffea arabica* cv. Rubi) seed germination. **Planta**, v.220, p.251-261, 2004. DOI: 10.1007/s00425-004-1344-0.
- 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, p.300-311, 2008.
- VILLELA, R.P.; SOUZA, R.J. de; GUIMARÃES, R.M.; NASCIMENTO, W.M.; GOMES, L.A.A.; CARVALHO, B.O.; BUENO, A.C.R. Produção e desempenho de sementes de cultivares de alface em duas épocas de plantio. **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, p.158-169, 2010.

Recebido em 13 de dezembro de 2013 e aprovado em 27 de março de 2014