



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA/FITOTECNIA
CURSO DE DOUTORADO EM AGRONOMIA/FITOTECNIA

IRINALDO LIMA DO NASCIMENTO

**AÇÃO DO ÁCIDO ASCÓRBICO NA ATENUAÇÃO DOS EFEITOS DO
ENVELHECIMENTO E DO ESTRESSE SALINO EM SEMENTES DE GIRASSOL**

FORTALEZA

2016

IRINALDO LIMA DO NASCIMENTO

AÇÃO DO ÁCIDO ASCÓRBICO NA ATENUAÇÃO DOS EFEITOS DO
ENVELHECIMENTO E DO ESTRESSE SALINO EM SEMENTES DE GIRASSOL

Tese apresentada ao Programa de Doutorado
em Agronomia/Fitotecnia do Departamento
de Fitotecnia da Universidade Federal do
Ceará, como parte dos requisitos para
obtenção do título de Doutor em Agronomia.
Área de concentração: Fitotecnia.

Orientador: Prof. Dr. Sebastião Medeiros
Filho

FORTALEZA

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

N195a Nascimento, Irinaldo Lima.
Ação do ácido ascórbico na atenuação dos efeitos do envelhecimento e do estresse salino em sementes de girassol / Irinaldo Lima Nascimento. – 2017.
127 f. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2017.

Orientação: Prof. Dr. Sebastião Medeiros Filho.

1. Antioxidantes. 2. Sementes. 3. Envigoramento. I. Título.

CDD 664

IRINALDO LIMA DO NASCIMENTO

AÇÃO DO ÁCIDO ASCÓRBICO NA ATENUAÇÃO DOS EFEITOS DO ENVELHECIMENTO
E DO ESTRESSE SALINO EM SEMENTES DE GIRASSOL

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia/ Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Agronomia. Área de concentração: Fitotecnia.

Orientador: Prof. Dr. Sebastião Medeiros

Aprovada em: 04 / 08 /2016

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Sebastião Medeiros Filho (Orientador)
Universidade Federal do Ceará

Prof. Dr. Ciro Mirando Pinto
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira

Pesq. Dr. Elton Camelo Marques
Universidade Federal Rural do Semi-Árido

Prof. Dr. Alek Sandro Dutra
Universidade Federal do Ceará

Prof. Dr^a. Aila Vieira Amorim
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira

AGRADECIMENTOS

À CAPES, pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa de auxílio.

Ao Professor Sebastião Medeiros Filho, pela excelente orientação.

Ao secretário do departamento de Fitotecnia Deocleciano Bezerra pela grande ajuda

Aos professores participantes da banca examinadora pelo tempo, pelas valiosas colaborações e sugestões.

Aos colegas da turma de doutorado, pelas reflexões, críticas e sugestões recebidas.

RESUMO

A cultura do girassol (*Helianthus annuus*, L) é considerada de grade importância para a produção de óleo em todo mundo. Dentre os fatores do ambiente que comprometem a produção desta espécie, encontram-se a salinidade de solos e o armazenamento de sementes em ambientes inadequado. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da aplicação exógena de ácido ascórbico na redução dos danos ocasionados pelo envelhecimento acelerado e pela salinidade de solos, utilizando sementes de girassol cultivar BRS122. Foram desenvolvidos três experimentos. Analisou-se, no primeiro experimento, testes preliminares para obtenção da melhor metodologia de aplicação do ácido ascórbico em sementes de girassol. As sementes foram incubadas com 0, 75 e 150 mg L⁻¹ de ácido ascórbico em diferentes tempos de exposição (4, 8 e 24 h), através de dois diferentes métodos: embebição em papel germitest em placa de Petri e submersão em solução em Erlenmeyer. Após a aplicação dos tratamentos, foi quantificado, nas sementes, o teor de ácido ascórbico e posteriormente comparado com o teor padrão já existente (0 h). O método de aplicação exógena, embebição em solução de ácido ascórbico, acondicionada em erlenmeyer, na concentração de 0,85 mM, durante 24 horas de exposição, foi o mais indicado na absorção e no aumento do teor endógeno de ácido ascórbico. No segundo experimento, já tendo definido a metodologia de aplicação exógena, analisou-se o efeito do pré- e pós-tratamentos com ácido ascórbico na atenuação dos efeitos danosos provocados pelo envelhecimento acelerado, juntamente com embebições em cloreto de sódio e cloreto de sódio com ácido ascórbico. As sementes foram submetidas aos seguintes tratamentos: sementes não envelhecidas e não tratadas com ácido ascórbico (controle); sementes envelhecidas (por 48 h, a 42 °C e 100% U.R.); sementes antes do envelhecimento submetidas ao tratamento com ácido ascórbico; e sementes envelhecidas e submetidas ao tratamento com ácido ascórbico. Seguiu-se da embebição em H₂O, NaCl (-0,8 Mpa) e 1:1 de NaCl (-0,8 Mpa) + 150 mg L⁻¹ de ácido ascórbico. Foram analisados parâmetros de germinação, de crescimento e bioquímicos. O Pós-condicionamento com solução de ácido ascórbico em sementes envelhecidas, auxilia as variáveis germinativas e de crescimento de plântulas de girassol, cultivar BRS122. O pós-condicionamento também é eficiente em promover uma melhora no conteúdo interno, dando destaque para os teores de carboidratos e lipídios totais.

Palavras-chave: Antioxidante. Sementes. Envigoramento.

ABSTRACT

The cultivation of sunflower (*Helianthus annuus*, L) is considered of great importance for the production of oil throughout the world. Among the environmental factors that compromise the production of this species are soil salinity and seed storage in inappropriate environments. The objective of this work was to evaluate the effect of the exogenous application of ascorbic acid in the reduction of the damages caused by the accelerated aging and the salinity of soils, using sunflower seeds cultivar BRS122. Three experiments were developed. In the first experiment, preliminary tests were carried out to obtain the best methodology for the application of ascorbic acid in sunflower seeds. The seeds were incubated with 0, 75 and 150 mg L⁻¹ ascorbic acid at different exposure times (4, 8 and 24 h), by two different methods: soaking in germitest paper in Petri dishes and submersion in solution in Erlenmeyer. After application of the treatments, the ascorbic acid content was quantified in the seeds and then compared with the existing standard content (0 h). The exogenous application method, imbibed in ascorbic acid solution, packed in Erlenmeyer flask at the concentration of 0.85 mM, for 24 hours of exposure, was the most indicated in the absorption and increase of the endogenous ascorbic acid content. In the second experiment, the effect of pre- and post-treatments with ascorbic acid on the attenuation of the harmful effects caused by accelerated aging, together with imbibition in sodium chloride and sodium chloride with Ascorbic acid. The seeds were submitted to the following treatments: seeds not aged and not treated with ascorbic acid (control); Aged seeds (for 48 h at 42 ° C and 100% U.R.); Pre-aging seeds subjected to ascorbic acid treatment; And seeds aged and treated with ascorbic acid. This was followed by soaking in H₂O, NaCl (-0.8 Mpa) and 1: 1 NaCl (-0.8 Mpa) + 150 mg L⁻¹ ascorbic acid. Germination, growth and biochemical parameters were analyzed. The post-conditioning with ascorbic acid solution in aged seeds, helps the germinative and growth variables of sunflower seedlings, cultivar BRS122. Post-conditioning is also efficient in promoting an improvement in the internal content, highlighting the carbohydrate and total lipid contents.

Keywords: Antioxidant. Seeds. Envigoration

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1- Principais caminhos percorridos durante a deterioração de sementes (Fonte Delouche, 2002).....8
- Figura 2- Esquema das reações e respectivas enzimas (em azul) envolvidas na formação de espécies reativas de oxigênio. NOS – NO sintase; SOD – superóxido desmutase; GPx – glutathione peroxidase; Prx – peroxirredoxona; GR – glutathione redutase; Trx – tioredoxina; GHS – glutathione reduzida; GSSG – glutathione oxidada (dímero).....14
- Figura 3 – Mecanismo de oxidação do L-ascorbato (MDMA = monodeidroascorbato, DHA = deidroascorbato) (Fonte Davey et al., 2000).....16
- Figura 4 – Esquema experimental identificando a metodologia de aplicação exógena de ácido ascórbico em sementes de girassol, cultivar BRS 122.....31
- Figura 5 - Porcentagem de germinação das sementes de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).61
- Figura 6 - Porcentagem de sementes mortas, girassol cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).63
- Figura 7- Porcentagem de sementes invíaveis, girassol cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).64
- Figura 8 - Índice de velocidade de germinação (IVG) para sementes de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. 66
- Figura 9 – Tempo médio de germinação (TMG) para sementes de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. 67
- Figura 10 - Comprimento de raízes de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p 0,05\%$).68

Figura 11– Comprimento de parte aérea de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).	70
Figura 12– Massa seca de raiz de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).	71
Figura 13– Massa seca de parte aérea de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).	72
Figura 14– Lipídios totais em parte aérea de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).	74
Figura 15– Lipídios totais em raízes de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).	75
Figura 16– Malonaldeídos (MDA) em parte aérea de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos.	76
Figura 17– Malonaldeídos (MDA) em raízes de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos.	77
Figura 18– Fosfatase ácida em parte aérea de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).	78
Figura 19– Fosfatase ácida em raiz de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).	80
Figura 20– Carboidratos de raízes, plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para	

	embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).	81
Figura 21–	Carboidratos de parte aérea, plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).	82
Figura 22–	Carboidratos redutores de raiz, plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).	83
Figura 23–	Carboidratos redutores de parte aérea, plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).	84
Figura 24–	Proteínas totais em raízes de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).	85
Figura 25–	Proteínas totais em parte aérea de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).	86
Figura 26–	Atividade proteolítica em parte aérea de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos.	87
Figura 27–	Atividade proteolítica em raízes de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).	88
Figura 28 –	N-Amino em parte aérea de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).	90
Figura 29–	N-amino em raízes de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos.	91

Figura 30 – Prolina em parte aérea de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).	93
Figura 31– Prolina em raízes de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).	94
Figura 32–Íons de potássio em parte aérea de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos.	95
Figura 33– Íons de potássio em raízes de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).	96
Figura 34 – Enzimas Peroxidase do ascorbato (APX), em parte aérea de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).	98
Figura 35 – Enzimas Peroxidase do ascorbato (APX), em raízes de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).	99
Figura 36 – Enzimas de superóxido desmutase (GPX), em parte aérea de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).	100
Figura 37– Enzimas de superóxido desmutase (GPX), em raízes de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).	101
Figura 38– Enzimas Superóxido desmutase (SOD), em raízes de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos.....	102
Figura 39 –Enzimas Superóxido desmutase (SOD), em parte aérea de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos.	103

Figura 40 – Enzimas Catalase (CAT), em parte aérea de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos.	104
Figura 41 – Enzimas Catalase (CAT), em raízes de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, s ubmetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).....	105

LISTA DE TABELAS

Tabela 1– Análise de variância, do fatorial (3x3x2). Com interações duplas e tripla.....	45
Tabela 2 – Concentração de ácido ascórbico (mg/100g) em sementes de girassol após, BRS122, após tratadas com ácido ascórbico exógeno, em tempo de exposição, recipientes e concentrações diferentes.....	46
Tabela 3 - Comparação entre tempos de exposição e formas de aplicação exógena de ácido ascórbico em sementes de girassol, cultivar BRS122.	47
Tabela 4 – Análise de variância, para porcentagem de germinação.....	61
Tabela 5 – Análise de variância, para porcentagem de sementes mortas.....	62
Tabela 6 – Análise de variância, para plântulas inviáveis.	64
Tabela 7 – Análise de variância, para índice de velocidade de germinação (IVG).....	65
Tabela 8 – Análise de variância, para tempo médio de germinação (TMG).....	67
Tabela 9 – Análise de variância, para comprimento de raiz.....	68
Tabela 10 – Análise de variância, para comprimento de parte aérea.	70
Tabela 11 – Análise de variância, para massa seca de raiz	71
Tabela 12 – Análise de variância, para massa seca de parte aérea.	72
Tabela 13 – Análise de variância, para lipídios totais de parte aérea.....	73
Tabela 14 – Análise de variância, para lipídios totais de raiz.	74
Tabela 15 – Análise de variância, para Malonaldeídos (MDA) de parte aérea.....	75
Tabela 16 – Análise de variância, para Malonaldeídos (MDA) de raiz.	77
Tabela 17 – Análise de variância, para fosfatase ácida de parte aérea.....	78
Tabela 18 – Análise de variância, para fosfatase ácida de raiz.	79
Tabela 19 – Análise de variância, para Carboidratos totais de raiz.....	81
Tabela 20 – Análise de variância, para Carboidratos totais de parte aérea.	82
Tabela 21 – Análise de variância, para Carboidratos redutores de raiz.	83
Tabela 22 – Análise de variância, para Carboidratos redutores de parte aérea.	84
Tabela 23 – Análise de variância, para Proteínas totais de raiz.	85
Tabela 24 – Análise de variância, para Proteínas totais de parte aérea.	86
Tabela 25 – Análise de variância, para atividade proteolítica (protease) de parte aérea.....	87
Tabela 26 - Análise de variância, para atividade proteolítica (protease) de raiz.....	88
Tabela 27 – Análise de variância, para N-amino solúveis de parte aérea.	89
Tabela 28 – Análise de variância, para N-amino solúveis de raiz.....	91
Tabela 29 – Análise de variância, para Prolina de parte aérea.	92

Tabela 30 – Análise de variância, para Prolina de raiz.	94
Tabela 31 – Análise de variância, para íons de potássio da parte aérea.	95
Tabela 32 – Análise de variância, para íons de potássio da raiz.	96
Tabela 33 – Análise de variância, para a enzimas antioxidantes peroxidase do ascorbato (APX), de parte aérea	97
Tabela 34 – Análise de variância, para a enzimas antioxidantes peroxidase do ascorbato (APX), de raiz.....	98
Tabela 35 – Análise de variância, para a enzimas antioxidantes peroxidase do guaiacol (GPX), de parte aérea.	99
Tabela 36 – Análise de variância, para a enzimas antioxidantes peroxidase do guaiacol (GPX), de raiz.....	101
Tabela 37 – Análise de variância, para a enzimas antioxidantes superóxido Desmutase (SOD), de parte aérea.	102
Tabela 38 – Análise de variância, para a enzimas antioxidantes superóxido Desmutase (SOD), de raiz.....	103
Tabela 39 – Análise de variância, para a enzimas antioxidantes catalase (CAT), em parte aérea.	104
Tabela 40 – Análise de variância, para a enzimas antioxidantes catalase (CAT), em raiz	105

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO DE LITERATURA	15
3	IDENTIFICAÇÃO DE MÉTODOS DE APLICAÇÃO EXÓGENA DO ÁCIDO ASCÓRBICO EM SEMENTES DE GIRASSOL.....	41
4	EFEITO DO PRÉ E DO PÓS-CONDICIONAMENTO OSMÓTICO COM ÁCIDO ASCÓRBICO NA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE GIRASSOL, CULTIVAR BRS 122, ENVELHECIDAS ARTIFICIALMENTE	50
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
6	CONCLUSÃO	106
	REFERÊNCIAS.....	107

1 INTRODUÇÃO

O girassol é uma espécie que, devido a qualidade do óleo comestível extraída dos aquênios, vem sendo bastante difundida no cenário nacional (BACKES *et al.* 2008, p. 44). Na última década, houve aumento de 14,8% na produção de grãos, passando de 26,63 para 32,3 milhões de toneladas (MAPA, 2011, p.244). Na safra brasileira de 2013/2014, a área semeada e a produção alcançaram 68.700 ha e 108.800 toneladas, com produtividade média de 1.585kg ha⁻¹(CONAB, 2014).

A utilização de sementes de girassol com boa qualidade é de total importância para o estabelecimento da produção no campo, sendo necessário o emprego do teste de germinação na análise de qualidade de sementes. Segundo Salgado *et al.* (2012, p.65), diversas pesquisas vêm sendo desenvolvidas em todo mundo visando a obtenção de proteínas de alto valor nutricional. Dentre estas, estão as direcionadas para a potencialização da germinação no campo.

Apesar disso, de acordo Ávila *et al.* (2005, p.62), nem sempre existe correlação do teste de germinação com o realizado em condições de campo, o que conduz a superestimar a qualidade. A avaliação do teste de germinação possibilita a obtenção da expressão máxima da germinação em ambientes favoráveis (BRASIL, 2009). Já sob condições naturais, as sementes ficam sujeitas a uma série de intempéries do meio, como excesso de radiação e competição com outras plantas (TORRES, 2002).

Testes de vigor têm sido instrumentos de uso cada vez mais rotineiros pelas indústrias de sementes, inclusive em programas internos de controle de qualidade ou para a garantia de controle de sementes destinadas a comercialização. Sendo o objetivo básico destes testes, a identificação de diferenças fundamentais no potencial fisiológico das sementes, principalmente aquelas que possuem lotes com poder germinativos semelhantes (MARCOS FILHO, 2005).

Dentre os testes de vigor, o de envelhecimento acelerado é um dos mais estudados e recomendados. Conforme Marcos filho (2005), citado por Larré *et al.* (2007, p.708),

O teste de envelhecimento acelerado avalia a qualidade de sementes submetidas a elevadas temperatura e umidade relativa do ar, tendo como premissa de que a taxa de deterioração das sementes aumenta consideravelmente quando submetidas a tais condições, sendo este teste, considerado um dos mais sensíveis para a avaliação do vigor dentre os disponíveis na atualidade.

Além disso, variações extremas de temperaturas podem influenciar os processos fisiológicos e bioquímicos nas sementes, afetando diretamente o crescimento inicial das culturas (MARINI *et al.*, 2012).

Sabendo-se que os testes de vigor fornecem índices mais sensíveis ao potencial fisiológico quando comparados ao teste de germinação (ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED

ANALYSTS, 2002), qualquer evento que preceda a perda de vigor germinativo, pode servir como base para o desenvolvimento do teste de envigoramento. A grande demanda de sementes com alta qualidade tem levado as empresas do setor a procurarem aprimorar suas técnicas, tendo em vista, maior produtividade associada ao incremento da qualidade do produto.

Matos *et al.* (2014, p.115) citam que

Pesquisas a respeito dos aspectos fisiológicos e bioquímicos, durante a germinação de sementes de espécies tropicais, sob condições de estresses abióticos, especialmente estresse térmico, se tornam de grande relevância diante das adversidades ambientais encontradas nos ecossistemas tropicais. Ainda mais que, as informações sobre os mecanismos envolvidos na tolerância de sementes a determinados níveis de estresse são escassas.

Danos oxidativos aos lipídeos, proteínas e outros componentes celulares são considerados as maiores causas da deterioração de sementes armazenadas (CORTE *et al.* 2010). As sementes utilizam diversas estratégias para reverter os possíveis danos provocados pela deterioração em condições adversas de armazenamento, dentre elas destacam-se os mecanismos enzimáticos antioxidativos.

E de grande importância estudos voltados para melhorar o condicionamento de armazenamento em longo prazo, sobre ótimas condições de instalações. Estudos recentes indicam compostos antioxidantes, na melhoria do tempo de armazenamento útil de diversas culturas, os quais tendem a reduzir os danos causados pelo processo de envelhecimento e salinidade nas sementes.

Diante do exposto e da necessidade de maiores informações, o presente estudo tem como finalidade avaliar o efeito da aplicação exógena de ácido ascórbico, um antioxidante, na redução dos danos ocasionados pelo envelhecimento acelerado e pela salinidade em sementes de girassol.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A cultura do girassol

O termo girassol (*Helianthus annuus*, L) deriva do grego *hélíos*, que significa sol, e de *anthus* que significa flor, ou “flor do sol”. É uma dicotiledônea anual, ordem Asterales, família Asteraceae, compreendendo 49 espécies, 19 subespécies, sendo 12 anuais e 37 perenes (JOLY, 1993, p.777).

O girassol possui um sistema radicular pivotante e em solos pode alcançar até dois metros de profundidade, com um grande conjunto de raízes secundárias, 80 a 90% dessas raízes estão compreendidas nos primeiros 10 cm de profundidade (MERRIEN, 1992, p.66). O caule é

herbáceo e cilíndrico, contudo, em híbridos comerciais não ramificados, ocorre haste única, atingindo o diâmetro entre 1 e 8 cm e altura entre 0,7 a 4 m (DE CAMPO LEITE *et al.*, 2005, p.641). A inflorescência do girassol, chamada capítulo, é a formação na parte do ápice do colmo em um alongamento discoide, o diâmetro do capítulo varia geralmente entre 10 e 40 cm, dependendo da variedade ou híbrido e das condições do desenvolvimento (ROSSI, 1998, p.333).

O girassol é uma planta originária do sudoeste dos Estados Unidos e do México (ROSSI, 1998, p.333) e que se adapta muito bem a todos os tipos de solo e clima. Em relação à área plantada e produção mundial, o Brasil fica atrás com uma pequena produtividade. Para que a área plantada seja aumentada significativamente é necessário que haja grande disponibilidade de sementes com condições fisiológicas adequadas para garantir população de plantas e produtividade de grãos elevados.

Apesar dessa baixa produtividade, os aquênios de girassóis apresentam potencial nutritivo elevado para a alimentação humana (SMIDERLE, 2005, p.331), podendo ser ainda utilizado como alimentação para aves (SILVA; PINHEIRO, 2005, p.93). Ainda mais, seus aquênios são utilizados para a extração de óleo de alta qualidade para o consumo humano e este subproduto pode ainda ser usado como ração (AGUIAR, 2001, p.134).

Atualmente o girassol destaca-se como umas das maiores oleaginosas produtoras de grãos e uma das três culturas anuais mais importantes em todo o mundo. Os principais produtores são a Rússia, Ucrânia, Argentina, Índia e China, estimando-se uma área de produção superior a 20 milhões de hectares (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – FAO, 2011).

No Brasil o girassol foi introduzido durante o período colonial, principalmente na região Sul onde as sementes eram consumidas torradas. Os primeiros plantios comerciais surgiram no estado do Rio Grande do Sul no final da década de 1940. Sendo cultivado na maioria dos estados, vem ganhando importância econômica no sistema de rotação, consorciação e sucessão de culturas (DALL'AGNOL *et al.* 2005, p.1).

O Brasil é ainda um pequeno produtor desta oleaginosa, com uma área cultivada de 111,3 mil hectares, produção de 147,1 mil toneladas e uma produtividade média de 1.323 kg ha⁻¹ (CONAB, 2009). Analisando-se os dez últimos anos, observou-se um crescimento maior e mais consistente na área explorada com um ganho de 4,4% ao ano. Todavia, no período, este ganho anual foi menor que 27%, saindo de 116 mil para 147 mil toneladas (CONAB, 2009).

Quanto às regiões produtoras, destacam-se o centro oeste com percentuais de 78,68% e 78,04%, respectivamente, para áreas exploradas e produção de grãos, destacando-se os estados

de Goiás e Mato Grosso. O sul ocupa a segunda posição com 17,16% da área explorada e 20,05% da produção nacional. O nordeste brasileiro nos últimos três anos aparece como região produtora, contribuindo com 4,22% do total plantado no país, destacando-se os estados do Rio Grande do Norte e Ceará. (CONAB, 2009).

O estabelecimento da cultura do girassol ocorre através de população de plantas provenientes de sementes com pericarpo (aquênios) com padrão mínimo de germinação de 75% (BRASIL, 2009). No campo, as sementes podem estar sujeitas às situações adversas, como temperatura inadequada, excesso ou deficiência hídrica, presença de microrganismos e, com isso, nem sempre há uma correlação entre os testes de germinação com a emergência de plântulas em campo, o que conduz a uma elevada estimativa de qualidade (RODO *et al.*, 2000, p.289; BRAZ *et al.*, 2008, p.).

Importância econômica do girassol

O girassol apresenta grande resistência a seca, ao frio, ao calor, além de ampla adaptabilidade a condições adversas, seu rendimento costuma ser pouco influenciado por características como altitude ou fotoperíodo. Neste caso, sua amplitude de adaptação é bastante vasta, tornando a cultura interessante em diversos locais do mundo.

O girassol está entre as maiores espécies produtoras de óleo em todo mundo, perdendo apenas para a soja, o algodão e o amendoim. A exploração racional do girassol é de grande importância não só economicamente, mas também pelo seu valor nutritivo, pois é fonte de proteína de alto valor biológico para a alimentação humana e animal. Esta cultura pode melhorar as condições do solo porque promove a ciclagem de nutrientes e ainda disponibiliza uma grande quantidade de nutrientes pela mineralização dos restos culturais (LEITE *et al.*, 2007).

O girassol domesticado foi cultivado inicialmente para o consumo de suas sementes. A seguir, sua farinha começou a ser utilizada no preparo de alimentos e usada na fabricação de pães. Os índios utilizavam as sementes para a fabricação de tinta para ornamentação de cestas e telas. Os receptáculos e as raízes eram fervidos e usados com finalidades medicinais (PUTT, 1997, p.1).

As raízes promovem uma considerável reciclagem dos nutrientes, além da matéria orgânica produzida pela morte de seus tecidos em profundidades. Suas hastes servem tanto para silagem como para adubação verde e sua floração traz, de 20 a 40 kg de mel por hectare cultivado. (CAVASIN, 2001, p.69).

O girassol também pode ser usado como acessório de decoração, ganhando cada vez mais espaço entre os produtores e também na agricultura familiar. O girassol pode ser implantado consorciado com outros cultivos, sobretudo leguminosas. A venda de sementes de girassol ou do óleo já extraído para usinas produtoras de biodiesel traz aumento de renda para os produtores familiares. Além disso, os resíduos da extração do óleo podem ser reaproveitados como alimento para animais ou como adubo (CAVASIN, 2001, p.69).

Qualidade de semente e vigor

A qualidade das sementes pode ser conceituada como o somatório dos atributos genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários que afetam a capacidade de originar plantas com maior produtividade. A alta qualidade da semente reflete diretamente no resultado final da cultura, em termos de ausência de moléstias transmitidas pela semente, do alto vigor das plantas, maior produtividade e uniformidade da população e estande ideal (BRACCINI *et al.* 1999, p.1053; CARVALHO; NAKAGAWA, 2000, p.588).

A partir do ponto de maturidade fisiológica não há qualquer procedimento que possa melhorar o potencial fisiológico da semente. Até atingir o ponto de maturidade, a semente não inicia o processo de deterioração, pois ainda consiste de uma unidade biológica dependente da planta mãe.

O conhecimento da qualidade fisiológica da semente, antes da semeadura, é o procedimento mais seguro para se evitar baixa germinação. Além de possuir elevado poder germinativo, as sementes de girassol devem apresentar um elevado vigor, para que a germinação seja rápida e uniforme, principalmente em condições desfavoráveis (SILVEIRA *et al.*, 2005).

Os componentes da qualidade das sementes (genético, físico, fisiológico e sanitário) têm importância equivalente, mas os aspectos fisiológicos têm recebido mais atenção da pesquisa, sobretudo quando se consideram as espécies oleaginosas. A longevidade das sementes também pode ser afetada pelo genótipo e pela composição química, pois sementes amiláceas são menos propensas a deterioração do que sementes oleaginosas devido à menor estabilidade química dos lipídios em comparação com o amido (BRACCINI *et al.* 2000, p.1053). Na verdade, o estabelecimento das plântulas após a semeadura e o início do desenvolvimento da lavoura representa, talvez, o parâmetro balizador principal da qualidade da semente, do ponto de vista do consumidor (MARCOS FILHO, 2005).

Estudos desenvolvidos têm mostrado que outras características fisiológicas da semente podem influir decisivamente não apenas no estabelecimento de uma população inicial no

campo, como também sobre todo o ciclo da planta e sobre a produtividade. A soma dessas características fisiológicas mais sutis é atualmente denominada “vigor” da semente. Segundo Krzyzanowski (1999, p.218), os testes de vigor têm se constituído em ferramentas de uso cada vez mais rotineiras pela indústria de sementes para a determinação da qualidade fisiológica.

Testes de vigor visam determinar, com maior precisão, o grau de deterioração da semente, podendo ser classificados em diretos e indiretos (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000, p.588). Os testes diretos são aqueles que simulam as condições adversas que a semente provavelmente encontrará no campo. Assim, por exemplo, o teste de frio foi originalmente desenvolvido para milho, tendo alcançado grande sucesso, nos E.U.A., porque simula as condições de excessiva umidade no solo e baixas temperaturas, normalmente existentes naquele país. Os testes indiretos são agrupados em: bioquímicos, fisiológicos e os testes de resistência (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000, p.588).

Braz *et al.* (2009, p.1857) observaram diferenças significativas em testes de envelhecimento acelerado utilizando sementes de girassol. Rocha *et al.* (2015, p. 157) obtiveram comportamento distinto de sementes de girassol quando expostas em condições de elevada temperatura e umidade. Diferenças no vigor de lotes de sementes também têm sido detectadas pelo teste de deterioração controlada. Segundo Braz *et al.* (2008)

Teste de envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl por 96 horas é eficiente para classificar lotes de aquênios de girassol. As combinações de 20% de água nos aquênios por 72 horas de exposição e de 25% de água nos aquênios por 48 e 72 horas de exposição permitem classificar os lotes de aquênios de girassol.

Também em girassol, Braz *et al.* (2008) constataram que os testes de envelhecimento acelerado e de deterioração controlada foram eficientes em classificar os lotes em diferentes níveis de vigor. Porém Brunet (2010)

Trabalhando com competição intraespecífica, utilizando sementes de girassol de alto e baixo vigor na linha de semeadura, concluiu que comunidades de plantas de girassol provenientes de sementes com diferentes níveis de vigor não apresentam diferenças quanto ao diâmetro e altura dos capítulos; sobrevivência e à produtividade.

Já Albuquerque e Carvalho (2003, p.465), citado por Braz *et al.* (2009, p.1857), relatam que a utilização de sementes com baixo vigor prejudica a emergência de plântulas de girassol, embora não tenha sido avaliada a produção. Marcos Filho (2005) relata que a redução da produção somente ocorre quando as sementes avaliadas apresentaram grau avançado de deterioração.

Armazenamento e perda da viabilidade de sementes

Os problemas de armazenamento de produtos agrícolas constituem objetivo de estudo permanente, visando prolongar ao máximo a qualidade dos produtos armazenados. O comportamento das sementes durante o armazenamento é função dos fatores que afetam sua conservação, tais como a temperatura, umidade relativa do ar, teor de umidade das sementes e tipo de embalagem utilizada (PARRELA, 2014).

O armazenamento de sementes é o procedimento que visa contrapor o processo de deterioração natural que ocorre após atingir a maturidade fisiológica, aumentando com o tempo, mas de forma lenta. Visto que, este declínio progressivo proporcionado pela perda de vigor ao longo do tempo, não pode ser freado (PARRELA, 2014).

No Brasil, em um programa de produção de sementes, o armazenamento é uma etapa obrigatória, devido as condições climáticas tropicais e subtropicais com altas temperaturas e umidades relativas, o que torna desfavorável à manutenção da viabilidade das sementes por longos períodos. A umidade e a temperatura são os principais fatores que afetam a qualidade das sementes no armazenamento e a sua condução de forma regular e eficiente reflete na viabilidade do lote (MACEDO, *et al.* 1998, p.454).

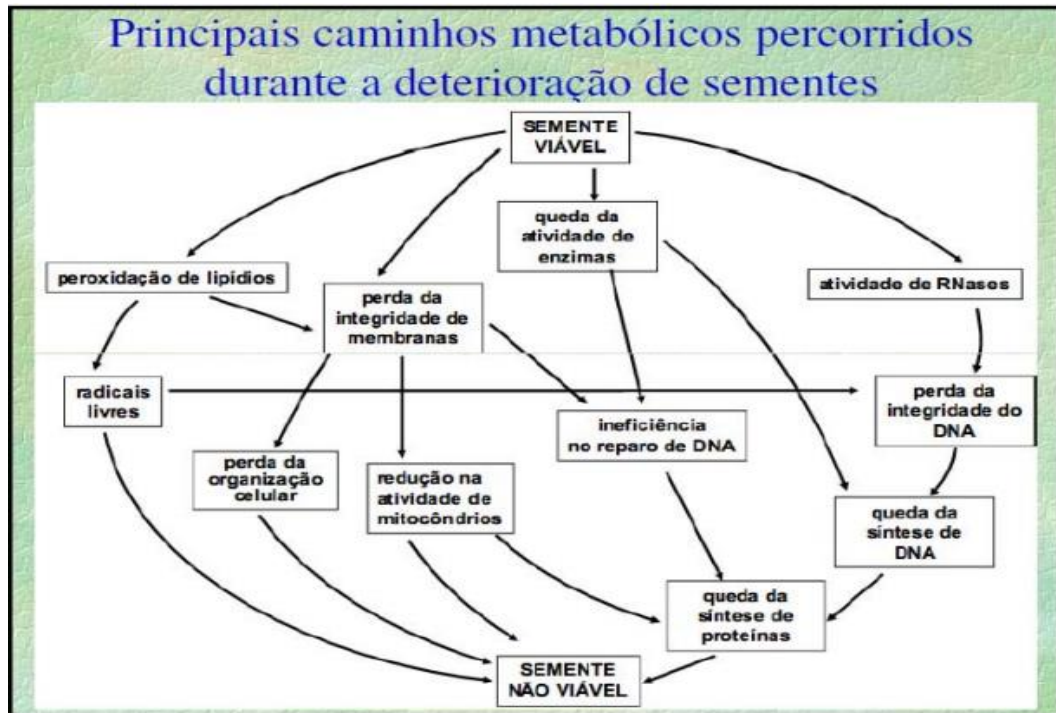
O termo deterioração se refere a toda e qualquer alteração degenerativa que ocorre com a qualidade das sementes em função do tempo. A deterioração é irreversível, sendo mínima por ocasião da maturidade. A deterioração das sementes não pode ser evitada, mas o grau de prejuízo pode ser controlado. A qualidade da semente não é melhorada pelo armazenamento, mas pode ser mantida com um mínimo de deterioração possível, através do armazenamento adequado (MARCOS FILHO, 2005).

A manifestação da deterioração é muito associada ao armazenamento principalmente em trabalhos de pesquisa. No entanto, teoricamente, tem início na maturidade fisiológica e pode ser acelerada em qualquer das etapas pós-maturidade, podendo se estender até o período de pós-semeadura (Figura 1). Não se pode negar, porém, que é detectada, com maior frequência, durante o armazenamento (MARCOS FILHO, 2005). A perda do poder germinativo é a consequência final da deterioração das sementes, ou seja, ocorre considerável deterioração antes que haja diminuição na percentagem de germinação.

Dentre as principais alterações que ocorrem na deterioração das sementes, destacam-se o esgotamento das reservas alimentares, a alteração da composição química, como a oxidação dos lipídeos e a quebra parcial das proteínas, a alteração das membranas celulares, com redução da integridade, aumento da permeabilidade e desorganização, as alterações enzimáticas e as

alterações de nucleotídeos (FERREIRA; BORGHETTI, 2004, p.323). Além disso, já se comprovou que os próprios constituintes da semente podem torná-la mais longevas, ou não. Substâncias de reserva presentes nas sementes como óleos, que são mais instáveis que o amido, podem fazer com que a semente se auto deteriore mais rapidamente (KRAMER; KOZLOWSKI, 1972, p.745; BENEDITO, 2010).

Figura 1 – Principais caminhos percorridos durante a deterioração de sementes.



(Fonte Delouche, 2002).

Os testes de vigor detectam as modificações mais sutis, resultante do avanço da deterioração, não revelados pelo teste de germinação, refletindo um conjunto de características que determinam o potencial para a emergência rápida e uniforme de plântulas normais, sob ampla diversidade de condições ambientes, pois não basta que as sementes tenham altos índices de germinação, sendo também necessário que estas, mesmo em condições desfavoráveis de campo, germinem e se estabeleçam (MARCOS FILHO, 2005).

Dentre os testes de vigor atualmente existentes, o teste de envelhecimento acelerado é um dos mais indicados para se estabelecer uma razão entre o processo de deterioração e o vigor de sementes, principalmente em casos de armazenamento. Este teste leva em consideração elevadas temperaturas e umidade relativas, considerando as alterações do ambiente preponderantes na intensidade e velocidade de deterioração de sementes.

Trabalhos com sementes de grandes culturas envolvendo diferentes períodos e temperaturas foram realizados entre os quais, se destacam o de sementes de soja, 41 °C/48 h (SCHUAB *et al*, 2006, p.553); canola, 42 °C/24 h (ÁVILA *et al.*, 2005, p.62); girassol, 42

°C/96 h (BRAZ *et al.*, 2008,); mamona, 41 °C/72 h (MENDES *et al.*, 2010, p.114); sorgo, 41 °C/96 h (SOARES *et al.*, 2010, p.391); e milho, 42 °C/96 h (PERES, 2010).

De acordo com a sequência hipotética proposta por Delouche e Baskin (1973, p.424), a redução do potencial de armazenamento é a primeira manifestação fisiológica da deterioração, após o decréscimo da velocidade de germinação. Consequentemente, o teste de envelhecimento acelerado pode ser considerado como um dos mais sensíveis para avaliação do vigor, dentre os disponíveis (MARCOS FILHO, 2005).

No armazenamento de sementes de soja, em sacos de polietileno e juta, acondicionados a 15°C e em temperatura ambiente, houve redução da germinação e vigor durante 180 dias, em ambas as embalagens, sendo que o armazenamento a 15°C propiciou a manutenção dos maiores índices de germinação e vigor das sementes em comparação com o armazenamento à temperatura ambiente (SHARMA, *et al.*, 2007, p.502).

De acordo com Lima *et al.* (2014, p.361), condições de ambiente natural não são ideais para o armazenamento de sementes de girassol, sendo que a viabilidade foi mantida quando armazenada em câmara fria. Grisi *et al.* (2009, p.28) observaram que a qualidade fisiológica de sementes de girassol reduziu com o avanço do tempo de armazenamento, tanto para a condição de armazém convencional quanto para a condição de câmara fria a 12° ($\pm 3^\circ\text{C}$).

Um dos fatores que levam à redução no conteúdo de lipídios, em sementes oleaginosas como o girassol, é a sua peroxidação. Talvez, a peroxidação seja a causa mais frequente de deterioração e perda de viabilidade de tais sementes. A peroxidação de lipídios é muitas vezes ativada pela ação do oxigênio sobre um ácido graxo poliinsaturado, como os ácidos oléico e linoléico que estão presentes nas membranas das sementes de girassol. A perda da integridade das membranas tem sido constatada como um dos processos iniciais de deterioração de sementes (Mc DONALD, 1999, p.117; CARVALHO *et al.*, 2009, p.9).

Outro fator que influencia a longevidade das sementes é o teor de água, pois esta tem natureza higroscópica e, dependendo das condições ambientais, podem ganhar ou perder água facilmente. Nesse processo de hidratação-desidratação, ocorrem danos ao tegumento que resultam na redução da qualidade fisiológica.

Uma alternativa para a redução do grau de umidade é o emprego de sílica gel, vantajosa pela possibilidade do alcance de porcentagens muito baixas de água (GÓMEZ-CAMPO, 2006, p. 4; JOSÉ *et al.*, 2010). Travassos *et al.* (2011, p.371)

Conduzindo experimento em casa de vegetação com o girassol, Embrapa 122/V-2000, sob irrigação com águas de diferentes salinidades (0,5 a 5,0 dS m⁻¹), constatou que a produção de aquênios decresceu 10,6 % por incremento unitário da condutividade elétrica da água de irrigação.

Salinidade e desempenho das sementes no campo

A salinidade é um dos mais importantes fatores de estresse abiótico, afetando diversos aspectos da fisiologia e bioquímica das plantas, reduzindo significativamente seus rendimentos. Altas concentrações exógenas de sal afetam a germinação das sementes, causando déficit hídrico e desequilíbrio iônico nas células, resultando em toxicidade e estresse osmótico (KHAN; PANDA, 2008, p.81).

A salinidade afeta o comportamento germinativo das plantas de diferentes formas, cada espécie ou cultivar tolera até certa salinidade sem reduzir o seu potencial, a partir desse ponto passa a diminuir sua produtividade (OLIVEIRA, *et al.*, 2007, p.45). Os solutos dissolvidos nas zonas das raízes geram um potencial osmótico baixo, que diminui o potencial hídrico do solo. Assim, o balanço hídrico do solo é afetado, pois para se desenvolver, as folhas necessitam de um potencial hídrico ainda mais baixo para manter um gradiente de potencial hídrico positivo entre o solo e as folhas. Uma concentração alta de sais também compromete a atividade de enzimas e a síntese proteica (TAIZ; ZEIGER, 2004, p.719).

Condições de elevada salinidade podem ser causadas por diversos fatores, como práticas inadequadas de irrigação, inundação do solo pela água do mar em regiões costeiras, como também depósito de altas concentrações de cloreto de sódio em regiões com recente história geológica marinha (ARAGÃO *et al.*, 2010, p.129).

A salinidade é um dos estresses abióticos que mais limitam o crescimento e a produtividade agrícola. Aproximadamente 20% das terras cultivadas no mundo vêm enfrentando problemas de salinização, sendo mais severos nas regiões áridas e semiáridas (MUNNS; TESTER, 2008, p.651).

Hernandez *et al.* (2001, p.817), aludido por Deuner *et al.* (2011, p.134), fala que a tolerância de plantas à salinidade é variável em função do ciclo fenológico ou do seu estágio de desenvolvimento. Espécies como sorgo, milho, feijão, girassol e trigo são menos afetadas durante a fase inicial do seu ciclo, entretanto, outras espécies, são bastante sensíveis durante a floração e a frutificação. Desta forma, mecanismos de defesa antioxidante podem constituir-se em estratégia para aumentar a tolerância ao estresse salino.

Wahid *et al.* (1999, p.153), citado por Marquez *et al.* (2011)

Acrescenta que a intensidade com que o estresse salino afeta a germinação depende primordialmente de um conjunto de fatores relacionados à semente (vigor, forma e morfologia da testa), ao tipo de sal (concentração salina e tempo de exposição), bem como às condições ambientais às quais a semente está sujeita (temperatura, luminosidade, oxigênio e umidade relativa do ar).

Vários estudos vêm sendo dirigidos na elucidação dos mecanismos de adaptação à salinidade, especialmente os referentes à fisiologia de resistência das plantas à salinidade. Um dos métodos mais difundidos é a observação da porcentagem de germinação em substratos salinos. A redução do poder germinativo comparado com o controle serve como um indicador do índice de tolerância da espécie à salinidade. Nesse método, a habilidade para germinar indica também a tolerância da planta aos sais em estádios subsequentes (OLIVEIRA *et al.*, 2007, p.45).

O envelhecimento acelerado quando feito em solução salina promove maior controle na absorção de água pelas sementes. Os métodos de envelhecimento acelerado em sementes vêm gradativamente substituindo a água por soluções saturadas de sais. Dependendo da solução utilizada, são obtidos níveis específicos de umidade relativa do ar, como por exemplo, 87% com o uso de cloreto de potássio, 76% com cloreto de sódio e 55% com brometo de sódio. (FLOWER, 2004, p.307; MUNNS *et al.*, 2006, p.1025).

A tolerância à salinidade é um caráter poligênico com uma rede complexa de fatores bioquímicos, moleculares e processos fisiológicos que interagem fortemente com os fatores ambientais (FLOWER, 2004, p.307; MUNNS *et al.*, 2006, p.1025). Porém, a identificação e caracterização das variáveis fisiológicas, que servirão de marcadores eficientes para avaliar a tolerância à salinidade em culturas de diferentes espécies, estão ainda longe de serem alcançados (ASHRAF; HARRIS, 2004, p.3; BENETEZ *et al.*, 2011).

Freitas e Nascimento (2006, p.59)

Constatarem a redução na absorção de água pelas sementes de lentilha durante o teste de envelhecimento modificado, no qual os autores esperavam com a utilização de solução saturada de NaCl, efeitos menos drásticos no grau de deterioração das sementes provocados pelo envelhecimento tradicional.

Braga Junior *et al.* (2009)

Revelaram que o teste de envelhecimento acelerado modificado com solução saturada de NaCl a 40 °C por 48 horas foi o método mais adequado para a classificação dos lotes em níveis de vigor, mostrando-se como alternativa promissora para avaliação do vigor de sementes de mamona.

Maior eficiência do teste de envelhecimento acelerado com uso de solução saturada de sal na classificação de sementes com diferentes níveis de vigor também foi observado em semente de girassol (OLIVEIRA, 2011, p.1).

Resposta antioxidativa das sementes ao envelhecimento e salinidade

Do ponto de vista fisiológico, estresse é a condição causada por fatores que tendem a alterar um equilíbrio. A capacidade para sobreviver ao estresse é regida por mecanismos que conferem resistência e podem ser escape ou tolerância. Os mecanismos de escape envolvem reduzida atividade metabólica – levando a um estado de dormência. São aqueles que evitam a exposição ao estresse. Os mecanismos de tolerância, por sua vez, envolvem alta atividade metabólica sob estresse moderado, e baixa sob estresse severo - permitem a planta suportar o estresse (WILLADINO; CAMARA 2010).

Mecanismos intrínsecos de percepção de sinais externos costumam se desenvolver em plantas, à medida que evoluem, permitindo que estas sobrevivam a condições ambientais adversas (FUJITA *et al.*, 2006, p.436). O entendimento desses mecanismos é de fundamental importância para o desenvolvimento contínuo de um melhoramento racional para aprimorar a resistência das culturas aos estresses abióticos.

Em plantas a salinidade causa estresses iônico e osmótico. O estresse iônico é devido ao aumento da concentração de íons tóxicos, tais como o Na^+ e Cl^- , no meio intracelular. Em adição a este estresse iônico, o osmótico é provocado pela diminuição da disponibilidade de água para a planta, devido à diminuição do potencial hídrico do solo. Adicionalmente, tanto o estresse iônico como estresse osmótico provocados pela salinidade, podem causar estresse oxidativo (FLOWERS, 2004, p.307; MUNNS *et al.*, 2006, p.1025).

Os mecanismos para a resistência da planta aos efeitos específicos da salinidade são basicamente de dois tipos: os que minimizam a entrada de sal para a planta, e os que diminuem a concentração de sal no citoplasma (MUNNS *et al.* 2006, p. 1025; WILLADINO; CAMARA, 2010). Koryo (2003, p.5), mencionado por Brilhante (2006), informa que espécies vegetais diferem extensamente na resposta ao crescimento em condições de altas concentrações de sais, sendo extremamente importante a caracterização de mecanismos fisiológicos de tolerância ao sal.

Uma planta pode ter vários mecanismos de tolerância e escape, ou uma combinação de ambos. Os mecanismos de resistência constitutivos expressam-se independente da planta estar sob estresse, eles constituem as adaptações. São progressos evolucionários que melhoram a adequação ambiental de uma população de organismos. Por outro lado, o ajuste de um organismo individual em resposta a variações de fatores ambientais constitui os mecanismos de resistência conhecidos como aclimação (BRAY *et al.*, 2000, p.1158; WILLIATO; CAMARA, 2010, p.179). Durante a aclimação um organismo altera sua homeostase para se acomodar a

mudanças ambientais externas. A aclimatação é uma resposta fenotípica a diferentes combinações de características ambientais. (WILLADINO; CAMARA, 2010, p.179).

Estresse provocado por secas e dessecação, estresse salino, choque térmico, metais pesados, radiações UV, poluentes atmosféricos, estresse mecânico e excesso de luz promovem o aumento de espécies reativas de oxigênio (ERO), que são radicais livres altamente tóxicos, podendo levar à destruição de biomoléculas e estruturas celulares (MITTLER, 2002, p.405; ARAGÃO, 2007, p.129), mesmo sendo produzidas em condições metabólicas normais estas ERO podem acelerar estas reações na planta levando mais rapidamente a deterioração.

Este estresse oxidativo tem sido definido como um distúrbio no estado de equilíbrio, no sistema pró-oxidantes e antioxidantes, nas células intactas. Esta definição implica no fato da célula ter um sistema onde exista um equilíbrio entre a produção e eliminação de espécies reativas de oxigênio durante o metabolismo aeróbico. Quando existe uma maior ocorrência de eventos oxidativos, o sistema tende para o pró-oxidativo, o que pode afetar os níveis de antioxidantes como a glutatona e a vitamina E, tendo como danos a oxidação em lipídeos, proteínas, carboidratos e ácidos nucleicos (JORDÃO JUNIOR *et al.*, 1998, p.434).

A instabilidade química dos lipídios constitui um dos principais fatores para o baixo desempenho de sementes oleaginosas, devido principalmente a peroxidação de lipídios e o estresse oxidativo. Em sementes de girassol, reduções de vigor e de viabilidade durante o envelhecimento estão associadas com a diminuição do potencial das enzimas antioxidantes e, com isso, elevação da peroxidação lipídica (FREITAS *et al.*, 2004, p.84; OLIVEIRA *et al.*, 2007, p.45).

A peroxidação de lipídios, uma consequência da reação dos lipídios presentes na membrana celular, principalmente os poli-insaturados, vem sendo citado como o maior responsável pelo envelhecimento de sementes (ARAGÃO, 2007, 129). O O₂ é uma das formas mais reativas, podendo agir como oxidante ou redutor, podendo oxidar enxofre, ácido ascórbico ou NADPH, além de ser capaz de reduzir o citocromo C e íons metálicos, afetando a atividade de metalo-proteínas. No entanto, ele não consegue atravessar as membranas biológicas e é prontamente dismutado a H₂O₂ (FOYER; NOCTOR, 2005, p. 359).

A resposta aos estresses oxidativos, decorrente de estresse abióticos, ocorre em dois momentos, o primeiro se realiza dentro de poucos minutos sendo causado por mudanças no potencial redox do apoplasto, seguido do aumento da produção de ERO (FOYER; NOCTOR, 2005, p.359).

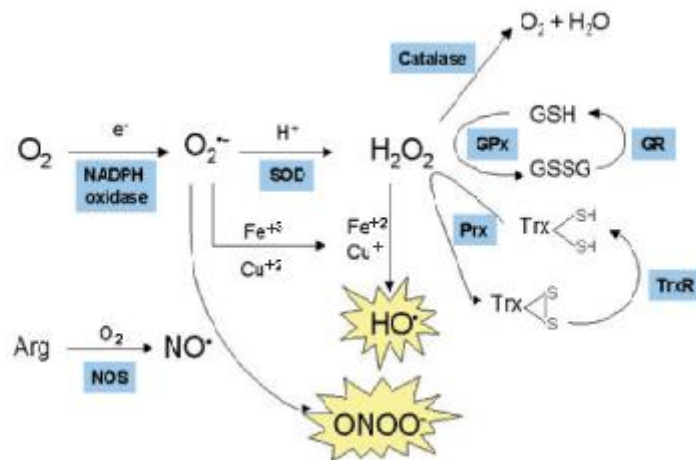
Wilson e McDonald (1986, p.269), indicam que,

Dentre as principais teorias propostas para elucidar o processo de deterioração de sementes oleaginosas, a degeneração das membranas e a inativação enzimática têm sido as mais estudadas. A perda de integridade está associada à ação dos radicais livres, levando a alterações bioquímicas, desequilíbrio e regulação osmótica de solutos pelas membranas celulares.

Desestruturando o sistema de membranas, os lipídios reagem com o oxigênio molecular, resultando na formação de radicais livres e peróxidos de ácidos graxos com relativa instabilidade (FREITAS *et al.* 2006, p.59).

No entanto, células vegetais e suas organelas, contém diversos sistemas enzimáticos e não enzimáticos para a remoção de ERO. Estando presente no sistema oxidativo de defesa enzimática das plantas, diversas enzimas antioxidativas, como a dismutase do superóxido, as peroxidases do ascorbato e catalases, que juntamente com outras enzimas promovem eliminação de ERO (Figura 2.) (CAVALCANTI *et al.*, 2007, p. 591).

Figura 2- Esquema das reações e respectivas enzimas (em azul) envolvidas na formação de espécies reativas de oxigênio. NOS – NO sintase; SOD – superóxido desmutase; GPx – glutathiona peroxidase; PRX – peroxirredoxona; GR – glutathiona redutase; Trx – tiorredoxina; GHS – glutathiona reduzida; GSSG – glutathiona oxidada (dímero).



(Fonte Brilhante, 2013).

O processo de deterioração não pode ser evitado, mas pode ser minimizado. Uma das maneiras de recuperar o sistema de membranas desestruturado e danificado é a embebição lenta de sementes, técnica conhecida como condicionamento osmótico.

Existem também compostos antioxidantes não enzimáticas como o ácido ascórbico (AsA), ácido cítrico, glutathiona, tocoferóis, flavonóides, alcalóides, carotenóides, hormônios e vitaminas, que participam ativamente do controle de ERO nas células (Quadro 1) (APEL; HIRT, 2004, p.373; SOUTINHO, 2012).

A ação do ácido ascórbico no envelhecimento de sementes

Vitamina C é um dos nomes do ácido 2,3-enediol-*L*-gulônico, também conhecido como ácido ascórbico, é um poderoso antioxidante que impossibilita a oxidação de vários compostos, isto é, a perda de elétrons. As moléculas do ácido ascórbico tendem a se oxidar antes que outras moléculas se oxidem, impedindo e protegendo essas outras moléculas da oxidação.

Este ácido é um sólido branco ou amarelado, cristalino com ponto de fusão de 190 a 192 °C, massa molecular 176.13 g/mol, densidade 1.65 g/cm³, acidez (pKa): 4,17 (primeira), 11,6 (segunda) bastante solúvel em água e etanol absoluto, insolúvel nos solventes orgânicos comuns, como clorofórmio, benzeno e éter, tem sabor ácido com gosto semelhante ao suco de laranja. No estado sólido é relativamente estável. No entanto, quando em solução, é facilmente oxidado, em reação de equilíbrio ao ácido L – desidroascórbico (BOBBIO; BOBBIO, 1995, p.223; SILVA *et al.* 2005, p.93).

Esse antioxidante pertence ao grupo orgânico dos ácidos carboxílicos chamados de lactonas que se transformam em ésteres cíclicos. Este pode ser encontrado nas plantas em três formas: reduzida a ácido L-ascórbico, ácido mono-desidroascórbico, um intermediário instável e ácido L-desidroascórbico. Este é transformado irreversivelmente para ácido 2,3 dicetogulônico, que não apresenta atividade vitamínica (BOBBIO; BOBBIO, 1995, p.223; PEREIRA, 2008).

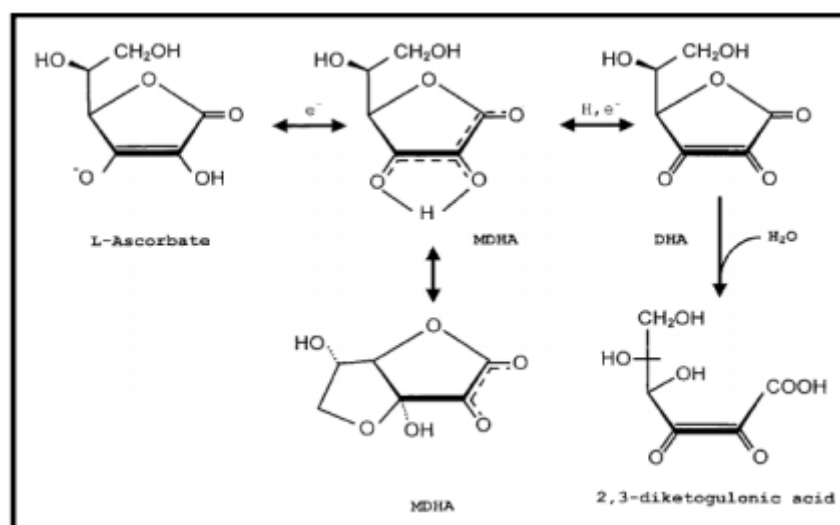
O ácido ascórbico se encontra distribuído na natureza em concentrações elevadas, além de apresentar 100% de atividade vitamínica. O ácido L-desidroascórbico possui de 75 a 80% de atividade de vitamina C, existindo normalmente um equilíbrio entre as duas formas, o teor de vitamina C total é resultante do somatório dos teores de ambos os ácidos (TAVARES, 2003). Pallanca e Sminorff (1999, p.453), citado por Brilhante (2011, p.125), mencionam que um aumento da atividade antioxidativa provocada pelo ácido ascórbico na germinação de ervilhas, promoveu expansão da parede celular.

O ácido ascórbico é um dos mais importantes antioxidantes encontrados em vegetais. Sua concentração é alta nas folhas, sendo este reagente contra radicais livres como oxigênio, superóxido e peróxido de hidrogênio. O tratamento de sementes com antioxidantes como o ácido ascórbico aumenta seu vigor e prolonga o seu armazenamento, devido a remoção de “radicais livres”. Estudos com sementes de algodão mostraram que a presença de antioxidantes como o ácido ascórbico protegeu a semente contra a peroxidação de lipídios. (TOMMASI *et al.*, 2002, p. 209; BRILHANTE, 2011, p.125).

Como agente condicionante, o ácido ascórbico apresenta vantagens por ser solúvel em água, estando envolvido em diferentes processos celulares, incluindo a divisão celular e reestruturação de membranas (DE GARA *et al.*, 2003, p.7). A ação do ácido ascórbico na germinação de sementes já foi observada em diferentes espécies de plantas (TOMMASI *et al.*, 2011, p.1647; BRILHANTE *et al.*, 2011, p.125). Antes de emissão da radícula, foi detectada alta concentração de ácido ascórbico em ervilha (PALLANCA; SMIRNOFF, 1999, p.453; DANTAS, 2012, p.22) e em milho (DE GARA *et al.*, 2000, p.7). A aplicação de ácido ascórbico aumentou a porcentagem de germinação em sementes de fava, e aumentou também a capacidade das mudas em sobreviver aos efeitos tóxicos ou osmóticos, ao serem expostas a níveis altos de NaCl ou manitol. (SHALATA; NEUMANN, 2001, p.2207).

O ácido ascórbico é um antioxidante, por estar disponível para uma oxidação energeticamente favorável. Costuma ser oxidado facilmente pelo ar. Muitos oxidantes (tipicamente, das espécies de oxigênio reativo) como o radical hidroxil (formado a partir da água oxigenada), contêm um elétron não emparelhado, e, com isso, são muito reativos e prejudiciais para as pessoas, plantas, alimentos, etc. em nível molecular. Isto se deve a sua interação com os ácidos nucleicos, proteínas e lipídios. As espécies reativas de oxigênio são reduzidas a água, enquanto que as formas oxidadas do ácido ascórbico (monodesidroascórbico e desidroascórbico) são relativamente estáveis e não reativas (Figura 3) (ARAÚJO, 1999, p.416).

Figura 3- Mecanismo de oxidação do L-ascorbato (MDMA = monodeidroascorbato, DHA = deidroascorbato)



(Fonte Davey *et al.*, 2000)

A vitamina C, na fase aquosa, atua como um antioxidante sobre os radicais livres mas não é capaz de agir nos compartimentos lipofílicos para inibir a peroxidação. Porém, estudos *in vitro* mostram que essa vitamina na presença de metais de transição, como o ferro, atua como

uma molécula pró-oxidante e gera os radicais H_2O_2 e OH^\cdot . Geralmente, esses metais estão disponíveis em quantidades muito limitadas e as propriedades antioxidantes dessa vitamina predominam *in vivo*.

Fennema (1993, p.1100), citando diversos autores

Relata que o ácido ascórbico é muito sensível a diversas formas de degradação. Entre os numerosos fatores que podem influir nos mecanismos degradativos cabe citar a temperatura, as concentrações de sal e açúcar, o pH, o oxigênio, as enzimas, os catalisadores metálicos, a concentração inicial do ácido e a relação ácido ascórbico/ácido desidroascórbico.

De modo geral, a estabilidade da vitamina C aumenta com a redução da temperatura e a maior perda se dá durante o aquecimento, existem casos de perda durante o congelamento ou armazenamento a baixas temperaturas. Também há perdas de vitamina C na lixiviação de alimentos, sendo a perda ainda maior quando a lixiviação é feita com aquecimento (BOBBIO; BOBBIO, 1995, p.223).

A principal causa de degradação da vitamina C é a oxidação, aeróbica ou anaeróbica, ambas levando à formação de furaldeídos, compostos que polimerizam facilmente, com formação de pigmentos escuros. É também destruída pela luz e calor (ARAÚJO, 1999, p.416). A vitamina C oxida-se rapidamente em solução aquosa por processos enzimáticos e não enzimáticos, especialmente quando exposta ao ar, calor e à luz. A reação é acelerada por íons metálicos (Cu^{++} e Fe^{3+}), e em meio de baixa umidade a destruição é função da atividade de água. Na ausência de catalisadores, o ácido ascórbico reage lentamente com o oxigênio.

Uma associação entre o ambiente salino ou seco e os níveis endógenos de antioxidantes ou enzimas antioxidantes, tem sido registrada em mamona (SANTOS *et al.*, 2007, p.21), girassol (MENEZES *et al.*, 2015, p23; CARNEIRO *et al.* 2011, p. 42), gergelim preto e creme (SILVA *et al.*, 2011, 736). Também foi verificado que o tratamento de sementes de oleaginosas com ácido ascórbico, melhorou o potencial de germinação dessas sementes quando submetidas ao armazenamento (DOLATABADIAN; MODARRES SANAVY, 2008, p.61).

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, R.H.; FANTINATTI, J.P.; GROTH, D.; USBERTI, R. Qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes de girassol de diferentes tamanhos. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 134-139, 2001.
- ALBUQUERQUE, M.C.F.; CARVALHO, N.M. Effects of the environmental stress on the emergence of sunflower, soybean and maize seeds with different levels of vigor. **Seed Science and Technology**, v.31, n.2, p.465-479, 2003. Disponível em: <<http://www.ingentaconnect.com/content/ista/sst/2003/00000031/00000002/art00023?crawler=true>>. Acesso em: janeiro de 2014.
- APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, v.55, p.373-399, 2004.
- ARAGÃO, T.C.F.R. Danos oxidativos e o envelhecimento de sementes de feijão caupi. 2007. 129p. **Tese (Doutorado em Bioquímica)** – Departamento de bioquímica e biologia molecular, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.
- ARAGÃO, R.M.; SILVEIRA, J.A.G.; SILVA, E.N.; LOBO, A.K.M.; DUTRA, A.T.B. Absorção, fluxo no xilema e assimilação do nitrato em feijão-caupi submetido à salinidade. **Revista Ciência Agronômica**, v.41, p.100-106, 2010.
- ARAÚJO, J. **Química de alimentos: teoria e prática**. 2ª ed. Viçosa: Editora UFV, 1999. 416p.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS (OASA). Seed vigor testing handbook. Lincoln, 2002. 105. (Contribution, 32).
- ÁVILA, M. R. *et al.* Testes de laboratório em sementes de canola e a correlação com a emergência das plântulas em campo. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 27, n. 1, p. 62- 76, 2005.
- BACKES, R. L. *et al.* Desempenho de cultivares de girassol em duas épocas de plantio de safrinha no Planalto Norte Catarinense. **Scientia Agrária**, v. 9, n. 1, p. 41-48, 2008.
- BENEDITO, C.P. Armazenamento e viabilidade de sementes de Catanduva (*Piptadenia moniliformis* Berts). **Dissertação** – Departamento de fitotecnia. Universidade Federal Rural do Semi-árido. Mossoró, 2010.

BOBBIO, F. O. BOBBIO, P. A. **Introdução a química de alimentos**, 2.ed. São Paulo: Varela, 1995. 223p.

BRACCINI, A. L. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja após o processo de hidratação-desidratação e envelhecimento acelerado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.6, p. 1053-1066, Jun. 1999.

BRACCINI, M. C. L.; MARTINEZ, H. E. P.; BRACCINI, A. L. (2000), Avaliação de linhagens de cafeeiros quanto à tolerância ao alumínio pelo método do papel-solução. *Bragantia*, **59**, 221-226.

BRAGA JUNIOR, J.M. Maturação, qualidade fisiológica e testes de vigor em sementes de mamona. **Tese** (Dissertação de mestrado).-Departamento de fitotecnia. Universidade Federal da Paraíba, Areias, 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Regras para Análise de Sementes/ Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Secretaria de Defesa Agropecuária**.- Brasília: Mapa/ ACS, 2009.

BRAY, E.A., BAILEY-SERRES, J. & WERETILNYK, E. Responses to abiotic stresses. In: Buchanan, B.B., Gruissem, W. & Jones, R.L. (Eds.) **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**. Rockville MD. American Society of Plant Physiologists. 2000. pp. 1158-1203.

BRAZ, M.D.S.; BARROS, C.S.; CASTRO, F.P.; ROSSETO, C.A.V. Teste de envelhecimento acelerado e deterioração controlada na avaliação do vigor de aquênios de girassol. **Ciência Rural**, vol.38 no.7 Santa Maria Oct. 2008.

BRAZ, M.R.S.; BARROS, C.S.; CASTRO, F.P.; ROSSETTO, C.A.V. Testes de envelhecimento acelerado e deterioração controlada na avaliação do vigor de aquênios de girassol. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 7, p. 1857-1863, 2009.

BRILHANTE, J. C. A. Aplicação de ácido ascórbico em sementes de feijão-de-corda [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] na atenuação dos efeitos do envelhecimento e do estresse salino. 2011. 125 f. **Tese** (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2011.

BRUNES, R.R. Desempenho de híbrido de girassol em resposta ao vigor das sementes, população de plantas e desuniformidade de semeadura no outono de 2009 em Uberlândia -

MG. 2010. 41f. **Dissertação** (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) - Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

CAMARA, T.R.; WILLADINO, L. Compreendendo o estresse abiótico in vitro. In: NOGUEIRA, R.J.M.C.; ARAÚJO, E. DE L.; WILLADINO, L.; CAVALCANTE, U.M.T.(eds). Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas. Recife. **MXM Gráfica e Editora**. 2005. Parte.V, cap.29, p.325-335.

CARNEIRO, M. M. L. C. Trocas gasosas e metabolismo antioxidativo em plantas de girassol em resposta ao déficit hídrico. 2011. 42 f. **Dissertação** (Mestrado em Ciências) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2011.

CARVALHO, L.F. et al. Influência da temperatura de embebição da semente de soja no teste de condutividade elétrica para avaliação da qualidade fisiológica. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.1, p.9-17, 2009.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. 2000. Sementes: ciência, tecnologia e produção. 4.ed. Jaboticabal: **FUNEP**. 588p.

CAVALCANTI, F.R.; LIMA, J.P.M.S.; FERREIRA-SILVA, S.L.; VIEGAS, R.A.; SILVEIRA, J.A.G. Superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities do not confer protection against oxidative damage in salt-stressed cowpea leaves. **Journal of Plant Physiology**, v.164, p. 591-600, 2007.

CAVASIN, P. **A cultura do girassol**. Guaíba: Agropecuária, 2001. 69 p.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Indicadores agropecuários. Brasília, DF, 2009. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/>>. Acesso em: 17 nov. 2009.

CONAB. Acompanhamento da safra brasileira: grãos, quarto levantamento, janeiro de 2014. **CONAB** - Companhia nacional de Abastecimento, Brasília, 2013, 66 p.

- CORTE, V. B.; BORGES, E. E. L.; LEITE, H. G.; PEREIRA, B. L. C.; GONÇALVEZ, J. F. C. Estudo enzimático da deterioração de sementes de *Melanoxylon brauna* submetidas ao envelhecimento natural e acelerado. **Revista brasileira de Sementes**, vol.32 no.1 Londrina 2010.
- DALL'AGNOL, A.; VIEIRA, O.V. & LEITE, R.M.V.B.C. Origem e histórico do girassol. In: LEITE, R.M.V.B.C.; BRIGHENTI, A.M. & CASTRO, C. Girassol no Brasil. Londrina, 2005. p.1-14.
- DANTAS, J. I. A.; PONTES, C. A.; LEITE, G. A.; FERNANDES, P. L. O.; FREITAS, W. E. S.; CARVALHO, C. A. C. Biossíntese de vitaminas em frutos de hortaliças. **Agropecuária científica do semi-árido**. V. 8, n. 4, p. 22-37, out – dez, 2012.
- DE CAMPO LEITE, R.M.V.B; BRIGHENTI, A.M.; DE CASTRO, C. **Girassol no Brasil**. Londrina: Embrapa Soja, 2005. 641p.
- DE GARA, L., PACIOLLA, C., DE TULLIO, M.C., MOTTO.; M. ARRIGONI, O. Ascorbate-dependent hydrogen peroxide detoxification and ascorbate regeneration during germination of a highly productive maize hybrid: evidence of na improved detoxification mechanism against reactive oxygen species. **Physiologia Plantarum** 109, 7-13, 2000.
- DEUNER S.; ALVES, J. D.; FRIES, D. D.; ZANANDRE, I.; LIMA, A. A.; HENRIQUE, P. C.; GOULAT, P. F. P; Hydrogen peroxide and ascorbic acids effects on antioxidant enzyme activity in coffee seedling. **Revista Ceres** 55: 134 – 140, 2008.
- DOLATABADIAN, A.; MODARRES SANAVY, S.A.M. Effect of the Ascorbic acid, Pyridoxine and Hydrogen Peroxide Treatments on germination, Catalase Activity, protein and Malondialdehyde Contento f three Oil Seeds Not. Bot. Hot. Agrobot. Cluj 36 (2) 2008. 61-66.
- FENNEMA, O. R. **Química de los alimentos**. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 1993. 1100p.
- FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. **Germinação**: do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed, 2004. 323 p.
- FLOWERS, T.J. Improving crop salt tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v.55, p.307-319, 2004.
- FOYER, C.H.; NOCTOR, S. Oxygen processing in photosynthesis: regulation and signalling. *New phytol*, v. 146, p. 359-88, 2005.

- FREITAS R. A. Testes fisiológicos e bioquímicos na estimativa do potencial de armazenamento de sementes de algodão. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.26, n.1, p.84-91-2004.
- FREITAS, R.A.; NASCIMENTO, W.M. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de lentilha. **Rev. Bras. Sementes**, Pelotas, v. 28, n. 3, p. 59-63, 2006.
- FUJITA, M.; FUJITA, Y.; NOUTOSHI, Y.; TAKAHASHI, F.; NARUSAKA, Y.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K. Crosstalk between abiotic and biotic stress responses: a current view from the points of convergence in the stress signaling networks. **Current Opinion in Plant Biology**, v.9, p.436-442, 2006.
- GÓMEZ CAMPO, C. Long term seed preservation: updated standards are urgent. Madrid: Universidad Politécnica de Madrid, 2006. 4p. (Monographs ETSIA).
- HERNÁNDEZ, J.A., M.A. FERRER, A. JIMÉNEZ, A. ROS-BARCELÓ AND F. SEVILLA. Antioxidant system and O_2/H_2O_2 production in the apoplast of *Pisum sativum* L. leaves: its relation with NaCl-induced necrotic lesions in minor veins. **Plant Physiol.** 127:817-831, 2001.
- JOLY, A.B. **Botânica**: introdução à taxonomia vegetal. 11. ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1993. 777p.
- JORDÃO JÚNIOR, A.A. *et al.* Peroxidação lipídica e etanol: papel da glutatona reduzida e da vitamina E. **Medicina**, v. 32, p. 434-449, 1998.
- JOSE, S. C. B. R.; SALOMÃO, A. N.; COSTA, T. S. A.; SILVA, J. T. T. T.; CURI, C. C. S. Armazenamento de sementes de girassol em temperaturas subzero: aspectos fisiológicos e bioquímicos. **Revista Brasileira de sementes** vol.32 no.4 Londrina 2010.
- KHAN, M.H.; PANDA, S.K. Alterations in root lipid peroxidation and antioxidative responses in two Rice cultivars under NaCl-salinity stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, v.30, n.1, p.81-89, 2008.
- KORYO, H.W. Study of potencial cash crop halophytes in a quick check system task. *Veg. Science*, v.38, p.5-17, 2003.
- KRAMER, PAUL J.; KOZŁOWSKI, T. **Fisiologia das árvores**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1972. 745 p.

KRZYŻANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. ABRATES: Londrina, 1999. 218p.

LARRÉ, C. F.; ZEPKA, A. P. S.; MORAES, D. M.. Testes de germinação e emergência em sementes de maracujá submetidas a envelhecimento acelerado. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, n. 2, p. 708-710, jul. 2007

LEITE, R.M.V.B.C.; CASTRO, C.; BRIGHENTI, A.M.; OLIVEIRA, F.A.; ARVALHO, C.G.P.; OLIVEIRA, A.C.B. – Indicações para o cultivo de girassol nos Estados do Rio Grande do Sul, Paraná, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Goiás e Roraima. Londrina, PR: **EMBRAPA**, 2007. (comunicado técnico n. 78).

MACEDO, E. C.; GROTH, D.; SOAVE, J. Influência da embalagem e do armazenamento na qualidade fisiológica de sementes de algodão. **Revista Brasileira de Sementes**, Campinas, v. 20, n. 2, p. 454-461, 1998.

MAPA. **Anuário estatístico da agroenergia**. 2 ed. 2011. MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília, 2011. 224 p.

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

MARQUES, E. C.; FREITAS, V. S.; BEZERRA, M. A.; PRISCO, J. T. GOMES-FILHO, E. Efeitos do estresse salino na germinação, emergência e estabelecimento de plântulas de cajueiro não precoce. **Revista Ciência agrônômica**. vol.42 no.4 Fortaleza Oct./Dec. 2011.

MARINI, M. J. et al. Avaliação da contribuição de arranjos produtivos locais para o desenvolvimento local. Biblio3W: **Revista Bibliográfica de Geografía Y Ciencias Sociales**, v. 17, n. 996, 2012.

MATOS, A. C. S.; BORGES, E. E. L.; SILVA, L. J. Fisiologia da germinação de sementes de *Dalbergia nigra* (Vell.) Allemão ex Benth. Sob diferentes temperaturas e tempos de exposição. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.39, n.1, p.115-125, 2015.

MC DONALD, M.B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 27, n. 1, p. 177-237, 1999.

MENDES, R.C.; DIAS, D.C.F.S.; PEREIRA, M.D.; DIAS, L.A.S. Testes de vigor para avaliação do potencial fisiológico de sementes de mamona (*Ricinus communis* L.). **Ciência agrotécnica**, Lavras, v. 34, n. 1, p. 114-120, 2010.

MENEZES, A.S.; RIBEIRO, A.A.; TAVARES, M.K.N.; SANTOS, C.K.G.; ARAGÃO, M.F.; MOREIRA, F.J.C. Salinidade na germinação e crescimento inicial de girassol (*Helianthus annuus* L.) submetido a estresse salino. **Revista Agrogeoambiental**, Pouso Alegre, v.7, n.2, p.23-32, 2015.

MERREIN, A. **Physiologie du tournesol**. Paris: CETIOM, 66p. 1992.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance, *Trends Plant Science*, v.7, p.405-410, 2002.

MUNNS, R. JAMES, R.A.; LAUCHLI, A. Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *J. Exp. Bot.*, v.57, p. 1025-1043, 2006.

MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, v.59, p.651-681, 2008.

OLIVEIRA, F. DE A.; MEDEIROS, J. F. DE; OLIVEIRA, M. K. T. DE; LIMA, C. J. G. S.; GALVÃO, D. C. Desenvolvimento inicial do milho-pipoca 'Jade' irrigado com água de diferentes níveis de salinidade. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.2, p.45-52, 2007.

OLIVEIRA, A.B.; GOMES-FILHO, E.; ENEAS-FILHO, J.; PRISCO, J. T.; ALENCAR, N. L. M.; Seed priming effects on growth, lipid peroxidation and activity of ROS scavenging enzymes in NaCl-stressed sorghum seedling from eged seed. **Journal of Plants Interactions** (Print) JCR, V.11, p.1-11, 2011.

PALLANCA, J.E. AND SMIRNOFF, N. Ascorbic acid metabolism in pea seedlings. A comparison of Dglucosone, L-sorbosone, and L-galactono -1,4-lactone as ascorbate precursors. *Plant Physiology* 120, 453-461, 1999.

PARRELLA, N. N. L. D. **Armazenamento de sementes**. EPAMIG: MG, 2011.

Disponível em: http://www.epamig.br/index.php?option=com_docman&task=download&gid=1519. Acesso: 31 jan. 2014.

PEREIRA, V. R. Ácido ascórbico – Características, mecanismos de atuação e aplicações da indústria de alimentos. (Trabalho acadêmico apresentado no curso de bacharelado em química dos alimentos). Universidade Federal de Pelotas, 2008.

PERES, W.L.R. Testes de vigor em sementes de milho. 2010. 50f. **Dissertação** (Mestrado em Agronomia, Área de Concentração em Produção e Tecnologia de Sementes) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP Jaboticabal, São Paulo, 2010.

PUTT, E.D. Early history of sunflower, In: SCHNEITER, A. A. **Sunflower technology and production**. Madison: American Society of Agronomy, p. 1-19, 1997.

ROSSI, R. **O Girassol**. Curitiba: Tecnogro, 1998. 333p.

SALGADO, P.R.; DRAGO, S.R.; MOLINA ORTIZ, S.E.; PETRUCCELLI, S.; ANDRICH, O.; GONZÁLEZ, R.J.; MAURI, A.N. Production and characterization of sunflower (*Helianthus annuus* L.) protein- enriched products obtained at pilot plant scale. *Journal LWT – Food Science and Technology*, 11 jul. 2012. v.45, p. 65-72.

SANTOS, R. F. *et al.* Aspectos econômicos do agronegócio da mamona. In: AZEVEDO, D. M. P. de; BELTRÃO, N. E. de M. (Eds.). **O agronegócio da mamona no Brasil**. 2. ed. Campina Grande: Embrapa Algodão; Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2007. p. 21-42.

SCHUAB, S.R.P.; BRACCINI, A.L.; FRANÇA NETO, J.B.; SCAPIM, C.A.; MESCHÉDE, D. K. Potencial fisiológico de sementes de soja e sua relação com a emergência das plântulas em campo. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 28, n. 4, p. 553-561, 2006.

SHALATA, A.; NEUMANN, P.M. Exogenous ascorbic acid (vitamin C) increases resistance to salt tolerance and reduces lipid peroxidation. *J. Exp. Bot.*, 364: 2207-2211, 2001

SHARMA, S.; GAMBHIR, S.; MUNSHI, S.K. Changes in lipid and carbohydrate composition of germinating soybean seeds under different storage conditions. **Asian Journal of Plant Science**, v.6, n.3, p.502-507, 2007.

SILVA, P.T., FIALHO, E., LOPES, M.L.M., VALENTE-MESQUISTA, V.L. (2005) Sucos de Laranja industrializados e preparados sólidos para refrescos: estabilidade química e físico-química. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 25(3):597-602.

SILVA, C.A.; PINHEIRO, J.W. Girassol na alimentação de suínos e aves. In: LEITE, R. M.V.B.C.; BRIGHENTI, M.A.; CASTRO, C. (Eds.). **Girassol no Brasil**. Londrina - PR: Embrapa Soja, Cap. 6, p. 93-121, 2005.

SILVA, E. R.; MARTINHO, H. S. D.; MOREIRA, A. V. B.; ARRIEL, N. H. C.; SILVA, A. C.; RIBEIRO, S. M. R. Capacidade antioxidante e composição química de grãos integrais de gergelim preto e branco. **Pesquisa agropecuária brasileira**. Vol 46, n 7, 2011. P. 736-742.

SILVEIRA, J.M.; CASTRO, C.; MESQUISTA, C.M.; PORTUGAL, F.A.F. Semeadura e manejo da cultura do girassol. In: LEITE, R. M.V.B.; BRIGHENTI, A.M.; CASTRO, C. **Girassol no Brasil**. Londrina, CNPSO, 2005.

SMIDERLE, O. J.; MOURÃO JÚNIOR, M.; GIANLUPPI, D. Avaliação de cultivares de girassol em savana de Roraima. **Acta Amazônica**. v.35, n.3, p.331-336, 2005

SOARES, M.M.; CONCEIÇÃO, P.M.; DIAS, D.C.F.S.; ALVARENGA, E.M. Testes para avaliação do vigor de sementes de sorgo com ênfase à condutividade elétrica. **Ciência agrotécnica**, Lavras, v. 34, n. 2, p. 391-397, 2010.

SOUTINHO, S. M. A. Avaliação dos compostos fenólicos e da atividade antioxidante de frutos vermelhos produzidos em modos biológicos. Tese (Dissertação de mestrado).- Departamento de Qualidade e Tecnologia Alimentar. **Instituto Politécnico de Viseu**, Portugal, 2012.

ROCHA, F. C., OLIVEIRA NETO, A. M., BOTTEGA, E. L., GUERRA, N., ROCHA, R. P., VILAR, C. C. (2015) Weed mapping using techniques of precision agriculture. *Planta Daninha*, Viçosa-MG, v. 33, n. 1, p. 157-164.

RODO, A.B. *et al.* Metodologia alternativa do teste de envelhecimento acelerado para sementes de cenoura. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.57, n.2, p.289-292, 2000.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Art med. 2004. 719p.

TAVARES, J. *et al.* Estabilidade do ácido ascórbico em polpa de acerola submetida a diferentes tratamentos. **Magistra on line** da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, v.15, n.2, jul./dez. 2003.

TOMMASI, F.; PACIOLLA, C.; PINTO, M.C. de; GARA, L. de. 2011. A comparative study of glutathione and ascorbate metabolism during germination of *Pinus pinea* L. seeds. **Journal of Experimental Botany** 52: 1647-1654.

TORRES, S.B. Métodos para a avaliação do potencial fisiológico de sementes de melão. Piracicaba. 2002. 103f. **Tese** (Doutorado em Agronomia), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 2002.

TRAVASSOS, K.D.; SOARES, F.A.L.; GHEYI, H.R.; SILVA, D.R.S.; NASCIMENTO, A.K.S. do; DIAS, N. da S. Produção de aquênio do girassol irrigado com água salobra. Revista. **Brasileira Engenharia Agrícola e Ambiental**, 15:371-376, 2011.

WAHID, A.; RASUL, E.; RAO, A. R. Germination of seeds and propagules under salt stress. In: PESSARAKLI, M. (Ed.). **Handbook of Plant and Crop Stress**. 2. ed. New York: Marcel Dekker, Inc., 1999. p. 153-167.

WILLADINO, L.; CAMARA, T.R.; BOGET, N.; SANTOS, M.; TORNÉ, J.M. Polyamines and free amino acid variation in NaCl-treated embryogenic maize callus from sensitive and resistant cultivars. *Journal of Plant Physiology*, v. 149, p. 179-185, 2010.

WILSON, D. O.; MCDONALD, M. B. The lipid peroxidation model of deterioration. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 14, n. 2, p. 269-300, July 1986.

3 IDENTIFICAÇÃO DE MÉTODOS DE APLICAÇÃO EXÓGENA DO ÁCIDO ASCÓRBICO EM SEMENTES DE GIRASSOL

RESUMO

A cultura do girassol (*Helianthus annuus*, L) é considerada de grande importância para a produção de óleo em todo mundo. Dentre os fatores do ambiente que comprometem a produção desta espécie, encontram-se a salinidade de solos e o armazenamento de sementes em ambientes inadequado. Objetivou-se avaliar métodos de aplicação exógena de ácidos ascórbicos como forma de melhoria às condições adversas em sementes de girassol cultivar BRS122. As sementes foram incubadas com 0, 75 e 150 mg L⁻¹ de ácido ascórbico em diferentes tempos de exposição (4, 8 e 24 h), através de dois diferentes métodos: embebição em papel germitest em placa de Petri e submersão em solução em Erlenmeyer. Após a aplicação dos tratamentos, foi quantificado, nas sementes, o teor de ácido ascórbico e posteriormente comparado com o teor padrão já existente (0 h). O método de aplicação exógena, embebição em solução de ácido ascórbico, acondicionada em erlenmeyer, na concentração de 0,85 mM, durante 24 horas de exposição, foi o mais indicado na absorção e no aumento do teor de ácido ascórbico.

Palavras-chave: Antioxidante. Embebição. Concentrações.

ABSTRACT

The cultivation of sunflower (*Helianthus annuus*, L) is considered of great importance for the production of oil throughout the world. Among the environmental factors that compromise the production of this species are soil salinity and seed storage in inappropriate environments. The objective of this work was to evaluate methods of exogenous application of ascorbic acids as a way of improving the adverse conditions in sunflower seeds cultivating BRS122. The seeds were incubated with 0, 75 and 150 mg L⁻¹ ascorbic acid at different exposure times (4, 8 and 24 h), by two different methods: soaking in germitest paper in Petri dishes and submersion in solution in Erlenmeyer. After application of the treatments, the ascorbic acid content was quantified in the seeds and then compared with the existing standard content (0 h). The exogenous application method, imbibed in ascorbic acid solution, packed in Erlenmeyer flask at the concentration of 0.85 mM, for 24 hours of exposure, was the most indicated in the absorption and increase of the endogenous ascorbic acid content.

Keywords: Antioxidant. Soaking. Concentrations.

INTRODUÇÃO

O fato das sementes de girassol apresentarem um alto grau de versatilidade resulta de um gradativo aumento por melhorias nessa cultura, não estando apenas relacionada com a utilização de novas variedades e um manejo adequado da cultura, mas também relacionada com a qualidade das sementes. Nesse contexto, é essencial que os produtores disponham de sementes de alta qualidade para o adequado estabelecimento de plantios comerciais, possibilitando um rápido e adequado desenvolvimento das plantas, condições imprescindíveis para a obtenção de lavouras com elevadas produtividades.

Ao passar do tempo, as sementes ficam cada vez mais expostas a mudanças degenerativas que tendem a diminuir sua qualidade, seja devido a mudanças físicas, bioquímicas ou fisiológicas. As sementes deterioram-se facilmente quando passam por períodos prolongados de armazenamento, principalmente se as condições forem estabelecidas neste período (BRILHANTE, 2011)

A temperatura e umidade elevada durante o armazenamento das sementes contribuem para a sua deterioração, por promoverem alterações degenerativas como a desestabilização nas atividades de enzimas e a desestruturação e perda de integridade do sistema de membranas celulares, causada, principalmente, pela peroxidação de lipídios devido ao aumento das espécies reativas do oxigênio (EROs) (DEL RIO *et al.* 1998, p.330; VIEIRA *et al.* 1994 p.31,).

Os danos causados pelas EROs podem ser evitados nos organismos, incluindo as sementes. Estas, em geral, possuem vários mecanismos de defesa, isto é, componentes de neutralização das ações dos radicais livres, chamados de antioxidantes (RENZ, 2003).

O pré-tratamento com antioxidantes não enzimáticos, aumenta o vigor e com isso o potencial de armazenamento de sementes de várias espécies sob condições adversas de temperatura e umidade (MAITY *et al.*, 2000, p.155). O tratamento prévio com ácido ascórbico, um antioxidante, serve para aumentar o vigor e prolongar o tempo útil de armazenamento de sementes, devido a remoção das EROs (SMIRNOFF E WHEELER 2000, p.291).

O ácido ascórbico atua como um antioxidante, por estar disponível para uma oxidação energeticamente favorável. Como ele é facilmente oxidado pelo ar, apresenta oxidação em sementes e outras partes vegetais, preservando a sua qualidade. Muitos oxidantes como o radical hidroxil, contêm um elétron não emparelhado, e, com isso, são muito reativos e prejudiciais para as plantas, em nível molecular. Isso se deve a sua interação com os ácidos nucleicos, proteínas e lipídios (ARAÚJO,1999, p.416). Arrigoni e Detullio (2004, p.302)

mostraram que a aplicação exógena de ácido ascórbico, aumenta os níveis endógenos de antioxidantes devido a absorção por diferentes tipos de plantas.

A aplicação de ácido salicílico, um outro antioxidante, em plantas de gergelim, promoveu redução dos efeitos provocados pelo estresse hídrico (CARNEIRO *et al.*, 2015). O ácido salicílico também promoveu melhorias em mamona (LIU *et al.*, 2011, p.131) e em girassol (ÇAG *et al.*, 2009, p.2297). A aplicação de ácido ascórbico de 300 Mm foi capaz de diminuir os efeitos nocivos do estresse salino na fotossíntese, conteúdo mineral, pigmento fotossintético e integridade de membrana em plantas de girassol e milho (HAMADA; AL-HAKIMI, 2009, p.335). A presença de ácido ascórbico exógeno em sementes de algodão protegeu contra a peroxidação de lipídios e as EROs (McDONALD, 1999, p. 177).

A aplicação de ácido ascórbico aumentou a tolerância de plantas ao manganês pelo aumento do conteúdo de clorofila, das taxas fotossintética e transpiratória, maior atividade das enzimas do sistema antioxidante e maiores níveis de prolina. Com isso, houve menor geração de H₂O₂, menor peroxidação lipídica e maior crescimento (PARASHAR *et al.*, 2014, p. 551).

Apesar da grande eficiência, demonstrada com a aplicação de ácido ascórbico exógeno, na defesa antioxidativa de várias espécies vegetais, ainda não se tem na literatura, uma metodologia definida para aplicação de ácido ascórbico em sementes de girassol. Portanto, o objetivo principal desse trabalho foi desenvolver uma metodologia de aplicação exógena de ácido ascórbico em sementes de girassol, cultivar BRS122.

MATERIAL E MÉTODO

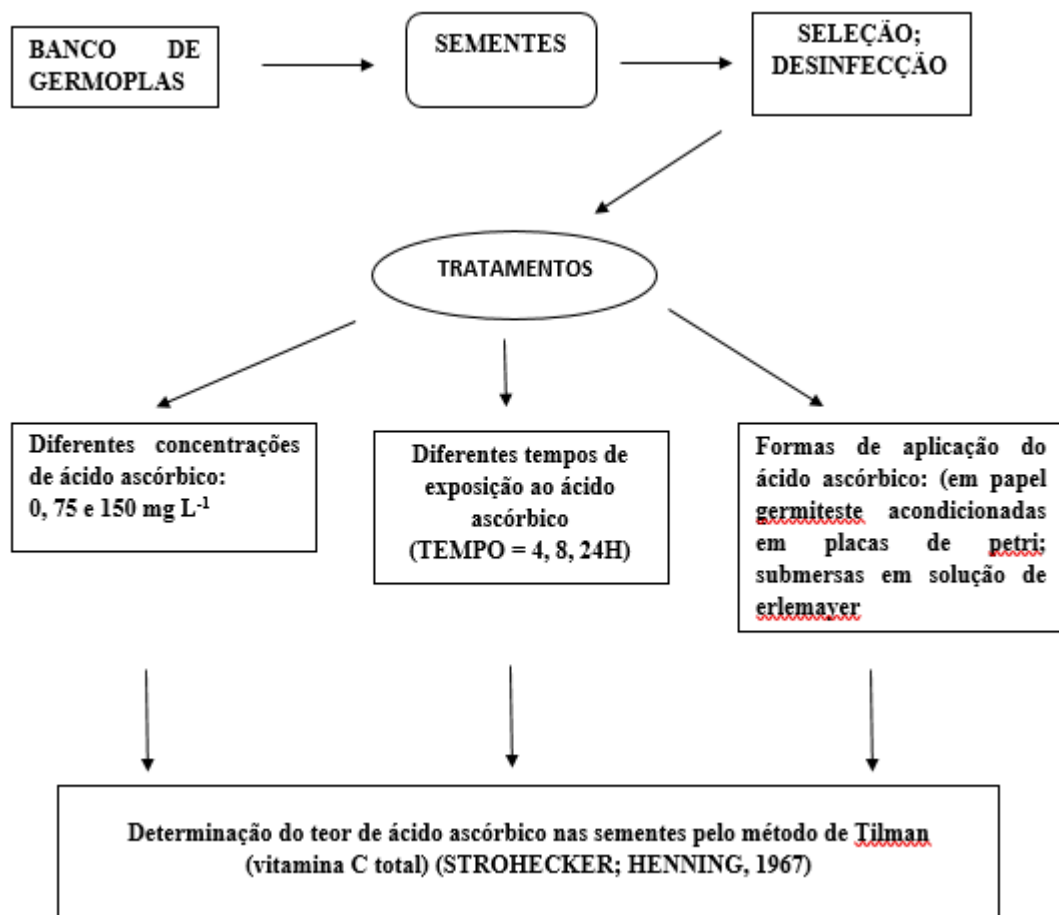
Foi utilizado como material vegetal, sementes de girassol, cultivar BRS122, obtidas do laboratório de sementes da Universidade Federal do Ceará, as quais foram selecionadas conforme critérios de tamanho, aparência e sanidade (FIGURA 3). A desinfecção das sementes foi feita por imersão em solução de etanol a 70% (v/v), com agitação por 30 segundos, seguida de três lavagens rápidas com água destilada esterilizada. Em seguida, as sementes foram imersas em solução de hipoclorito de sódio a 0,2% (v/v) por 10 min, e depois lavadas posteriormente três vezes em água destilada estéril.

Com o intuito de verificar qual a melhor forma de aplicação exógena de ácido ascórbico nas sementes de girassol, foi elaborada a seguinte estratégia experimental. As sementes foram incubadas nas concentrações de 0, 75 e 150 mg L⁻¹ de ácido ascórbico, em diferentes tempos de exposição (4, 8 e 24 h) em dois diferentes métodos de aplicação: embebição em papel germitest acondicionados em placa de Petri e submersas em solução no erlenmeyer em BODs. A testemunha utilizada foi a germinação na concentração 0 e no tempo 0 de exposição de ácido

ascórbico. Em ambas as condições, os recipientes tiveram que ser envoltos em papel alumínio para a não degradação do ácido ascórbico com o contato da luz.

Após a aplicação dos tratamentos citados, foi quantificado em cada um deles, o teor de ácido ascórbico endógeno, conforme protocolo descrito por Tillman (vitamina C total) (STROHECKER; HENNING, 1967, p. 428). Depois foi feita a comparação com o teor padrão de ácido ascórbico endógeno já existente nas sementes controle (0 h), para avaliar qual foi o tratamento mais eficaz no aumento da concentração endógena do ácido ascórbico nas plântulas de girassol (Figura 4).

Figura 4 – Esquema experimental identificando a metodologia de aplicação exógena de ácido ascórbico em sementes de girassol, cultivar BRS122.



(Fonte Nascimento, 2016).

Os dados foram analisados em esquema fatorial (3x3x2), testando quatro tempos de exposição, três concentrações e duas formas de aplicação, com três repetições cada. Os dados foram analisados estatisticamente, através da análise de variância pela significância de teste F e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância mostrou-se significativo a 1% de probabilidade em todos os fatores e interações analisados (Tabela 1).

Tabela 1– Análise de variância, do fatorial (3x3x2). Com interações duplas e tripla.

Análise de variância (ANOVA)				
FV	GL	SQ	QM	F
Fator 1 (F1)	1	6636,99	6636,99	242,2883 **
Fator 2 (F2)	2	2795,16	1397,58	51,019**
Fator 3 (F3)	2	4816,46	2408,23	87,9142 **
Int. F1 x F2	4	10317,13	5158,56	188,3172 **
Int. F1 x F3	4	1236,21	618,10	22,5645 **
Int. F2 x F3	4	694,47	173,86	6,3472 **
Int. F1 x F2 x F3	4	846,38	211,59	7,7245 **
Tratamentos	17	27343,83	1608,46	58,7180 **
Resíduo	36	986,14	27,39	
Total	53	28329,97		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$); ns não significativo ($p \geq .05$).

No tratamento controle, a quantidade de ácido ascórbico obtida foi de 10,669 mg/100g demonstrando que, em comparação com os demais, a aplicação de ácido ascórbico foi eficiente em todos os tratamentos analisados. Contudo, o tratamento que promoveu maiores quantificações de ácido ascórbico endógeno em sementes de girassol, foi o que expos as sementes a embebição em erlenmeyer, na concentração de 0,85 mM, durante 24 horas, não diferindo estatisticamente do tratamento com sementes expostas a embebição em erlenmeyer, na concentração de 0,85 mM, durante 8 horas (Tabela 2).

Observou-se que o aumento da concentração endógena de ácido ascórbico foi diretamente proporcional ao tempo de exposição das sementes aos tratamentos citados, em ambos os tipos de exposições, sendo consideravelmente visível o método de aplicação, onde a submersão das sementes na solução em erlenmeyer foi superior a embebição em papel germintest acondicionadas em placa de petri (Tabela 2).

Tabela 2 – Concentração de ácido ascórbico (mg/100g) em sementes de girassol após, BRS122, após tratadas com ácido ascórbico exógeno, em tempo de exposição, recipientes e concentrações diferentes.

Tempo (h)	Formas de aplicação exógena de ácido ascórbico					
	Embebição em papel germitest acondicionados em placa de Petri			Submersão em Erlenmeyer		
	0mM	0,42mM	0,85mM	0mM	0,42mM	0,85mM
4	10,66 Ad	20,11 cA	25,50 bcB	11,67 dA	29,90 cAB	36,33 bA
8	9,31 dB	26,72 bcA	29,30 abC	14,15 cdB	48,46 bB	75,14 aA
24	8,28 dB	21,56 cA	40,12 aC	12,27 dAB	61,72 aB	87,06 aA

*Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúsculas na linha, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Essa análise indica que a aplicação exógena de ácido ascórbico em sementes de girassol é promissora, no aumento de sua concentração interna, e tem como intuito a obtenção de um protocolo eficiente para estudos com envigoramento de sementes. Além do mais, o ácido ascórbico apresenta vantagens por ser solúvel em água, estando envolvido em diferentes processos celulares, incluindo a divisão celular e reestruturação das membranas (DEGARA, 2003, p.83). El-Saidy (2011, p.977), constataram a eficácia da aplicação exógena de ácido ascórbico em sementes de girassol, o que promove melhorias na porcentagem de germinação e redução do tempo médio de emergência.

Após 24 horas de exposição das sementes, embebidas em solução de ácido ascórbico submersas em Erlenmeyer, na concentração de 0,85 mM, o conteúdo endógeno de ácido ascórbico foi cerca de sete vezes superior, em comparação com a concentração de 0 mM durante o mesmo tempo de exposição e o mesmo método de aplicação (Tabela 1). El-Saidy (2011, p.977)

Com o uso de ácido ascórbico no condicionamento de sementes de girassol, cultivares Sakha 53 e Giza 102, as soluções testadas aumentou a germinação das sementes, inicialmente com medias de 64 e 82% para 95 e 96%, quando acondicionadas durante 12 horas de exposição, o que comprova a eficácia da aplicação exógena de ácido ascórbico em sementes de girassol.

A absorção exógena de uma solução de ácido ascórbico por uma semente difere conforme a forma de aplicação (SHALATA, NEUMAN, 2001, p.2207). Quando comparamos os dois métodos de aplicação, em cada um dos tempos de exposição analisados, observamos que existem diferenças em quase todos os tempos de exposição, exceto quando comparamos, 4 e 8 horas de exposição, na embebição em papel germitest. (Tabela 3).

Tabela 3 - Comparação entre tempos de exposição e formas de aplicação exógena de ácido ascórbico em sementes de girassol, cultivar BRS122.

Tempo de exposição aos tratamentos com ácido ascórbico (H)	Formas de aplicação exógena de ácido ascórbico	
	Embebição em papel germitest acondicionados em placa de Petri	Submersão em Erlenmeyer
4	16,62bB	39,49bA
8	17,11bB	27,23cA
24	27,72aB	61,25aA

*Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Este trabalho evidencia que existe diferença significativa entre os dois métodos de aplicação exógena de ácido ascórbico em 24 horas de embebição. Demonstrando que, em sementes de girassol cultivar RBS 122, a absorção da solução de ácido ascórbico em papel germitest é inferior a embebição em solução acondicionada em erlenmeyer.

CONCLUSÃO

O método de aplicação exógena embebição em solução de ácido ascórbico, acondicionada em erlenmeyer, na concentração de 0,85 mM, durante 24 horas de exposição, é eficiente na absorção e no aumento do teor endógeno de ácido ascórbico em sementes de girassol, cultivar RBS 122.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, J. **Química de alimentos: teoria e prática**. 2ª ed. Viçosa: Editora UFV, 1999. 416p.
- BRILHANTE, J. C. A. Aplicação de ácido ascórbico em sementes de feijão-de-corda [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] na atenuação dos efeitos do envelhecimento e do estresse salino. 2011. 125 f. **Tese** (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2011.
- ÇAG, S.; CEVAHIR-ÖZ, G.; SARSAG, M.; GÖREN-SAGLAM, N. Effect of salicylic acid on pigment, protein content and peroxidase activity in excised sunflower cotyledons. **Pakistan Journal of Botany**, v. 41, n. 5, p. 2297-2303, 2009.
- CARNEIRO, R. F.; SILVA, A. S.; SILVA, D. C.; SUASSUNA, J.F.; MELO, A. S. Crescimento de gergelim submetido a estresse hídrico e à aplicação foliar de ácido salicílico. **Congresso técnico científico da engenharia e da agronomia CONTECC' 2015**. Centro de eventos do Ceará Fortaleza – Ce. 2015.
- DE GARA L. Ascorbate metabolism and plant growth—from germination to cell death. In: Asard H, May J, Smirnoff N, eds. *Vitamin C: its function and biochemistry in animals and plants*. Oxford: **BIOS Scientific Publishers Ltd**, 83–95. 2003.
- DEL RIO, L.A.; SANDALIO, L.M.; CORPAS, F. J.; PALMA, J. L.; BARROSO, J. B. Reactive oxygen species and reactive nitrogen species in peroxisomes. Production, scavenging, and role in cell signaling. **Plant physiology**, v.141, p.330-335, 2006.
- EL-SAIDY, A. E. Evaluation of diferente seed priming on seedling growth, yield and quality components in two sunflower (*Helianthus annus* L.) cultivars. **Trends in Applied Sciences research**, Berlin, v.9, n.6, p.977-991, june 2011.
- HAMADA, A.M.; AL-HAKINI, A. M. A. Exogenous ascorbics acid or thiamine increases the resistance of sunflower and maize plants to salt stress. *Acta Agronomica Hungarica*, 57 (3), pp. 335 – 347, 2009.
- LIU, C.; GUO, J.; CUI, Y.; LÜ, T.; ZHANG, X.; SHI, G. Effects of cadmium and salicylic acid on growth, spectral reflectance and photosynthesis of castor bean seedlings. **Plant and Soil**, v. 344, n. 1-2, p. 131-141, 2011.

MAITY, S.; BANERJEE, G.; ROY, M.; PAL, C.; PAL, B.; CHAKRABARTI, D.; BHATTACHARJEE, A. Chemical induced prologation of seed viability and stress tolerance capacity of mung bean seedlings. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 28, n. 1, p. 155-162, 2000.

MC DONALD, M.B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 27, n. 1, p. 177-237, 1999.

PARASHAR, A. et al. Salicylic acid enhances antioxidant system in Brassica juncea grown under different levels of manganese. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 70, p. 551-558, Sept. 2014.

RENZ, S. V. Oxidação e antioxidantes. Disponível em: www5.ufrgs.br/bioquímica/posgrad/BTA/oxi_antiox.pdf. Acessado em 26 de agosto de 2003.

SHALATA, A.; NEUMANN, P.M. Exogenous ascorbic acid (vitamin C) increases resistance to salt tolerance and reduces lipid peroxidation. **J. Exp. Bot.**, 364: 2207-2211, 2001.

SMIRNOFF, N. WHEELER, G.L. (2000) Ascorbic Acid in Plants: Biosynthesis and Function. **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**, 35(4): 291-314.

STROHECKER, R.L.; HENNING, H.M. **Análises de vitaminas: métodos comprobados**. Madrid: Paz Montalvo, 1967. 428p.

VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M.; SADER, R. Teste de vigor e suas possibilidades de uso. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. **Teste de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 1994. p.31-47.

4 EFEITO DO PRÉ E DO PÓS-CONDICIONAMENTO OSMÓTICO COM ÁCIDO ASCÓRBICO NA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE GIRASSOL, CULTIVAR BRS 122, ENVELHECIDAS ARTIFICIALMENTE

RESUMO

A cultura do girassol (*Helianthus annuus*, L) é considerada de grade importância para a produção de óleo em todo mundo. Dentre os fatores do ambiente que comprometem a produção desta espécie, encontram-se a salinidade de solos e o armazenamento de sementes em ambientes inadequado. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da aplicação exógena de ácido ascórbico na redução dos danos ocasionados pelo envelhecimento acelerado e pela salinidade de solos, utilizando sementes de girassol cultivar BRS122. Já tendo definido a metodologia de aplicação exógena, analisou-se o efeito do pré- e pós-tratamentos com ácido ascórbico na atenuação dos efeitos danosos provocados pelo envelhecimento acelerado, juntamente com embebições em cloreto de sódio e cloreto de sódio com ácido ascórbico. As sementes foram submetidas aos seguintes tratamentos: sementes não envelhecidas e não tratadas com ácido ascórbico (controle); sementes envelhecidas (por 48 h, a 42 °C e 100% U.R.); sementes antes do envelhecimento submetidas ao tratamento com ácido ascórbico; e sementes envelhecidas e submetidas ao tratamento com ácido ascórbico. Seguiu-se da embebição em H₂O, NaCl (-0,8 Mpa) e 1:1 de NaCl (-0,8 Mpa) + 150 mg L⁻¹ de ácido ascórbico. Foram analisados parâmetros de germinação, de crescimento e bioquímicos. O Pós-condicionamento com solução de ácido ascórbico em sementes envelhecidas, auxilia as variáveis germinativas e de crescimento de plântulas de girassol, cultivar BRS122. O pós-condicionamento também é eficiente em promover uma melhora no conteúdo interno, dando destaque para os teores de carboidratos e lipídios totais.

Palavras-chave: antioxidante. envelhecimento. Salinidade

ABSTRACT

The cultivation of sunflower (*Helianthus annuus*, L) is considered of great importance for the production of oil throughout the world. Among the environmental factors that compromise the production of this species are soil salinity and seed storage in inappropriate environments. The objective of this work was to evaluate the effect of the exogenous application of ascorbic acid in the reduction of the damages caused by the accelerated aging and the salinity of soils, using sunflower seeds cultivar BRS122. Once the exogenous application methodology was defined, the effect of pre- and post-treatments with ascorbic acid on the attenuation of the harmful effects caused by accelerated aging, together with imbibition in sodium chloride and sodium chloride with ascorbic acid, was analyzed. The seeds were submitted to the following treatments: seeds not aged and not treated with ascorbic acid (control); Aged seeds (for 48 h at 42 ° C and 100% U.R.); Pre-aging seeds subjected to ascorbic acid treatment; And seeds aged and treated with ascorbic acid. This was followed by soaking in H₂ O, NaCl (-0.8 Mpa) and 1: 1 NaCl (-0.8 Mpa) + 150 mg L⁻¹ ascorbic acid. Germination, growth and biochemical parameters were analyzed. The post-conditioning with ascorbic acid solution in aged seeds, helps the germinative and growth variables of sunflower seedlings, cultivar BRS122. Post-conditioning is also efficient in promoting an improvement in the internal content, emphasizing the contents of carbohydrates and total lipids.

Key words: antioxidant. aging. salinity

INTRODUÇÃO

Sementes de boa qualidade devem apresentar uma série de atributos que a qualifiquem, no momento do processo germinativo, como excelentes mantenedoras dos constituintes necessários ao bom crescimento e desenvolvimento vegetal. Esses caracteres genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários, são os grandes pontos que qualificam o potencial germinativo de uma semente. Uma elevada qualidade de sementes irá refletir diretamente nos resultados finais da cultura, em termos de ausências de moléstias, alto vigor, mais produtividade e uniformidade da população no campo, além do estande inicial.

Sementes com baixa qualidade fisiológica podem ter uma série de limitações que levem a sua rápida degeneração. A literatura cita que os eventos mais atingidos, devido à baixa qualidade fisiológica, são a degradação de membranas celulares, a redução das atividades respiratórias e biossíntese (BINOTTI *et al.*, 2008, p.247).

As membranas vegetais consistem em uma bicamada lipídica, entremeada com proteínas e esteróis. As temperaturas elevadas, provocadas pelo envelhecimento acelerado, por exemplo, causam um aumento na fluidez de lipídios de membrana e um decréscimo na força de ligações de hidrogênio e interação eletroestática entre grupos polares de proteínas (TAIZ; ZEIGER, 2013, p.954). No caso da respiração, este é um processo influenciado pela atividade de um grupo de enzimas que agem como catalisadoras da decomposição de substâncias de reserva. À medida que as sementes deterioram, a respiração se torna gradativamente menos intensa e tem como consequência final o colapso metabólico da semente (MARCOS FILHO, 2005, p.495).

Nas sementes envelhecidas, após exposição a condições desfavoráveis de ambiente, a germinação pode não ser muito afetada, mas o vigor é reduzido significativamente (ABU-SHAKRA; CHING, 1967, p.115).

Em se tratando de sementes de girassol, o fato da semente ser constituída de 48 a 57% de óleo, isto torna-se um dos principais fatores que auxiliam na perda de viabilidade dessas sementes, pois a velocidade de deterioração das sementes é diretamente proporcional ao percentual de óleos existentes na mesma (FAGUNDES, 2009).

A tecnologia de sementes vem aprimorando, através de procedimentos avaliativos da qualidade das sementes, com o objetivo de obter resultados que expressem o desempenho potencial de um lote de sementes, com destaque para os testes de vigor (VIEIRA *et al.*, 1994, p.31). Os testes de vigor devem detectar diferenças no potencial fisiológico de lotes de sementes com germinação semelhante, e compatível com as exigências mínimas para a comercialização.

Sendo tais testes primordiais para a identificação de diferenças importantes na qualidade fisiológica de lotes de sementes (MARCOS FILHO, 2005, p.495).

Até o momento, não existe um teste universalmente aceito para avaliar o vigor de sementes de uma determinada espécie ou de um conjunto de espécies, procurando atingir objetivos pré-determinados. Dentre os testes disponíveis, um dos mais conceituados para se avaliar a germinação e o crescimento sob condições desfavoráveis é o teste de envelhecimento acelerado. Este avalia o grau de tolerância das sementes à temperatura (41°C – 45°C) e umidade relativa elevadas, que contribuem para acelerar o processo de deterioração. Assim, o princípio do teste estabelece que as amostras de sementes mais vigorosas apresentam germinação superior após esse envelhecimento artificial.

A determinação do grau de umidade das amostras após o período de envelhecimento e a verificação da amplitude de sua variação é uma das “etapas-chave” do procedimento. Essa informação pode ser utilizada de duas maneiras: em primeiro lugar, o grau de umidade final é conhecido para mais de 40 espécies; assim, a comparação dos valores alcançados com os já estabelecidos é uma delas. A outra, é considerar que a variação entre o grau de umidade das amostras, ao final do envelhecimento, não deve superar 2,0 a 3,0 pontos percentuais. Portanto, se uma dessas condições for satisfeita, os resultados do teste são consistentes e não há necessidade de repeti-lo (MARCOS FILHO, 2005, p. 495).

Assim, salvo engano, o teste de envelhecimento acelerado é o único disponível em que há disponibilidade de utilizar um parâmetro indicativo da adequação dos procedimentos adotados. Essa situação caracteriza um grau avançado de padronização e abre caminho para uma possível inclusão como item componente de padrões para a comercialização (MARCOS FILHO, 2005, p.495).

Alternativas vem sendo aplicadas para melhorar o desempenho de lotes de sementes com baixa qualidade fisiológica. Tais métodos partem dos princípios das estratégias naturais que as sementes usam para reverter ou minimizar os danos provocados pela deterioração, dentre esses temos os mecanismos enzimáticos e também os não enzimáticos, este último utiliza de componentes com potencial antioxidante, como por exemplo o ácido ascórbico (POWELL *et al.*, 2000, p.2031).

Objetivou-se neste trabalho analisar os antioxidantes não enzimáticos na atenuação da melhoria da qualidade fisiológica das sementes de girassol, aumentando o vigor e a viabilidade das sementes, principalmente pela remoção eficiente das EROs.

METODOLOGIA

Metodologia de aplicação exógena do ácido ascórbico

Tendo já definido a metodologia de aplicação exógena de ácido ascórbico no capítulo anterior (ADAMO, 1984, p.15). Seguiu-se analisado o efeito do pré e pós-tratamento com ácido ascórbico na atenuação dos efeitos danosos do envelhecimento acelerado e de embebições em diferentes tipos de soluções. As sementes selecionadas e desinfetadas, como descrito anteriormente, foram distribuídas em caixas gerbox devidamente colocadas em câmara de envelhecimento artificial BOD conforme as Regras de Análise de Sementes (BRASIL, 2009) para promover o envelhecimento das mesmas por 48 h, a 41 °C e 100% U.R.

Os tratamentos testados foram: sementes não envelhecidas e não tratadas com ácido ascórbico (controle); sementes apenas envelhecidas; sementes, antes do envelhecimento, submetidas a um pré-condicionamento osmótico com ácido ascórbico, conforme metodologia de aplicação definida na primeira parte do trabalho; e sementes submetidas a um pós-condicionamento onde as sementes foram envelhecidas e depois tratadas com ácido ascórbico.

Posteriormente, seguiu-se a germinação das sementes, nos tratamentos citados acima, em papel germitest contendo: H₂O; NaCl (-0,8 Mpa); e 1:1 de ácido ascórbico (0,85mM) + NaCl (-0,8 Mpa). Dando um total de 12 tratamentos.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições de 50 sementes. Os dados foram analisados estatisticamente, seguindo um esquema fatorial 4x3, com os quatro tratamentos e 3 as embebições citadas, seguiu-se a comparação das médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Variáveis analisadas:

Determinação da umidade das sementes

A umidade das sementes foi determinada conforme as Regras de Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

Teste de germinação e índice de velocidade de germinação

Com seis repetições de 50 sementes por tratamento, semeadas em rolo papel germitest, umedecido com água 2,5 vezes a massa do substrato seco e colocadas para germinar a 25 °C As avaliações sendo realizadas no 4° e 10° dia após a semeadura e os resultados expressos em porcentagem de germinação com base no número de plântulas normais conforme as Regras de

Análise de Sementes (BRASIL, 2009). O número de sementes duras e plântulas anormais ou inviáveis também foram contabilizados.

Índice de velocidade de germinação

Para o índice de velocidade de germinação, foram feitas contagens diárias das plântulas normais durante 10 dias, e o índice calculado conforme fórmula proposta por Maguare (1962, p.176).

Tempo médio de germinação

Através de contagens diárias conforme formula proposta por Labouriau (1983, p.174):

$TMG = \frac{\sum(n_i t_i)}{\sum n_i}$, em que:

TMG = tempo médio de germinação (dias)

n_i = número de sementes germinadas no intervalo entre cada contagem;

t_i = tempo decorrido entre o início da germinação e a i-ésima contagem;

Comprimento de plântulas

No final do teste de germinação, as plântulas normais de cada repetição foram medidas com o auxílio de réguas graduadas em centímetros, sendo os resultados expressos em centímetros por plântula.

Massa fresca e seca de plântulas

Para a massa fresca, após a aplicação dos tratamentos foi realizado a pesagem do material em balança analítica. Para a massa seca, o material vegetal foi congelado em freezer 80 °C para a posterior liofilização e depois pesadas em balança analítica (BARBOSA, 2002, p.73).

Açúcares solúveis

Para a determinação dos teores de açúcares solúveis, foi utilizado o pó liofilizado de cada tratamento. Sendo feitas duas extrações com 50 mg do pó e 5 mL de etanol a 80% em banho-maria a 70 °C por 30 minutos. Em seguida, o material foi centrifugado por 10 minutos a 3.000 g e separado o sobrenadante. O precipitado foi então, armazenado para as análises de

amido. A dosagem foi realizada espectrofotometricamente pelo método fenol-ácido sulfúrico, descrito por Dubois *et al.* (1956). Com o precipitado armazenado, foi feita duas novas centrifugações por 10 min a 3.000 g, agora com ácido perclórico 30%, após o mesmo ter sido deixado sob agitação constante por 20 min, descrito por Hodge e Holfreiter (1962, p.308).

Aminoácidos livres

O sobrenadante obtido da extração etanólica para a determinação de açúcares solúveis foi utilizado para a determinação de concentração de aminoácidos livres (AAL), segundo método descrito por Peoples *et al.* (1989), com algumas modificações feitas por Brilhante (2011, p.125). Alíquotas de 0,1 ml do extrato foram colocados em tubos de ensaio e acrescidas de 0,4 mL de água desionizada. Em seguida, foram adicionados 0,25 mL de uma solução tamponada, pH 5,0 contendo 0,2 mol L⁻¹ de citrato e 0,25 mL do reagente de ninhidrina (KCN 0,1 mmol L⁻¹ e ninhidrina 5% em methoxy etanol). Após misturar bem em vórtex os tubos foram hermeticamente fechados e colocados em banho-maria fervente, onde permanecerão pelo tempo de 15 min. Posteriormente, a reação foi interrompida em banho de gelo, momento em que adicionou-se 1,5 mL de uma solução de etanol 50% (v/v). Depois que, os tubos permanecerem por 20 minutos em temperatura ambiente foram feitas leituras em espectrofotômetro, a 570 nm, sendo os teores de aminoácidos livres, determinados com base em uma curva padrão ajustada a partir de concentrações crescentes de uma mistura padronizada de ácido cítrico.

Prolina livre

Em uma alíquota de 0,5 mL do extrato, convenientemente diluído, foram adicionados 0,5 mL do reagente da ninhidrina ácida (1,25 g de ninhidrina, dissolvida em 30 mL de ácido acético glacial e 20 mL de ácido fosfórico a 6 M) e 0,5 mL de ácido acético glacial. Os tubos de ensaio foram hermeticamente fechados e, após homogeneização da mistura de reação, deixados em banho-maria a 100°C por 1 h. A reação foi interrompida colocando-se os tubos de ensaio em banho de gelo. Após o resfriamento, adicionou-se 1,0 mL de tolueno ao meio de reação. Após agitação vigorosa da solução, a fase superior menos densa (cromóforo + tolueno) foi aspirada com o auxílio de uma pipeta Pasteur e submetida à leitura de absorbância em 520 nm, sendo o tolueno utilizado como branco (BATES, *et al.* 1973, p.205). A concentração de prolina foi estimada com base em uma curva padrão ajustada a partir de concentrações crescentes de prolina.

Proteínas solúveis

Amostras de 50 mg de material liofilizado foram incubadas com 1,3 mL de uma solução tampão (Tris-HCL 0,1 M com CaCl₂ 2,6 mM e PVP 1% a pH 7,4) e submetidas à extração em agitador horizontal durante 2 horas. Em seguida, foram centrifugados a 15.000 g por 15 min, a 4 °C. Logo após, coletou-se os sobrenadantes para com este determinar, as concentrações de proteínas solúveis (BRADFORD, 1976, p.1105). Inicialmente coletou-se Aliquotas de 0,1 mL do extrato e de 2,5 mL do reagente de Bradford. Após 15 min em temperatura ambiente, foram feitas leituras em espectrofotômetro, a 595 nm. A concentração de proteínas solúveis foi calculada com base em uma curva padrão ajustada a partir de concentração crescente de albumina sérica bovina (BSA) (SIGMA).

Atividade da protease

A extração realizou-se com amostras de 100 mg de material liofilizado e a adição de 2 mL de tampão fosfato 0,02 M com 10 mM de mercaptoetanol pH 7,6 com maceração em almoforiz devidamente resfriado durante 4 minutos. Alíquota de 1 mL do extrato enzimático foi adicionado a 500 µL de azoalbumina 1% em tampão fosfato 0,1 M pH 6,0 e colocados para centrifugação a 4°C a 12 g por 5 min. Posteriormente, serão adicionados ao meio de reação 500 µL de TCA 10% e feita nova centrifugação a 10.000 g por 10 min. Em seguida, a 1,5 mL do sobrenadante serão adicionados 500 µL de NaOH 2 M. Sendo, em seguida, feito leitura em espectrofotômetro a 440 nm. Uma unidade de atividade da protease foi definida como a quantidade de enzima necessária para aumentar 0,1 unidades de absorbância a 440 nm por cm⁻³ de extrato por h⁻¹ (1 UA=0,01 Absorbância). (AINOUZ E FREITAS, 1991, p.133)

Peroxidação de lipídios

Amostras de 50 mg de material liofilizado foram homogeneizados com 1,5 ml de ácido tricloroacético (TCA) 1% (m/v). A suspensão foi centrifugada a 10.000 g por 15 min e o sobrenadante utilizado para os ensaios. A mistura contendo 500 µL do extrato mais 2 mL do reagente composto de ácido tiobarbitúrico (TBA) a 0,5% (m/v), dissolvidos em TCA a 20% (m/v), foi incubada em banho-maria fervente por 1 hora. As leituras foram então, realizadas nas absorbâncias de 532 e 660 nm, em que 532 nm representam a máxima absorção do complexo MDA-TBA, e 600 nm a absorção de turbidez não específica. A segunda leitura foi subtraída da primeira para obtenção da leitura específica e a peroxidação de lipídios calculada através do

coeficiente de extinção molar de $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ e expressa em $\text{nmol MDA-TBA g}^{-1}$ de MS. (HEATH E PACHER, 1968, p.189).

Lipídios totais

Utilizou-se tubos de ensaio com massas aferidas, adicionando-se 50 mg do material liofilizado e 5 ml da mistura extratora, formada por clorofórmio (99,80%) e metanol (99,80%), na proporção de 2:1. Os tubos foram fechados e mantidos sob agitação constante, sobre mesa agitadora com movimentos orbitais a 45 rpm por 60 minutos seguida de centrifugação a 3.000 g por 30 minutos em temperatura ambiente. O sobrenadante com os lipídeos dissolvidos foi então descartado. A extração repetiu-se mais duas vezes, partindo do precipitado remanescente, sob as condições já descritas, com tempo de agitação de 30 minutos. O precipitado sem a presença de lipídeos foi mantido em estufa a $60 \text{ }^\circ\text{C}$ por 72 h para completa volatilização da mistura extratora, com pesagem a cada 24 horas até atingir massa constante. O teor de lipídeos totais foi determinado por gravimetria, em duas extrações independentes (BLIGH; DYER, 1959, p.911).

Fosfatase ácida

O material liofilizado foi macerado em almofariz em banho de gelo, utilizando tampão acetato de potássio 0,1M Ph 0,5, na proporção de 1:10 (p/v). Posteriormente, o material foi centrifugado a 10.000g por 15 min, a 4°C . O sobrenadante foi utilizado para determinação da atividade de fosfatase ácida. Para tanto, $50\mu\text{L}$ do extrato foi adicionado a uma mistura contendo $100\mu\text{L}$ do substrato p-nitrofenil fosfato 0,018M e $800\mu\text{L}$ do tampão acetato de potássio 0,1M, pH 5,0. Os tubos foram incubados a 30°C por 5 minutos. Posteriormente adicionou-se 1,0mL de hidróxido de sódio 0,5M e procedeu-se a leitura em espectrofotômetro a 400nm, após o branco (1,0ml da solução tampão e 2mL de água destilada). Os resultados foram expressos em unidades de absorbância a $400 \text{ nm min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ de sementes (MAIA, 2000, p.259). Todas as análises foram feitas em duplicatas.

Enzimas de proteção contra danos oxidativos:

Atividade da dismutase do superóxido

A atividade total da superóxido dismutase (SOD, E.C. 1.15.1.1) foi determinada pela medição da sua habilidade de redução fotoquímica do cloreto de tetrazolium nitroblue (NBT), conforme descrito por Giannopolitis e Ries (1977, p.309). A mistura de reação (1,5 mL)

contendo, tampão fosfato de potássio a 50 mM (pH 7,8), EDTA a 1 μ M, metionina a 13 mM, NBT a 75 μ M, riboflavina a 2 μ M e 50 μ l do extrato convenientemente diluído com tampão de extração. A riboflavina foi adicionada por último e os tubos agitados e deixados sob luz fluorescente de 20 W. A reação foi conduzida por 15 min, posteriormente os tubos foram mantidos em local escuro para evitar a entrada de luz. A absorbância da mistura de reação foi lida a 560 nm. Uma unidade de atividade (U) da SOD foi definida como a quantidade de enzima necessária para inibir 50% na taxa de fotorredução do NBT.

Atividade da catalase

A catalase (CAT, E.C. 1.11.1.6) teve sua atividade total medida de acordo com o método de Beers Jr. e Sizer (1952, p. 133), com algumas modificações. A mistura de reação (1,5 mL) consistiu de fosfato de potássio a 100 mM (pH 7,0), EDTA a 0,1 μ M, H₂O₂ a 20 mM e 150 μ L do extrato. A reação foi iniciada pela adição do extrato por meio de reação. A redução na concentração de H₂O₂ foi monitorada por leituras em absorbância de 240 nm, por 5 minutos, e quantificada por seu coeficiente de extinção molar (36 M⁻¹ cm⁻¹). Um controle com o meio de reação e o tampão de extração foi usado para correção da decomposição não enzimática do substrato.

Atividade da peroxidase do ascorbato

Para determinação da atividade total da peroxidase do ascorbato (APX, E.C. 1.11.1.1) foi utilizada a metodologia descrita por Nakano e Asada (1981). A mistura de reação (1,5 mL) foi composta de fosfato de potássio a 50 mM (pH 6,0), EDTA a 0,1 μ M, ascorbato a 0,5 mM, H₂O₂ a 1 mM e 100 μ L do extrato convenientemente diluído com tampão de extração. A reação foi iniciada pela adição de H₂O₂ e a oxidação do ascorbato foi medida pela leitura em absorbância de 290 nm por 1 min. após. A atividade enzimática foi quantificada usando o coeficiente de extinção molar do ascorbato (2,8 mM⁻¹ cm⁻¹), levando-se em consideração que dois moles de ascorbato são necessários para redução de 1 mol de H₂O₂ (MCKERSIE; LESHEM, 1994, p.256).

Atividade da peroxidase do guaiacol

A atividade peroxidase do guaiacol (GOPX, E.C. 1.11.1.7) foi determinada conforme descrito por Urbanek *et al.* (1991). Em uma mistura de reação (2 mL) contendo fosfato de potássio a 100 mM (pH 7,0), EDTA a 0,1 μ M, guaiacol a 5 mM, H₂O₂ a 15 mM e 10 μ L. A

reação iniciou-se pela adição do extrato ao meio de reação e o aumento na absorbância medida a 470 nm por 1 min. Determinou-se a atividade enzimática pela quantidade de tetraguaiacol formado, usando seu coeficiente de extinção molar ($26,6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), levando em consideração que 4 moles de H_2O_2 são necessários para a redução de 1 mol de tetraguaiacol (PLEWA *et.al.*, 1991, p.57).

Para a estimativa da atividade das enzimas antioxidantes cada extrato foi dosado em duplicata (repetição). A SOD expressa em UA g^{-1} MS, enquanto as atividades das CAT, APX e GOPX expressas em $\mu\text{mol g}^{-1}$ MS.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes de girassol submetidas ao pré e pós-tratamento com ácido ascórbico, tiveram teor inicial de umidade de 8,02 e 8,99%, enquanto que a testemunha e as sementes que foram apenas envelhecidas, tiveram teor de 5,41 e 8,71%, respectivamente. Considerando-se que o teor de água das sementes é, acima de tudo, função da umidade relativa do ar (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000, p.588), esse aumento das sementes, que passaram pelo processo de envelhecimento, pode ter sido resultado das condições e umidade elevada o que, devido as características higroscópicas das sementes, promoveu um aumento significativo em sua umidade interna. Esse aumento nos teores de umidade pode levar a mobilização das sementes e à liberação de energia através do processo de respiração, incentivando também a atividade de enzimas e de reguladores de crescimento. Contudo, essas consequências ocorrem quando o teor de água extrapola os limites de segurança, promovendo perdas de viabilidade e vigor (MARCOS FILHO, 2005, p.495).

Analisando a porcentagem de germinação, houve interação significativa entre os tratamentos e as embebições sendo a embebições com água (H_2O) e cloreto de sódio somado à ácido ascórbico ($\text{NaCl} + \text{AA}$), no tratamento controle, superiores aos demais.

Os resultados no tratamento controle foram estatisticamente superiores (83,55%) em comparação com os resultados das sementes que foram pré-tratadas com ácido ascórbico (66,55%) e pós-tratadas com ácido ascórbico, (64,16%) (Figura 5). O resultado do pré-tratamento com ácido ascórbico (AA) pode ser explicado pois o ácido ascórbico, de modo geral possui sua estabilidade reduzida em elevadas temperaturas, o que leva a perdas nos teores de vitamina C, apresentando-se em pequenas quantidades (FIORUCCI, 2002). Porém, os resultados em sementes pré-tratadas e pós-tratadas com ácido ascórbico foram ainda superiores aos resultados das sementes apenas envelhecidas (60,16%) (Figura 4). Como o teste de envelhecimento acelerado estabelece uma relação entre os processos de deterioração e os de

vigor, estes resultados são um indicativo de que as sementes pré-tratadas passam por uma sensível melhoria na qualidade fisiológica, em comparação com sementes apenas envelhecidas.

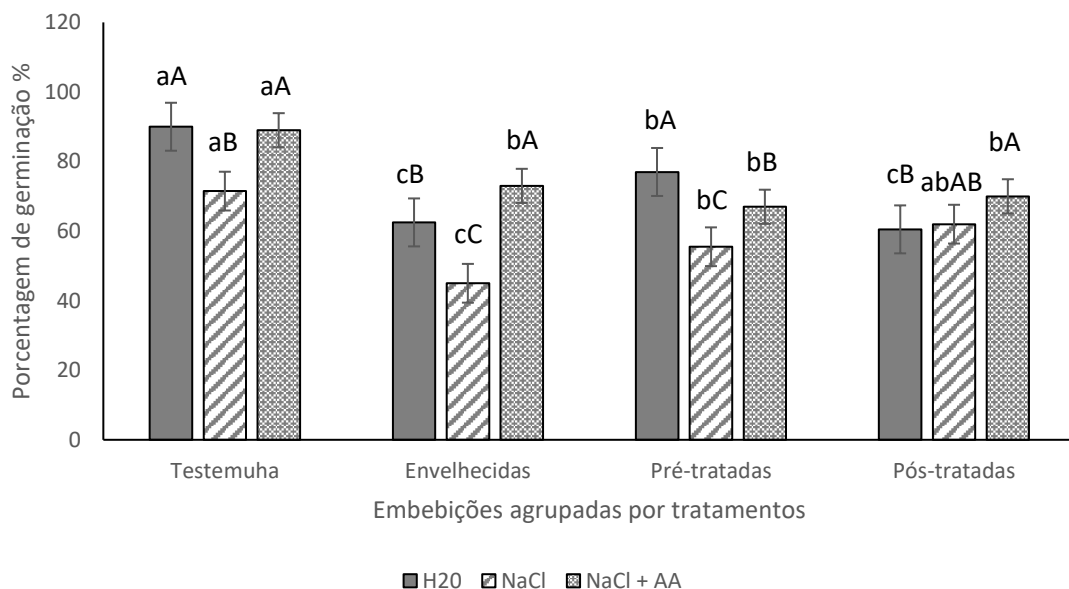
Para as embebições nas soluções testadas, a aplicação de AA na solução salina auxiliou no aumento do poder germinativo das sementes, não diferindo porem, da testemunha (Figura 5).

Tabela 4 – Análise de variância, para porcentagem de germinação.

Análise de variância (Anova)				
FV	GL	SQ	QM	F
F1	3	3086,33	1268,77	44,259**
F2	2	2480,66	1240,33	43,267**
Int F1 X F2	6	1120,66	180,77	6,515**
Tratamentos	11	7407,66	673,42	23,49**
Resíduo	36	1032,00	28,66	
Total	47	8439,66		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 < p < .05$); ns não significativo ($p > .05$).

Figura 1 - Porcentagem de germinação das sementes de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).



Em se tratando de sementes mortas, a interação significativa mostrou que sementes pré-tratadas com AA utilizando embebições em H₂O e em AA, foram superior as demais, exceto na testemunha embebida em solução de NaCl (Figura 6).

Na comparação entre os tratamentos testados, o envelhecimento acelerado teve 8,3% de suas sementes mortas, valor este estatisticamente semelhante ao encontrado nas sementes que passaram pelo pré-tratamento com AA, com 7,83% e da testemunha, com 6,83%. Indicando que o genótipo de sementes de girassol, BRS 122, apresenta considerável número de sementes mortas (Figura 6).

O pós-tratamento com ácido ascórbico propiciou menor índice de sementes mortas, com apenas 5% (Figura 6). Demonstrando que este tratamento pode manter as sementes viáveis por um maior tempo de uso, mesmo após serem expostas às condições adversas. Além disso, Dolatabadian e Modarres Sanavy (2008, p.61), citam que o tratamento de sementes oleaginosas com ácido ascórbico auxilia o potencial germinativo destas.

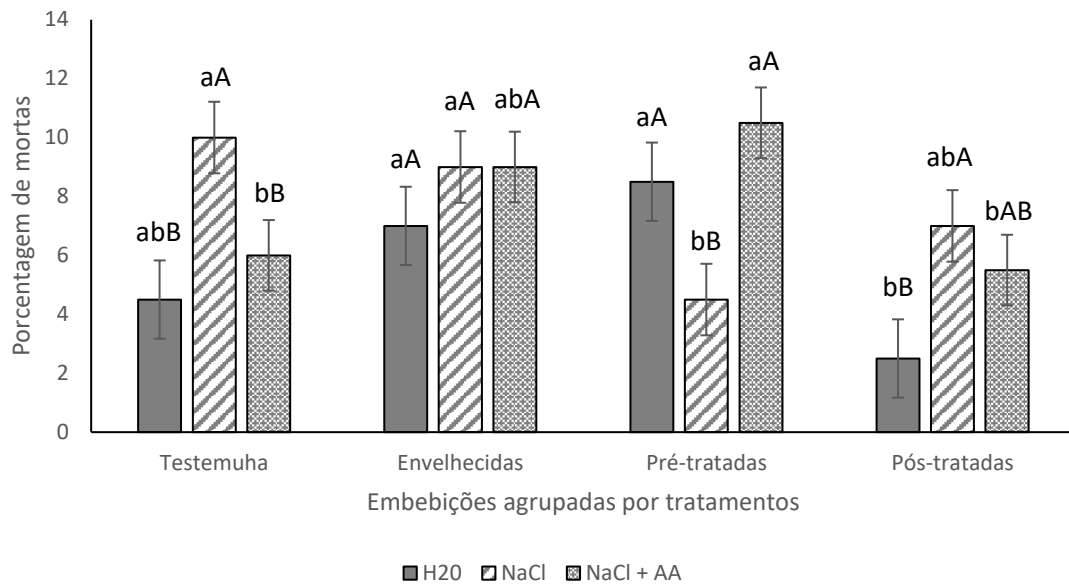
Na comparação das embebições, sementes expostas à solução de NaCl não diferiram estatisticamente das sementes expostas à junção de NaCl + AA, indicando que não foi satisfatório o uso deste antioxidante (Figura 6).

Tabela 5 – Análise de variância, para porcentagem de sementes mortas.

Análise de variância (Anova)				
FV	GL	SQ	QM	F
F1	3	78,00	26,00	5,032**
F2	2	45,50	22,75	4,403*
Int F1 X F2	6	146,50	24,41	4,725**
Tratamentos	11	270,00	24,54	4,750**
Resíduo	36	186,00	5,16	
Total	47	456,00		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 < p < .05$); ns não significativo ($p \geq .05$)

Figura 2 - Porcentagem de sementes mortas, girassol cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).



Maior número de inviáveis foi encontrado em sementes envelhecidas e embebidas em solução de NaCl, não sendo diferente das sementes que foram pós-tratadas com AA e embebidas em água (Figura 7).

Após a germinação, 15,75% das plântulas envelhecidas apresentam-se anormais ou inviáveis, maior índice entre os tratamentos. Já o pré e o pós-tratamento com ácido ascórbico, proporcionaram 12,83 e 15,41% de plântulas anormais. O tratamento controle teve o menor número de anormalidades, com apenas 4,83% (Figura 7).

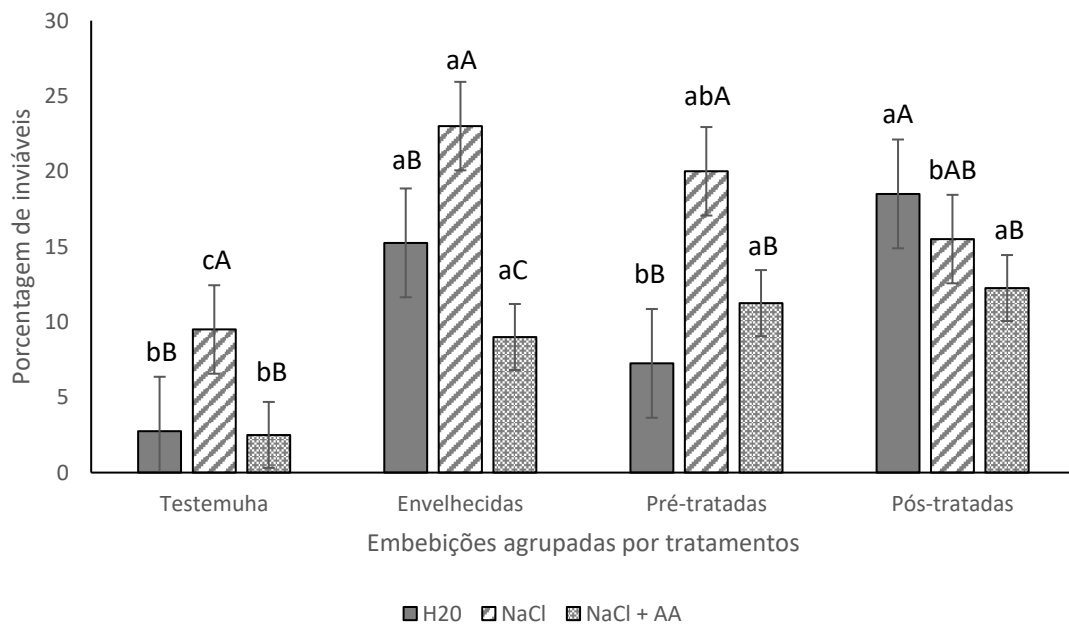
Plântulas de girassol, mesmo expostas aos tratamentos com ácido ascórbico, ainda encontraram dificuldades de se desenvolver corretamente devido, principalmente, a exposição à elevada temperatura e umidade. Sementes embebidas apenas em solução salina também tiveram um elevado número de plântulas anormais, bastante superior as demais embebições testadas (Figura 7).

Tabela 6 – Análise de variância, para plântulas inviáveis.

Análise de variância (Anova)				
FV	GL	SQ	QM	F
F1	3	913,416	310,472	46,66**
F2	2	575,041	287,520	43,21**
Int F1 X F2	6	353,958	58,993	8,86**
Tratamentos	11	1806,41	169,128	25,42**
Resíduo	36	239,50	6,652	
Total	47	2099,91		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 = < p < .05$); ns não significativo ($p >= .05$).

Figura 3- Porcentagem de sementes invíaveis, girassol cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).



Não houve diferença estatística na interação entre tratamentos e embebições testados para o índice de velocidade de germinação (IVG) (Tabela 7).

Comparando os tratamentos testados, não houve diferença estatística entre os tratamentos com sementes pré-tratadas (33,2) e pós-tratadas com AA (35,4), sendo estes semelhantes estatisticamente ao tratamento sementes envelhecidas (30,4). Todos estes resultados foram inferiores ao encontrado no controle (44,58). Sugerindo que a aplicação exógena de ácido ascórbico não ajudou na manutenção dessa variável sob condições de estresse.

Sementes expostas a solução salina também tiveram menor índice de velocidade de germinação, em comparação com a solução acrescida de ácido ascórbico que promoveu um maior, porém não tão significativo aumento no IVG.

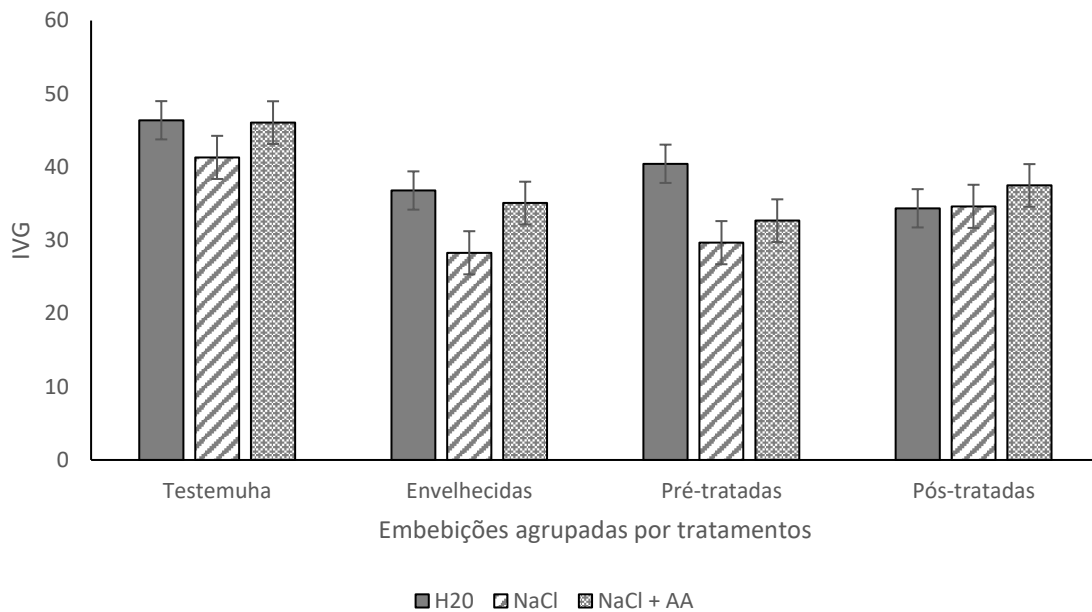
Resultados distintos ao deste trabalho foram encontrados por Pereira *et al.* (2012), onde o condicionamento por ácido ascórbico exógeno, favoreceu a emergência de germinação mantendo-se por até vinte dias. Dalberto *et al.* (2014, p.1982) trabalhando com sementes de trigo, constatou que aplicações exógenas de ácido ascórbico de 100 a 200mM foram prejudiciais para o índice de velocidade de germinação, já aplicações de 12,5 e 25mM foram promissoras. Maghsoudi (2010, p.7), também trabalhando com trigo, constatou que a aplicação exógena de ácido salicílico, um outro antioxidante, nas concentrações de 0,1mM e 0,5mM promoveram melhorias na velocidade de emergência das sementes no campo.

Tabela 7 – Análise de variância, para índice de velocidade de germinação (IVG).

Análise de variância (Anova)				
FV	GL	SQ	QM	F
F1	3	1348,73	449,57	11,87**
F2	2	372,82	186,41	4,924*
Int F1 X F2	6	353,46	58,91	1,556ns
Tratamentos	11	2075,02	188,63	4,983**
Resíduo	36	1362,62	37,850	
Total	47	3437,64		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$); ns não significativo ($p \geq .05$).

Figura 4 - Índice de velocidade de germinação (IVG) para sementes de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos.



Para o tempo médio de germinação, não houve diferença significativa entre os tratamentos testados (Tabela 8). Concordando com os resultados obtidos para o IVG de que a aplicação exógena de ácido ascórbico, principalmente como um pré-tratamento, pouco serviu para promover uma germinação em um curto período de tempo. Talvez pelo fato do próprio ácido ascórbico ter dificuldades de estabilidade quando exposto a temperaturas elevadas.

Oliveira e Gomes-filho (2009, p. 1)

Trabalhando com sementes de sorgo observaram efeito negativo, provocado pelo estresse salino, na primeira contagem de germinação, bem como no índice de velocidade de germinação e no tempo médio de germinação, verificando que o excesso de sais proporcionou uma redução significativa no vigor e velocidade de germinação das sementes de sorgo, principalmente naquelas do genótipo CSF 20.

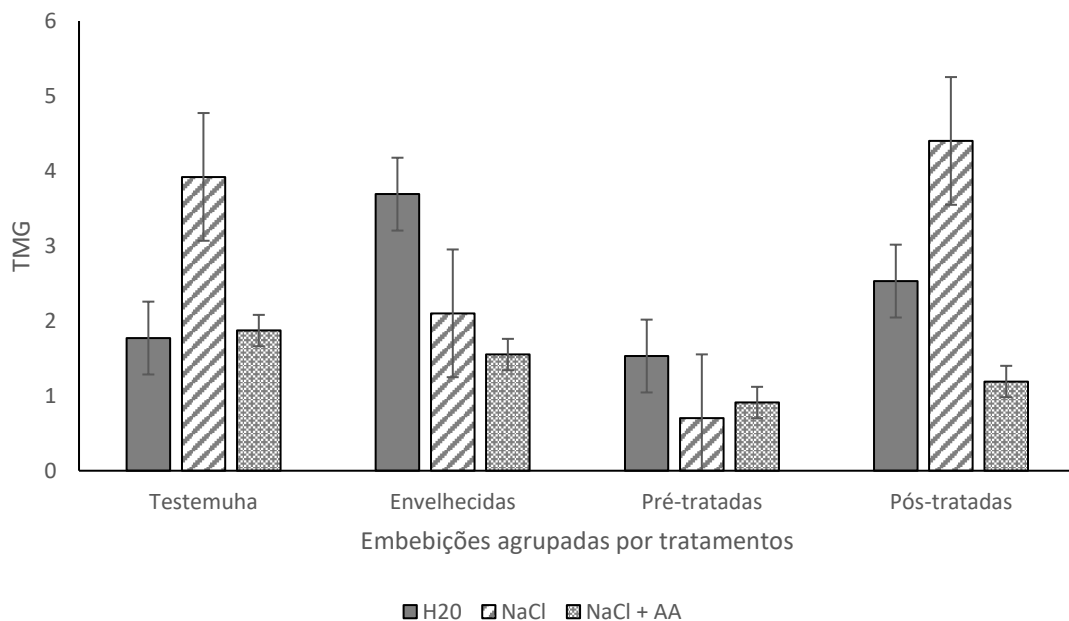
Sementes respondem negativamente quando semeadas em soluções salinas, observa-se inicialmente uma redução na absorção de água, que reduz a velocidade dos processos fisiológicos e bioquímicos (FLOWERS, 2004, p.307).

Tabela 8 – Análise de variância, para tempo médio de germinação (TMG)

Análise de variância (Anova)				
FV	GL	SQ	QM	F
F1	3	21,852	7,284	1,441ns
F2	2	18,422	9,211	1,822ns
Int F1 X F2	6	29,153	4,858	0,961ns
Tratamentos	11	69,428	6,331	1,248ns
Resíduo	36	181,95	5,054	
Total	47	251,38		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 = < p < .05$); ns não significativo ($p \geq .05$)

Figura 5 – Tempo médio de germinação (TMG) para sementes de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos.



No comprimento de raízes, a interação entre os tratamentos foi significativa, tanto no comprimento de raízes como no de parte aérea, estando o pós-tratamento somado as embebições em água e cloreto de sódio superior as demais.

A aplicação do ácido ascórbico após o período de envelhecimento torna-se satisfatória para atenuar os danos do envelhecimento acelerado. Para as variáveis de comprimento de raízes, o pós-tratamento com ácido ascórbico e a testemunha foram estatisticamente superiores aos demais (Figura 10).

Dalberto *et al.* (2014, p.1982), trabalhando com aplicação exógena de ácido ascórbico em sementes de trigo, não obtiveram diferenças significativas tanto no comprimento de raiz

como no de parte aérea. Tonel *et al.* (2011, p.41) também não encontraram diferenças significativas no comprimento de plântulas, utilizando ácido salicílico exógeno, em cultivares de milho híbrido.

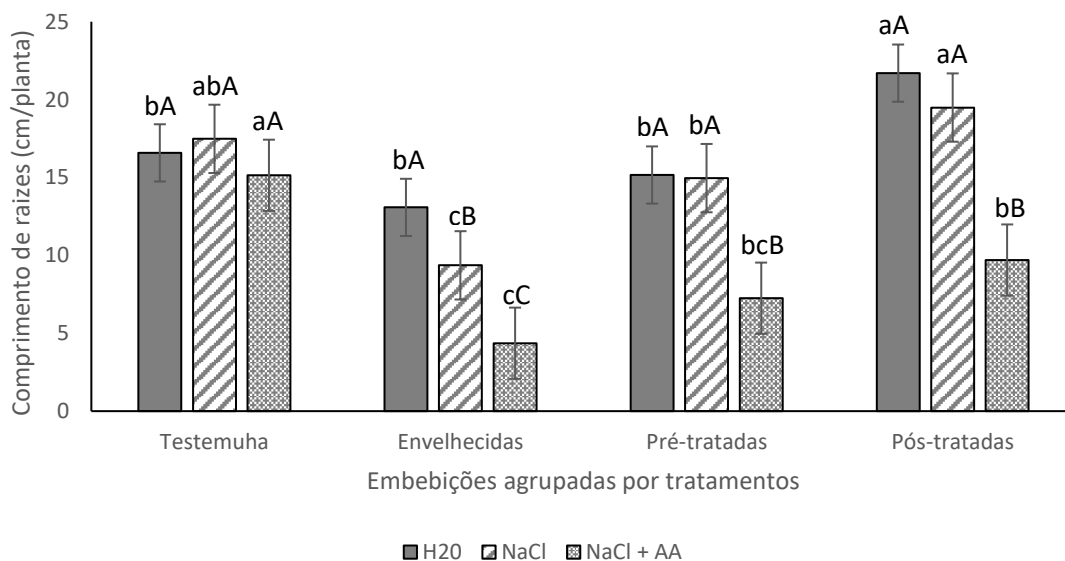
Maia *et al.* (2007, p.678) cita que o envelhecimento acelerado de sementes de trigo, a 41°C durante 24 e 48 horas, não promove modificações significativas, já a 45°C, durante vários períodos de exposição, torna-se letal. Umidades relativas elevadas associadas a altas temperaturas, existentes em câmaras de envelhecimento, tendem a acelerar o processo de deterioração das sementes reduzindo com isso a massa seca vegetal (ABBA; LOVATO, 1999, p.101).

Tabela 9 – Análise de variância, para comprimento de raiz

Análise de variância (Anova)				
FV	GL	SQ	QM	F
F1	3	495,153	165,051	39,589**
F2	2	505,149	252,574	60,582**
Int F1 X F2	6	137,395	22,8992	5,492**
Tratamentos	11	1137,69	103,427	24,808**
Resíduo	36	150,087	4,169	
Total	47	1287,78		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 = p < .05$); ns não significativo ($p \geq .05$)

Figura 6 – Comprimento de raízes de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05\%$).



Também houve interação significativa no comprimento de parte aérea de plântulas, sendo sementes embebidas com água superior em todos os tratamentos, exceto a testemunha. Maior destaque para o pós-tratamento que obteve também um ótimo resultado com a embebição em cloreto de sódio (Figura 11).

Na comparação entre tratamentos, o pré-tratamento foi semelhante ao pós-tratamento e os dois superiores aos demais. Nas embebições, as sementes tratadas apenas com água tiveram resultados mais promissores que as demais (Figura 11).

É interessante ressaltar que o potencial fisiológico de sementes é compreendido como a soma da capacidade germinativa e do vigor. Portanto, o uso de testes de vigor, que buscam respostas complementares às fornecidas pelo teste de germinação, pode possibilitar a obtenção de informações mais consistentes sobre o potencial fisiológico dos lotes de sementes (OHLSON *et al.*, 2010, p.118).

Carneiro *et al.* (2011, p.42), trabalhando com sementes de girassol, constataram que não houve efeito dos agentes osmóticos sobre a massa seca, tanto de raízes como de partes aéreas. Já Kaya *et al.* (2006, p.291) observaram que sementes de girassol, cultivar Sanbro, submetidas a diferentes potenciais osmóticos induzidos pelo NaCl, sofreram redução no comprimento da parte aérea e raízes.

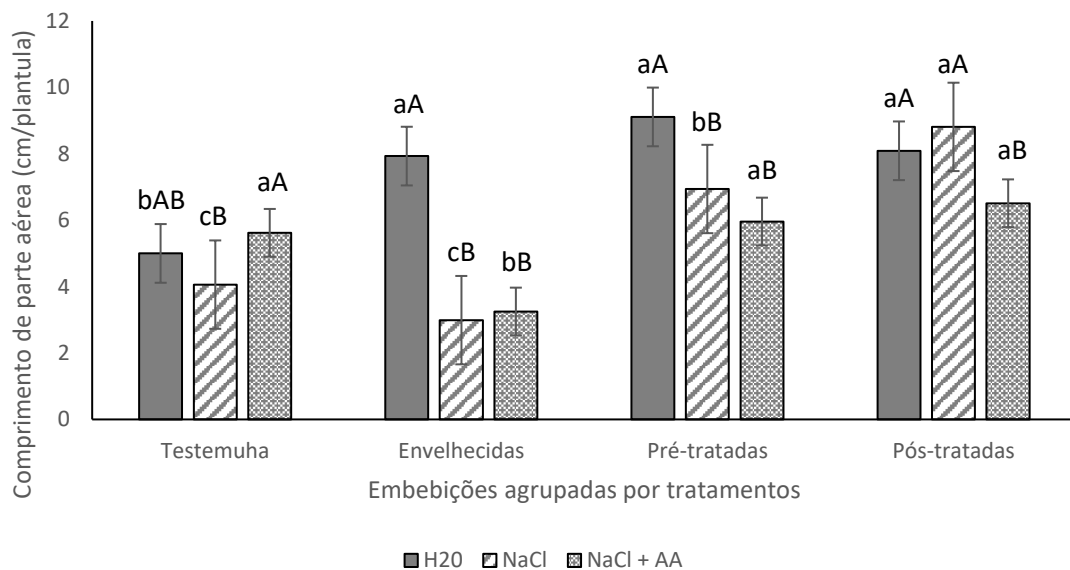
Estudos recentes relatam que a aplicação exógena de ácido ascórbico não atua apenas como um antioxidante, mas que desempenha uma interação na germinação com fitohormônios (YE *et al.*, 2012, p.1809), além de atuar como regulador do metabolismo de plantas e conseqüentemente envolve-se em processo de crescimento, ou seja, na embriogênese, durante o desenvolvimento de semente (RAZA *et al.*, 2013, p. 15). No entanto, há outras pesquisas demonstrando que o tratamento com altas doses de ácido ascórbico pode suprimir a germinação de sementes (ISHIBASCHI; IWAYAINOUE, 2006, p.172; TAKEMURA *et al.*, 2010, p.249). Ishibashi *et al.*, (2008, p.182) evidenciaram que o ácido ascórbico está contido na maturação de sementes de trigo, enquanto que não foi verificado ao final do seu desenvolvimento.

Tabela 10 – Análise de variância, para comprimento de parte aérea.

Análise de variância (Anova)				
FV	GL	SQ	QM	F
F1	3	93,047	31,015	70,565**
F2	2	44,345	22,176	50,446**
Int F1 X F2	6	54,228	9,038	20,560**
Tratamentos	11	191,621	17,420	39,633**
Resíduo	36	15,823	0,439	
Total	47	207,44		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 = < p < .05$); ns não significativo ($p >= .05$).

Figura 7– Comprimento de parte aérea de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).



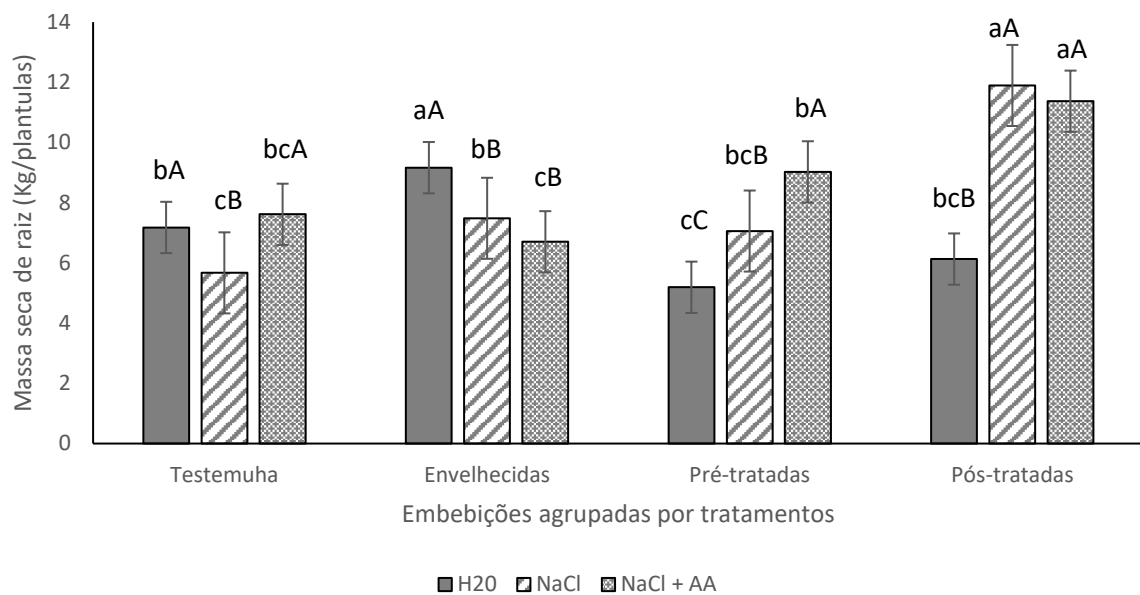
O pós-condicionamento, na massa seca de raízes, foi superior aos demais tratamentos considerando as embebições em NaCl e na mistura NaCl + AA. Indicativo que a aplicação exógena de ácido ascórbico, após o estresse proporcionado, é significativamente interessante tanto para minimizar os efeitos provocados pelo estresse oxidativo com para minimizar os efeitos provocados pelo estresse salino, em sementes de girassol (Figura 12).

Tabela 11 – Análise de variância, para massa seca de raiz

Análise de variância (Anova)				
FV	GL	SQ	QM	F
F1	3	65,236	21,745	31,537**
F2	2	25,407	12,703	18,424**
Int F1 X F2	6	106,353	17,725	25,707**
Tratamentos	11	196,997	17,908	25,973**
Resíduo	36	24,822	0,689	
Total	47	221,819		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 = < p < .05$); ns não significativo ($p \geq .05$).

Figura 8– Massa seca de raiz de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).



Na massa seca de parte aérea, o pós-condicionamento, mais uma vez, foi superior aos demais (Figura 13). Porém, aqui podemos analisar um melhor condicionamento apenas para o estresse salino, pois os resultados indicam que não ocorreu interação significativa para os tratamentos testados. (Tabela 12).

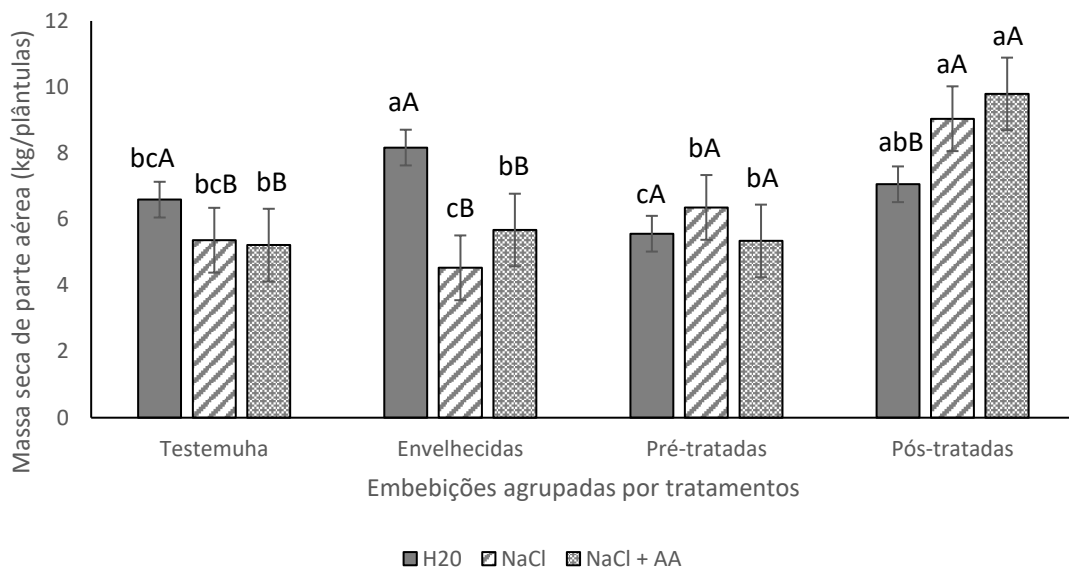
Mwete *et al.* (2003, p.199), afirmaram que a utilização com solução de PEG 8000 A - 0,06MPa, favoreceu a germinação de sementes de girassol e a emergência das plântulas, porém não influenciou nos resultados de massa seca.

Tabela 12 – Análise de variância, para massa seca de parte aérea.

Análise de variância (Anova)				
FV	GL	SQ	QM	F
F1	3	69,355	23,118	45,907**
F2	2	2,217	1,108	2,201ns
Int F1 X F2	6	47,960	7,993	15,873**
Tratamentos	11	119,533	10,866	21,578**
Resíduo	36	18,129	0,503	
Total	47	137,662		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 = < p < .05$); ns não significativo ($p \geq .05$).

Figura 9– Massa seca de parte aérea de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).



Na quantidade de lipídios totais, o pré e o pós-tratamento com AA promoveram ganhos de 23,6 e 21,1% em parte aérea, e ganhos de 28,3 e 15,2% em raiz, em comparação com o envelhecimento acelerado (Figuras 14 e 15). Indicando que o envelhecimento acelerado, na temperatura de 41°C, foi promissor em causar danos significativos ao principal componente utilizado para manutenção do crescimento do eixo embrionário desta espécie e que os tratamentos com ácido ascórbico podem atenuar os efeitos destes danos.

Para as embebições, apenas em lipídios de parte aérea houve diferença significativa, sendo a solução de cloreto de sódio com ácido ascórbico superior as demais (Figura 14 e 15)

A concentração de lipídios, em sementes de girassol, costuma se dar nos cotilédones, tendo entre 22 e 36% do seu peso de massa seca constituído por lipídios (1967). Apesar disso, existe uma considerável quantidade de lipídios no eixo embrionário, e que, através dos glioxissomos, são convertidas em carboidratos por meio das enzimas do ciclo do glioxalato (TAIZ; ZEIGER, 2004, p.719).

Resultados similares ao deste trabalho foram encontrados por Corte *et al.* (2010), trabalhando com sementes de *Melanoxylon brauna*, onde houve redução dos teores de lipídios no eixo embrionário, quando estas sementes foram acondicionadas pelo envelhecimento artificial por 72 horas. Freitas *et al.* (2006, p.67)

Trabalhando com sementes de algodão relatam que o teor de lipídios decresceu com o aumento do período de envelhecimento artificial das sementes. Estes resultados podem ser explicados pela oxidação de lipídios presentes nas sementes, proporcionado pelo processo de deterioração.

Resultados similares ao deste trabalho foram encontrados por Alencar e Gomes Filho (2014), em sementes de pinhão-manso sob condições de estresse salino, onde teores de lipídios apresentaram retardo em sua mobilização.

Tabela 13 – Análise de variância, para lipídios totais de parte aérea.

Análise de variância (Anova)				
FV	GL	SQ	QM	F
F1	3	215428,58406	71809,52802	3,4376 *
F2	2	440519,57591	220259,7879	10,5440 **
Int F1 X F2	6	2656306,24425	442717,7073	21,1932 **
Tratamentos	11	3312254,40422	301114,03675	14,4145 **
Resíduo	36	752027,40684	20889,65019	
Total	47	4064281,81105		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$); ns não significativo ($p \geq .05$).

Figura 10– Lipídios totais em parte aérea de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

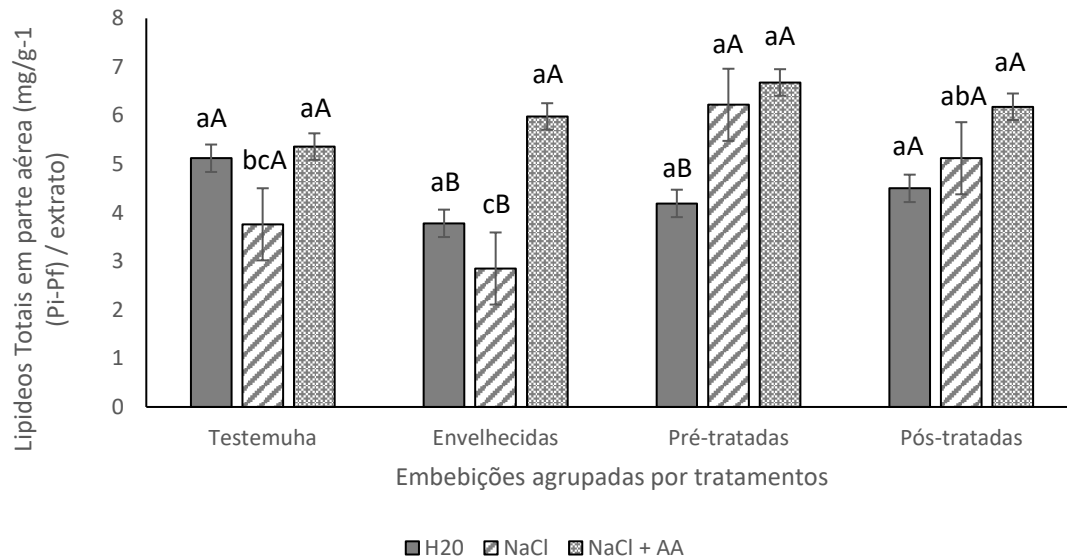


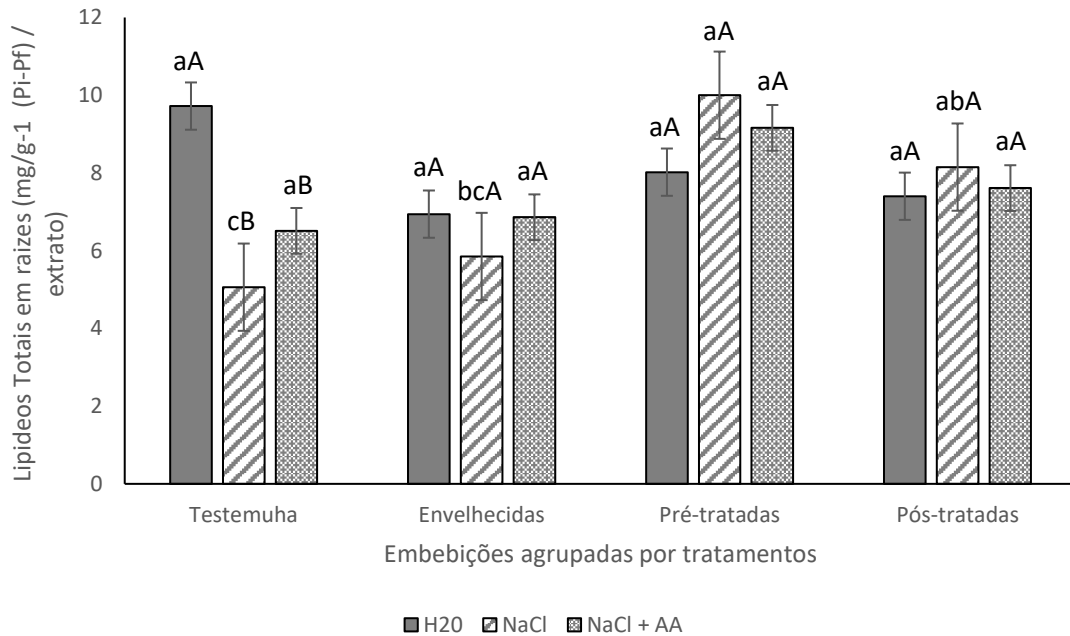
Tabela 14 – Análise de variância, para lipídios totais de raiz.

Análise de variância (Anova)

FV	GL	SQ	QM	F
F1	3	13,27503	4,42501	4,5200 **
F2	2	22,75655	11,37827	11,6226 **
Int F1 X F2	6	16,41667	2,73611	2,7949 *
Tratamentos	11	52,44825	4,76802	4,8704 **
Resíduo	36	35,24308	0,97897	
Total	47	87,69133		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 = p < .05$); ns não significativo ($p \geq .05$).

Figura 11– Lipídios totais em raízes de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).



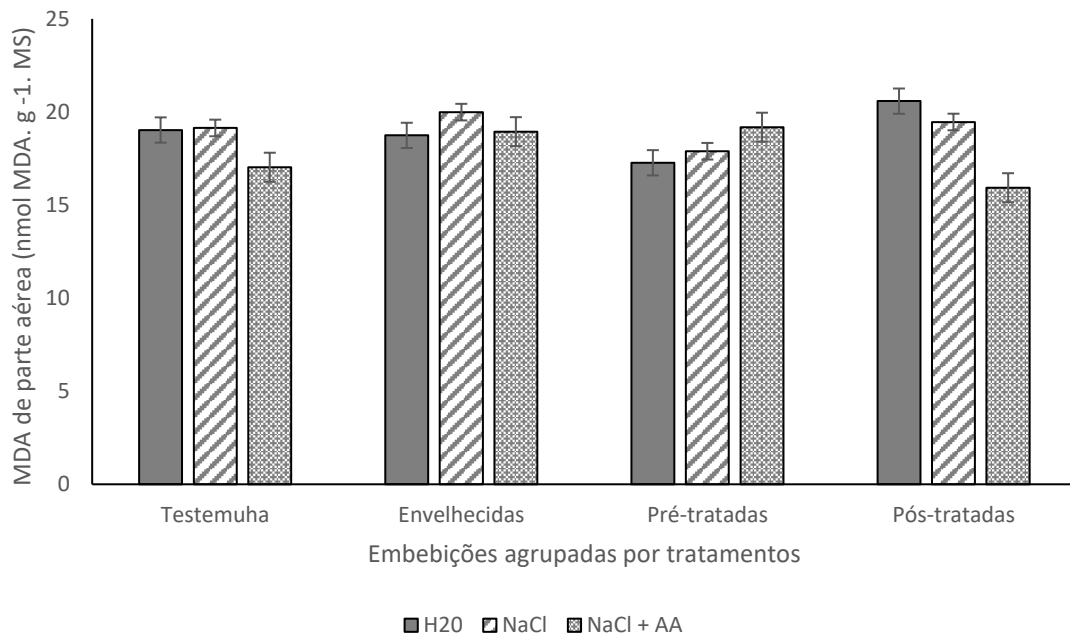
A concentração de malondialdeídos (MDA), um subproduto da peroxidação dos lipídios, se relaciona com os danos oxidativos nas membranas (PINHEIRO *et al.* 2004, p.1307). Não houve interação significativa para os teores de MDA em parte aérea. Os tratamentos e as embebições também foram não significativos para este parâmetro (Tabela 15).

Tabela 15 – Análise de variância, para Malonialdeídos (MDA) de parte aérea

Análise de variância (Anova)				
FV	GL	SQ	QM	F
F1	3	7,60968	2,53656	0,1016 ns
F2	2	18,37012	9,18506	0,3679 ns
Int F1 X F2	6	53,59081	8,93180	0,3578 ns
Tratamentos	11	79,57061	7,23369	0,2897 *
Resíduo	36	898,78952	24,96638	
Total	47	978,36013		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$); ns não significativo ($p \geq .05$).

Figura 12— Malonaldeídos (MDA) em parte aérea de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos.



Também não houve interação significativa para os teores de MDA em raízes de plântulas de girassol, cultivar BRS 122 (Tabela 16). Na comparação entre os tratamentos testados, raízes de plântulas submetidas ao envelhecimento acelerado e pré-condicionamento com ácido ascórbico obtiveram valores superiores aos demais (Figura 16).

Sabe-se que sementes acondicionadas em solução de ácido ascórbico, no que diz respeito a menor peroxidação de lipídios, representada pelos teores de MDA, têm sido atribuídas à atividade antioxidante e também a conversão de lipídios a carboidratos, promovido através do aumento da concentração interna de ácido ascórbico além da atividade dos antioxidantes enzimáticos (KHAN; PANDA, 2008, p.81).

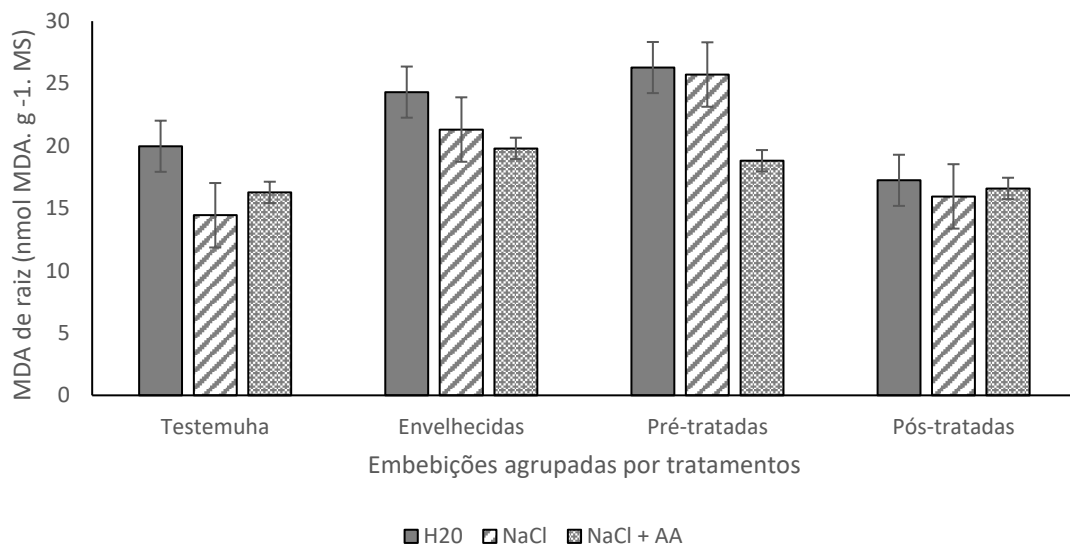
Jose *et al.* (2010), trabalhando com sementes de girassol armazenadas, relatam que o envelhecimento acelerado de sementes de girassol, com 23% de teor de água, induziu tanto a perda da viabilidade como o acúmulo de MDA. De maneira geral, os resultados mostram que houve aumento na formação MDA, através da peroxidação de lipídios, o que caracteriza danos as membranas celulares pelo acúmulo excessivo de EROs, levando as plântulas a não resistirem aos potenciais danos oxidativos causados pela exposição ao envelhecimento (KHAN; PANDA, 2008, p.81). Este comportamento explica a redução na germinação e no crescimento de sementes e plântulas de girassol BRS 122, acondicionadas aos tratamentos citados.

Tabela 16 – Análise de variância, para Malonaldeídos (MDA) de raiz.

Análise de variância (Anova)				
FV	GL	SQ	QM	F
F1	3	446,39879	148,79960	9,9075 **
F2	2	136,59693	68,29847	4,5475 *
Int F1 X F2	6	110,93042	18,48840	1,2310 ns
Tratamentos	11	693,92614	63,08419	4,2003 **
Resíduo	36	540,67752	15,01882	
Total	47	1234,60366		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 = < p < .05$); ns não significativo ($p \geq .05$).

Figura 13– Malonaldeídos (MDA) em raízes de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos.



A fosfatase ácida é uma hidrolase que participa da reação de hidrólise de ésteres, podendo atuar sobre fosfolipídios de membrana, provocando a peroxidação destes (SPINOLA *et al.* 2000, p.263). Esta enzima está envolvida também na manutenção do fosfato celular e sua atividade pode afetar o metabolismo do fosfato em sementes, como os níveis de ATP e nucleotídeos (CAMARGO *et al.* 2000, p.113). A atividade da fosfatase ácida neste experimento, na parte aérea de plântulas de girassol, todos os tratamentos que foram posteriormente embebidos em solução de AA obtiveram resultados superiores aos demais, exceto sementes envelhecidas e embebidas em H₂O, e sementes pós-tratadas do ácido ascórbico e embebidas em NaCl que foram estatisticamente similares. (Figura 18).

Em muitos casos, o incremento de atividades enzimáticas são características comuns em condicionamento osmótico, alterações nas atividades de certas enzimas, como a fosfatase ácida,

pode sugerir que a mobilização de material de reserva sirva para justificar o aumento da germinação e do vigor de sementes. Isso pode ser uma explicação para os resultados obtidos em parte aérea, nos tratamentos com ácido ascórbico.

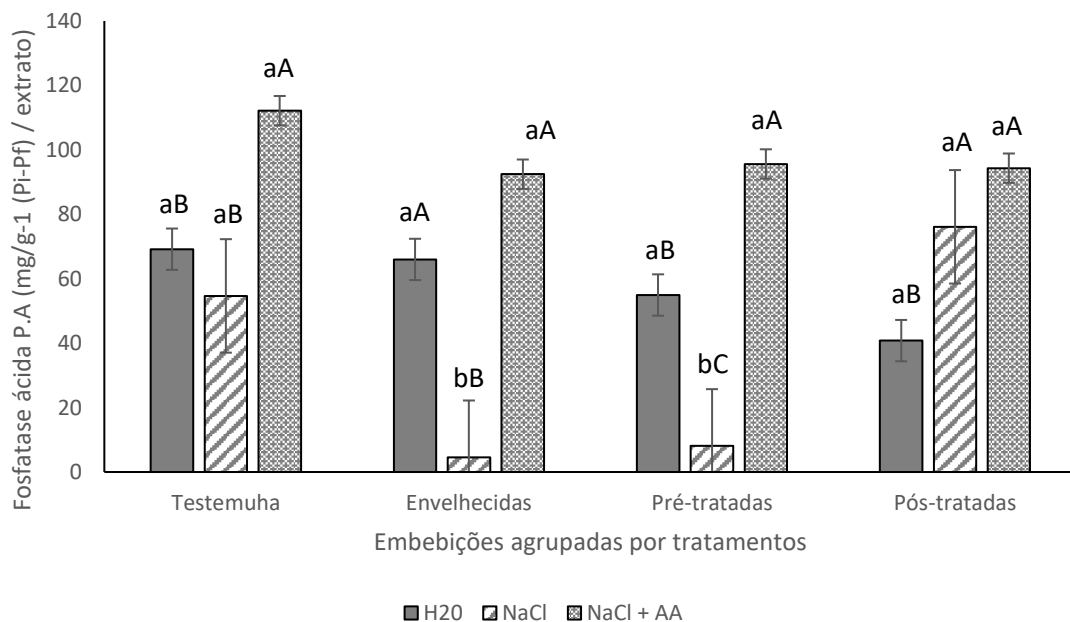
Em se tratando dos teores de fosfatase ácida esta atua sobre fosfolipídios de membrana, provocando a peroxidação destes (SPINOLA *et al.* 2000, p.263), o acúmulo de EROs provocado pelo estresse salino ativa esta enzima e desestrutura ácidos graxos polinsaturados dos fosfolipídios (HALLIWELL; GUTTERIDGER, 1989, p.543).

Tabela 17 – Análise de variância, para fosfatase ácida de parte aérea.

Análise de variância (Anova)				
FV	GL	SQ	QM	F
F1	3	5673,21189	1891,07063	5,3820 **
F2	2	32479,80540	16239,90270	46,2186 **
Int F1 X F2	6	12182,87153	2030,47859	5,7787 **
Tratamentos	11	50335,88883	4575,98989	13,0232 **
Resíduo	36	12649,37670	351,37157	
Total	47	62985,26553		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 = < p < .05$); ns não significativo ($p \geq .05$).

Figura 14 – Fosfatase ácida em parte aérea de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúscula, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).



Para as raízes, sementes envelhecidas e embebidas em cloreto de sódio tiveram os maiores índices de atividade da fosfatase ácida (Figura 19). Os tratamentos com ácido ascórbico exógeno, em raízes, não auxiliaram na menor ativação dessas enzimas, em plântulas sob condições estressantes.

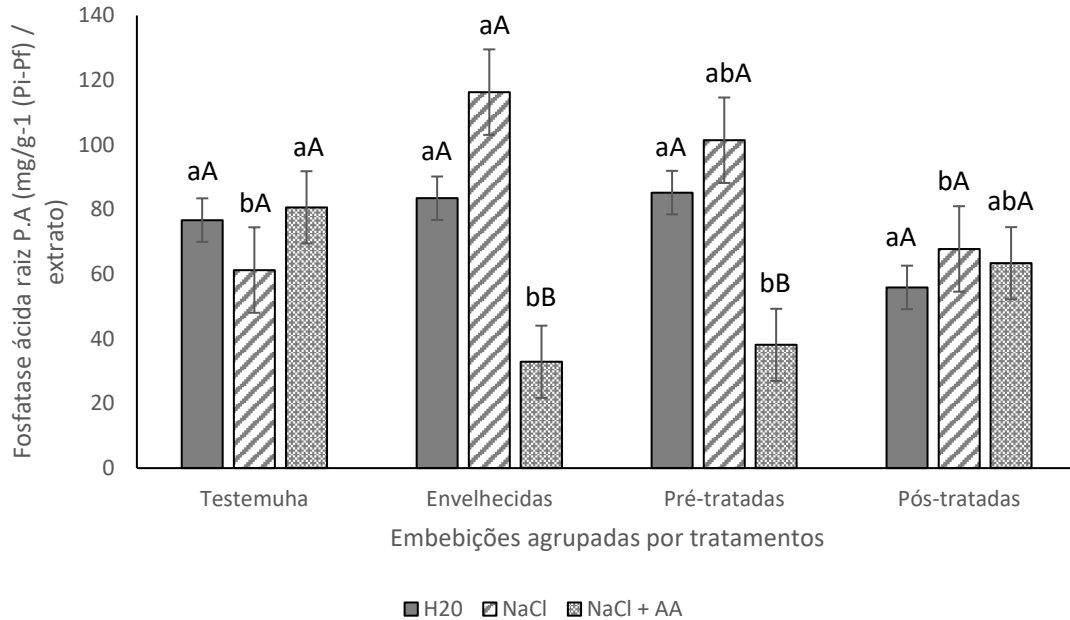
A oxidação de ácidos graxos insaturados é citada, muitas vezes, como a primeira reação no processo de envelhecimento, produzindo radicais livres que, subsequentemente, atacam lipídios, proteínas e ácidos nucleicos, com reações em cadeia (HARRINGTON, 1973, p.251). Diversos pesquisadores têm associado a redução da capacidade germinativa e do vigor das sementes submetidas ao envelhecimento acelerado com a oxidação dos lipídios e redução na síntese de determinadas proteínas, levando ao decréscimo nos teores de fosfolipídios presentes nas membranas celulares (POWELL; MATTHEWS, 1979, p.193; STEWART; BEWLEY, 1980, p.245; PRIESTLEY; LEOPOLD, 1983, p.467; DELL'AQUILA, 1994, p.293).

Tabela 18 – Análise de variância, para fosfatase ácida de raiz.

Análise de variância (Anova)				
FV	GL	SQ	QM	F
F1	3	1599.08676	533.02892	1.1283 ns
F2	2	8958.15527	4479.07763	9.4810 **
Int F1 X F2	6	14954.92127	2492.48688	5.2759 **
Tratamentos	11	25512.16329	2319.28757	4.9093 **
Resíduo	36	17007.27690	472.42436	
Total	47	42519.44019		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 < p < .05$); ns não significativo ($p >= .05$).

Figura 15– Fosfatase ácida em raiz de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).



O estresse oxidativo provocado pelo envelhecimento acelerado ocasionou mudanças, também, na quantidade de açúcares presentes nas sementes de girassol. Os teores de carboidratos solúveis de raiz, foram significativamente inferiores no tratamento sementes envelhecidas em comparação com o controle, o pré e pós-tratamento com AA (Figuras 20). O pós-tratamento com AA na embebição de H₂O, e o pré-tratamento com AA na embebição de NaCl, tiveram os melhores resultados. Sendo estes, satisfatório na atenuação dos teores de carboidratos de raízes tanto para o estresse oxidativo como para o salino.

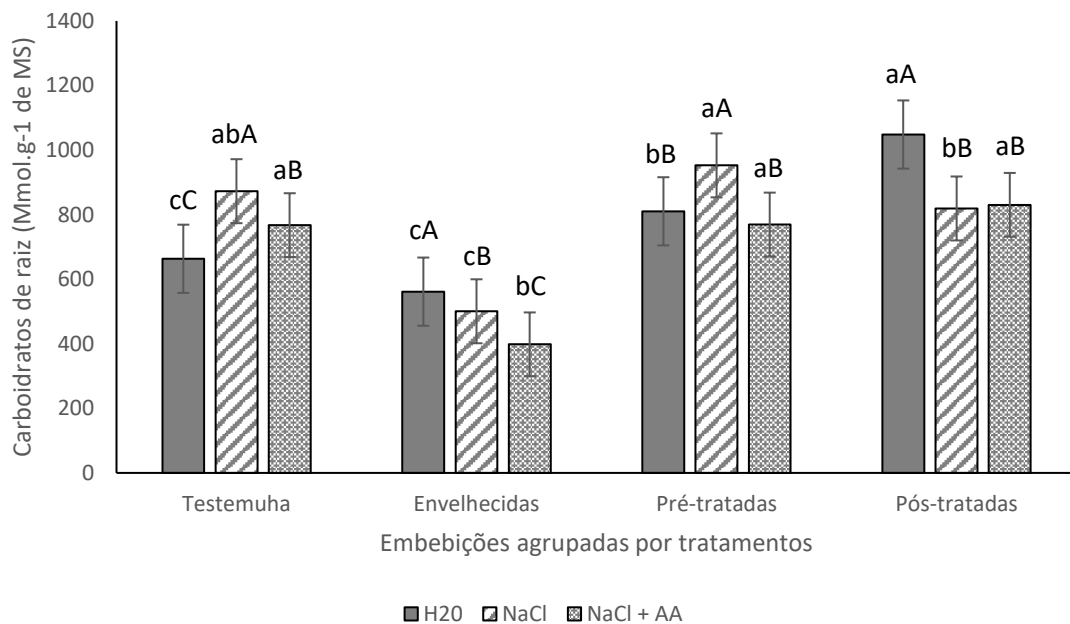
Dados obtidos neste trabalho estão de acordo com a explicação de Pastori e Foyer (2002, p.460) de que as EROs geradas pelos estresses oxidativos provocam danos nas macromoléculas biológicas, tais como carboidratos e proteínas. Uma outra observação a ser analisada é sobre o ponto de compensação da temperatura, o envelhecimento acelerado submete as sementes a temperaturas acima deste ponto o que promove o aumento da atividade respiratória, e como consequência as reservas de carboidratos diminuem (PASTORI E FOYER, 2002, p.460).

Tabela 19 – Análise de variância, para Carboidratos totais de raiz.

Análise de variância (Anova)				
FV	GL	SQ	QM	F
F1	3	244954,9	81651,6	151,2618 **
F2	2	27512,8	13756,4	25,4841 **
Int F1 X F2	6	76005,4	12667,5	23,4670 **
Tratamentos	11	348473,1	31679,3	58,6869 **
Resíduo	36	19432,9	539,8	
Total	47	367906,1		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 = < p < .05$); ns não significativo ($p \geq .05$).

Figura 16– Carboidratos de raízes, plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).



Os teores de carboidratos na parte aérea foram similares aos encontrados nas raízes. Para parte aérea, todas as embebições que foram precedidas do pré e pós-tratamento com ácido ascórbico, obtiveram resultados estatisticamente satisfatórios em comparação com os demais (Figura 21).

Henning *et al.* (2010, p.55), encontraram resultados similares, trabalhando com sementes de soja que foram submetidas ao envelhecimento acelerado, constatando que o conteúdo de açúcares foi maior em sementes mais vigorosas. Resultados similares aos deste trabalho também foram obtidos por Sinício *et al.* (2009, p.667) que citam perda na viabilidade

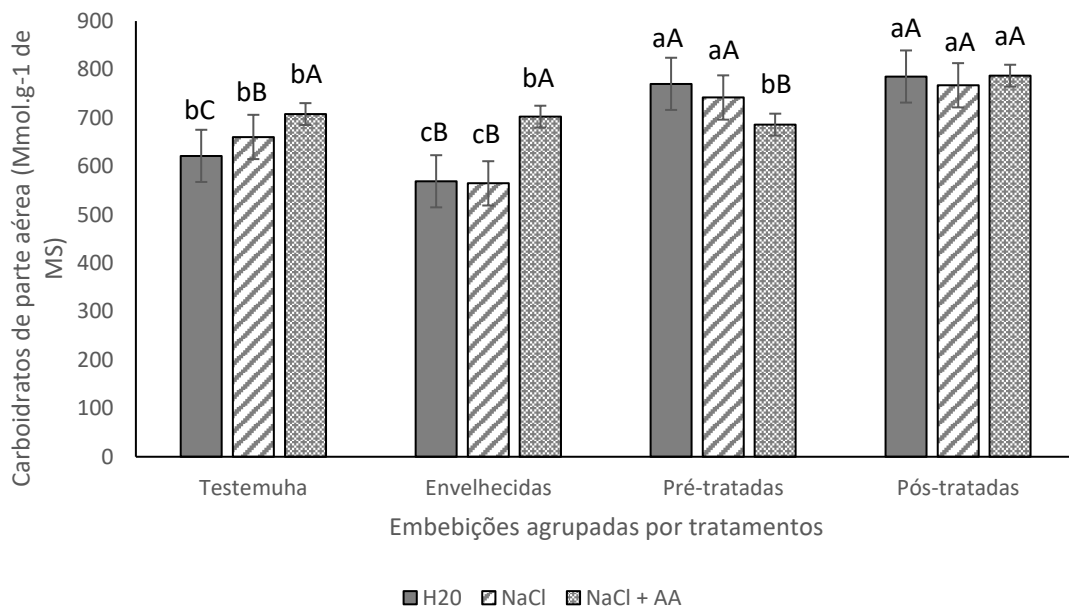
e no vigor de sementes de soja, armazenadas durante 210 dias a 25°C, pela redução nos teores de carboidratos e proteínas.

Tabela 20 – Análise de variância, para Carboidratos totais de parte aérea.

Análise de variância (Anova)				
FV	GL	SQ	QM	F
F1	3	788970,3	262990,1	148,90 **
F2	2	55434,7	27717,3	15,69 **
Int F1 X F2	6	263169,0	43861,5	24,83 **
Tratamentos	11	1107574,1	100688,5	57,01 **
Resíduo	36	63580,1	1766,1	
Total	47	1171154,3		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 = p < .05$); ns não significativo ($p \geq .05$).

Figura 17– Carboidratos de parte aérea, plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).



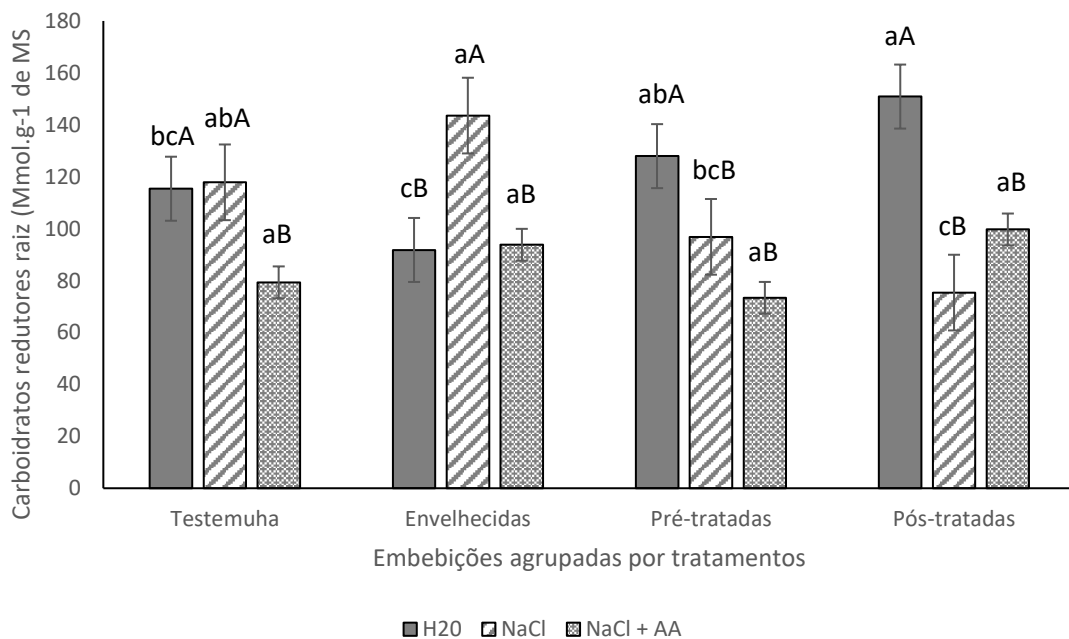
O teor de carboidratos redutores em raízes, não obteve significância quando apenas os tratamentos foram comparados. Indicando que apenas o estresse salino foi diferenciado entre os tratamentos testados. Sementes pós-tratadas com ácido ascórbico embebidas em solução com água, obtiveram maiores teores de carboidratos redutores de raízes (Figura 22).

Tabela 21 – Análise de variância, para Carboidratos redutores de raiz.

Análise de variância (Anova)				
FV	GL	SQ	QM	F
F1	3	836,25	278,75	0,926 ns
F2	2	10002,73	5001,36	16,629 **
Int F1 X F2	6	18738,58	3123,09	10,384 **
Tratamentos	11	29577,58	2688,87	8,9405 **
Resíduo	36	10827,02	300,75	
Total	47	40404,60		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 = < p < .05$); ns não significativo ($p \geq .05$).

Figura 18– Carboidratos redutores de raiz, plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).



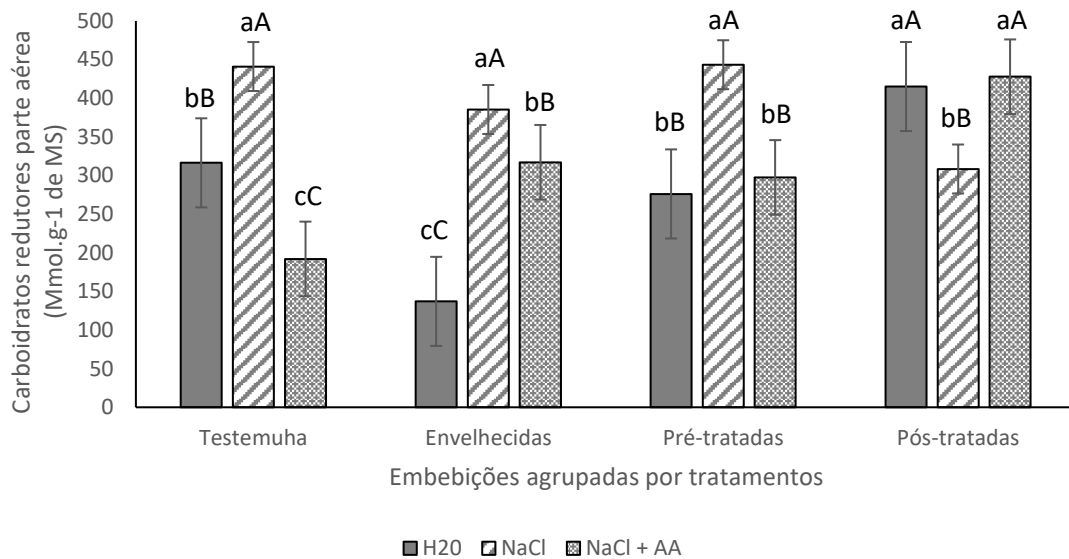
Níveis de carboidratos redutores em parte aérea foram maiores quando utilizamos nos tratamentos que foram acondicionados em solução salina, exceto pelo pós-tratamento, neste, sementes que foram posteriormente acondicionadas em H₂O ou solução de NaCl + AA, tiveram resultados similares aos demais citados (Figura 23).

Tabela 22 – Análise de variância, para Carboidratos redutores de parte aérea.

Análise de variância (Anova)				
FV	GL	SQ	QM	F
F1	3	75000,43	25000,14	20,24 **
F2	2	109913,68	54956,84	44,51 **
Int F1 X F2	6	239853,62	39975,60	32,37 **
Tratamentos	11	424767,74	38615,24	31,27 **
Resíduo	36	44445,65	1234,60	
Total	47	469213,39		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 = < p < .05$); ns não significativo ($p \geq .05$).

Figura 19- Carboidratos redutores de parte aérea, plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).



Os carboidratos e os lipídios servem como fonte de energia e carbono para a germinação das sementes e o desenvolvimento das plântulas, enquanto que as proteínas têm como função armazenar nitrogênio e enxofre, essenciais para a síntese de proteínas e compostos secundários para a plântula em crescimento (CORTE *et al.*, 2010, p.32). Os teores de proteínas em raízes de plântulas de girassol, indicam que não houve diferença significativa entre os tratamentos citados, apenas o controle, em parte aérea, foi estatisticamente inferior aos demais tratamentos.

Na interação entre tratamentos e embebições, mais uma vez o pós-tratamento seguido da embebição em água foi satisfatório. Na testemunha, sementes envelhecidas e pré-tratadas acondicionadas à embebições em NaCl e NaCl + AA foram similares ao primeiro (Figura 24).

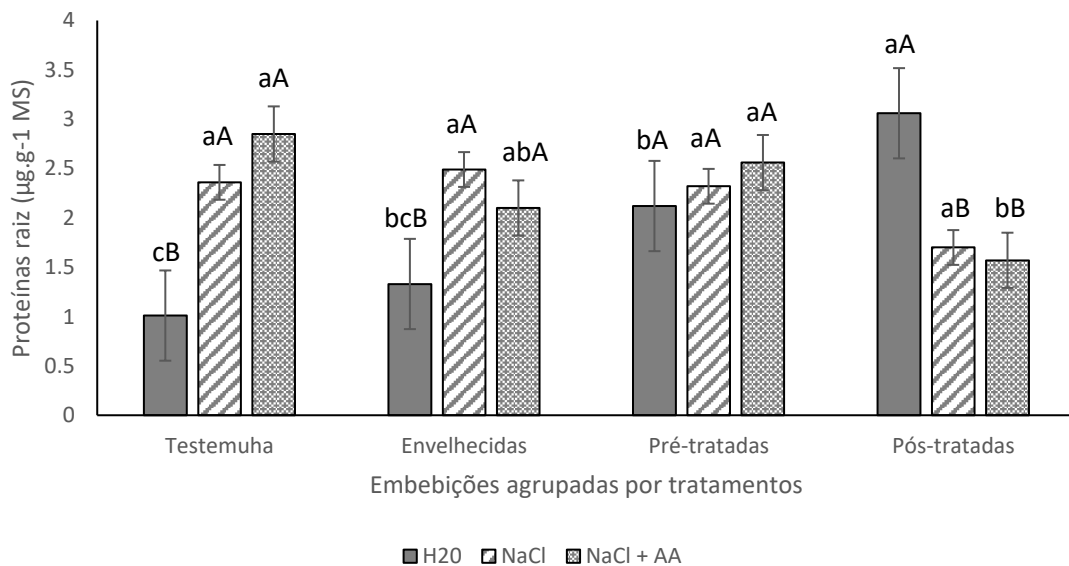
Segundo Abdul-Baki (1980, p.765), o primeiro evento bioquímico verificado quando as sementes são expostas a condições desfavoráveis de ambiente é o dano à síntese de proteínas. Válquez *et al.* (1991) citam que o envelhecimento acelerado provoca alterações metabólicas durante o processo germinativo incluindo a síntese de proteínas e ácidos nucleicos.

Tabela 23 – Análise de variância, para Proteínas totais de raiz.

Análise de variância (Anova)				
FV	GL	SQ	QM	F
F1	3	0,00830	0,00277	1,4176 ns
F2	2	0,01437	0,00719	3,6815 *
Int F1 X F2	6	0,14426	0,02404	12,3176 **
Tratamentos	11	0,16693	0,01518	7,7746 **
Resíduo	36	0,07027	0,00195	
Total	47	0,23720		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 = p < .05$); ns não significativo ($p \geq .05$).

Figura 20– Proteínas totais em raízes de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).



Os níveis de proteínas em parte aérea de plântulas de girassol, foram superiores em todos os tratamentos que foram acondicionados em solução de NaCl + AA. Destaque também para os tratamentos sementes envelhecidas e pré-tratadas, quando estes receberam embebição com H₂O, e para o pós-tratamento com embebição em NaCl (Tabela 25). No geral, percebe-se que

foi satisfatório o uso de ácido ascórbico para minimizar os efeitos danosos das condições de estresse, tanto de proteínas presentes nas raízes quando de presentes em parte aérea.

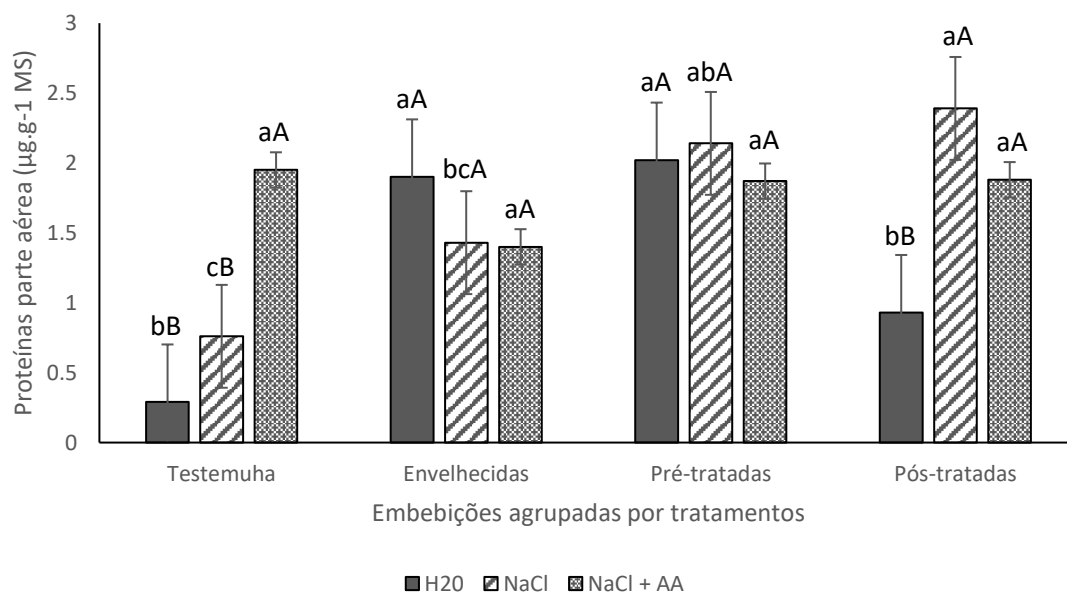
A síntese de proteínas no geral, não foi afetada pelos estresses testados. Quando cultivados sob estresse, os vegetais podem desenvolver mecanismos bioquímicos de tolerância, um deles é o acúmulo ou degradação de solutos osmóticos. Beltrão e Oliveira (2007, p.61), trabalhando com sementes de algodão, citam que a degradação de proteínas também permite a reciclagem dos aminoácidos totais, permitindo que haja uma elevação em seus níveis.

Tabela 24 – Análise de variância, para Proteínas totais de parte aérea.

Análise de variância (Anova)				
FV	GL	SQ	QM	F
F1	3	0.06542	0.02181	12.1227 **
F2	2	0.02162	0.01081	6.0091 **
Int F1 X F2	6	0.08784	0.01464	8.1384 **
Tratamentos	11	0.17489	0.01590	8.8379 **
Resíduo	36	0.06476	0.00180	
Total	47	0.23965		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 = p < .05$); ns não significativo ($p \geq .05$).

Figura 21– Proteínas totais em parte aérea de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).



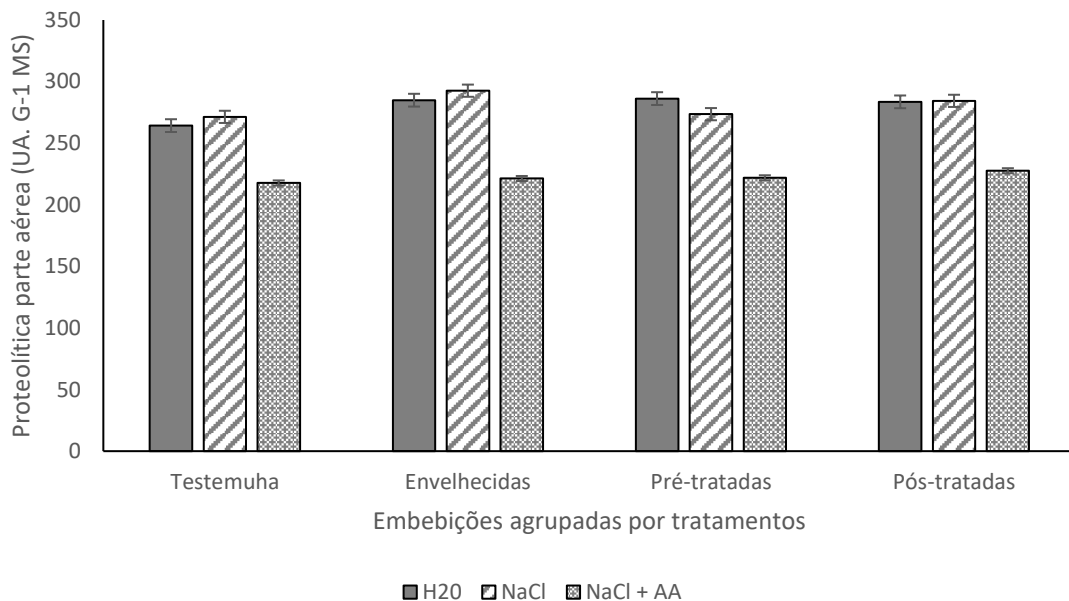
Para a atividade da enzima protease, a responsável pela quebra das ligações peptídicas dos aminoácidos presentes nas proteínas, não houve, em parte aérea, diferença significativa entre os tratamentos citados e nem nas interações tratamentos embebições (Figura 26).

Tabela 25 – Análise de variância, para atividade proteolítica (protease) de parte aérea

Análise de variância (Anova)				
FV	GL	SQ	QM	F
F1	3	1716,71409	572,23803	2,3924 ns
F2	2	35829,88478	17914,94239	74,8969 **
Int F1 X F2	6	949,48627	158,24771	0,6616 ns
Tratamentos	11	38496,08514	3499,64410	14,6309 **
Resíduo	36	8611,00565	239,19460	
Total	47	47107,09079		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 = p < .05$); ns não significativo ($p \geq .05$).

Figura 22– Atividade proteolítica em parte aérea de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos.



Em raízes, não houve significância entre as embebições e as interações de tratamentos com embebições (Figura 27). Mostrando que esta enzima pouco se presenciou ativa podendo estar relacionada com a presença de inibidores desta enzima e com funções fisiológicas das sementes. Conforme Ryan (1973, p.173), inibidores presentes em sementes de muitas espécies podem agir como proteínas de reserva, como reguladores de enzimas endógenas ou como agentes de defesa contra insetos e microorganismos.

Apesar de que, Segundo Levitt (1980, p.25), o NaCl é responsável pelo aumento da proteólise e diminuição de síntese de proteínas. O ácido ascórbico, como antioxidante, pode ter

agido na diminuição da ativação dessas enzimas aumentando assim, os níveis de proteínas presentes.

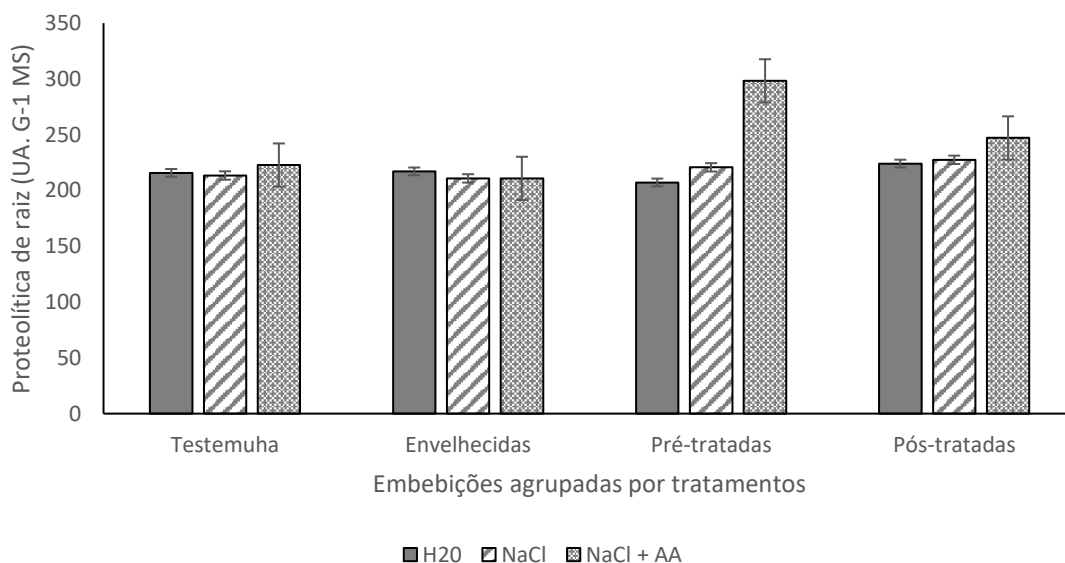
Resultados distintos aos deste trabalho foram encontrados por Basavarajapa *et al.* (1991, p.279) trabalhando com sementes de milho, submetidas ao envelhecimento acelerado, verificaram um substancial aumento na atividade da protease durante o período de envelhecimento. Perl *et al.* (1978, p.497) também observaram aumento na atividade da protease em sementes de milho submetidas ao envelhecimento acelerado.

Tabela 26 - Análise de variância, para atividade proteolítica (protease) de raiz.

Análise de variância (Anova)				
FV	GL	SQ	QM	F
F1	3	9412,1325	3137,3775	3,6024 *
F2	2	5495,5297	2747,7648	3,1551 ns
Int F1 X F2	6	11594,0919	1932,3438	2,2188 ns
Tratamentos	11	26501,7542	2409,2503	2,7664 *
Resíduo	36	31352,6921	870,9081	
Total	47	57854,4464		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 = p < .05$); ns não significativo ($p \geq .05$).

Figura 23– Atividade proteolítica em raízes de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).



A quantificação de N-aminossolúveis, em parte aérea, foi maior no tratamento sementes envelhecidas embebidas em solução de H₂O e NaCl, assim como no pós-tratamento com ácido

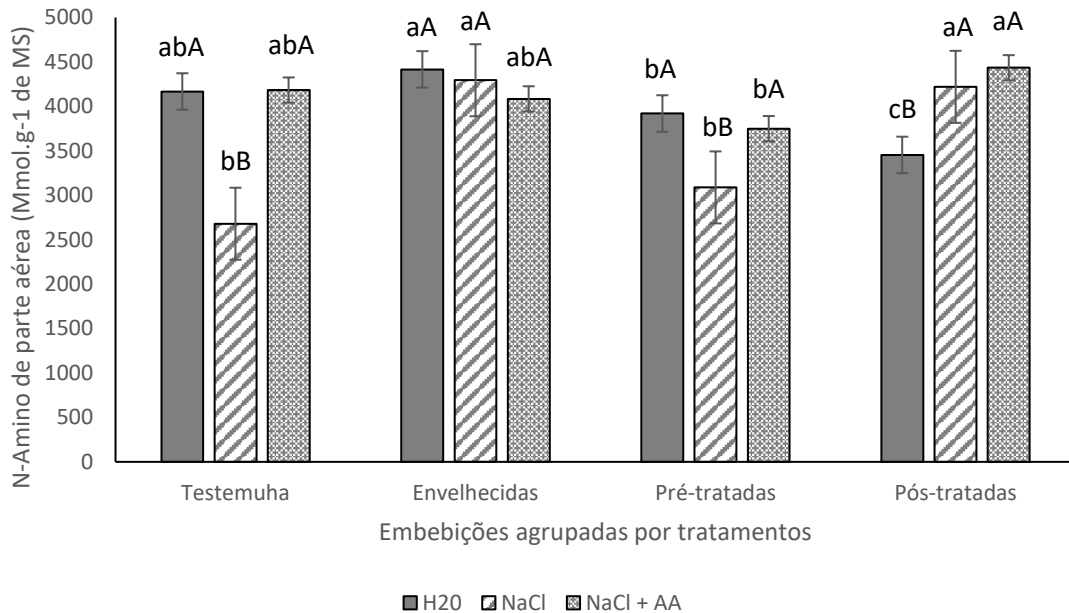
ascórbico, nas embebições de NaCl e na mistura de NaCl + AA. Já o pré-condicionamento com AA, levou a menor exposição de teores de N-aminossolúveis. (Tabela 28). Os valores de N-aminossolúveis em sementes envelhecidas se correlacionaram diretamente com os de proteínas totais encontrados (Figura 25). Verifica-se que sementes em condições adversas de umidade e temperatura têm uma maior perda de constituintes celulares, causadas em detrimento, principalmente, da integridade das membranas celulares. O excesso de N-aminossolúveis pode funcionar como um dreno para o excesso de nitrogênio devido a redução do crescimento (Figura 11) (GILBERTO *et al.*, 1998, p.107). Estes compostos podem também funcionar como fonte de carbono e nitrogênio (HANSON; HITZ, 1982, p.163). O pre-tratamentos com AA não promoveram aumento nos teores de N-aminossolúveis e portanto, podem ser um indicativo de que a aplicação exógena deste constituinte em sementes de girassol podem auxiliar na manutenção do vigor das sementes.

Tabela 27 – Análise de variância, para N-amino solúveis de parte aérea.

Análise de variância (Anova)				
FV	GL	SQ	QM	F
F1	3	4029940,40977	1343313,46992	24,0732 **
F2	2	2635614,51242	1317807,25621	23,6161 **
Int F1 X F2	6	7130208,97362	1188368,16227	21,2964 **
Tratamentos	11	13795763,89581	1254160,35416	22,4755 **
Resíduo	36	2008846,67255	55801,29646	
Total	47	15804610,56836		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 < p < .05$); ns não significativo ($p >= .05$).

Figura 24 – N-Amino em parte aérea de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).



Os teores de N-amino solúveis na interação entre tratamentos e embebições, nas raízes foi não significativo (Tabela 29). Logo, não houve diferença quando comparado tais componentes. Porém, quando analisado separadamente os tratamentos testemunha e sementes envelhecidas foram estatisticamente superiores aos tratamentos que levaram ácido ascórbico. Já as embebições, analisadas separadamente, a embebição em H₂O foi superior aos demais (Figura 29).

Eichelberger *et al.* (2002, p.693) trabalhando com azavém, citam que a qualidade fisiológica de sementes se correlacionam de forma negativa com o teor de aminoácidos solúveis. Sob condições de estresse, plântulas de amendoim tiveram sua concentração de aminoácidos livres aumentada em torno de 150% (GRACIANO *et al.*, 2009). Já Alizaga *et al.* (1990, p.44), ao estudar lixiviação de aminoácidos em sementes de feijão, conseguiram separar amostras segundo sua qualidade fisiológica, classificando-as em diferentes níveis de vigor.

O estresse salino tende a promover o acúmulo de solutos orgânicos como o N-aminossolúveis (TESTER; DAVENPORT, 2003, p.503), apesar disso, a salinidade pouco afetou esta variável neste trabalho. Um indicativo forte da tolerância desta cultivar aos níveis de salinidade são encontrados neste experimento. Ashraf e Tufail, (1995, p.351), trabalhando com girassol expostos a salinidade, confirmaram tolerância nos teores de N-aminossolúveis em raízes. Lacerda *et al.*, (2009, p.221) comentam que existem diversas estratégias que podem ser

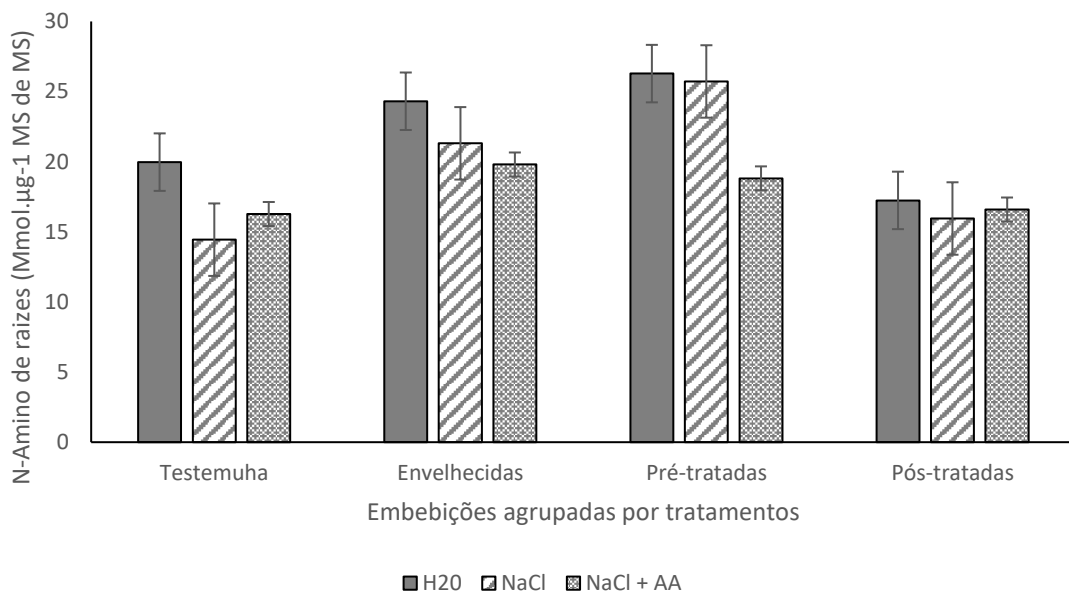
usadas para minimizar o impacto negativo do estresse salino, entre elas uma é a escola de cultivares tolerantes.

Tabela 28 – Análise de variância, para N-amino solúveis de raiz.

Análise de variância (Anova)				
FV	GL	SQ	QM	F
F1	3	1834616,60253	611538,86751	10,2987 **
F2	2	934484,07195	467242,03598	7,8686 **
Int F1 X F2	6	643290,46294	107215,07716	1,8056 ns
Tratamentos	11	3412391,13742	310217,37613	5,2242 **
Resíduo	36	2137697,17745	59380,47715	
Total	47	5550088,31487		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 = p < .05$); ns não significativo ($p \geq .05$).

Figura 25– N-amino em raízes de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos.



A prolina é um aminoácido que está intimamente relacionado com condições de estresse, pois as plantas acumulam solutos não tóxicos. Estes solutos variam entre as espécies de plantas podendo ser açúcares simples, açúcares álcoois (glicerol e inositol metilados), açúcares complexos (trealose, rafinose, frutanas) (BOHNERT; JENSEN, 1996, p.89), compostos quaternários de amônios derivados de aminoácidos (glicina betaína, analina betaína, prolina betaína), entre outros. Os níveis de prolina, em parte aérea, neste experimento mostram que o tratamento com sementes envelhecidas e embebição em cloreto de sódio, promoveu um maior acúmulo, em comparação com os tratamentos com ácido ascórbico,

(Figura 30). Em condições de estresse, ocorre a biossíntese de prolina a partir de carboidratos via alfa-cetoglutarato, enquanto que o seu declínio, após o desaparecimento do estresse, se dá rapidamente devido a oxidação ou incorporação em proteínas (HANSON *et al.*, 1977, 720).

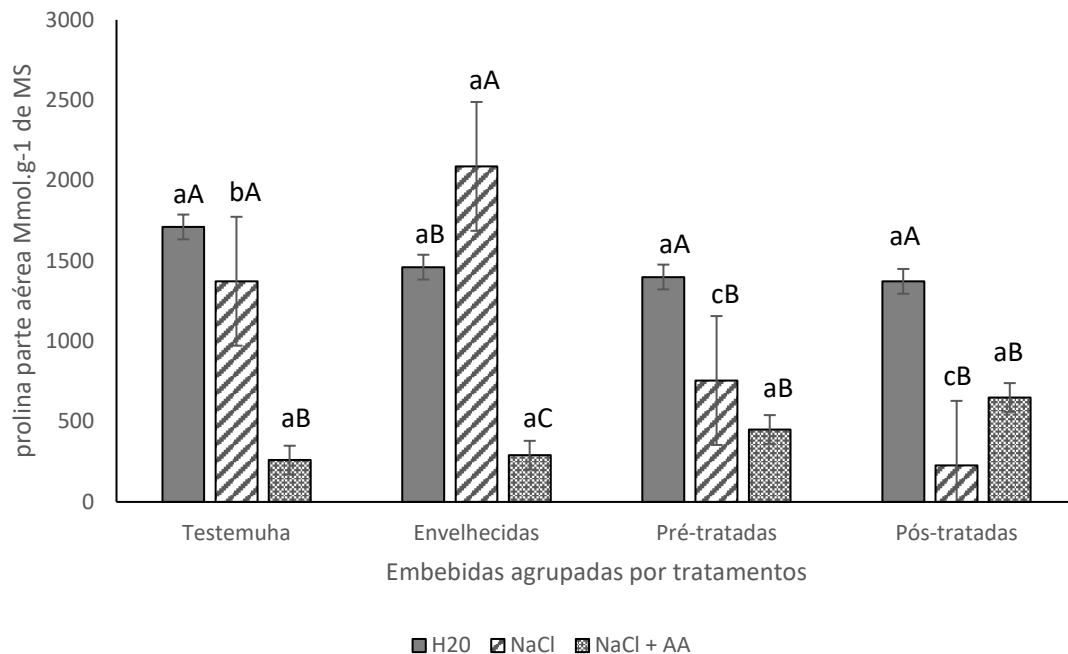
Resultados distintos ao deste trabalho foram encontrados por Silva *et al.* (2009, p.473), trabalhando com sementes de pinhão-manso, observaram aumento significativo dos teores de prolina nas folhas de plântulas que passaram pelo condicionamento osmótico. Bosco *et al.* (2010), trabalhando com sementes de sorgo, também encontraram maiores teores de prolina nos tratamentos que apresentaram maiores tolerância ao envelhecimento acelerado. Alves *et al.* (2004, p.119) trabalhando com sementes de milho constataram que a partir de 144 horas de envelhecimento acelerado houve diferença significativa para com a testemunha nos teores de prolina.

Tabela 29 – Análise de variância, para Prolina de parte aérea.

Análise de variância (Anova)				
FV	GL	SQ	QM	F
F1	3	2054275,63582	684758,54527	7,8685 **
F2	2	9490012,92753	4745006,46377	54,5246 **
Int F1 X F2	6	6333595,00369	1055599,16728	12,1298 **
Tratamentos	11	17877883,56704	1625262,14246	18,6758 **
Resíduo	36	3132900,22624	87025,00628	
Total	47	21010783,79328		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 = p < .05$); ns não significativo ($p \geq .05$).

Figura 26 – Prolina em parte aérea de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).



Na região das raízes, os tratamentos sementes envelhecidas embebidas em NaCl, juntamente com os tratamentos testemunha embebidas em NaCl, as pre-condicionadas em AA embebidas em NaCl e NaCl + AA, assim como o pros-tratamento com ácido ascórbico embebida em H₂O, obtiveram os maiores teores de prolina (Figura 31). Sementes de girassol, na cultivar analisada, o acúmulo de prolina se deu tanto na parte aérea como nas raízes, sugerindo que os teores de prolina contribuem para o ajustamento osmótico, em parte aérea e das raízes, o que foi observado também por outros autores (LACERDA *et al.* 2001, p.270; ASHRAF; HARRIS, 2004, p.3).

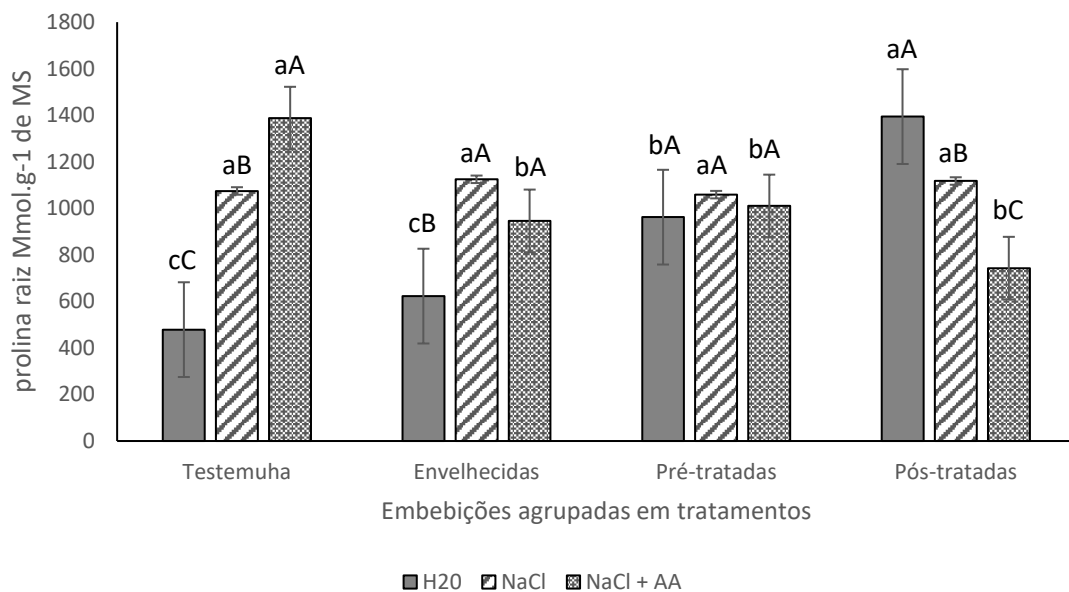
Um dos conhecidos efeitos da salinidade em plantas, tanto halófitas como glicófitas, é o acúmulo de prolina livre (GIRUSSE *et al.*, 1996, p.109). Segundo Chu *et al.* (1976, p.219), este fato seria consequência da redução do potencial osmótico da célula, o que não foi observado na parte aéreas das plântulas analisadas neste experimento. Mais um indicativo da tolerância desta cultivar aos teores de salinidade aplicados.

Tabela 30 – Análise de variância, para Prolina de raiz.

Análise de variância (Anova)				
FV	GL	SQ	QM	F
F1	3	215428,58406	71809,52802	3,4376 *
F2	2	440519,57591	220259,78795	10,5440 **
Int F1 X F2	6	2656306,24425	442717,70737	21,1932 **
Tratamentos	11	3312254,40422	301114,03675	14,4145 **
Resíduo	36	752027,40684	20889,65019	
Total	47	4064281,81105		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 = < p < .05$); ns não significativo ($p \geq .05$).

Figura 27– Prolina em raízes de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).



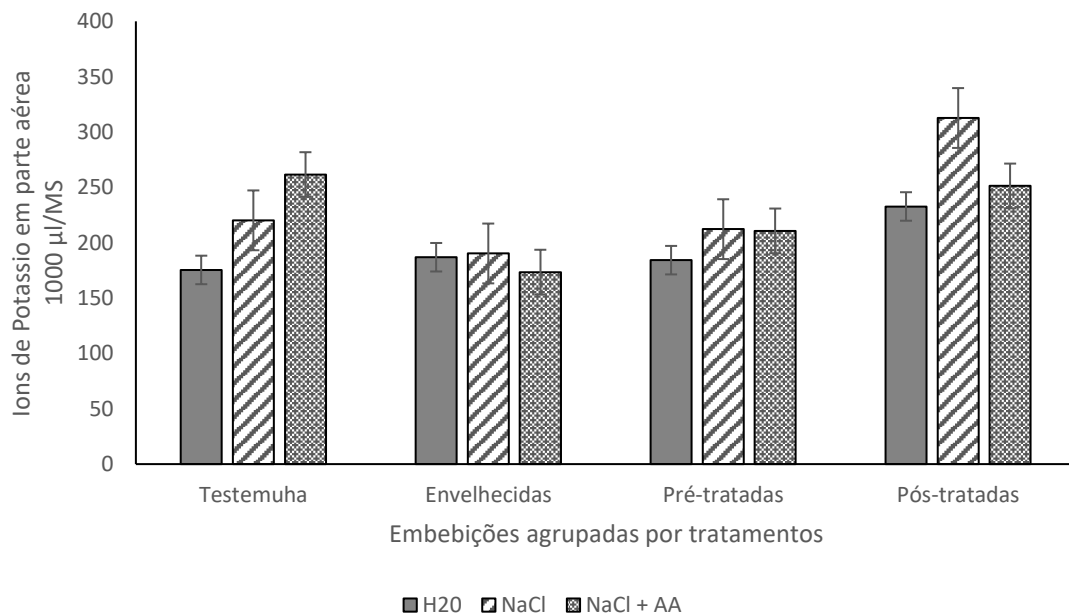
A quantificação de íons de potássio em parte aérea de plântulas de girassol, submetidas aos tratamentos e as embebições citadas não demonstrou diferença significativa entre as interações analisadas (Tabela 32).

Tabela 31 – Análise de variância, para íons de potássio da parte aérea.

Análise de variância (Anova)				
FV	GL	SQ	QM	F
F1	3	44332,66901	14777,55634	3,7407 *
F2	2	13239,53839	6619,76919	1,6757 ns
Int F1 X F2	6	18236,11867	3039,35311	0,7694 ns
Tratamentos	11	75808,32607	6891,66601	1,7445 ns
Resíduo	36	142215,52359	3950,43121	
Total	47	218023,84966		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 = < p < .05$); ns não significativo ($p \geq .05$).

Figura 28 – Íons de potássio em parte aérea de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos.



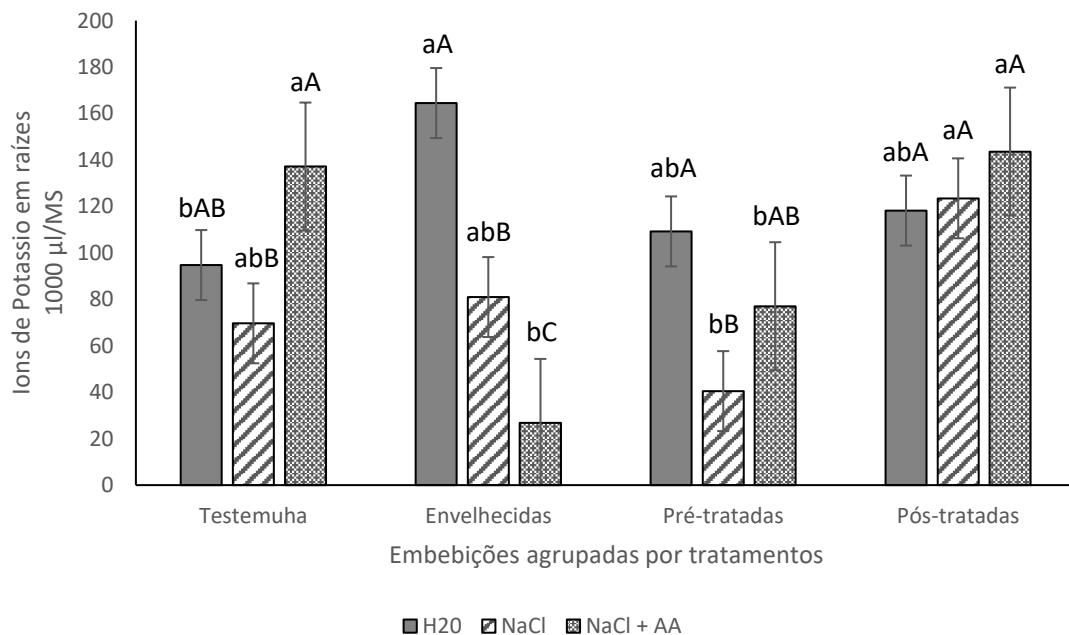
Os níveis de potássio em raízes foram superiores em sementes envelhecidas e acondicionadas em H₂O, não diferindo estatisticamente das sementes expostas ao pós-tratamento com AA, embebidas em NaCl e da mistura de NaCl + AA, a testemunha que teve suas sementes embebidas em NaCl + AA também foi estatisticamente semelhante (Figura 33). Como o potássio está relacionado com a regulação osmótica nos vegetais, o estresse salino naturalmente tende a baixar a concentração deste íon. O que está de acordo com o observado neste experimento, porém, não em quantidades significativas.

Tabela 32 – Análise de variância, para íons de potássio da raiz.

Análise de variância (Anova)				
FV	GL	SQ	QM	F
F1	3	17816,82947	5938,94316	6,8433 **
F2	2	14978,05526	7489,02763	8,6295 **
Int F1 X F2	6	43747,03648	7291,17275	8,4015 **
Tratamentos	11	76541,92120	6958,35647	8,0180 **
Resíduo	36	31242,33258	867,84257	
Total	47	107784,25379		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 = < p < .05$); ns não significativo ($p \geq .05$).

Figura 29– Íons de potássio em raízes de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).



Altas temperaturas e umidades proporcionadas pelo envelhecimento acelerado tendem a uma série de alterações degenerativas, como a desestabilização nas atividades de enzimas, a desestruturação e perda de integridade do sistema de membranas celulares, causada, principalmente, pela peroxidação de lipídios (VIEIRA *et al.*, 1994, p.53) devido ao aumento das espécies reativas do oxigênio (EROs) (DEL RIO *et al.*, 1998, p.330). Contudo, as células são dotadas de mecanismos protetores de defesa contra EROs, prevenindo sua formação e promovendo sua remoção (ALSCHER *et al.*, 2002, p.1331), tanto pelos sistemas antioxidantes enzimáticos como os não-enzimáticos (TOMMASI *et al.*, 2011, p.1647; BAILLY, 2004, p.93).

Dentre as enzimas que fazem parte deste sistema de defesa, temos a peroxidase do ascorbato (APX) e a peroxidase do guaiacol (GOPX), a catalase (CAT) e a superóxido desmutase (SOD), quantificadas neste experimento.

Entre os tratamentos analisados, houve significância apenas na interação entre tratamentos e embebições em parte aérea, sendo os tratamentos que foram embebidos na mistura de NaCl + AA superiores aos demais, exceto no pós-tratamento, que foi superior na embebição em NaCl. A embebição em água nos tratamentos sementes envelhecidas e pre-tratadas também foram superiores (Figura 34).

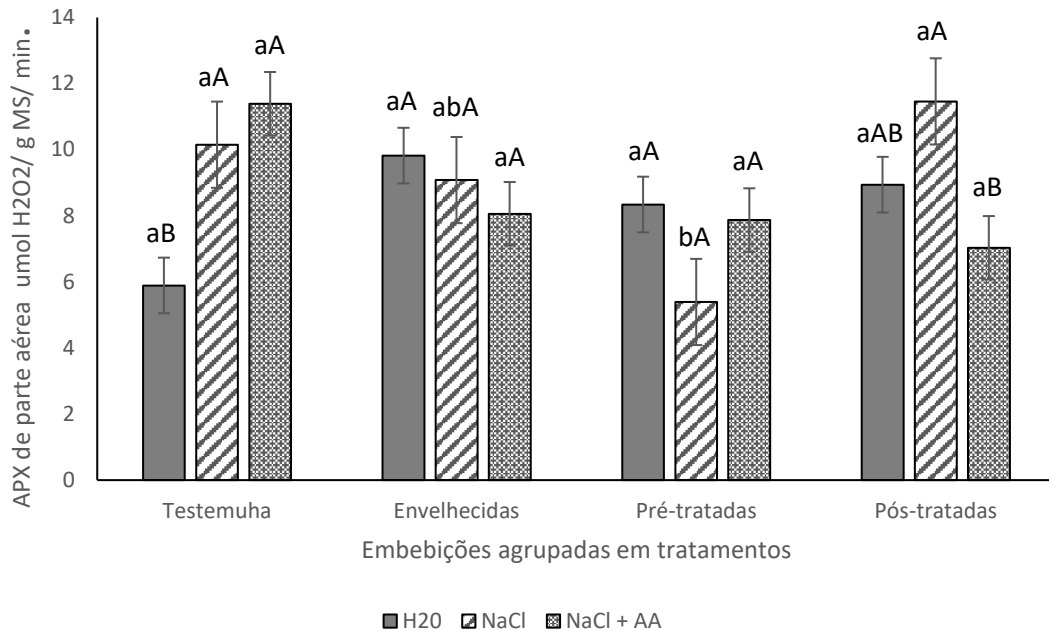
Esses resultados também estão intimamente relacionados com a espécie e o genótipo estudado. Em sementes de algodão envelhecidas artificialmente, a atividade da APX decresceu progressivamente durante o curso do envelhecimento acelerado (GOEL. *et al.* 2003, p.1093). Em amendoim, o efeito do envelhecimento acelerado na germinação de sementes levou a inibição da germinação e estabelecimento de plântulas, ocorrendo um aumento na peroxidação de lipídios e decréscimo na atividade da APX (OLIVEIRA *et al.*, 2011, p.1). Dolatabatian *et al.* (2009, p.347), verificaram que a aplicação foliar de solução de ácido ascórbico a 150mg L⁻¹ serviu para aumentar a tolerância à seca, pelo aumento da atividade das enzimas (APX, CAT e POX) em plantas de milho.

Tabela 33 – Análise de variância, para a enzimas antioxidantes peroxidase do ascorbato (APX), de parte aérea

Análise de variância (Anova)				
FV	GL	SQ	QM	F
F1	3	32,31389	10,77130	1,9497 ns
F2	2	4,84012	2,42006	0,4380 ns
Int F1 X F2	6	127,64501	21,27417	3,8507 **
Tratamentos	11	164,79902	14,98173	2,7118 *
Resíduo	36	198,88914	5,52470	
Total	47	363,68816		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 = p < .05$); ns não significativo ($p \geq .05$).

Figura 30 – Enzimas Peroxidase do ascorbato (APX), em parte aérea de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).



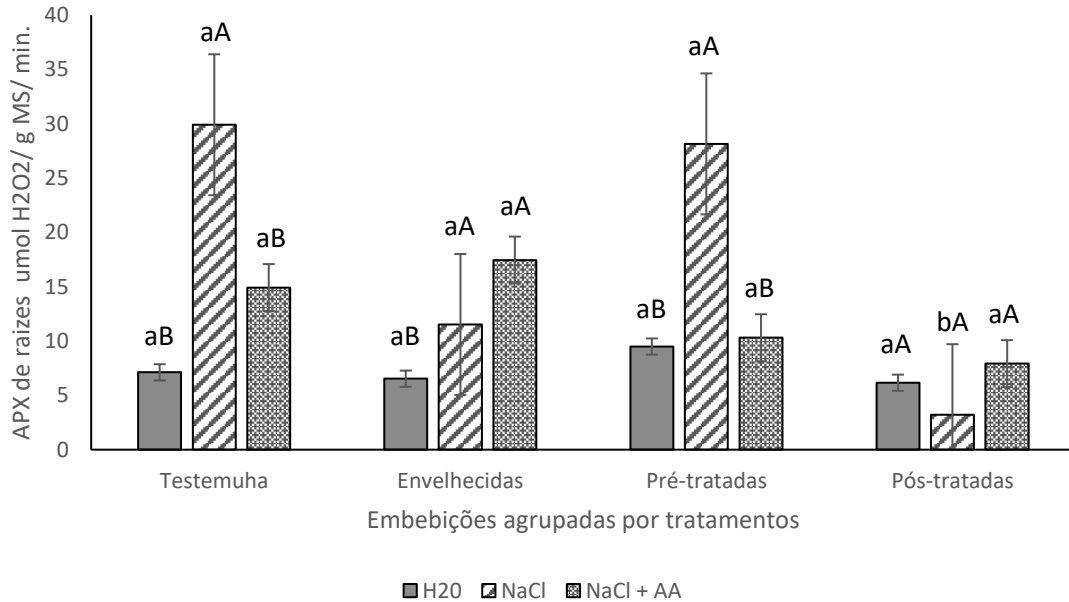
Já na raiz, as embebições em NaCl, nos tratamentos testemunha, envelhecidas e pré-tratadas, foram superiores aos demais, não diferindo das embebições em NaCl + AA, nos tratamentos envelhecidas e pós-tratadas (Figura 35). Isso pode ser explicado pelo o incremento do ácido ascórbico exógeno, um antioxidante não enzimático, servindo para diminuir a ativação de EROs causadas no processo de envelhecimento acelerado, fazendo com que o sistema antioxidante enzimático não fosse ativado. Ou que, este envelhecimento a 41°C, não foi suficiente em promover a ativação enzimática necessária.

Tabela 34 – Análise de variância, para a enzimas antioxidantes peroxidase do ascorbato (APX), de raiz

Análise de variância (Anova)				
FV	GL	SQ	QM	F
F1	3	970,45972	323,48657	7,9296 **
F2	2	946,77746	473,38873	11,6041 **
Int F1 X F2	6	1300,98973	216,83162	5,3152 **
Tratamentos	11	3218,22691	292,56608	7,1716 **
Resíduo	36	1468,61809	40,79495	
Total	47	4686,84499		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$); ns não significativo ($p \geq .05$).

Figura 31 – Enzimas Peroxidase do ascorbato (APX), em raízes de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúscula, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).



Na GPX de parte aérea, houve significância apenas a 1% de probabilidade, apenas na interação entre tratamentos e embebições (Tabela 35). O pós-condicionamento osmótico promoveu menor atividade da GPX (Figura 36).

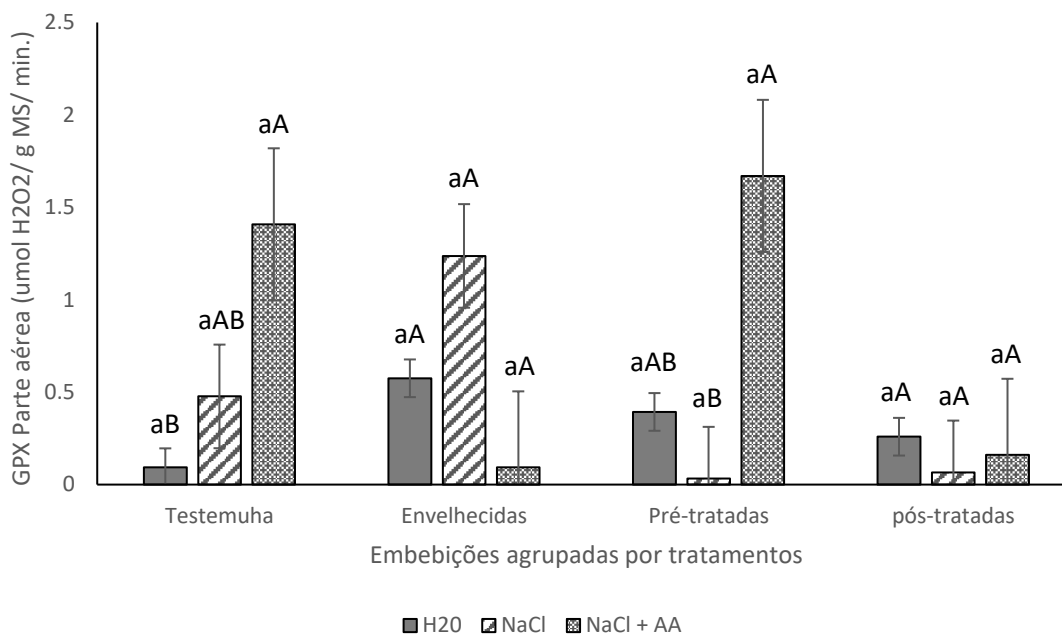
Tabela 35 – Análise de variância, para a enzimas antioxidantes peroxidase do guaiacol (GPX), de parte aérea.

Análise de variância (Anova)

FV	GL	SQ	QM	F
F1	3	2,32346	0,77449	1,3029 ns
F2	2	1,57536	0,78768	1,3251 ns
Int F1 X F2	6	9,26150	1,54358	2,5967 *
Tratamentos	11	13,16032	1,19639	2,0127 ns
Resíduo	36	21,39951	0,59443	
Total	47	34,55983		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 < p < .05$); ns não significativo ($p \geq .05$).

Figura 32 – Enzimas de superóxido desmutase (GPX), em parte aérea de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).



Resultados contrários ao da parte aérea foram encontrados nas raízes, onde a maior ativação enzimática se deu no pós-condicionamento osmótico (Figura 37). A aplicação exógena de AA pode ter sido mais eficiente na parte aérea do que na raiz visto que a atividade dos mecanismos antioxidantes enzimáticos foi maior. Mudanças nas atividades enzimáticas, tanto em raiz como em parte aérea, baseiam-se na suscetibilidade destas enzimas ao agente causador do estresse ou, estas alterações, podem ser o resultado de um único evento, por exemplo, ativação de proteases, as quais afetariam a função de várias outras enzimas (VIEIRA *et al.*, 2000, p.53).

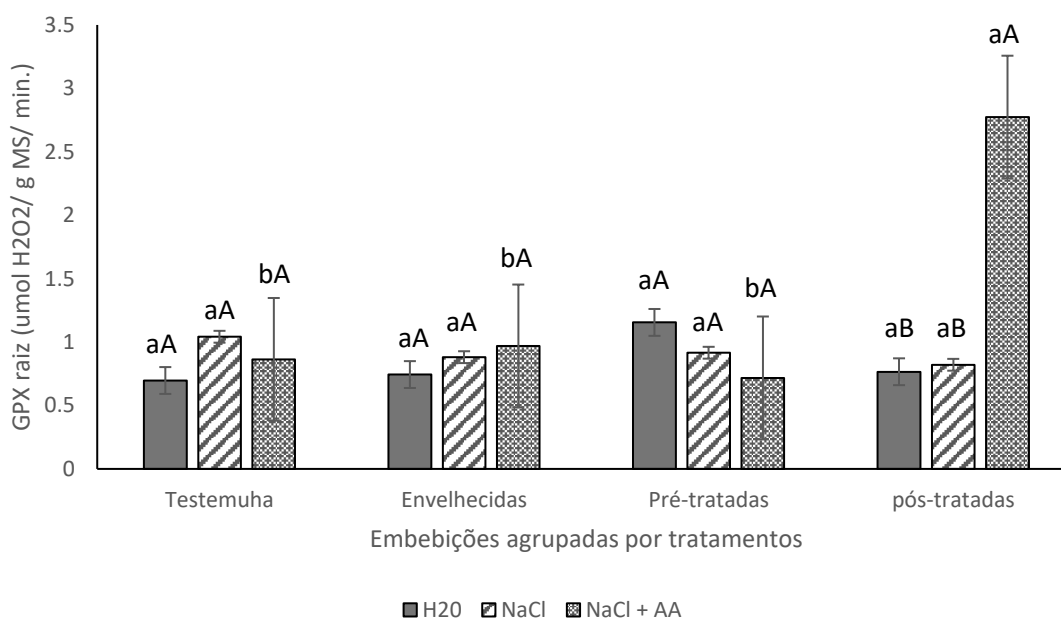
Lee *et al.* (2001), citam que mudanças na atividade destas enzimas estão estritamente relacionadas com a tolerância da planta ao estresse oxidativo. Sankar *et al.*, (2007, p.229), analisando respostas enzimáticas de peroxidases, sob estresse hídrico em genótipos de amendoim, verificaram aumento dos componentes não-enzimáticos nos genótipos estressados, tais como, ácido ascórbico, α -tocoferol e glutathiona reduzida.

Tabela 36 – Análise de variância, para a enzimas antioxidantes peroxidase do guaiacol (GPX), de raiz.

Análise de variância (Anova)				
FV	GL	SQ	QM	F
F1	3	2,92031	0,97344	9,7222 **
F2	2	2,24030	1,12015	11,1875 **
Int F1 X F2	6	8,94648	1,49108	14,8921 **
Tratamentos	11	14,10709	1,28246	12,8086 **
Resíduo	36	3,60451	0,10013	
Total	47	17,71160		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 = < p < .05$); ns não significativo ($p \geq .05$).

Figura 33– Enzimas de superóxido desmutase (GPX), em raízes de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).



A enzima superóxido desmutase, tanto em raízes como em parte aérea, não demonstrou diferença significativa entre tratamentos e embebições. Compreendendo que a aplicação exógena de ácido ascórbico, assim como as exposições a condições desfavoráveis pouco influenciou na ativação desta enzima. (Tabela 37 e 38).

A significativa constância na atividade enzimática à -0,8 MPa de salinidade, sugere que este nível não tem potencial para causar estresse a parte aérea das plântulas. Resultados diferentes aos deste trabalho foram descritos por Carneiro *et al.* (2011), trabalhando com sementes de girassol, cultivar M735, as quais, apresentaram diminuição na germinação quando expostas a salinidade de -0,8MPa.

As peroxidases (PX), são um grupo de enzimas capazes de catalisar a transferência do hidrogênio de um doador para H₂O₂. Em plantas, a ação constitui numa proteção antioxidativa. Estas enzimas têm sido caracterizadas durante a germinação de sementes, assim como, nos estágios de crescimento (EGLEY *et al.*, 1983, p. 224; VAN HUYSTEE, 1987, p.207). Gaspar *et al.* (1985, p.418), estudando a atividade destas enzimas durante o crescimento e desenvolvido, relacionam alterações na atividade enzimática com mudanças morfológicas em resposta a estresse físico, químico e biológico, o que não foi observado neste trabalho.

Tabela 37 – Análise de variância, para a enzimas antioxidantes superóxido Desmutase (SOD), de parte aérea.

Análise de variância (Anova)				
FV	GL	SQ	QM	F
F1	3	53902.44332	17967.48111	0.6476 ns
F2	2	57231.82058	28615.91029	1.0313 ns
Int F1 X F2	6	168439.39184	28073.23197	1.0118 ns
Tratamentos	11	279573.65574	25415.78689	0.9160 ns
Resíduo	36	998873.24418	27746.47901	
Total	47	1278446.89992		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 = p < .05$); ns não significativo ($p \geq .05$).

Figura 34– Enzimas Superóxido desmutase (SOD), em raízes de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos.

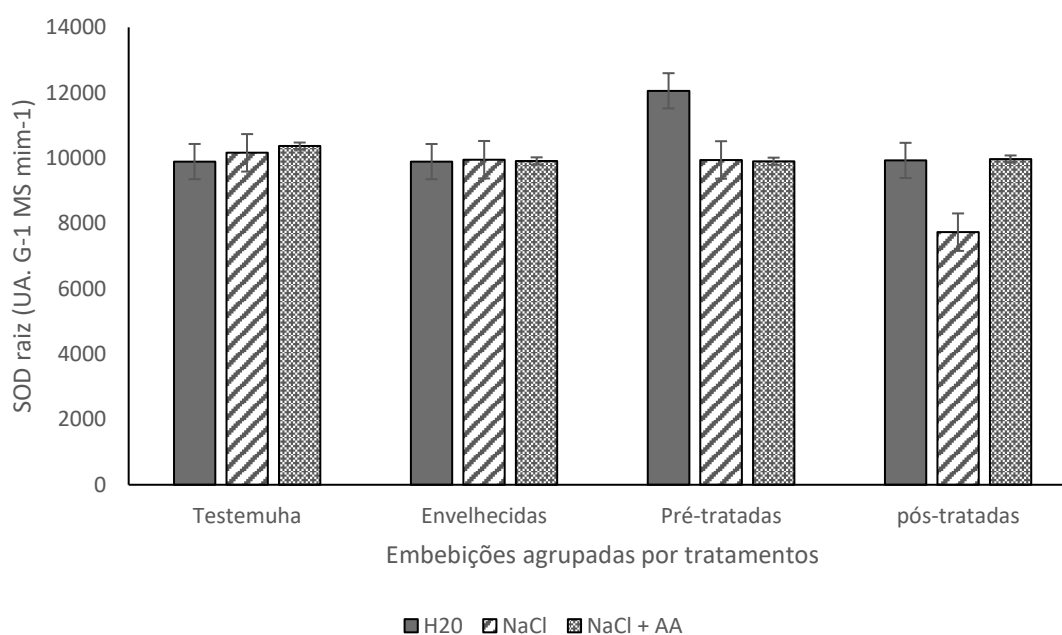
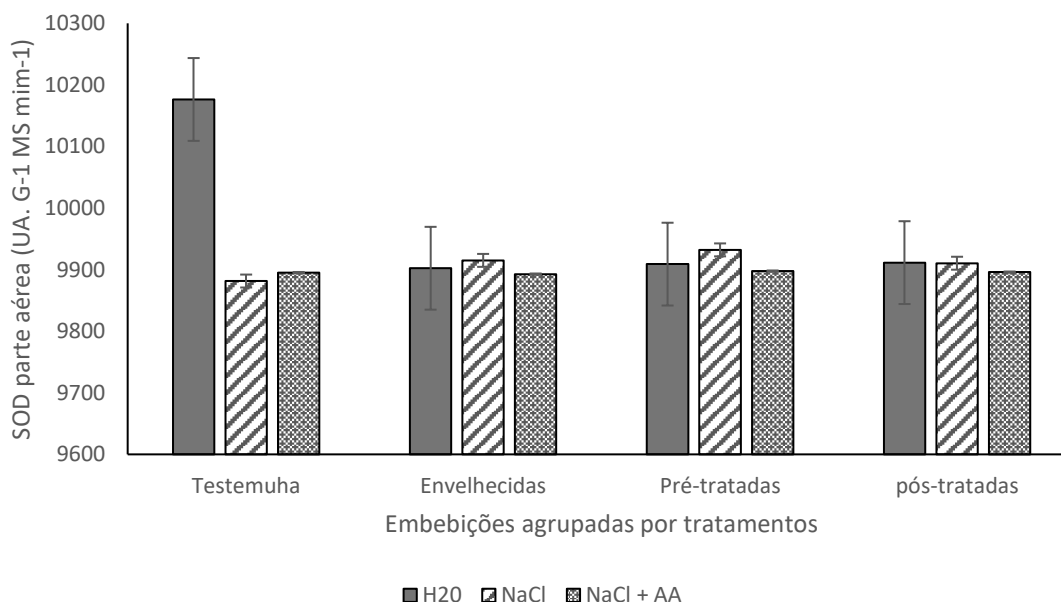


Tabela 38 – Análise de variância, para a enzimas antioxidantes superóxido Desmutase (SOD), de raiz.

Análise de variância (Anova)				
FV	GL	SQ	QM	F
F1	3	12604994.08770	4201664.69590	1.2989 ns
F2	2	8046999.21510	4023499.60755	1.2438 ns
Int F1 X F2	6	17698697.59788	2949782.93298	0.9119 ns
Tratamentos	11	38350690.90067	3486426.44552	1.0778 ns
Resíduo	36	116455547.9389	3234876.33164	
Total	47	154806238.8396		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 = < p < .05$); ns não significativo ($p \geq .05$).

Figura 35 – Enzimas Superóxido desmutase (SOD), em parte aérea de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos.

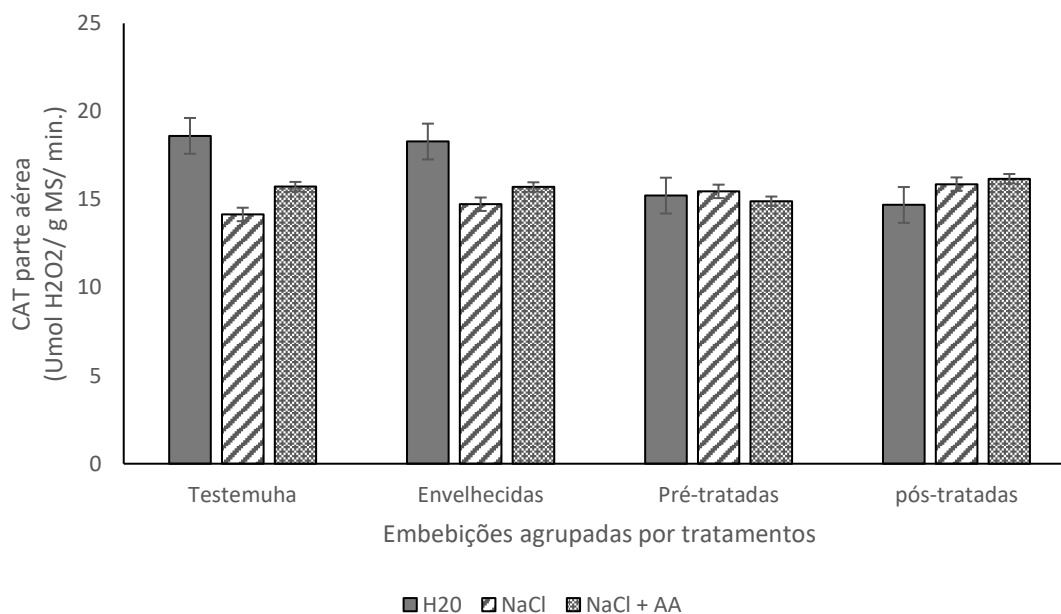
A atividade da enzima catalase (CAT) não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos analisados, em parte aérea (Tabela 39). Resultados distintos aos deste trabalho foram encontrados por Goel *et al.* (2003, p.1093), durante o armazenamento de sementes de algodão, onde a atividade da CAT e da SOD reduziram progressivamente. Sung e Jeng (1994, p.51) concluíram que no envelhecimento artificial de sementes de amendoim houve redução da atividade da SOD, entretanto a atividade da CAT não variou.

Mudanças no balanço das enzimas desintoxicadoras de EROs induzem mecanismos compensatórios nos tecidos. Por exemplo, quando a CAT ou a SOD se apresenta invariável, outros mecanismos protetores, enzimáticos ou não, são expressos em maiores quantidades em efeito compensatório (APEL; HIRT, 2004, p.373).

Tabela 39 – Análise de variância, para a enzimas antioxidantes catalase (CAT), em parte aérea.

Análise de variância (Anova)				
FV	GL	SQ	QM	F
F1	3	8,92777	2,97592	0,6912 ns
F2	2	22,47066	11,23533	2,6095 ns
Int F1 X F2	6	51,06805	8,51134	1,9768 ns
Tratamentos	11	82,46648	7,49695	1,7412 ns
Resíduo	36	154,99826	4,30551	
Total	47	237,46474		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 = < p < .05$); ns não significativo ($p \geq .05$).

Figura 36 – Enzimas Catalase (CAT), em parte aérea de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos.

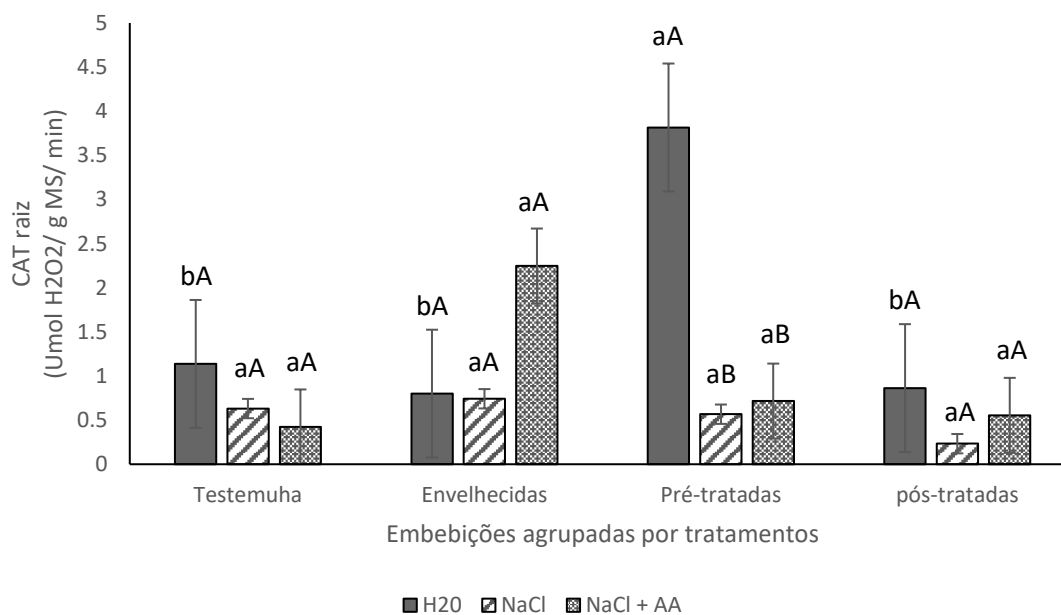
Houve diferença na interação testada para catalase de raízes, mais os tratamentos não variaram. Apenas as embebições que receberam H₂O foram inferiores aos demais, exceto no pré-tratamento com ácido ascórbico. Sementes pré-tratadas com ácido ascórbico embebidas com cloreto de sódio e cloreto de sódio mais ácido ascórbico também foram inferiores (Tabela 40).

Tabela 40 – Análise de variância, para a enzimas antioxidantes catalase (CAT), em raiz

Análise de variância (Anova)				
FV	GL	SQ	QM	F
F1	3	9,83142	3,27714	2,6509 ns
F2	2	10,01244	5,00622	4,0495 *
Int F1 X F2	6	24,59493	4,09915	3,3158 *
Tratamentos	11	44,43879	4,03989	3,2678 **
Resíduo	36	44,50532	1,23626	
Total	47	88,94410		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 = < p < .05$); ns não significativo ($p >= .05$).

Figura 37 – Enzimas Catalase (CAT), em raízes de plântulas de girassol, cultivar BRS 122, submetidas a diferentes tratamentos. Médias seguidas da mesma letra maiúsculas, para embebições, e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).



6 CONCLUSÃO

O método de aplicação exógena embebição em solução de ácido ascórbico, acondicionada em erlenmeyer, na concentração de 0,85 mM, durante 24 horas de exposição, é eficiente na absorção e no aumento do teor endógeno de ácido ascórbico em sementes de girassol, cultivar RBS 122.

O Pós-condicionamento com solução de ácido ascórbico em sementes envelhecidas, auxilia as variáveis germinativas e de crescimento de plântulas de girassol, cultivar BRS122. O pós-condicionamento também é eficiente, na maioria dela, em promover uma melhora no conteúdo interno, dando destaque para os teores de carboidratos e lipídios totais.

A aplicação exógena com ácido ascórbico antes do envelhecimento acelerado é menos significativa. O incremento de ácido ascórbico auxilia no combate as atividades das EROs, provocadas pelo envelhecimento acelerado.

Variáveis germinativas sofrem considerável efeito ao osmocondicionamento em solução salina à -0,8MPa, sendo a aplicação exógena de ácido ascórbico em solução salina estatisticamente satisfatória para tais variáveis.

Variáveis de crescimento e bioquímicas pouco diferiram à aplicação exógena da ácido ascórbico ao osmocondicionamento em solução salina a -0,8MPa. Exceto os teores de carboidratos totais. A aplicação exógena de ácido ascórbico, adicionado à solução salina, não serviu para promover melhorias ao desenvolvimento de plântulas de girassol, cultivar BRS122.

REFERÊNCIAS

- ABBA, E. J.; LOVATO, A. Effect of seed storage temperature and relative humidity on maize (*Zea mays* L.) seed viability and vigour. *Seed Science and Technology*, Zürich, v. 27, n. 1, p. 101-114, 1999.
- ABDUL-BAKI, A.A. Biochemical aspects of seed vigor. **HortScience**, Alexandria, v.15, n.6, p.765-771, 1980. [[Links](#)]
- ABU-SHAKRA, S.S. & CHING, T.M. Mitochondrial activity in germinating new and old soybean seeds. *Crop Science* 7:115-118. 1967.
- ADAMO, P.E. *et al.* Comportamento germinativo de sementes de girassol submetidas ao teste de envelhecimento precoce. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.6, n.3, p.15-20, 1984.
- AGUIAR, R.H.; FANTINATTI, J.P.; GROTH, D.; USBERTI, R. Qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes de girassol de diferentes tamanhos. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 134-139, 2001.
- AINOUZ, I.L.; BENEVIDES, N.B.; FREITAS, A.L.P. Proteolytic activities in seeds of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. **Biol Plant** 23: 133-140, 1981
- ALBUQUERQUE, M.C.F.; CARVALHO, N.M. Effects of the environmental stress on the emergence of sunflower, soybean and maize seeds with different levels of vigor. **Seed Science and Technology**, v.31, n.2, p.465-479, 2003. Disponível em: <<http://www.ingentaconnect.com/content/ista/sst/2003/00000031/00000002/art00023?crawler=true>>. Acesso em: janeiro de 2014.
- ALIZAGA, R.L.; MELLO, V.D.C.; SANTOS, D.S.B; IRIGON, D.L. Avaliação de testes de vigor em sementes de feijão e suas relações com emergência a campo. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.12, n.2, p.44-58, 1990.
- ALSCHER, RG; ERTURK, N; HEALTH, LS. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. **Journal of experimental Botany**, Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants Special Issue, v.53, n.372, p.1331-1341, 2002.

- ALVES, E.; CAVARIANI, C.; CORRÊA, M.R.; SOUZA, F.L.G.; CORRÊA, T.M.; NAKAGAWA, J. Efeito dos períodos de envelhecimento na lixiviação de íons e proteínas solúveis em sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v.26, n.2, p. 119-125, 2004
- AMOR, B.B.; HAMED, K.B.; DEBEZ, A.; GRIGNON, C.; ABDELY, C. Physiological and antioxidant response of the perennial halophyte *Crithmum maritimum* to salinity. **Plant Science**, v. 168, p. 889-899, 2005.
- APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plants Biology**, v.55, p.373-399, 2004.
- ARAGÃO, R.M.; SILVEIRA, J.A.G.; SILVA, E.N.; LOBO, A.K.M.; DUTRA, A.T.B. Absorção, fluxo no xilema e assimilação do nitrato em feijão-caupi submetido à salinidade. *Revista Ciência Agronômica*, v.41, p.100-106, 2010.
- ARAGÃO, T.C.F.R. Danos oxidativos e o envelhecimento de sementes de feijão caupi. 2007. 129p. Tese (Doutorado em Bioquímica) – Departamento de bioquímica e biologia molecular, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.
- ARAÚJO, J. **Química de alimentos: teoria e prática**. 2ª ed. Viçosa: Editora UFV, 1999. 416p.
- ARRIGONI, O.; CALABRESE, G.; DE GARA, L.; BITONTI, M.B.; LISO, R. Correlation between changes in cell ascorbate and growth of *Lupinus albus* seedling. **Journal of Plants Physiology**, 150: 302-308, 1997.
- ASHRAF, M., HARRIS, P. J. C. Potencial biochemical indicators of salinity tolerance in plants. **Plants Science**, v. 166, p. 3-16, 2004
- ASHRAF, M.; TUFAIL, M. Variation in salinity tolerance in sunflower (*Helianthus annuus* L.). **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 174, n. 05, p. 351-362, 1995.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS (OASA). Seed vigor testing handbook. Lincoln, 2002. 105. (Contribution, 32).
- ATHAR, H.R.; KRAN, A.; ASHRAF, M. Exogenously applied ascorbic acid alleviates salt induced oxidative stress in wheat. **Environmental and Experimental Botany**, 63, 224-23, 2008.

- ÁVILA, M. R. *et al.* Testes de laboratório em sementes de canola e a correlação com a emergência das plântulas em campo. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 27, n. 1, p. 62- 76, 2005.
- BACKES, R. L. et al. Desempenho de cultivares de girassol em duas épocas de plantio de safrinha no Planalto Norte Catarinense. **Scientia Agrária**, v. 9, n. 1, p. 41-48, 2008.
- BAILLY, C. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. **Seed Science Research**, v.14, p. 93-107, 2004.
- BARBOSA, G.K.C. Efeito no NaCl na atividade galactosidásica de raízes de plântulas de *Vigna Unguiculata* (L.) Walp. Dissertação. UFC, 2002, 73P.
- BARROS, M.F.C.; FONTES, M.P.F.; ALVAREZ, V.H.; RUIZ, H.A. Recuperação de solos afetados por sais pela aplicação de gesso de jazida e calcário no Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.8, n.1, p.59-64, 2004.
- 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, p.279-286. 1991.
- BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water- stress studies. **Plant and Soil**, v. 39, p. 205-207, 1973.
- BEERS, Jr R. F.; SIZER, W. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase, **Journal of Biological Chemistry**, n. 195, p. 133–140, 1952.
- BELTRÃO, N. E. M. E OLIVEIRA, M. I. P. Biossíntese e degradação de lipídeos, carboidratos e proteínas em oleaginosas. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2007. 61p
- BENEDITO, C.P. Armazenamento e viabilidade de sementes de Catanduva (*Piptadenia moniliformis* Berts). Dissertação – Departamento de fitotecnia. Universidade Federal Rural do Semi-árido. Mossoró, 2010.
- BENETEZ, L.C.; RODRIGUES, I.C.S.; ARGE, L.W.P; RIBEIRO, M.V.; BRAGA E.J.B. Análise multivariada da divergência genética de genótipos de arroz sob estresse salino durante a fase vegetativa. **Revista Ciência Agronômica**, vol.42 no.2 Fortaleza Apr./June 2011.
- BINOTTI, F. F. da S.; HAGA, K. I.; CARDOSO, E. D.; ALVES, C. Z.; SÁ, M. E. de.; ARF, O. Efeito do período de envelhecimento acelerado no teste de condutividade elétrica e na

qualidade fisiológica de sementes de feijão. **Acta Scientiarum**. Agronomy, Maringá, v.30, n.2, p.247-254, 2008.

BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v.37, n.8, p.911-917, 1959.

BOBBIO, F. O. BOBBIO, P. A. **Introdução a química de alimentos**, 2.ed. São Paulo: Varela, 1995. 223p.

BOHNERT, H. J.; JENSEN, R. G. Strategies for engineering water stress tolerance in plants. **Trends in Biotechnology**, v. 14, p. 89-97. 1996.

BOHNERT, H.J.; JENSEN, R.G. Strategies for engineering water stress tolerance in plants. **Trends in Biotechnology**, v.4, p.89-97, 1996.

BOSCO, A. GOMES-FILHO, E. Efeito do condicionamento osmótico na germinação e vigor de sementes de sorgo com diferentes qualidades fisiológicas. **Revista brasileira de sementes**, vol.32 no.3 Londrina Sept. 2010.

BRACCINI, A. L. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja após o processo de hidratação-desidratação e envelhecimento acelerado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.6, p. 1053-1066, Jun. 1999.

BRACCINI, M. C. L.; MARTINEZ, H. E. P.; BRACCINI, A. L. (2000), Avaliação de linhagens de cafeeiros quanto à tolerância ao alumínio pelo método do papel-solução. *Bragantia*, **59**, 221-226.

BRADFORD, K.J. Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditions. **HortScience** 21:1105-1112. 1976.

BRAGA JUNIOR, J.M. Maturação, qualidade fisiológica e testes de vigor em sementes de mamona. Tese (Dissertação de mestrado).-Departamento de fitotecnia. Universidade Federal da Paraíba, Areias, 2009.

BRASIL. Instrução Normativa nº25, de 16 de dezembro de 2005. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Poder Executivo, Brasília, DF, 16 dez. 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Regras para Análise de Sementes/ Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária.- Brasília: Mapa/ ACS, 2009.

BRAY, E.A., BAILEY-SERRES, J. & WERETILNYK, E. Responses to abiotic stresses. In: Buchanan, B.B., Gruissem, W. & Jones, R.L. (Eds.) **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**. Rockville MD. American Society of Plant Physiologists. 2000. pp. 1158-1203.

BRAZ, M.D.S.; BARROS, C.S.; CASTRO, F.P.; ROSSETTO, C.A.V. Teste de envelhecimento acelerado e deterioração controlada na avaliação do vigor de aquênios de girassol. **Ciencia Rural**, vol.38 no.7 Santa Maria Oct. 2008.

BRAZ, M.R.S.; BARROS, C.S.; CASTRO, F.P.; ROSSETTO, C.A.V. Testes de envelhecimento acelerado e deterioração controlada na avaliação do vigor de aquênios de girassol. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 7, p. 1857-1863, 2009.

BRILHANTE, J. C. A. Aplicação de ácido ascórbico em sementes de feijão-de-corda [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] na atenuação dos efeitos do envelhecimento e do estresse salino. 2011. 125 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2011.

BRILHANTE, J.C.A. CONTRIBUIÇÃO DE SOLUTOS ORGÂNICOS E INORGÂNICOS NO POTENCIAL OSMÓTICO DE FOLHAS DE ATRIPLEX NUMMULARIA SUBMETIDAS AO NaCl, SECA E PEG. Tese (Dissertação de mestrado).-Departamento de Agronomia-fitotecnia. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

BRILHANTE, J.C.A. Respostas fisiológicas e acumulação de prolina em duas progênies de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) sob estresse salino. Fortaleza: UFC, 2003. 52p. Monografia Graduação.

BRUNES, R.R. Desempenho de híbrido de girassol em resposta ao vigor das sementes, população de plantas e desuniformidade de semeadura no outono de 2009 em Uberlândia - MG. 2010. 41f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) - Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

ÇAG, S.; CEVAHIR-ÖZ, G.; SARSAG, M.; GÖREN-SAGLAM, N. Effect of salicylic acid on pigment, protein content and peroxidase activity in excised sunflower cotyledons. **Pakistan Journal of Botany**, v. 41, n. 5, p. 2297-2303, 2009.

CAMARA, T.R.; WILLADINO, L. Compreendendo o estresse abiótico in vitro. In: NOGUEIRA, R.J.M.C.; ARAÚJO, E. DE L.; WILLADINO, L.; CAVALCANTE,

U.M.T.(eds). Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas. Recife. MXMGráfica e Editora. 2005. Parte.V, cap.29, p.325-335.

CAMARGO, M.L.P.; MORI, E.S.; MELLO, E.J.; ODA, S.; LIMA, G.P. Atividade enzimática em plântulas de *Eucalyptus grandis* provenientes de sementes envelhecidas artificialmente e naturalmente. **Ciência Florestal**, v. 10, n. 2, p. 113-122, 2000

CARNEIR, R. F.; SILVA, A. S.; SILVA, D. C.; SUASSUNA, J.F.; MELO, A. S. Crescimento de gergelim submetido a estresse hídrico e à aplicação foliar de ácido salicílico. Congresso técnico científico da engenharia e da agronomia CONTECC' 2015. Centro de eventos do Ceará Fortaleza – Ce. 2015.

CARNEIRO, M. M. L. C. **Trocas gasosas e metabolismo antioxidativo em plantas de girassol em resposta ao déficit hídrico**. 2011. 42 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2011

CARVALHO, L.F. et al. Influência da temperatura de embebição da semente de soja no teste de condutividade elétrica para avaliação da qualidade fisiológica. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.1, p.9-17, 2009

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. 2000. Sementes: ciência, tecnologia e produção. 4.ed. Jaboticabal: FUNEP. 588p.

CAVALCANTI, F.R.; LIMA, J.P.M.S.; FERREIRA-SILVA, S.L.; VIEGAS, R.A.; SILVEIRA, J.A.G. Superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities do not confer protection against oxidative damage in salt-stressed cowpea leaves. *Journal of Plant Physiology*, v.164, p. 591-600, 2007.

CAVASIN, P. **A cultura do girassol**. Guaíba: Agropecuária, 2001. 69 p.

CHU, T.M.; ASPINALL, D.; PALEG, L.G. Stress metabolism. VII Salinity and proline accumulation in barley. **Australian Journal of Plant Physiology**, v.3, p.219-228, 1976.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Indicadores agropecuários. Brasília, DF, 2009. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/>>. Acesso em: 17 nov. 2009.

CONAB. Acompanhamento da safra brasileira: grãos, quarto levantamento, janeiro de 2014. CONAB - Companhia nacional de Abastecimento, Brasília, 2013, 66 p.

CORTE, V. B.; BORGES, E. E. L.; LEITE, H. G.; PEREIRA, B. L. C.; GONÇALVEZ, J. F. C. Estudo enzimático da deterioração de sementes de *Melanoxylon brauna* submetidas ao envelhecimento natural e acelerado. **Revista brasileira de Sementes**, vol.32 no.1 Londrina 2010.

DALBERTO, D. S.; CORREIA, N. S.; HUTLER, C. H. Viabilidade e vigor de sementes de trigo em diferentes concentrações de ácido ascórbico. 12 Jornada de pos-graduação e pesquisa. ISSN 1982- 2960. Congrega. 2014.

DALL'AGNOL, A.; VIEIRA, O.V. & LEITE, R.M.V.B.C. Origem e histórico do girassol. In: LEITE, R.M.V.B.C.; BRIGHENTI, A.M. & CASTRO, C. Girassol no Brasil. Londrina, 2005. p.1-14.

DANTAS, J. I. A.; PONTES, C. A.; LEITE, G. A.; FERNANDES, P. L. O.; FREITAS, W. E. S.; CARVALHO, C. A. C. Biossíntese de vitaminas em frutos de hortaliças. **Agropecuária científica do semi-árido**. V. 8, n. 4, p. 22-37, out – dez, 2012.

DE CAMPO LEITE, R.M.V.B; BRIGHENTI, A.M.; DE CASTRO, C. **Girassol no Brasil**. Londrina: Embrapa Soja, 2005. 641p.

DE GARA L. Ascorbate metabolism and plant growth—from germination to cell death. In: Asard H, May J, Smirnoff N, eds. Vitamin C: its function and biochemistry in animals and plants. Oxford: BIOS Scientific Publishers Ltd, 83–95. 2003

DE GARA, L., PACIOLLA, C., DE TULLIO, M.C., MOTTO.; M. ARRIGONI, O. Ascorbate-dependent hydrogen peroxide detoxification and ascorbate regeneration during germination of a highly productive maize hybrid: evidence of na improved detoxification mechanism against reactive oxygen species. **Physiologia Plantarum** 109, 7-13, 2000.

De Tullio MC, Liso R, Arrigoni O. 2004. Ascorbic acid oxidase: an enzyme in search of a role. **Biologia Plantarum** 48, 161–166

DEL RIO, L.A.; SANDALIO, L.M.; CORPAS, F. J.; PALMA, J. L.; BARROSO, J. B. Reactive oxygen species and reactive nitrogen species in peroxissomes. Production, scavenging, and role in cell signaling. **Plant physiology**, v.141, p.330-335, 2006.

DELL'AQUILA, A. Wheat seed ageing and embryo protein degradation. **Seed Science Research**, Wallingford, v.4, p.293-298, 1994.

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

DEUNER S.; ALVES, J. D.; FRIES, D. D.; ZANANDRE, I.; LIMA, A. A.; HENRIQUE, P. C.; GOULAT, P. F. P; Hydrogen peroxide and ascorbic acids effects on antioxidant enzyme activity in coffee seedling. **Revista Ceres** 55: 134 – 140, 2008.

DICKMANN, L.; CARVALHO, M. A. C.; BRAGA, L. F.; SOUSA, M. P. Comportamento de sementes de girassol (*Helianthus annuus* L.) submetidas a estresse salino. **Revista de Ciências AgroAmbientais**. 3: 64-75 (2005).

DOLATABADIAN, A.; MODARRES SANAVY, S.A.M. Effect of the Ascorbic acid, Pyridoxine and Hydrogen Peroxide Treatments on germination, Catalase Activity, protein and Malondialdehyde Content of three Oil Seeds Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj 36 (2) 2008. 61-66.

DOLATABADIAN, A.; MODARRES SANVY, S.A.M.; SHARIFI, M. Alleviation of Water deficit stress effects by foliar application of ascorbic acid on *Zea mays* L.J. Agronomy e Crop Science, v.195, p.347-355, 2009

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical chemistry**, Washington, v.28, n.3, p.350-356, 1956.

EGLEY, G.H.; PAUL R.N.; VAUGHN, K.C.; DUKE, S.O. Role of peroxidase in the development of water impermeable seed coats in *Sida spinosa* L. **Planta**, v.157, p.224-232, 1983.

EICHELBERGER, L.; MAIA, M. S.; PESKE, S. T.; MORAES, D. M. Composição química de sementes de azevém em resposta ao retardamento da secagem e ao armazenamento. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.37, p.693-701, 2002. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2002000500015>

EL-SAIDY, A. E. Evaluation of different seed priming on seedling growth, yield and quality components in two sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivars. **Trends in Applied Sciences research**, Berlin, v.9, n.6, p.977-991, June 2011.

FAGUNDES M. H. Sementes de girassol: alguns comentários, Brasília: MAPA/CONAB/SUGOF, 2009.

FENNEMA, O. R. **Química de los alimentos**. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 1993. 1100p.

FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. **Germinação**: do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed, 2004. 323 p.

FIORUCCI, A. R. A Importância da Vitamina C na Sociedade Através dos Tempos. *Química Nova na Escola*, São Paulo, v.17, maio. 2002.

FLOWERS, T.J. Improving crop salt tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v.55, p.307-319, 2004.

FOYER, C.H.; NOCTOR, S. Oxygen processing in photosynthesis: regulation and signalling. *New phytol*, v. 146, p. 359-88, 2005.

FREITAS R. A. Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de algodão submetidas ao envelhecimento acelerado artificial. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 22, n.1, p. 67-76. 2006.

FREITAS R. A. Testes fisiológicos e bioquímicos na estimativa do potencial de armazenamento de sementes de algodão. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.26, n.1, p.84-91-2004.

FREITAS, R.A.; NASCIMENTO, W.M. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de lentilha. **Rev. Bras. Sementes**, Pelotas, v. 28, n. 3, p. 59-63, 2006.

FUJITA, M.; FUJITA, Y.; NOUTOSHI, Y.; TAKAHASHI, F.; NARUSAKA, Y.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K. Crosstalk between abiotic and biotic stress responses: a current view from the points of convergence in the stress signaling networks. **Current Opinion in Plant Biology**, v.9, p.436-442, 2006.

GALLADA, S. F. The role of ascorbic acid and α -tocopherol in minimize of salt induce flag leaf senescence. **Journal of Agriculture Science**, Mansoura, v. 34, n. 11, p. 10645 – 10661, Nov. 2009.

GIANNOPOLITIS C. N.; RIES S. K.; Superoxide dismutases. I Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**. n.59, p.309-314, 1977.

GILBERT, G. A. et al. Amino acid accumulation in sink and source tissues of *Coleus blumei* Benth. during salinity stress. *Journal of Experimental Botany*, v. 49, p. 107–114, 1998.

- GIRUSSE, C.; BOURNOVILLE, R.; BONNEMAIN, J.L. Water deficit-induced changes in concentrations in proline and some other aminoacids in the phloem sap of alfafa. **Plant Physiology**, v.111, p.109-113, 1996.
- GIVELBERG, A.; HOROWITZ, M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. Solute leakage from *Solanum nigrum* L. seeds exposed to high temperatures during imbibition. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 35, n. 161, p. 1754-1763, 1984.
- GOEL, A.; GOEL, A. K.; SHEORAN, I. S. Changes in oxidative stress enzymes during artificial ageing in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) seeds. **J. Plant Physiol.** 160: 1093-1100, 2003.
- GÓMEZ CAMPO, C. Long term seed preservation: updated standards are urgent. Madrid: Universidad Politécnica de Madri, 2006. 4p. (Monographs ETSIA).
- GRACIANO, E. S. A. Estudos fisiológicos e bioquímicos de cultivares de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) submetidas à deficiência hídrica. 2009. 68f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2009.
- GRISI, P. U.*et al.* Qualidade das sementes de girassol tratadas com inseticidas e fungicidas. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.25, n.4, p.28-36, 2009
- HALLIWELL, B. & GUTTERIDGE, J.M.C. Free radicals in Biology and Medicine. Oxford: Clarendon Press, 1989, 543 p.
- HAMADA, A.M.; AL-HAKINI, A. M. A. Exogenous ascorbics acid or thiamine increases the resistance of sunflower and maize plants to salt stress. *Acta Agronomica Hungarica*, 57 (3), pp. 335 – 347, 2009.
- HANSON, A. D.; NELSEN, C. E.; EVERSON, E. H. Evaluation of free proline accumulation as an index of drought resistance using two contrasting barley cuitivars. **Crop Sci.** 17:720-726. 1977.
- HANSON, A.D., HITZ, W.D. Metabolic responses of mesophytes to plant water deficits. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, v.33, p.163-203, 1982.
- HARRINGTON, J.F. Problems of seed storage. In: HEYDECKER, W.H. **Seed ecology**. Pennsylvania: The Pennsylvania State University Press, 1973. p.251-265.

HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives in Biochemistry and Biophysics** 125, 189 – 198, 1968.

HENNING, A.A.; FRANÇA-NETO, J.B.; KRZYZANOWSKI, F.C.; LORINI, I. Importância do tratamento de sementes de soja com fungicidas na safra 2010/2011, ano de “La Niña”. Informativo ABRATES, v.20, n.1,2, p.55-61. 2010.

HERNÁNDEZ, J.A., M.A. FERRER, A. JIMÉNEZ, A. ROS-BARCELÓ AND F. SEVILLA. Antioxidant system and O₂/H₂O₂ production in the apoplast of *Pisum sativum* L. leaves: its relation with NaCl-induced necrotic lesions in minor veins. **Plant Physiol.** 127:817-831, 2001.

HODGE, J.E.; HOFREITER, B.R. Determination of reducing sugars and carbohydrates. In: WILSTER, R.L.; WOLFROM, M.L. (Ed.). **Methods in carbohydrates chemistry**. New York: Academic Press, 1962. v. 1, p. 380-394.

ISHIBASHI, Y.; IWAYA-INOUE, M. Ascorbic acid suppresses germination and dynamic states of water in wheat seeds. *Plant Production Science*, v. 9, p. 172–175, 2006.

ISHIBASHI, Y.; YAMAMOTO, K.; TAWARATSUMIDA, T.; et al. Hydrogen peroxide scavenging regulates germination ability during wheat (*Triticum aestivum* L.) seed maturation. *Plant Signaling & Behavior*, v. 3, p. 183-188, 2008.

JALEEL, C.A.; MANIVANNAN, P.; SANKAR, B.; KISHOREKUMAR, A.; GOPI, R.; SOMASUNDARUM, R.; PANNEERSELVAN, R. Water deficit stress mitigation by calcium chloride in *Catharanthus roseus*: Effects on oxidative stress, praline metabolism and indole alkaloid accumulation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v.60, p.110-116, 2007.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927776507002470>

JOLY, A.B. **Botânica**: introdução à taxonomia vegetal. 11. ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1993. 777p.

JORDÃO JÚNIOR, A.A. *et al.* Peroxidação lipídica e etanol: papel da glutatona reduzida e da vitamina E. **Medicina**, v. 32, p. 434-449, 1998.

JOSE, S. C. B. R.; SALOMÃO, A. N.; COSTA, T. S. A.; SILVA, J. T. T. T.; CURI, C. C. S. Armazenamento de sementes de girassol em temperaturas subzero: aspectos fisiológicos e bioquímicos. *Rev. bras. sementes* vol.32 no.4 Londrina 2010.

KAYA, M.D.; OKÇU, G.; ATAK, M.; ÇIKILI, Y.; KOLSARICI, O. Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *European Journal of Agronomy*, v.24, p.291- 295, 2006.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1161030105000936>

KHAN, M.H.; PANDA, S.K. Alterations in root lipid peroxidation and antioxidative responses in two Rice cultivars under NaCl-salinity stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, v.30, n.1, p.81-89, 2008.

KORYO, H.W. Study of potencial cash crop halophytes in a quick check system task. *Veg. Science*, v.38, p.5-17, 2003.

KRAMER, PAUL J.; KOZLOWSKI, T. **Fisiologia das árvores**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1972. 745 p.

KRZYŻANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. ABRATES: Londrina, 1999. 218p.

LABOURIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Washington: OEA, 1983. 174 p

LACERDA, C. F.; CAMBRAIA, J.; CANO, M. A. O.; RUIZ, H. A. Plant growth and solute accumulation and distribution in two sorghum genotypes, under NaCl stress. **Revista brasileira de fisiologia vegetal**, Lavras, v. 13, n. 3, p. 270-284, 2001.

LACERDA, C. F.; NEVES, A. L. R.; GUIMARÃES, F. V. A; SILVA, F. L. B; PRISCO, J. T.; GHEYI, H. R. Eficiência de utilização de água e nutrientes em plantas de feijão-de-corda irrigadas com água salina em diferentes estádios de desenvolvimento. *Engenharia Agrícola*, v. 29, n. 02, p. 221-230, 2009.

LARRÉ, C. F.; ZEPKA, A. P. S.; MORAES, D. M.. Testes de germinação e emergência em sementes de maracujá submetidas a envelhecimento acelerado. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, n. 2, p. 708-710, jul. 2007

LEITE, R.M.V.B.C.; CASTRO, C.; BRIGHENTI, A.M.; OLIVEIRA, F.A.; ARVALHO, C.G.P.; OLIVEIRA, A.C.B. – Indicações para o cultivo de girassol nos Estados do Rio

Grande do Sul, Paraná, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Goiás e Roraima. Londrina, PR: **EMBRAPA**, 2007. (comunicado técnico n. 78).

LEVITT, J. **Responses of plants to environmental stress**. New York: Academic Press, 1980. v.2, p.25-280: water stress, desidratation and drought injury.

LEE DH, CHRISTIANI DC. Body weight, alcohol consumption and liver enzyme activity – a 4-year follow-up study. *Int J Epidemiol*: V. 30, nº4, 2001.

LIMA, D.C.et al. Armazenamento de sementes de girassol. *Revista Ciência Agronômica*, Fortaleza, v. 45, n. 2, p. 361-369, abr./jun. 2014.

LIU, C.; GUO, J.; CUI, Y.; LÜ, T.; ZHANG, X.; SHI, G. Effects of cadmium and salicylic acid on growth, spectral reflectance and photosynthesis of castor bean seedlings. **Plant and Soil**, v. 344, n. 1-2, p. 131-141, 2011.

MACEDO, E. C.; GROTH, D.; SOAVE, J. Influência da embalagem e do armazenamento na qualidade fisiológica de sementes de algodão. **Revista Brasileira de Sementes**, Campinas, v. 20, n. 2, p. 454-461, 1998.

MAGHSOUDI, K., ARVIN, M.J. Salicylic acid and osmotic stress effects on seed germination and seedling growth of wheat (*Triticumaestivum* L .) cultivars. *Plant Ecophysiology*, v. 2, p. 7-11, 2010

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

MAIA, A.R.; LOPES, J.C.; TEIXEIRA, C.O. Efeito do envelhecimento acelerado na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de trigo. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, n.3, p.678-684, 2007.

MAIA, F.C., MORAES, D.M., MORAES, R.C.P. Atividade total da fosfatase ácida e da a-amilase induzidas por ácido jasmônico em sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.22, n.1, p.259-263, 2000.

MAITY, S.; BANERJEE, G.; ROY, M.; PAL, C.; PAL, B.; CHAKRABARTI, D.; BHATTACHARJEE, A. Chemical induced prologation of seed viability and stress tolerance capacity of mung bean seedlings. *Seed Science and Technology*, Zürich, v. 28, n. 1, p. 155-162, 2000.

MAMONA E I SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE OLEAGINOSAS ENERGÉTICAS, 2010, João Pessoa. Inclusão Social e Energia: Anais... Campina grande: Embrapa Algodão, P. 1311-1315, 2010.

MAPA. **Anuário estatístico da agroenergia**. 2 ed. 2011. MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília, 2011. 224 p.

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

MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. Vigor de sementes: conceitos e testes. ABRATES, p.1-24, 1999.

MARINI, M. J. et al. Avaliação da contribuição de arranjos produtivos locais para o desenvolvimento local. *Biblio3W: Revista Bibliográfica de Geografía Y Ciencias Sociales*, v. 17, n. 996, 2012.

MARQUES, E. C.; FREITAS, V. S.; BEZERRA, M. A.; PRISCO, J. T. GOMES-FILHO, E. Efeitos do estresse salino na germinação, emergência e estabelecimento de plântulas de cajueiro não precoce. *Revista Ciência agrônômica*. vol.42 no.4 Fortaleza Oct./Dec. 2011.

MATOS, A. C. S.; BORGES, E. E. L.; SILVA, L. J. Fisiologia da germinação de sementes de *Dalbergia nigra* (Vell.) Allemão ex Benth. Sob diferentes temperaturas e tempos de exposição. *Revista Árvore*, Viçosa-MG, v.39, n.1, p.115-125, 2015.

MC DONALD, M.B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 27, n. 1, p. 177-237, 1999.

McCUE, P. *et al.* A model for enhanced pea seedling vigour following low pH and salicylic acid treatments. *Process Biochemistry*, v.35, p. 603-13, 2000.

MCKERSIE, B. D.; LESHEM, Y. Y. **Stress and stress coping in cultivated plants**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishes, 1994. 256p

MENDES, R.C.; DIAS, D.C.F.S.; PEREIRA, M.D.; DIAS, L.A.S. Testes de vigor para avaliação do potencial fisiológico de sementes de mamona (*Ricinus communis* L.). **Ciência agrotécnica**, Lavras, v. 34, n. 1, p. 114-120, 2010.

MENEZES, A.S.; RIBEIRO, A.A.; TAVARES, M.K.N.; SANTOS, C.K.G.; ARAGÃO, M.F.; MOREIRA, F.J.C. Salinidade na germinação e crescimento inicial de girassol (*Helianthus annuus* L.) submetido a estresse salino. *Revista Agrogeoambiental*, Pouso Alegre, v.7, n.2, p.23-32, 2015.

MERREIN, A. **Physiologie du tournesol**. Paris: CETIOM, 66p. 1992.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance, *Trends Plant Science*, v.7, p.405-410, 2002.

MUNNS, R. Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytol.*, v.167, p. 645-663, 2005.

MUNNS, R. JAMES, R.A.; LAUCHLI, A. Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *J. Exp. Bot.*, v.57, p. 1025-1043, 2006.

MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, v.59, p.651-681, 2008.

MWALE, S.S. HAMUSIMBI, C.; MWANSA, K. Germination, emergence and growth of unflower (*Helianthus annuus* L) in response to osmotic seed priming. *Seed Science and Technology*, Zurich, v.31, n1, p 199-206, 2003.

OHLSON O. C.; KRZYZANOWSKI F. C.; CAIEIRO J. T.; PANOBIANCO M. Teste de envelhecimento acelerado em sementes trigo. **Revista Brasileira de Sementes**, 32:118-124. 2010.

OLIVEIRA, A.B.; GOMES-FILHO, E.; ENEAS-FILHO, J.; PRISCO, J. T.; ALENCAR, N. L. M.; Seed priming effects on growth, lipid peroxidation and activity of ROS scavenging enzymes in NaCl-stressed sorghum seedling from eged seed. **Journal of Plants Interactions** (Print) JCR, V.11, p.1-11, 2011.

OLIVEIRA, F. DE A.; MEDEIROS, J. F. DE; OLIVEIRA, M. K. T. DE; LIMA, C. J. G. S.; GALVÃO, D. C. Desenvolvimento inicial do milho-pipoca 'Jade' irrigado com água de diferentes níveis de salinidade. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, v.2, p.45-52, 2007.

- PALLANCA, J.E. AND SMIRNOFF, N. Ascorbic acid metabolism in peã seedlings. A comparison of Dglucosone, L-sorbosone, and L-galactono -1,4-lactone as ascorbate precursors. *Plant Physiology* 120, 453-461, 1999.
- PARASHAR, A. et al. Salicylic acid enhances antioxidant system in Brassica juncea grown under different levels of manganese. *International Journal of Biological Macromolecules*, Amsterdam, v. 70, p. 551-558, Sept. 2014.
- PARRELLA, N. N. L. D. **Armazenamento de sementes**. EPAMIG: MG, 2011.
Disponível em: http://www.epamig.br/index.php?option=com_docman&task=download&gid=1519. Acesso: 31 jan. 2014.
- PASTORI, G. M.; FOYER, C. H. Common components, networks, and pathways of cross-tolerance to stress. The central role of "redox" and abscisic acid-mediated controls. *Plant Physiology*, Washington, v. 129, n. 2, p. 460-468, June 2002.
- PEREIRA, D. S. Condicionamento fisiológico e conservação de sementes de girasol. 2012. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Fitotecnia, Área de Concentração em Produção vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias – UFLA, Lavras, Minas Gerais, 2012.
- PEREIRA, V. R. Ácido ascórbico – Características, mecanismos de atuação e aplicações da indústria de alimentos. (Trabalho acadêmico apresentado no curso de bacharelado em química dos alimentos). Universidade Federal de Pelotas, 2008.
- PERES, W.L.R. **Testes de vigor em sementes de milho**. 2010. 50f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Área de Concentração em Produção e Tecnologia de Sementes) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP Jaboticabal, São Paulo, 2010.
- PERL, M., LURIA, I., GELMOND, H. Biochemical changes in sorghum seeds affected by accelerated ageing. **Journal of experimental botany**, v.29, p.497-509, 1978.
- PINHEIRO, H.A.; DAMATTA, F.M.; CHAVES, A.R.M.; FONTES, E.P.B.; LOUREIRO, M.E. 2004. Drought tolerance in relation to protection against oxidative stress in clones of *Coffea canephora* subjected to long term drought. **Plant Sci.** 167, 1307-1314.
- PLEWA, M. J.; SMITH, S. R.; WAGNER, E. D. Diethyldithio carbamate suppresses the plant activation of aromatic amines into mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase. **Mutation Research**. n. 247, p. 57-64, 1991.

- POWELL, A. A.; YULE, J. L.; JING, H. C.; GROOT, S. P. C.; BINO, R. J.; PRITCHARD, H. W. The influence of aerated hydration seed treatment on seed longevity as assessed by the viability equations. *Journal experimental botany*, v 51, p. 2031 – 2043, 2000.
- POWELL, A.A.; MATTHEWS, S. The influence of testa condition on the imbibition and vigour of pea seeds. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.30, p.193-197, 1979.
- PRIESTLEY, D.A.; LEOPOLD, A.C. Lipid changes during natural aging of soybean seeds. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.59, p.467-470, 1983.
- PUTT, E.D. Early history of sunflower, In: SCHNEITER, A. A. **Sunflower technology and production**. Madison: American Society of Agronomy, p. 1-19, 1997.
- RAHMAN, M.S.; MATSUMURO, T.; MIYAKE, H.; TAKEOKA, Y. Salinity –induced ultrastructural alterations in leaf cells of rice (*Oryza sativa* L.). **Plant prod. Sci.**, v.3, p.42-51, 1991.
- RAZA, A., IQBAL, Z., MUHAMMAD, G., HANIF, K., KHAN, M.A. 2013. Giardiasis. **Rev. Vet. Ani. Sci.**, 1(1): pp 15–20.
- RENZ, S. V. Oxidação e antioxidantes. Disponível em: www5.ufrgs.br/bioquímica/posgrad/BTA/oxi_antiox.pdf. Acessado em 26 de agosto de 2003.
- ROCHA, F. C., OLIVEIRA NETO, A. M., BOTTEGA, E. L., GUERRA, N., ROCHA, R. P., VILAR, C. C. (2015) Weed mapping using techniques of precision agriculture. *Planta Daninha*, Viçosa-MG, v. 33, n. 1, p. 157-164.
- RODO, A.B. *et al.* Metodologia alternativa do teste de envelhecimento acelerado para sementes de cenoura. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.57, n.2, p.289-292, 2000.
- ROSSI, R. **O Girassol**. Curitiba: Tecnogro, 1998. 333p.
- RYAN C. A. Proteolytic enzymes and their inhibitors in plants. **Annual Reviews plants Physiology**, Palo alto, v.24, p. 173-96, 1973.
- SALGADO, P.R.; DRAGO, S.R.; MOLINA ORTIZ, S.E.; PETRUCCELLI, S.; ANDRICH, O.; GONZÁLEZ, R.J.; MAURI, A.N. Production and characterization of sunflower (*Helianthus annuus* L.) protein- enriched products obtained at pilot plant scale. *Journal LWT – Food Science and Technology*, 11 jul. 2012. v.45, p. 65-72.

- SANKAR, B.; JALEEL, C.A.; MANIVANNAN, P.; KISHOREKUMAR, A.; SOMASUNDARAM, R.; PANNEERSELVAM, R. Effect of paclobutrazol on water stress amelioration through antioxidants and free radical scavenging enzymes in *Arachis hypogaea* L. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v.60, p.229-235, 2007.
- SANTOS, A.R.F. dos; SILVA-MANN, R.; FERREIRA, R.A. Water pre-hydration as priming for *Moringa oleifera* lam. seeds under salt stress. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 14: 201- 207 (2011).
- SANTOS, J.B.; AZEVEDO, C.A.V.; CAVALCANTE, L.F.; BELTRÃO, E.M., SANTOS, D.B.; CENTENO, C.R.M. Desenvolvimento vegetativo da mamoneira em função da salinidade da água de irrigação. In: IV Congresso Brasileiro de Mamona, 4. João Pessoa - PB, 2010.
- SANTOS, R. F. *et al.* Aspectos econômicos do agronegócio da mamona. In: AZEVEDO, D. M. P. de; BELTRÃO, N. E. de M. (Eds.). *O agronegócio da mamona no Brasil*. 2. ed. Campina Grande: Embrapa Algodão; Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2007. p. 21-42.
- SCHUAB, S.R.P.; BRACCINI, A.L.; FRANÇA NETO, J.B.; SCAPIM, C.A.; MESCHÉDE, D. K. Potencial fisiológico de sementes de soja e sua relação com a emergência das plântulas em campo. *Acta Scientiarum Agronomy*, Maringá, v. 28, n. 4, p. 553-561, 2006.
- SHALATA, A.; NEUMANN, P.M. Exogenous ascorbic acid (vitamin C) increases resistance to salt tolerance and reduces lipid peroxidation. *J. Exp. Bot.*, 364: 2207-2211, 2001.
- SHARMA, S.; GAMBHIR, S.; MUNSHI, S.K. Changes in lipid and carbohydrate composition of germinating soybean seeds under different storage conditions. *Asian Journal of Plant Science*, v.6, n.3, p.502-507, 2007.
- SILVA, C.A.; PINHEIRO, J.W. Girassol na alimentação de suínos e aves. In: LEITE, R. M.V.B.C.; BRIGHENTI, M.A.; CASTRO, C. (Eds.). **Girassol no Brasil**. Londrina - PR: Embrapa Soja, Cap. 6, p. 93-121, 2005.
- SILVA, E. N.; SILVEIRA, J. A. G.; RODRIGUES, C. R. F.; LIMA, C. S.; VIÉGAS, R. A. Contribuição de solutos orgânicos e inorgânicos no ajustamento osmótico de pinhão-mansão submetidas à salinidade. *Pesquisa agropecuária brasileira*, Brasília, v. 4, n. 5, p.473-445, 2009.

SILVA, E. R.; MARTINHO, H. S. D.; MOREIRA, A. V. B.; ARRIEL, N. H. C.; SILVA, A. C.; RIBEIRO, S. M. R. Capacidade antioxidante e composição química de grãos integrais de gergelim preto e branco. **Pesquisa agropecuária brasileira**. Vol 46, n 7, 2011. P. 736-742.

SILVA, P.T., FIALHO, E., LOPES, M.L.M., VALENTE-MESQUISTA, V.L. (2005) Sucos de Laranja industrializados e preparados sólidos para refrescos: estabilidade química e físico-química. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 25(3):597-602.

SILVEIRA, J.M.; CASTRO, C.; MESQUISTA, C.M.; PORTUGAL, F.A.F. Semeadura e manejo da cultura do girassol. In: LEITE, R. M.V.B.; BRIGHENTI, A.M.; CASTRO, C. Girassol no Brasil. Londrina, CNPSO, 2005.

SINÍCIO, R.; LOPES, J.F.; SILVA, D.J.H.; MATTEDI, A.P. Longevity equation for tomato seeds. *Seed Science and Technology*, Zurich, v.37, n.3, p.667-675, 2009.

SMIDERLE, O. J.; MOURÃO JÚNIOR, M.; GIANLUPPI, D. Avaliação de cultivares de girassol em savana de Roraima. *Acta Amazônica*. v.35, n.3, p.331-336, 2005

SMIRNOFF, N. WHEELER, G.L. (2000) Ascorbic Acid in Plants: Biosynthesis and Function. **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**, 35(4): 291-314.

SMITH, P.T.; COMB. Physiological and enzymatic activity of pepper seeds (*Capsicum annum*) during priming. **Physical Plantarum**, 82. 71-78. 1991.

SOARES, A. M. S.; MACHADO, O. L. T. Defesa de plantas: Sinalização química e espécies reativas de oxigênio. *Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas*. v.1, n. 1, p. 9, 2007.

SOARES, M.M.; CONCEIÇÃO, P.M.; DIAS, D.C.F.S.; ALVARENGA, E.M. Testes para avaliação do vigor de sementes de sorgo com ênfase à condutividade elétrica. **Ciência agrotécnica**, Lavras, v. 34, n. 2, p. 391-397, 2010.

SOROKIN, H.P. The spherosomes and the reserve fat in plant cells. **American Journal Botany**, v. 54, n. 8, p. 1008-1016, 1967.

SOUTINHO, S. M. A. Avaliação dos compostos fenólicos e da atividade antioxidante de frutos vermelhos produzidos em modos biológicos. Tese (Dissertação de mestrado).- Departamento de Qualidade e Tecnologia Alimentar. **Instituto Politécnico de Viseu**, Portugal, 2012.

SPINOLA, M. C. M.; CÍCERO, S. M.; MELO, M. Alterações bioquímicas e fisiológicas em sementes de milho causadas pelo envelhecimento acelerado. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 2, p. 263-270, 2000.

STEWART, R.R.C.; BEWLEY, J.D. Lipid peroxidation associated with accelerated aging in soybean axes. **Plant Physiol.** 65, 245-248, 1980.

STROHECKER, R.; HENNING, H. M. Analisis de vitaminas: métodos comprobados. Madrid: Paz Montalvo, 1967. 428 p

STROHECKER, R.L.; HENNING, H.M. **Análises de vitaminas: métodos comprobados.** Madrid: Paz Montalvo, 1967. 428p.

SUNG, J.M.; JENG, T.L. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzymes associated with accelerated ageing of peanut seed. **Physiologia Plantarum**, v. 91, p. 51-55, 1994.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal.** Porto Alegre: Art med. 2004. 719p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal.** 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 954 p.

TAVARES, J. *et al.* Estabilidade do ácido ascórbico em polpa de acerola submetida a diferentes tratamentos. **Magistra on line** da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, v.15, n.2, jul./dez. 2003.

TESTER, M.; DAVENPORT, R. Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. *Annals of Botany*, v.91, p.503-527, 2003.

TOMMASI, F.; PACIOLLA, C.; PINTO, M.C. de; GARA, L. de. 2011. A comparative study of glutathione and ascorbate metabolism during germination of *Pinus pinea* L. seeds. **Journal of Experimental Botany** 52: 1647-1654.

TOMMASI, F.; PACIOLLA, C.; DE PINTO, M.C.; DE GARA, L. Relatório between water levels and ascorbate peroxidase-ascorbate recycling enzymes in recalcitrant and orthodox seeds. P.209-213 in Acosta, M.; Rodrigues Lopez, J.N.; PEDREÑO, M.A. (Eds) *Plants peroxidases, biochemistry and physiology*. Spain, University of Murcia, 2002.

TONEL FR. 2011. Tolerância à salinidade induzida pelo ácido salicílico em sementes e plântulas de milho híbrido. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade). Pelotas: UFPel. 41f.

TORRES, S.B. Métodos para a avaliação do potencial fisiológico de sementes de melão. Piracicaba. 2002. 103f. Tese (Doutorado em Agronomia), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 2002.

TRAVASSOS, K.D.; SOARES, F.A.L.; GHEYI, H.R.; SILVA, D.R.S.; NASCIMENTO, A.K.S. do; DIAS, N. da S. Produção de aquênio do girassol irrigado com água salobra. Revista. **Brasileira Engenharia Agrícola e Ambiental**, 15:371-376, 2011.

VÁZQUEZ, E.; MONTIEL, F.; VÁZQUEZ-RAMOS, J. M. DNA ligase activity in deteriorated maize axes during germination: a model relating defects in DNA metabolism in seeds to loss of germinability. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 1, n. 2, p. 269-273, 1991.

VIEIRA, A.R.; VIEIRA, M. das. G.G.C.; OLIVEIRA, J.A. et al. 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.

VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M.; SADER, R. Teste de vigor e suas possibilidades de uso. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. **Teste de vigor em sementes**. Jaboticabal : FUNEP/UNESP, 1994. p.31-47.

WAHID, A.; RASUL, E.; RAO, A. R. Germination of seeds and propagules under salt stress. In: PESSARAKLI, M. (Ed.). **Handbook of Plant and Crop Stress**. 2. ed. New York: Marcel Dekker, Inc., 1999. p. 153-167.

WANG, W.B.; KIM, Y.H.; LEE, H.S.; KIM, K.Y.; DENG, X.P.; KWANK, S.S. Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. **Plant Physiol. Biochem**, v.47, p.570-577, 2009.

WILSON, D. O.; MCDONALD, M. B. The lipid peroxidation model of deterioration. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 14, n. 2, p. 269-300, July 1986.

YE, N.; ZHU, G.; LIU, Y. et al. Ascorbic acid and reactive oxygen species are involved in the inhibition of seed germination by abscisic acid in rice seeds. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, p. 1809–1822, 2012.