



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

LUMA RAYANE DE LIMA NUNES

**ÁCIDO ASCÓRBICO NO CONDICIONAMENTO DE SEMENTES DE FEIJÃO-
CAUPI SUBMETIDAS AOS ESTRESSES HÍDRICO E SALINO**

FORTALEZA

2019

LUMA RAYANE DE LIMA NUNES

ÁCIDO ASCÓRBICO NO CONDICIONAMENTO DE SEMENTES DE FEIJÃO-CAUPI
SUBMETIDAS AOS ESTRESSES HÍDRICO E SALINO

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito para a obtenção de grau de Mestre em Agronomia/Fitotecnia. Área de temática: Produção e Tecnologia de Sementes.

Orientador: Prof. Dr. Alek Sandro Dutra.

FORTALEZA

2019

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)

N926Á Nunes, Luma Rayane de Lima.
Ácido ascórbico no condicionamento de sementes de feijão-caupi submetidas aos estresses hídrico e salino / Luma Rayane de Lima Nunes – 2019.
67 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Fitotecnia), Fortaleza, 2019.
Orientação: Prof. Dr. Alek Sandro Dutra.

1. Produção e tecnologia de sementes 2. *Vigna unguiculata* L 3. Ácido ascórbico 4. Estresse hídrico 5. Estresse salino I. Título.

CDD 630

LUMA RAYANE DE LIMA NUNES

ÁCIDO ASCÓRBICO NO CONDICIONAMENTO DE SEMENTES DE FEIJÃO-CAUPI
SUBMETIDAS AOS ESTRESSES HÍDRICO E SALINOS

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito para a obtenção de grau de Mestre em Agronomia/Fitotecnia. Área de temática: Produção e Tecnologia de Sementes.

Orientador: Prof. Dr. Alek Sandro Dutra.

Aprovada em: 11/fevereiro/2019

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Alek Sandro Dutra (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Clarete Cardoso Ribeiro
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB)

Profa. Dra. Haynna Fernandes Abud
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus, por ter me dado força e coragem para prosseguir nessa caminhada.

Aos meus pais e minha irmã pelo amor e apoio que sempre me deram nas minhas escolhas.

Obrigado, amo vocês!

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradecer é um ato nobre de demonstrar gratidão àqueles que estavam ao seu lado nos mais diversos momentos, sejam eles bons ou ruins. Então, nesse sentido venho por meio de singelas palavras agradecer profundamente aos que me prestaram ajuda ao longo de minha vida.

Primeiramente quero agradecer a Deus por ter me dado determinação e coragem para enfrentar todos os desafios que surgiram diariamente, por nos momentos de desespero, ele ter me dado força para continuar seguindo em frente.

À Universidade Federal do Ceará, em especial ao Departamento de Fitotecnia pela oportunidade concedida. Aos professores que fazem parte do Programa de Pós-graduação em Agronomia/Fitotecnia pela contribuição na minha formação profissional.

A CAPES, pelo apoio financeiro com a concessão da bolsa de estudo.

Aos meus pais Raimundo Nonato E. Nunes e Maria Lucirene de Lima, que sempre me deram apoio, força e motivação para nunca desistir dos meus objetivos.

A minha irmã, Olívia Bruna, por sempre me apoiar nos momentos bons ou ruins, onde nas horas de desespero e nervosismo sempre se manteve ao meu lado.

Ao Prof. Dr. Alek Sandro Dutra, que como orientador teve muita paciência, compreensão e confiança em mim. Sempre estando disponível a esclarecer as dúvidas que surgiam ao longo da realização de experimentos.

Aos membros da banca examinadora, Profa. Dra. Clarete Cardoso Ribeiro e a Profa. Dra. Haynna Fernandes Abud, pela disponibilidade de participar da defesa e pelas contribuições que foram sugeridas durante a qualificação do projeto de pesquisa.

À Rogério Maciel Nunes pela compreensão e companheirismo.

A todos os colaboradores do Laboratório de Análise de Sementes, da Universidade Federal do Ceará, em especial D. Regina e Luci.

Aos alunos da pós e bolsistas da graduação que frequentavam o LAS Liliane, Lílian, Hércules, João, Felipe, Bil, Muller e em especial a Charles e Paloma pela parceria no desenvolvimento de pesquisas e pelos momentos de descontração.

Àos meus amigos, Kássio Ewerton e Márcio Porfírio, pela convivência harmoniosa que tivemos ao longo de dois anos morando juntos.

Enfim, a todos que, direta e indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Condições estressantes, como os fatores ambientais causam impactos fisiológicos às plantas, inclusive o feijão-caupi, por produzir as espécies reativas de oxigênio, em que, seu acúmulo causa degradação das organelas e da membrana plasmática. O ácido ascórbico é um metabólito importante envolvido na defesa contra danos oxidativos. Objetivou-se avaliar os efeitos do condicionamento de sementes de feijão-caupi com ácido ascórbico na atenuação dos danos provocados pelos estresses salino e hídrico. Sementes dos genótipos BRS Marataoã e Setentão foram condicionadas nas concentrações 0,0 (controle); 0,25; 0,50; 0,75 e 1,00 mM de AsA e semeadas em rolos de papel (Germitest®), umedecidos em soluções de NaCl e manitol nos potenciais de 0,0 (controle); 1,5; 3,0, 4,5; 6,0 e 7,5 dS m⁻¹; e 0,0 (controle); - 0,3; - 0,6; - 0,9 e -1,2 MPa, respectivamente, e acondicionados em câmara de germinação na temperatura de 25 °C. Conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições de 50 sementes por tratamento. As variáveis analisadas foram porcentagem de germinação, primeira contagem de germinação, índice de velocidade de germinação, comprimento da parte aérea e da raiz, massa seca total da plântula e extravasamento de eletrólitos das folhas e da raiz. O condicionamento das sementes com ácido ascórbico nas concentrações de 0,50 e 0,75 mM para os genótipos BRS Marataoã e Setentão, respectivamente possibilitou o desenvolvimento de plântulas mais vigorosas e a redução dos danos às membranas ocasionado pelo estresse oxidativo tanto na ausência de água e sal quanto para os potenciais osmóticos e os níveis salinos testados.

Palavras-chave: *Vigna unguiculata* L.. Déficit hídrico. Espécies reativas de oxigênio. Estresse salino.

ABSTRACT

Stressful conditions, such as environmental factors, cause physiological impacts to plants, including cowpea, for producing reactive oxygen species, in which their accumulation causes degradation of the organelles and the plasma membrane. Ascorbic acid is an important metabolite involved in the defense against oxidative damage. The objective of this study was to evaluate the effects of conditioning cowpea seeds with ascorbic acid to attenuate the damage caused by saline and water stresses. Seeds of BRS Marataoã and Setentão genotypes were conditioned at concentrations 0,0 (control); 0.25; 0.50; 0.75 and 1.00 mM of AsA and seeded on paper rolls (Germitest®), moistened in NaCl and mannitol solutions at 0.0 (control) potentials; 1.5; 3.0, 4.5; 6.0 and 7.5 dS m⁻¹; and 0.0 (control); - 0.3; - 0.6; - 0.9 and -1.2 MPa, respectively, and placed in a germination chamber at a temperature of 25 °C. Conducted in a completely randomized design, with four replicates of 50 seeds per treatment. The analyzed variables were percentage of germination, first germination count, germination speed index, shoot and root length, total seedling dry mass, and extravasation of leaf and root electrolytes. The conditioning of the seeds with ascorbic acid at concentrations of 0.50 and 0.75 mM for BRS Marataoã and Setentão genotypes, respectively, allowed the development of more vigorous seedlings and the reduction of membrane damage caused by oxidative stress in the absence of water and salt as well as for osmotic potentials and salt levels tested.

Keywords: *Vigna unguiculata* L.. Water déficit. Reactive oxygen species. Saline stress.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Germinação de genótipos de feijão-caupi em diferentes potenciais osmóticos e condicionados em ácido ascórbico.....	25
Figura 2 - Primeira contagem de germinação de genótipos de feijão-caupi em diferentes potenciais osmóticos e condicionados em ácido ascórbico.....	27
Figura 3 - Índice de velocidade de germinação de genótipos de feijão-caupi em diferentes potenciais osmóticos e condicionados em ácido ascórbico.....	28
Figura 4 - Comprimento da parte aérea das plântulas de genótipos de feijão-caupi em diferentes potenciais osmóticos e condicionados em ácido ascórbico.....	29
Figura 5 - Comprimento da parte raiz das plântulas de genótipos de feijão-caupi em diferentes potenciais osmóticos e condicionados em ácido ascórbico.....	31
Figura 6 - Massa seca das plântulas de genótipos de feijão-caupi em diferentes potenciais osmóticos e condicionados em ácido ascórbico.....	32
Figura 7 - Extravasamento de eletrólitos dos genótipos de feijão-caupi em diferentes potenciais osmóticos e condicionados em ácido ascórbico.....	33
Figura 8 - Germinação de genótipos de feijão-caupi em diferentes níveis salinos e condicionados em ácido ascórbico.....	42
Figura 9 - Primeira contagem de germinação de genótipos de feijão-caupi em diferentes níveis salinos e condicionados em ácido ascórbico.....	44
Figura 10 - Índice de velocidade de germinação de genótipos de feijão-caupi em diferentes níveis salinos e condicionados em ácido ascórbico.....	45
Figura 11 - Comprimento da parte aérea das plântulas de genótipos de feijão-caupi em diferentes níveis salinos e condicionados em ácido ascórbico.....	46
Figura 12 - Comprimento da parte raiz das plântulas de genótipos de feijão-caupi em diferentes níveis salinos e condicionados em ácido ascórbico.....	48
Figura 13 - Massa seca das plântulas de genótipos de feijão-caupi em diferentes níveis salinos e condicionados em ácido ascórbico.....	49
Figura 14 - Extravasamento de eletrólitos dos genótipos de feijão-caupi em diferentes níveis salinos e condicionados em ácido ascórbico.....	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Quantidade de Ácido ascórbico (AsA) utilizada para o preparo das diferentes concentrações para condicionamento das sementes de feijão-caupi.....	21
Tabela 2 - Quantidade de Manitol utilizada para o preparo dos diferentes potenciais osmóticos para umedecimento do substrato.....	22
Tabela 3 - Valores do quadrado médio e significância para as variáveis Teste de germinação (G%), Primeira contagem de germinação (PC%), Índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da parte aérea (CPA) e do sistema radicular (CR), massa seca da plântula inteira (MSP), extravasamento de eletrólitos das folhas (EPA) e do sistema radicular (ER) sob estresse hídrico.....	24
Tabela 4 - Quantidade de Ácido ascórbico (AsA) utilizada para o preparo das diferentes concentrações para condicionamento das sementes de feijão-caupi.....	38
Tabela 5 - Quantidade de cloreto de sódio (NaCl) utilizada para o preparo dos diferentes potenciais osmóticos para umedecimento do substrato.....	39
Tabela 6 - Valores do quadrado médio e significância para as variáveis Teste de germinação (G%), Primeira contagem de germinação (PC%), Índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da parte aérea (CPA) e do sistema radicular (CR), massa seca da plântula inteira (MSP), extravasamento de eletrólitos das folhas (EPA) e do sistema radicular (ER) sob estresse salino.....	41

LISTA DE ABREVIATURAS

ASA	Ácido ascórbico
BOD	Biochemical Oxygen Demand
CPA	Comprimento da parte aérea
CR	Comprimento das raízes
CV	Coefficiente de variação
ER	Extravasamento de eletrólitos das raízes
EPA	Extravasamento de eletrólitos das folhas
EROs	Espécies reativas de oxigênio
FV	Fonte de variação
G	Teste de germinação
Gt	Genótipos
IVG	Índice de velocidade de germinação
MSP	Massa seca da plântula inteira
PC	Teste de primeira contagem de germinação
Pot	Potencial osmótico

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	09
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	11
2.1	A cultura do feijão-caupi: aspectos gerais e econômicos.....	11
2.2	Deterioração e viabilidade de sementes.....	12
2.3	Estresse hídrico e salino na germinação.....	14
2.4	Extresse oxidativo: causas e malefícios às células.....	15
2.5	Ácido ascórbico no condicionamento de sementes.....	16
3	ARTIGO 1	18
3.1	Introdução.....	20
3.2	Material e métodos.....	21
3.3	Resultados e discussão.....	23
3.4	Conclusão.....	34
4	ARTIGO 2	35
4.1	Introdução.....	37
4.2	Material e métodos.....	38
4.3	Resultados e discussão.....	40
4.4	Conclusão.....	51
5	CONCLUSÃO	52
	REFERÊNCIAS	53

1 INTRODUÇÃO

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) trata-se de uma Fabacea com grande importância social e econômica servindo como fonte direta de emprego e como alimento de alto valor nutritivo, principalmente para as regiões Norte e Nordeste do Brasil, devido a características de rusticidade, adaptação e precocidade, possibilitando a produção em ambientes desfavoráveis.

A germinação e o desenvolvimento vegetal podem ser afetadas por muitos fatores, compreendendo desde o preparo do solo, as condições ambientais da região, fatores bióticos e abióticos, a colheita, mas principalmente, a qualidade inicial das sementes que serão utilizadas no plantio da lavoura. Na maioria das vezes, as condições encontradas pelas sementes não são adequadas, como no caso dos solos salinos, que influenciam negativamente a germinação e a velocidade de germinação, por aumentar o potencial osmótico do solo, fazendo com que, a semente não absorva água.

A água é fator limitante ao processo de germinação das sementes, por ser a responsável pela ativação de diferentes processos metabólicos e está envolvida, direta ou indiretamente, em todas as outras etapas subsequentes do metabolismo vegetal, atuando como um agente estimulador e controlador, pois, além de promover o amolecimento do tegumento, favorece a penetração do oxigênio, proporciona aumento no volume do embrião e dos tecidos de reserva, estimula as atividades metabólicas básicas, favorecendo o crescimento do eixo embrionário (MARCOS FILHO, 2015).

A germinação envolve uma série de atividades metabólicas, com uma sequência programada de reações químicas dependentes da atividade de um sistema enzimático específico. É fortemente influenciada pela temperatura, que atua diretamente na velocidade de absorção de água e nas reações de desdobramento e transporte das substâncias de reserva armazenadas para o eixo embrionário.

Os fatores abióticos (salinidade, estresse hídrico) intensificam o processo respiratório, resultando no aumento da concentração de oxigênio nas células, que passa a servir como substrato para produção de derivados tóxicos aos vegetais. Esses compostos são conhecidos por espécies reativas de oxigênio (EROs), e dentre os mais conhecidos, podem ser citados, superóxido ($O_2^{\cdot-}$), oxigênio singlete ($^1O^2$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radicais hidroxila (OH^{\cdot}), que podem desencadear um processo autocatalítico de oxidação das membranas, resultando na degradação de organelas e da membrana plasmática, bem como na morte celular.

Em condições naturais, as plantas e as sementes produzem as EROs, mas devido aos mecanismos naturais de defesa, sejam eles, antioxidantes enzimáticos ou não enzimáticos, é possível se manter o equilíbrio entre a sua produção e eliminação. Entretanto, diante alguma situação estressante, se intensifica a produção dessas espécies, mas o mecanismo de defesa não é mais suficiente na proteção contra os danos, culminando com seu acúmulo nos compartimentos celulares (estresse oxidativo), ocasionando uma série de prejuízos ao funcionamento fisiológico, podendo levar até a morte celular.

Dentre os antioxidantes não enzimáticos presentes nos vegetais se destaca o ácido ascórbico (AsA), devido a sua grande importância por estar diretamente envolvido na defesa contra os danos oxidativos, favorece o redirecionamento das substâncias de reserva disponíveis à germinação, reduzindo assim, o tempo necessário para germinação.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 - A cultura do feijão-caupi: aspectos gerais e econômicos

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.) é uma dicotiledônea pertencente à família Fabaceae, amplamente cultivada nas regiões semiáridas da África, Estados Unidos e Brasil. No âmbito nacional, a cultura apresenta elevada importância para as regiões Norte e Nordeste, devido a tradição de seu cultivo, comércio e consumo (ROCHA *et al.*, 2009).

Acredita-se que século XVI essa espécie foi introduzida na América Latina no pelos colonizadores espanhóis e portugueses, primeiramente nas colônias espanholas e logo em seguida no Brasil, sendo cultivado inicialmente na Bahia e levado para o interior do Nordeste, expandindo-se também para outras regiões brasileiras (FREIRE FILHO *et al.*, 2011).

Embora o uso de feijão-caupi seja muito semelhante ao do feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.), opta-se por sua produção devido às suas características de rusticidade, adaptabilidade, precocidade e capacidade de produzir em ambientes desfavoráveis. Trata-se de uma cultura com grandes perspectivas frente à escassez de alimento que há nos países em desenvolvimento, entre os quais se inclui o Brasil, em particular, a região Nordeste (SOUSA *et al.*, 2013). Também conhecido por feijão-de-corda, feijão-de-estrada, feijão-fradinho e feijão macassar, constitui-se como a principal cultura de subsistência, com a produção média nacional de 789,5 mil toneladas em uma área de 1495,3 mil hectares na safra 2018/2019. Já para o estado do Ceará, estima-se uma produção média de 118,1 mil toneladas em 400,2 mil hectares, atingindo uma produtividade média de 292 kg.ha⁻¹ para mesma safra (CONAB, 2018).

Apresenta grande variabilidade genética aos caracteres de interesse agrônomo (números de vagens, números de grãos por vagens, produtividade, etc), inclusive para o porte da planta além de que as cultivares brasileiras são, quase em sua totalidade, de crescimento indeterminado e de portes semi-prostrados e prostrados (FREIRE FILHO *et al.*, 2009). Seu ciclo pode ser classificado em: extraprecoce – maturidade alcançada até 60 dias após a semeadura (DAS); precoce – maturidade alcançada entre 61 e 70 DAS; ciclo médio-precoce – de 71 a 80 DAS; ciclo médio-tardio – de 81 a 90 DAS, e ciclo tardio – a partir de 91 DAS (FREIRE FILHO *et al.*, 2005a).

Por se tratar de uma Fabaceae consegue extrair maior parte do nitrogênio necessário a seu desenvolvimento diretamente da atmosfera, devido às associações com bactérias do gênero *Rhizobium*. Isso ocorre devido uma relação simbiótica, em que a planta oferece metabólitos aos microorganismos, enquanto a bactéria se instala na raiz formando nódulos, realizando a conversão do nitrogênio atmosférico para a forma de amônia (TAIZ *et al.*, 2017).

A cultivar BRS Marataoã foi lançada em 2004 pela Embrapa Meio-Norte (FREIRE FILHO *et al.*, 2004). Foi obtida do cruzamento da cultivar Seridó, procedente do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, com a linhagem TVX 1836-013J, introduzida do International Institute of Tropical Agriculture (IITA), em Ibadan, Nigéria. As gerações segregantes foram conduzidas pelo meio da descendência de uma única vagem até a geração F6, quando então foram abertas as linhagens, entre as quais foi selecionada a CNCx 409-11F, posteriormente lançada como BRS Marataoã (OLIVEIRA *et al.*, 2014).

Como características, tem o hábito de crescimento indeterminado, porte semi-prostado e ciclo vegetativo variando de 70-75 dias. Apresenta ramos relativamente consistentes, que contribuem para boa resistência ao acamamento; inserção das vagens acima da folhagem; grãos do tipo sempre-verde; e a arquitetura da planta é adequada para colheita mecânica, com o dessecamento das plantas. Apresenta resistência à mancha-café (*Colletotrichum truncatum*), imune ao vírus do mosaico-severo-do-caupi (*Cowpea severe mosaic Virus* – CSMV) e comporta-se moderadamente resistente ao vírus transmitido por pulgão (*Cowpea aphid-borne mosaic virus* - CABMV) e ao vírus o mosaico-dourado-do-caupi (*Cowpea Golden mosaic virus*- CGMV) (FREIRE FILHO *et al.*, 2005b).

Dentre as várias cultivares recomendadas para o plantio no estado do Ceará, destaca-se a cultivar “Setentão”, por apresentar boa capacidade produtiva. É denominada de "Setentão" em comemoração aos 70 anos de fundação do Curso de Agronomia no Estado do Ceará. Apresenta como características: hábito de crescimento indeterminado, porte semi-ramador, folha semi-ovalada, cor da vagem amarela, comprimento da vagem em média de 21 cm, forma da vagem romboide, cor do tegumento creme esverdeado, floração aos 48 dias, ciclo 65 a 70 dias, apresenta em média 14 grãos por vagem, peso de 100 sementes em média de 19,8 grama e produtividade de 1.200 kg ha⁻¹; é resistente ao "*cowpea severe mosaic virus*" (CpSMV, vírus do mosaico severo do caupi) e altamente resistente a uma estirpe de "*cucumber mosaic virus*" (CMV, vírus do mosaico do pepino) (PAIVA *et al.*, 1990).

2.2 - Deterioração e viabilidade de sementes

Deterioração pode ser definida como uma sequência de processos que acarretam uma série de alterações fisiológicas, bioquímicas, físicas e citológicas, com início a partir da maturidade fisiológica, em ritmo progressivo, determinando a queda da qualidade e culminando com a morte da semente (MARCOS FILHO, 2015). A taxa na qual o processo ocorre depende

da capacidade da semente em resistir às alterações de degradação, e os mecanismos de proteção, que são específicos para cada espécie vegetal (MOHAMMADI *et al.*, 2011).

As lesões celulares e moleculares ocorridas durante o processo de deterioração, incluem reações hidrolíticas, oxidativas e peroxidativas. Em que, após serem reidratadas, reativando o metabolismo durante a germinação, estas lesões ocasionam falhas na divisão celular, comprometendo as reações de reparo, biossíntese e produção de energia, além de causarem o extravio da compartimentalização intracelular (KIBINZA *et al.*, 2006).

Desestruturado o sistema de membranas, os lipídios estruturais presentes reagem com o oxigênio molecular, produzindo radicais livres e peróxidos de ácidos graxos com relativa instabilidade (FREITAS *et al.*, 2006), processo que resulta na formação das espécies reativas de oxigênio (EROs), que as sementes, quando expostas a qualquer tipo de estresses bióticos ou abióticos intensificam sua produção, vindo a estabelecer um desbalanço entre a produção e sua eliminação, caracterizando um estresse oxidativo.

As espécies reativas de oxigênio são moléculas quimicamente reativas, contendo oxigênio e são formadas como subproduto natural do seu metabolismo. Têm papel importante à sinalização celular e homeostase, participando de uma sofisticada rede de vias de sinalização em plantas, em resposta à situação de estresse (BARBOSA *et al.*, 2014).

As plantas desenvolveram mecanismos de defesa capazes de neutralizar a citotoxicidade das EROs, dentre eles, o sistema antioxidante enzimático composto por enzimas capazes de sinalizar o estresse, permitindo que as plantas protejam suas células (FOYER; SHIGEOKA, 2011); e os não enzimáticos, que exercem o papel protetor contra o estresse oxidativo evitando a formação de radicais livres. Esses sistemas juntos atuam na eliminação das espécies reativas de oxigênio (EROs) e na redução do dano oxidativo (DINAKAR *et al.*, 2012).

As enzimas antioxidantes estão presentes em diferentes compartimentos celulares (mitocôndrias, cloroplastos e peroxissomos), contribuindo para o controle das espécies reativas de oxigênio nas plantas, o que confere um estágio de homeostase redox no sistema (DINAKAR *et al.*, 2012). Destacam-se a superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX), glutathione redutase (GR), peroxidases (POD), catalase (CAT) e polifenoloxidase (PPO). Entre os principais metabólitos antioxidantes, encontram-se o ácido ascórbico (AsA), a glutathione (GSH), o α -tocoferol e os carotenoides (BARBOSA *et al.*, 2014).

2.3 - Estresses hídrico e salino na germinação

A salinidade é um dos principais estresses ambientais que afetam negativamente o crescimento e o metabolismo vegetal, além de ser um dos fatores responsáveis pelo decréscimo da produtividade das culturas nas regiões áridas e semiáridas. Apesar de refletir diretamente na produção, manifesta-se primeiramente na germinação das sementes (FURTADO *et al.*, 2007).

Em solos salinos, a redução do crescimento tem sido atribuída ao estresse osmótico, provocado pela alta concentração de sais, reduzindo diretamente o potencial hídrico e retendo a água (MOTERLE *et al.*, 2008), tornando-a cada vez menos acessível às plantas, consistindo em um efeito similar ao déficit hídrico do solo (NARS *et al.*, 2012) e ao efeito iônico causado pelo acúmulo de íons nos tecidos vegetais (MUNNS; TESTER, 2008), que podem afetar diversos processos fisiológicos das plantas de forma negativa, ao reduzir a fotossíntese, ou positiva, desde que não sejam atingidos níveis tóxicos, pela promoção do ajuste osmótico, que contribui para manutenção da turgescência e do crescimento (SOUZA *et al.*, 2011).

Dentre os efeitos provocados pelo estresse salino nas plantas, destacam-se a inativação de enzimas, inibição da síntese proteica, comprometimento da expansão e a divisão celular, dos crescimentos vegetativo e reprodutivo e intensificação da senescência das folhas (TAIZ *et al.*, 2017); compromete diversas funções fisiológicas e bioquímicas, provocando estresse osmótico, resultando em distúrbios hídricos, alterações na absorção e utilização de nutrientes essenciais (CALVET *et al.*, 2013). A toxicidade iônica pode ainda ocasionar atraso na emergência das plântulas e na mobilização de reservas ou até diminuir a viabilidade das sementes, por afetar processos fisiológicos e metabólicos dos tecidos embrionários (ESTEVES; SUZUKI, 2008).

O feijão-caupi é considerada uma espécie bem adaptada à salinidade, cuja tolerância tem sido associada, pelo menos em parte, à restrição do acúmulo de Na⁺ nas folhas, que é compartimentalizado no sistema radicular nos estágios iniciais de exposição ao estresse salino (CAVALCANTI *et al.*, 2004). Entretanto, seu efeito sobre as plantas pode variar, tanto pelo genótipo, como também pela composição e concentração iônica do meio e até mesmo as condições climáticas (WILSON *et al.*, 2006).

A restrição hídrica é um dos fatores mais limitantes à propagação de espécies via sementes, uma vez que a água ativa diferentes processos metabólicos que culminam com a germinação e está envolvida, direta ou indiretamente, em todas as outras etapas subsequentes do metabolismo vegetal (NASR *et al.*, 2012).

O estresse hídrico causado pela redução da disponibilidade de água provoca graves danos às células das plantas, afetando o crescimento, desenvolvimento e a produtividade (ANJUM *et al.*, 2011). A falta de água no solo, muitas vezes, causa o estresse oxidativo nas plantas, o que impede o funcionamento normal da célula e, em nível mais avançado, pode causar a morte vegetal (MENEZES *et al.*, 2006). Nessas condições, os vegetais tentam manter seu potencial hídrico por meio da acumulação de osmoprotetores e/ou solutos compatíveis no interior da célula, independente do volume resultante da perda de água (TAIZ *et al.*, 2017). O ajuste osmótico é visto como uma das principais respostas das plantas ao estresse hídrico, estando relacionado com o grau de tolerância vegetal (RHEIN *et al.*, 2011).

A disponibilidade de água no solo é um fator limitante a produção de feijão, principalmente nos estágios mais críticos: germinação, florescimento e enchimento de grãos (SORATTO *et al.*, 2003), com o consumo passando de um valor mínimo na germinação até um valor máximo na floração e na formação de vagens, decrescendo a partir do início da maturação (NÓBREGA *et al.*, 2001).

As respostas das plantas ao déficit hídrico podem ser divididas entre retardo da desidratação, que corresponde à capacidade da planta em manter a hidratação de seus tecidos; tolerância à desidratação, que é a capacidade da planta em manter seu metabolismo enquanto desidratada; e o escape da seca, que engloba as espécies que completam seu ciclo durante a estação úmida, antes do início da seca (NASCIMENTO *et al.*, 2011).

A redução da produtividade das culturas devido à ocorrência de estresse hídrico e/ou salino está diretamente relacionada a três efeitos, o fechamento estomático que limita a assimilação líquida de CO₂, e é consequência dos efeitos osmóticos dos sais; a inibição da expansão foliar que reduz a área destinada ao processo fotossintético, devido ao acúmulo excessivo de íons tóxicos, de distúrbios na nutrição mineral e/ou da redução na turgescência; e a aceleração da senescência de folhas maduras que também reduz a produção de fotoassimilados (LACERDA *et al.*, 2003). Nas sementes, ocorre redução na porcentagem e na velocidade de germinação, predispondo a plântula a uma menor resistência às condições ambientais adversas (KAPPES *et al.*, 2010).

2.4 - Estresse oxidativo: causas e malefícios às células

A evolução dos processos aeróbios, tais como a respiração e a fotossíntese, inevitavelmente, acarretam em produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), principalmente nos cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos, sendo que, em condições de

estresse sua produção e acúmulo é aumentada (BARBOSA *et al.*, 2014). Todos os estresses ambientais desencadeiam uma grande variedade de respostas fisiológicas nas plantas, alterando a expressão gênica e o metabolismo celular (PASTORI; FOYER, 2002). Além de promover o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio nas células vegetais, que, diante essas condições, os estômatos são fechados pela ação do ácido abscísico, reduzindo a concentração de CO₂ e elevando a de O₂, que associadas à baixa disponibilidade de NADP⁺ para captar os elétrons provenientes do fotossistema I, a formação das EROs nos cloroplastos é favorecida, devido ao desvio dos elétrons para o oxigênio molecular (EL-BAKY *et al.*, 2003).

Por serem altamente reativas, o acúmulo das EROs é a principal causa do estresse oxidativo nas espécies vegetais devido ao desequilíbrio entre a produção e a eliminação das EROs (BECANA *et al.*, 2010). Onde esse acúmulo resulta em danos celulares, como a oxidação de lipídios, proteínas e ácidos nucleicos (PASTORI; FOYER, 2002); danos nas membranas celulares, provocando a apoptose (LORETO *et al.*, 2001), acontecendo não só nos cloroplastos, mas também nas mitocôndrias e nos peroxissomos (VOSS *et al.*, 2013).

As EROs são formas parcialmente reduzidas do oxigênio atmosférico (O₂), resultante da excitação do mesmo para formar oxigênio singleto ou pela transferência de um, dois ou três elétrons para o O₂, formando, respectivamente, o radical superóxido (O₂^{•-}), o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) ou o radical hidroxila (OH[•]) (MITTLER, 2002). O O₂^{•-} é produzido pela reação parcial do O₂ (oxigênio molecular) e é caracterizado como de vida curta, é capaz de originar o H₂O₂ e o OH[•]. O primeiro também pode ser formado a partir do O₂^{•-} por dismutação não enzimática em pH baixo ou pela ação de metais de transição, como o cobre e o ferro, pela reação de Haber-Weiss. Já, o OH[•] pode ser gerado a partir do H₂O₂ pela ação do ferro na reação de Fenton (GILL; TUTEJA, 2010). Sementes ortodoxas maduras, o baixo teor de água mantém os tecidos em estado vítreo, de modo que as EROs não são produzidas por reações enzimáticas. Sendo assim, as principais fontes nestas sementes são as reações não enzimáticas, como a peroxidação lipídica e as reações de Maillard (BAILLY *et al.*, 2008).

2.5 - Ácido ascórbico no condicionamento de sementes

É considerada a molécula celular com maior poder antioxidante, graças às suas propriedades químicas que permitem a esta molécula doar elétrons a um grande número de reações enzimáticas e não enzimáticas (GILL; TUTEJA, 2010).

Apesar do nível de ácido ascórbico (AsA) ser variável nos tecidos vegetais (VENKATESH *et al.*, 2012), trata-se do metabólito mais abundante nas plantas, com elevadas

concentrações nos tecidos fotossintetizantes, enquanto nos tecidos meristemáticos, flores, frutos jovens, raiz e tubérculos as menores concentrações (GEST *et al.*, 2013), se encontra disponível, principalmente, na sua forma reduzida (KHAN *et al.*, 2011). Atua como tampão redox e cofator enzimático (MULLER-MOULE *et al.*, 2002). Sua forma de ação pode ser por interação química direta com as EROs, ou a partir da reação catalisada pela enzima ascorbato peroxidase (APX) durante a fotossíntese, ou em reação ao estresse oxidativo induzido (GALLIE, 2013).

É conhecido por proteger organelas e células contra as EROs, evitando seu acúmulo induzidos pelo estresse (BELTAGI, 2008). Controla a divisão e expansão celular, atuando na biossíntese de hormônio (giberelina), regeneração de antioxidantes e envolvidos na fotossíntese e respiração (GALLIE, 2013). Está envolvido no processo responsável pelo redirecionamento das substâncias de reserva disponível para a nutrição do embrião (TOMMASI *et al.*, 2001).

Como agente condicionante, o ácido ascórbico apresenta vantagens por ser solúvel em água, com sua aplicação exógena sendo indicada como forma de combate ao estresse em sementes, por agir como indutor de proteínas de tolerância ao estresse (MCCUE *et al.*, 2000), proteção contra a peroxidação de lipídeos e as espécies reativas de oxigênio induzidas pelo envelhecimento (FOYER; NOCTOR, 2005). Além de promover a melhoria no potencial de germinação de sementes oleaginosas quando submetidas a armazenamento prolongado (DOLATABADIAN; MODARRES SANAVY, 2008) ou de sementes envelhecidas artificialmente (KRANNER *et al.*, 2006).

Diversos estudos avaliando os benefícios do AsA no tratamento de sementes na proteção contra estresses bióticos e abióticos já foram desenvolvidos. Quando submetidas a níveis crescentes de salinidade, foi relatado um aumento na germinação e melhoria no desenvolvimento das plântulas em campo para culturas como, batata (VENKATESH *et al.*, 2012); ervilha (BELTAGI, 2008; ALQURAINY, 2007); feijão (ALQURAINY, 2007; AZOOZ; AL-FREDAN, 2009); sorgo (ARAFI *et al.*, 2007); tabaco (SUN *et al.*, 2010); tomate (BARH *et al.*, 2008; ZHANG *et al.*, 2011). Para o estresse hídrico, Santos *et al.* (2018) concluíram que a aplicação de AsA apresenta potencial para atenuar os efeitos desse déficit em plantas de rabanete, observando incremento na taxa fotossintética.

3 ARTIGO 1

Submetido a Revista Ciência Agronômica

Efeitos do ácido ascórbico na germinação e vigor de sementes de feijão-caupi sob estresse hídrico

RESUMO

A água é um dos fatores que mais compromete a germinação e o crescimento inicial das plântulas, com sua restrição provocando reduções no potencial hídrico da célula, além de causar o estresse oxidativo. O ácido ascórbico (AsA) é conhecido por proteger organelas e células contra as EROs evitando seu acúmulo. Objetivou-se estudar os efeitos do ácido ascórbico no condicionamento de sementes de feijão-caupi submetidos ao estresse hídrico. As sementes dos genótipos BRS Marataoã e Setentão foram condicionadas nas concentrações 0,0 (controle); 0,25; 0,50; 0,75 e 1,00 mM de AsA e semeadas em rolos de papel (Germitest®), umedecidos com soluções de manitol nos potenciais de 0,0 (controle); -0,3; -0,6; -0,9 e -1,2 MPa e acondicionados em câmara de germinação (B.O.D.) na temperatura de 25 °C. Conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema de fatorial 2×5×5, com quatro repetições de 50 sementes por tratamento. As variáveis analisadas foram porcentagem de germinação, primeira contagem de germinação, índice de velocidade de germinação, comprimento da parte aérea e da raiz, massa seca total da plântula e extravasamento de eletrólitos das folhas e da raiz. O condicionamento das sementes com ácido ascórbico nas concentrações de 0,50 mM para o genótipo BRS Marataoã e 0,75 mM para o Setentão, possibilitou o desenvolvimento de plântulas mais vigorosas e a redução dos danos às membranas ocasionado pelo estresse oxidativo tanto na ausência de estresse quanto para os níveis salinos e potenciais osmóticos testados.

Palavras-chave: *Vigna unguiculata* L.. Déficit hídrico. Estresse oxidativo. Vigor.

Effects of ascorbic acid on germination and vigor of cowpea seeds under water stress

ABSTRACT

Water is one of the factors that most compromises the germination and initial growth of the seedlings, with its restriction causing reductions in the water potential of the cell, besides causing oxidative stress. Ascorbic acid (AsA) is known to protect organelles and cells against ROS by preventing accumulation. The objective of this study was to study the effects of ascorbic acid on the conditioning of cowpea beans subjected to water stress. Seeds of BRS Marataoã and Setentão genotypes were conditioned at concentrations 0,0 (control); 0.25; 0.50; 0.75 and 1.00 mM AsA and seeded on paper rolls (Germitest®), moistened with mannitol solutions at 0.0 (control) potentials; -0.3; -0.6; -0.9 and -1.2 MPa and placed in a germination chamber (B.O.D.) at a temperature of 25 °C. Conducted in a completely randomized design, in a $2 \times 5 \times 5$ factorial scheme, with four replicates of 50 seeds per treatment. The analyzed variables were percentage of germination, first germination count, germination speed index, shoot and root length, total seedling dry mass, and extravasation of leaf and root electrolytes. The seed conditioning with ascorbic acid at concentrations of 0.50 mM for the genotype BRS Marataoã and 0.75 mM for the Setentão, allowed the development of more vigorous seedlings and the reduction of the damage to the membranes caused by oxidative stress both in the absence of stress levels and for the osmotic potentials and saline levels tested.

Keywords: *Vigna unguiculata* L.. Water déficit. Oxidative stress. Vigor.

3.1 - Introdução

A água é um dos fatores que mais compromete a germinação e o crescimento inicial das plântulas, por compor a matriz necessária à maioria dos processos bioquímicos e fisiológicos (TAIZ *et al.*, 2017). Quando disponível, ocorre a hidratação dos tecidos, intensificação da respiração (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012; MARCOS FILHO, 2015), e o controle sobre a estrutura e propriedade das proteínas, das membranas, dos ácidos nucleicos e de outros constituintes celulares (TAIZ *et al.*, 2017).

A restrição de água no solo, fenômeno comum nas regiões áridas e semiáridas, provoca redução no potencial hídrico da planta e, conseqüentemente, no turgor, aumentando a toxicidade iônica e a inibição da fotossíntese, levando a uma limitação das funções fisiológicas e bioquímicas das células; nessas condições as plantas ativam mecanismos complexos de resposta à escassez hídrica, envolvendo mudanças deletérias e/ou adaptativas, com o intuito de evitar ou tolerar o período de estresse (LISAR *et al.*, 2012).

Períodos pós-semeadura com déficits hídricos prolongados podem causar a deterioração das sementes, prejudicando o potencial fisiológico, que passa a interferir na emergência de plântulas, causando redução no stand de plantas a campo (CARVALHO *et al.*, 2016). Além do mais, a falta de água no solo, muitas vezes, causa um estresse oxidativo nas plantas (BARBOSA *et al.*, 2014), acarretando na formação de espécies reativa de oxigênio (EROs) nas células vegetais, especialmente o ânion superóxido (O_2^-), o radical hidroxila (OH) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (MAIA *et al.*, 2012). Normalmente, a geração e eliminação das EROs estão em estado de equilíbrio dinâmico, mas ao ser submetidas a alguma situação estressante, um desequilíbrio nessa relação é observado, implicando em seu acúmulo (KRANNER *et al.*, 2010).

O excesso de espécies reativas de oxigênio causa danos nas membranas e macromoléculas, afetam o metabolismo celular das plantas sob estresse hídrico, podendo levar à morte celular (BARBOSA *et al.*, 2014; LISAR *et al.*, 2012). Entre as principais conseqüências do acúmulo de EROs na célula estão a peroxidação dos lipídios, a oxidação de proteínas, a inibição enzimática, danos em nível de DNA e RNA e, conseqüentemente, a senescência, o mau funcionamento da fotossíntese e a necrose das folhas (SCANDALIOS, 2005).

Nessas condições, os vegetais tentam manter o seu potencial hídrico por meio da acumulação de osmoprotetores e/ou solutos compatíveis no interior da célula, independente do volume resultante da perda de água (TAIZ *et al.*, 2017), além da adoção de recursos estruturais para melhorar o funcionamento celular sob estresse hídrico (LISAR *et al.*, 2012). O ácido ascórbico é considerado uma molécula celular com grande poder antioxidante, graças às suas

propriedades químicas de doar elétrons a um grande número de reações enzimáticas e não enzimáticas (GILL; TUTEJA, 2010), protegendo organelas e células contra as EROs, evitando seu acúmulo induzidos pelo estresse (BELTAGI, 2008).

Diante do exposto objetivou-se estudar os efeitos do ácido ascórbico no condicionamento de sementes de feijão-caupi submetidos ao estresse hídrico

3.2 - Material e métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Fitotecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, Campus do Pici - Fortaleza, utilizando sementes de feijão-caupi dos genótipos BRS Marataoã e Setentão.

Inicialmente, às sementes foram submetidas a determinação do grau de umidade e do peso de mil sementes conforme descrito por Brasil (2009).

As sementes foram desinfetadas por meio da imersão em solução de álcool 70% (v/v) com agitação por 30 segundos, seguida de duas lavagens rápidas com água destilada. Logo após, imersas em solução de hipoclorito de sódio 2,5% (v/v) por 2 minutos, lavadas com água destilada e, secadas em papel toalha. Posteriormente, procedeu-se o condicionamento destas em rolos de papel tipo Germitest®, umedecidos com solução de ácido ascórbico nas concentrações de 0,0; 0,25; 0,50; 0,75 e 1,0 mM (Tabela 1), na proporção de 2,5 vezes o peso do substrato, por um período de 4 horas a 25 °C (BRILHANTE *et al.*, 2013).

Tabela 1 – Quantidade de Ácido ascórbico (AsA) utilizada para o preparo das diferentes concentrações para condicionamento das sementes de feijão-caupi.

Concentração (mM)	AsA (g.L ⁻¹ de água destilada)
0,0	0,00
0,25	48,93
0,50	97,85
0,75	146,78
1,00	195,70

Decorrido esse tempo, as sementes condicionadas foram distribuídas em rolos de papel tipo Germitest®, umedecidos com solução salina, na proporção de 2,5 vezes o peso do substrato. As soluções foram ajustadas às concentrações de 0,0 (controle); - 0,3; - 0,6; - 0,9; -

1,2 MPa pela diluição do manitol em água destilada, com base na fórmula proposta por Van't Hoff, ou seja: $\Psi_{os} = -RTC$, em que: Ψ_{os} = potencial osmótico (atm); R= constante geral dos gases perfeitos ($8,32 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$); T = temperatura (K); C = concentração (mol L^{-1}) e T (K) = $273+T$ ($^{\circ}\text{C}$). Para cada tratamento foram utilizadas 200 sementes, as quais foram distribuídas em 4 rolos de papel, com 50 sementes cada, e acondicionadas em câmara de germinação do tipo Biochemical Oxygen Demand (BOD), a temperatura de 25°C .

Tabela 2 – Quantidade de Manitol utilizada para o preparo dos diferentes potenciais osmóticos para umedecimento do substrato.

Potencial osmótico (MPa)	Manitol (g.L^{-1} de água destilada)
0,00	0,00
- 0,30	22,23
- 0,60	44,58
- 0,90	66,87
- 1,20	89,17

A primeira contagem e a contagem final do teste de germinação foram realizadas no quinto e oitavo dia após a instalação do teste, respectivamente. Foi considerada a porcentagem de plântulas normais utilizando como critério de classificação, as definições estabelecidas nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Diariamente, foram realizadas contagens do número de plântulas normais para o cálculo do índice de velocidade de germinação proposto por Maguire (1962).

A análise do crescimento da parte aérea e da raiz principal foi determinada oito dias após a instalação do teste de germinação, das quais foram selecionadas dez plântulas normais por tratamento, para proceder com as mensurações auxiliadas por uma régua graduada em centímetros. Em seguida, as plântulas foram levadas para estufa com circulação de ar forçada à temperatura constante de 65°C por 72 horas. Logo após, foram pesadas em balança de precisão com três casas decimais para obtenção da fitomassa seca, com resultado expressos em miligramas.plântulas⁻¹.

A permeabilidade das membranas foi determinada por meio do extravasamento de eletrólitos no oitavo dia após a instalação do teste de germinação. Utilizou-se discos foliares e raízes dos terços mediano e superior do sistema radicular, selecionando aproximadamente 0,1 gramas e acondicionando-os em tubos de ensaio contendo 10 mL de água destilada. Em seguida, foram fechados e mantidos em repouso por 24 horas em temperatura ambiente (25°C).

Decorrido esse tempo, procedeu-se com a leitura da condutividade inicial (C1) usando condutivímetro de bancada devidamente calibrado. Posteriormente, os tubos foram submetidos a temperatura de 80 °C por 60 minutos em banho-maria e, após o resfriamento do conteúdo dos mesmos, aferiu-se a condutividade final (C2). A permeabilidade relativa foi calculada pela relação $[C1/(C1+C2)] \times 100$ (TARHANEN *et al.*, 1999).

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, distribuídos em esquema de fatorial triplo 2 (genótipos) x 5 (concentrações de ácido ascórbico) x 5 (potenciais osmóticos). Cada tratamento composto por 4 repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e posteriormente a análise de regressão ao nível de 5% de significância, no software estatístico SISVAR® (FERREIRA, 2000). Para representação gráfica dos resultados foi utilizado software Sigmaplot, versão 12.5.

3.3 - Resultados e discussão

As sementes apresentaram valores distintos para o grau de umidade e peso de mil sementes, em que, para o genótipo BRS Marataoã foram encontrados 13% e 182,53 g e para o Setentão 11% e 178,30 g, respectivamente.

A germinação e o vigor das sementes de feijão-caupi foram influenciados tanto pelo estresse hídrico quanto pelas concentrações de ácido ascórbico. Na tabela 3, nota-se que não houve interação entre os três fatores estudados (genótipo, concentrações de AsA e potencial osmótico) para as variáveis analisadas. Observando significância apenas para as concentrações de AsA e potencial osmótico. A não interação entre os genótipos pode ser atribuídas às diferenças nas características físicas apresentadas pelas sementes dos genótipos utilizados (teor de água e peso de mil sementes).

Tabela 3 – Valores do quadrado médio e significância para as variáveis Teste de germinação (G%), Primeira contagem de germinação (PC%), Índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da parte aérea (CPA) e do sistema radicular (CR), massa seca da plântula inteira (MSP), extravasamento de eletrólitos das folhas (EPA) e do sistema radicular (ER) sob estresse hídrico.

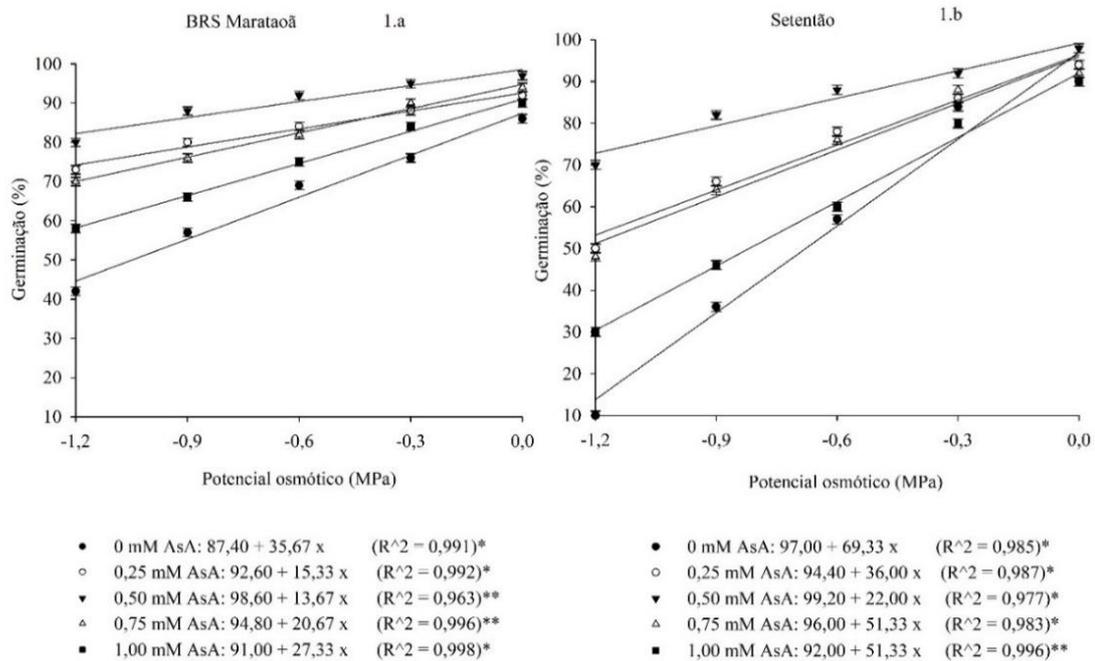
F.V	Quadrado médio das Variáveis							
	G (%)	PC (%)	IVG	CPA	CR	MSP	EPA	ER
Gt	5222,42*	5596,82*	194,04**	0,74**	46,99*	0,00385*	59,40*	164,58*
AsA	6540,22*	2501,73*	55,67**	3,09**	43,08**	0,00022*	416,89*	185,50*
Pot	21858,17*	33078,83*	528,94*	292,13*	545,42*	0,02119*	187,26*	193,96*
Gt*AsA	272,02 ^{ns}	1467,17 ^{ns}	22,98 ^{ns}	4,50 ^{ns}	25,06 ^{ns}	0,00027 ^{ns}	283,74 ^{ns}	197,12 ^{ns}
Gt*Pot	965,77 ^{ns}	1663,37 ^{ns}	4,31 ^{ns}	8,82 ^{ns}	16,16 ^{ns}	0,00016 ^{ns}	210,23 ^{ns}	212,15 ^{ns}
AsA*Pot	1339,43*	601,19**	41,63**	12,75**	13,29**	0,00013*	227,99**	203,33*
Gt*AsA*Pot	254,68 ^{ns}	327,28 ^{ns}	4,43 ^{ns}	3,24 ^{ns}	6,73 ^{ns}	0,00018 ^{ns}	211,08 ^{ns}	194,47 ^{ns}
Média	73,49	61,03	9,76	3,99	7,22	0,041	43,45	47,60
C.V. (%)	2,91	4,10	5,33	4,89	4,74	2,51	2,06	1,49

Gt – genótipo; AsA – concentrações de ácido ascórbico; Pot – potencial osmótico.

* Significativo a 5%; ** significativo a 1%; ns - não significativo

A germinação das sementes de feijão-caupi declinou com a redução do potencial osmótico do substrato. Na ausência do déficit hídrico, a cultivar BRS Marataoã apresentou uma germinação de 87% e 97% para Setentão. E quando submetidas a -1,2 MPa esses valores reduziram para 44% e 14%, respectivamente, com o último mostrando-se mais sensível ao estresse hídrico (Figuras 1a e 1b). Essa redução pode ser atribuída à velocidade e a quantidade de água absorvida pelas sementes, uma vez que, o déficit hídrico inibe a absorção de água pelos tecidos, dificultando o início da germinação (KAPPES *et al.*, 2010).

Figura 1. Germinação de sementes de feijão-caupi em diferentes potenciais osmóticos e condicionados com ácido ascórbico.



* significativo a 5%; ** significativo a 1%.

Esses resultados corroboram com os obtidos por Viçosi *et al.* (2017), ao relatarem uma redução linear na germinação de sementes de feijão quando expostas as condições de estresse hídrico simulado por manitol. Duarte *et al.* (2013) também verificaram o mesmo decréscimo a partir do potencial osmótico de -0,6 MPa para a mesma espécie. No entanto, Custódio *et al.* (2009) ao avaliar diferentes agentes osmóticos comentaram que o potencial de -0,55 MPa simulado por CaCl₂ permitiu a máxima germinação para sementes de feijão, enquanto o manitol e MgCl₂, não promoveram diferenças na germinação, com os valores ficando em torno de 98%. Gomes *et al.* (2015), em feijão-vagem também não encontraram resposta negativa da germinação das sementes conforme a redução do gradiente de potencial osmótico.

Sementes de soja também tiveram sua germinação afetada pelo estresse hídrico, como relatado por Carvalho *et al.* (2016), ao observarem decréscimo nessa variável para as cultivares BRS Tordilha RR, FPS Solimões RR e FPS Paranapanema RR em relação ao aumento do déficit hídrico simulado por manitol, com a primeira quando exposta a -0,84 MPa, apresentando uma redução de 16% em relação ao controle (0,0 MPa).

O tratamento das sementes de feijão-caupi com ácido ascórbico (AsA) proporcionou aumentos na taxa de germinação das sementes dos genótipos avaliados, atingindo

os valores de 78% e 68% para BRS Marataoã e Setentão, respectivamente, mesmo quando submetidos ao potencial mais baixo (-1,2 MPa). Esse aumento está relacionado ao aumento na biossíntese de giberelina, devido a aplicação exógena de AsA em virtude do condicionamento (KHAN *et al.*, 2011).

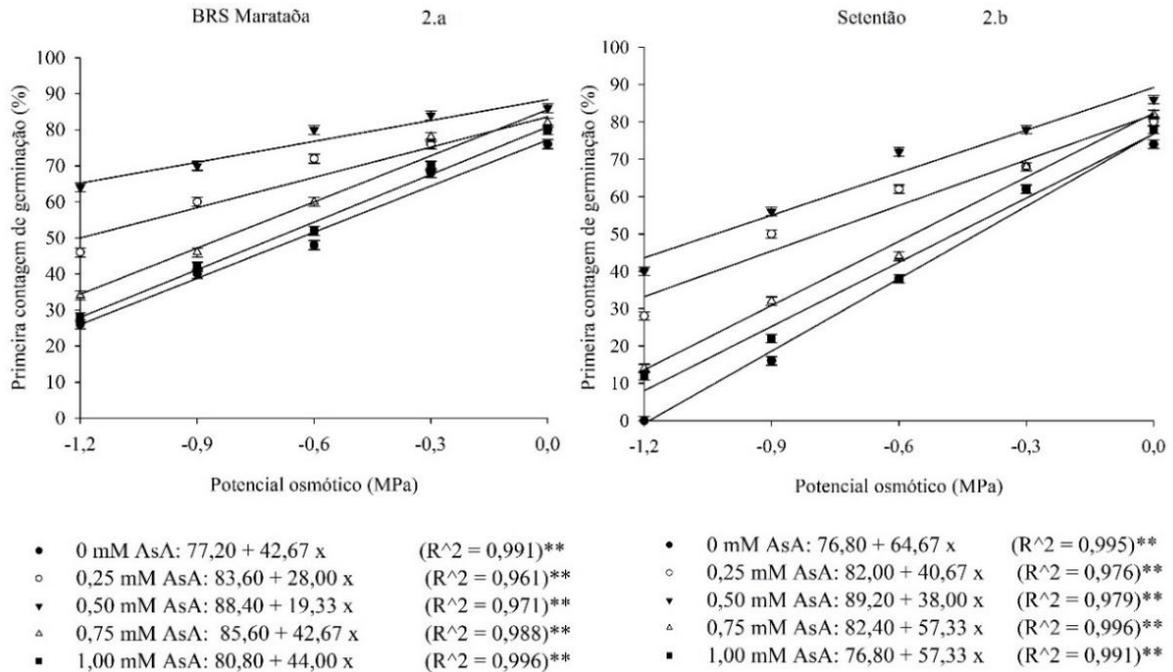
Os genótipos apresentaram comportamento semelhante em resposta à aplicação do ácido ascórbico diante do estresse hídrico, com a concentração de 0,50 mM de AsA proporcionando os maiores valores, com uma germinação média de 90% até -0,6 MPa, e reduzindo conforme o potencial decrescia para os genótipos avaliados (Figuras 1a e 1b).

O ácido ascórbico é um antioxidante natural que exerce grande importância ao metabolismo vegetal por estar envolvido na embriogênese, durante o processo de formação das sementes (RAZA *et al.*, 2013). A sua aplicação exógena pode possibilitar o aumento endógeno desse antioxidante, mas quando aplicado em elevadas concentrações, pode torna-se maléfico, por anular a germinação (TAKEMURA *et al.*, 2010), ou apenas, reduzi-lá, conforme relatada por Ishibashi e Iwaya-Inoue (2006) em sementes de trigo ao serem tratadas com com 50 e 100 mM de ácido ascórbico.

O condicionamento de sementes com AsA na promoção da germinação diante da redução do potencial osmótico do substrato já foi relatado por alguns autores, dentre eles, Dehghan *et al.* (2011), em sementes de soja quando da aplicação de 400 mL.L⁻¹ o qual proporcionou aumentos na germinação, mesmo quando submetidos a 50mM de NaCl (aproximadamente -0,15 MPa).

Assim como no teste de germinação, o teste da primeira contagem de germinação influenciado pelas concentrações de AsA e o déficit hídrico. Novamente percebe-se que o tratamento das sementes com ácido ascórbico foi eficaz na resistência aos danos causados pela escassez de água, recomendando-se a concentração de 0,50 mM para os genótipos Marataoã e Setentão (Figuras 2a e 2b).

Figura 2. Primeira contagem de germinação de sementes de feijão-caupi em diferentes potenciais osmóticos e condicionados com ácido ascórbico.

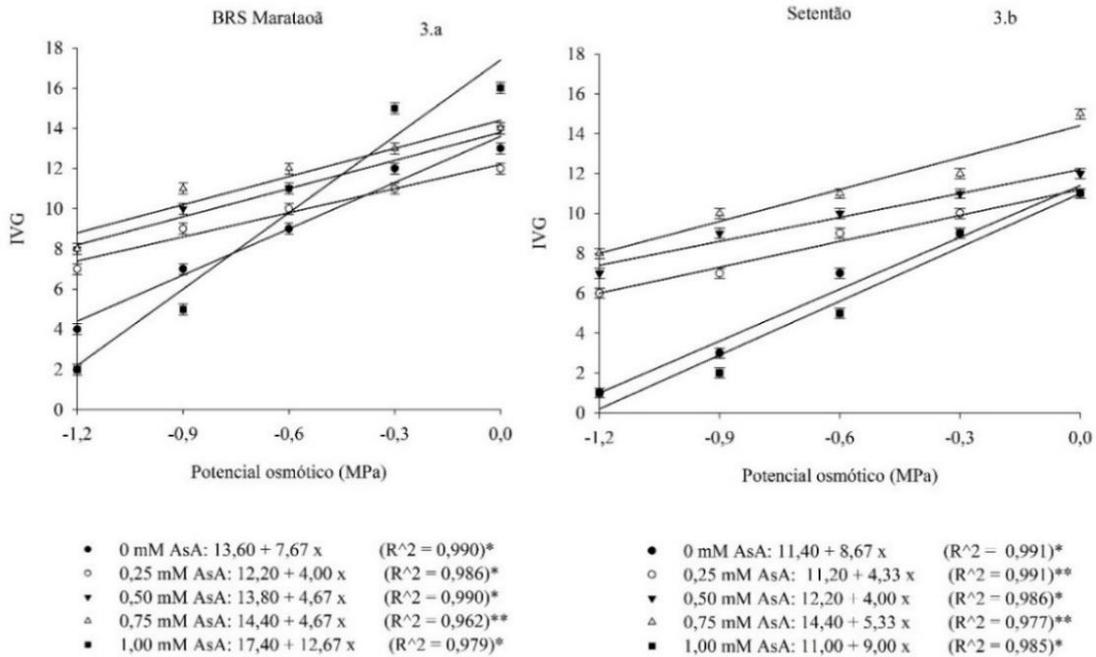


* significativo a 5%; ** significativo a 1%.

A deficiência hídrica afetou a velocidade de germinação das sementes dos genótipos de feijão-caupi avaliados, conforme os valores observados no teste de primeira contagem de germinação. Em genótipos de feijão-miúdo, Deuner *et al.* (2011) observaram o mesmo comportamento, relatando retardo e redução na germinação a partir da concentração de 50 mM de NaCl (aproximadamente -0,15 MPa). Sementes de soja também foram afetadas pelo déficit hídrico, com as sementes chegando a não germinar quando expostas a -0,9 MPa, independente do agente osmótico utilizado (CaCl_2 , manitol ou MgCl_2).

Quanto ao índice de velocidade de germinação observou-se maior velocidade no tratamento controle (0,0 MPa) e, à medida que o potencial osmótico do substrato reduzia, as sementes passaram a necessitar de mais tempo para embeber e germinar (Figuras 3a e 3b).

Figura 3. Índice de velocidade de germinação de feijão-caupi em diferentes potenciais osmóticos e condicionados com ácido ascórbico.

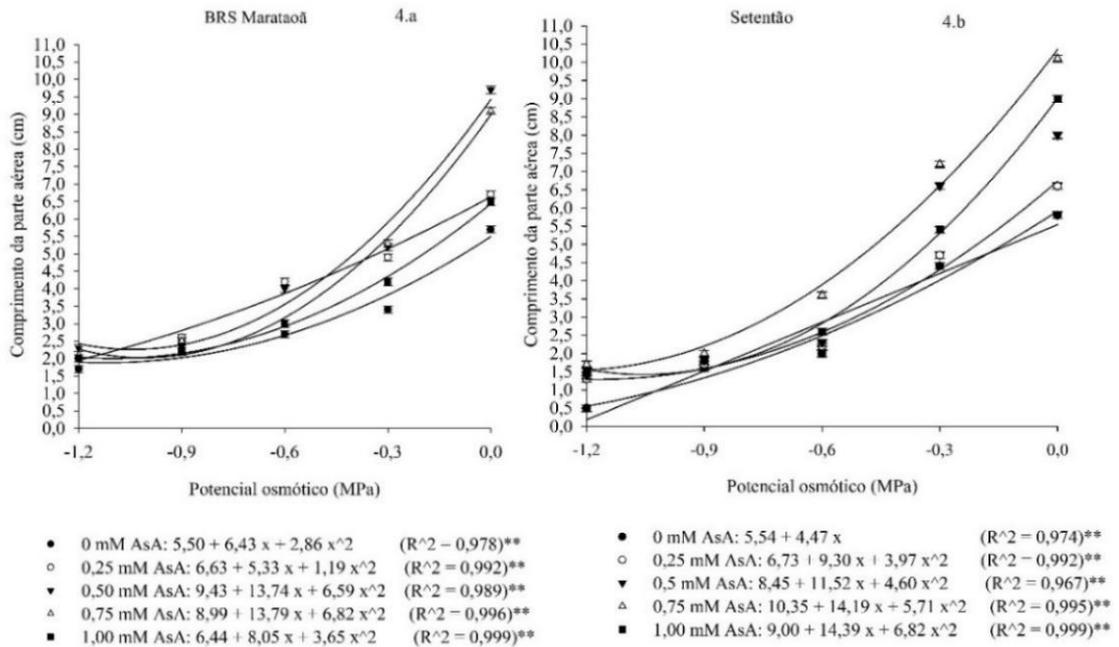


* significativo a 5%; ** significativo a 1%.

As sementes condicionadas com AsA, embeberam e germinaram mais rápido. No genótipo BRS Marataoã, o valor do índice de velocidade de germinação foi de 13, para as sementes não condicionadas e no tratamento controle (0,0 MPa). Quando condicionadas, esses valores foram crescentes, chegando a uma germinação de 16 sementes na concentração de 1,00 mM de ácido ascórbico. Quando tratadas com 0,75 mM de AsA e submetidas ao potencial osmótico mais baixo (-1,2 MPa), o valor do IVG chegou a 8, valor esse semelhante ao obtido nas sementes não tratadas e expostas a -0,6 MPa (Figura 3a). Já no genótipo Setentão, a concentração de 0,75 mM de AsA proporcionou os maiores valores de IVG (Figura 3b). O ácido ascórbico afeta vários processos fisiológicos, incluindo diferenciações metabólicas das plantas sob condições de déficit hídrico, favorecendo a disponibilidade de água e nutrientes (KHAN *et al.*, 2011).

Em relação à avaliação do crescimento das plântulas, verificou-se que os genótipos de feijão-caupi apresentaram elevada sensibilidade ao déficit hídrico, interferindo diretamente no desenvolvimento da parte aérea (Figura 4).

Figura 4. Comprimento da parte aérea das plântulas de feijão-caupi em diferentes potenciais osmóticos e condicionados com ácido ascórbico.



* significativo a 5%; ** significativo a 1%.

Analisando o crescimento aéreo através do ajuste das curvas de regressão para os genótipos avaliados, observou-se que os mesmos apresentaram tendência semelhante em resposta aos tratamentos utilizados. Para as medidas efetuadas nas plântulas sem o tratamento com ácido ascórbico, e submetidas à diferentes potenciais hídricos, percebeu-se uma queda constante para essa variável, chegando aos valores de 1,70 e 0,50 cm para BRS Marataoã e Setentão, respectivamente, a -1,2 MPa. O estresse hídrico é responsável por causar redução no declínio do potencial osmótico da célula, e conseqüentemente, a diminuição da pressão de turgor, prejudicando a expansão e o crescimento celular, reduzindo dessa forma, o crescimento da planta (JALEEL *et al.*, 2009).

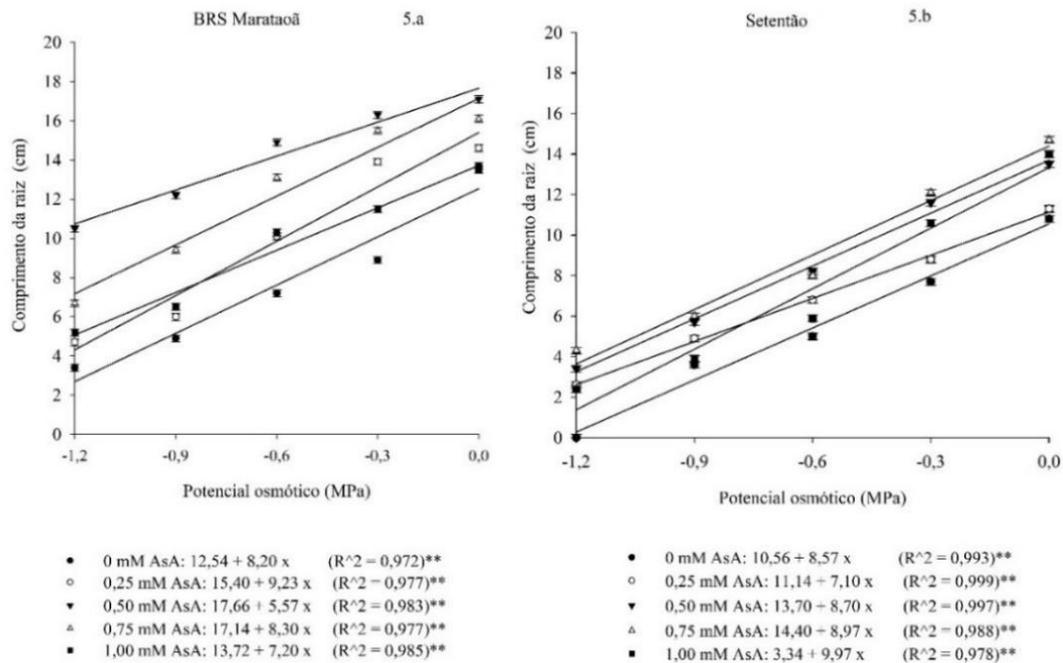
No entanto, o condicionamento das sementes com AsA nas concentrações de 0,50 e 0,75 mM proporcionou um maior crescimento das plântulas, atingindo valores médios de 2,30 e 1,70 cm quando expostas ao menor potencial testado, para os genótipos BRS Marataoã e Setentão, respectivamente. Mesmo quando não submetidos ao estresse hídrico, as sementes tratadas mostraram-se mais vigorosas quando comparadas às não tratadas, podendo ser observado pelo comprimento da parte aérea, em que, o genótipo BRS Marataoã, os valores ficaram em 9,70 cm, enquanto a não tratada foi de 5,70 cm (Figura 4a). Já o genótipo Setentão, esse valor foi de 10,10 e as não tratadas de 5,80 cm (Figura 4b).

Estudos visando avaliar os efeitos do déficit hídrico no crescimento inicial de plântulas foram realizados, dentre eles, Gomes *et al.* (2015), relataram que a parte aérea de plântulas de feijão-vagem não diferiram entre os potenciais de 0,0 a -1,2 MPa, mas quando submetidos a potenciais mais elevados, notou-se redução para essa variável. Viçosi *et al.* (2017), também relataram redução no crescimento do hipocótilo do feijoeiro, em que, no tratamento controle (0,0 MPa), observaram um crescimento de 11,0 mm, enquanto, a -2,4 MPa, apenas 3,0 mm.

Ao tratar sementes de soja da cultivar DPX com 400 mg.L⁻¹ de AsA, Dehghan *et al.* (2011) observaram que as plântulas que foram induzidas ao estresse osmótico de 50 mM de NaCl (aproximadamente -0,1 MPa) apresentaram comprimento médio superior ao obtido no tratamento controle (ausência de sal e sementes não tratadas). Em plantas de ervilha, El-Hak *et al.* (2012), a aplicação de 200 ppm de ácido ascórbico nas folhas proporcionou plantas maiores e mais vigorosas.

Os fatores analisados interferiram no crescimento radicular das plântulas de feijão-caupi. Para o genótipo BRS Marataoã, os maiores valores ocorreram nas sementes tratadas com 0,50 mM de AsA, em que, mesmo no nível potencial osmótico mais baixo (-1,2 MPa), esse valor foi superior ao obtido no tratamento controle quando exposto a -0,3 MPa. O mesmo pode ser observado para o genótipo Setentão nas sementes tratadas com 0,75 mM de ácido ascórbico. Em ambos os genótipos, os menores comprimento da raiz foi observado na ausência de AsA (Figuras 5a e 5b).

Figura 5. Comprimento da raiz das plântulas de feijão-caupi em diferentes potenciais osmóticos e condicionados com ácido ascórbico.

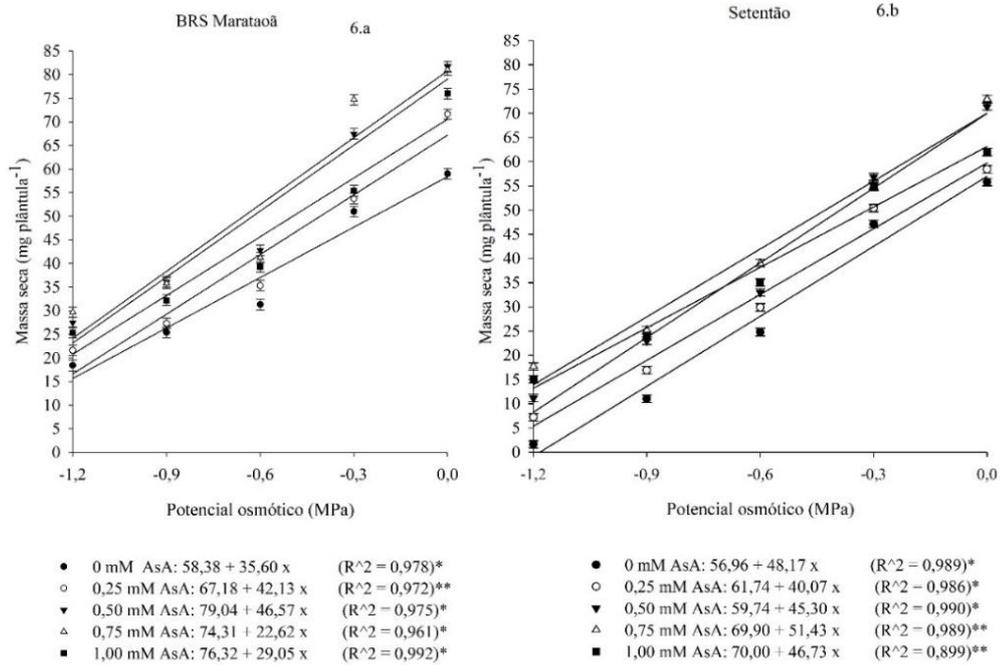


* significativo a 5%; ** significativo a 1%.

Estes resultados corroboram com os encontrados por outros autores, dentre eles, Custódio *et al.* (2009) em sementes de feijão que observaram redução no crescimento radicular, conforme o aumento da deficiência hídrica. Deuner *et al.* (2011), em genótipos de feijão-miúdo, também relataram redução nessa variável quando submetidos ao potencial osmótico de 200 mM de NaCl (aproximadamente -0,5 MPa) em relação ao controle. O sistema radicular é extremamente importante para a absorção de água, nutrientes e sustentação da planta. Problemas de formação em sua estrutura podem acarretar prejuízos ao seu estabelecimento e por consequência no rendimento da cultura (CARVALHO *et al.*, 2016).

Ocorreu redução na massa seca das plântulas de feijão-caupi para os genótipos avaliados conforme se reduziu os potenciais osmóticos (Figura 6).

Figura 6. Massa seca das plântulas de feijão-caupi em diferentes potenciais osmóticos e condicionados com ácido ascórbico.

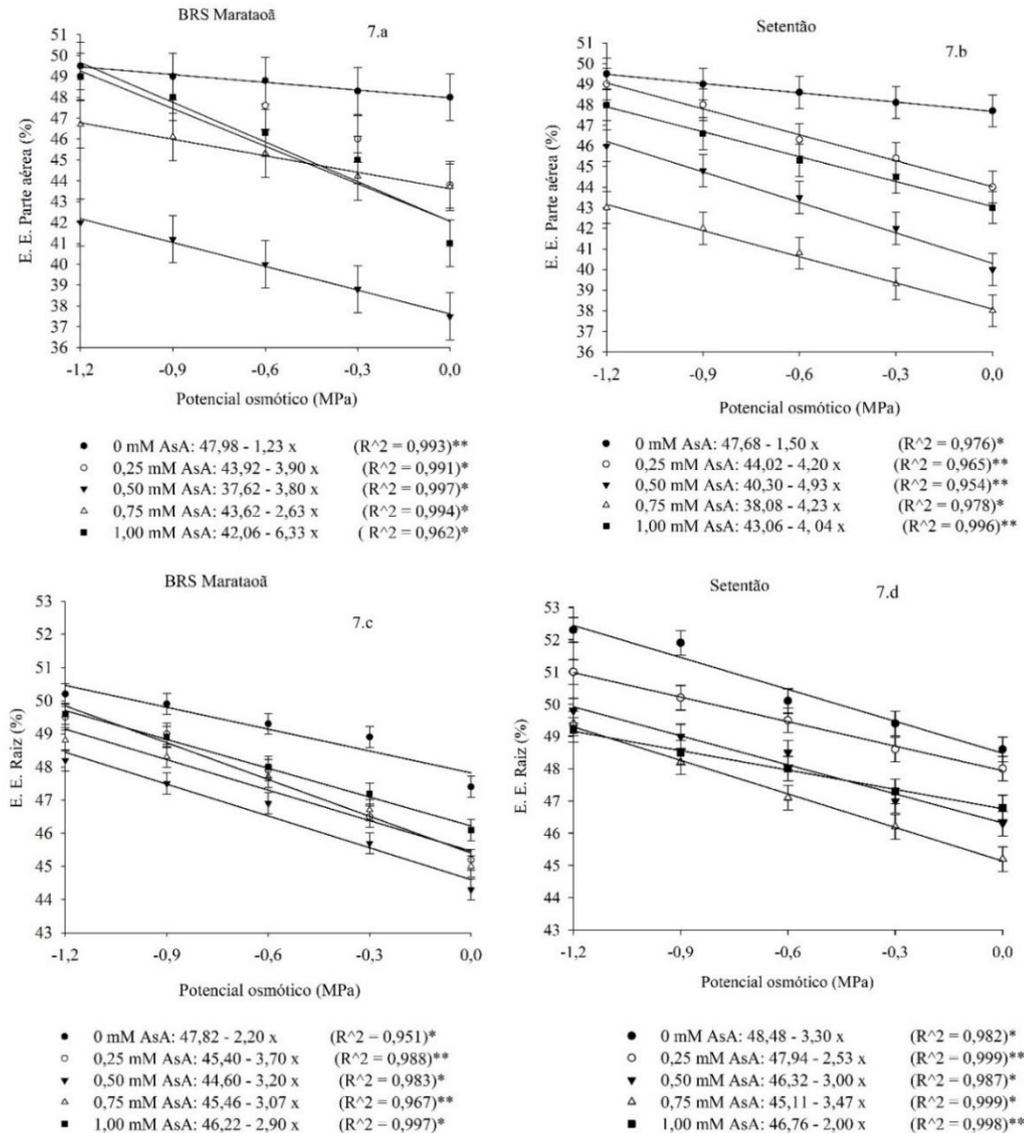


* significativo a 5%; ** significativo a 1%.

Estudos já relataram a redução da fitomassa de plântulas diante de estresse hídrico. Custódio *et al.* (2009), comentaram que tanto a massa seca da parte aérea como da raiz decresceu com o aumento da deficiência de água fornecidos durante a germinação. No entanto, Deuner *et al.* (2011), afirmaram que em plantas de *Vigna radiata* doses de até 150 mM de NaCl (aproximadamente -0,4 MPa) expressaram aumento de massa seca de caule, enquanto o mesmo foi observado para as folhas até a dose de 100 mM (aproximadamente -0,35 MPa).

O déficit hídrico ocasionou um aumento dos danos em membranas, baseados no extravasamento de eletrólitos, nos tecidos foliares e radiculares dos genótipos BRS Marataoã e Setentão. No potencial osmótico mais baixo, a liberação dos eletrólitos nestes tecidos apresentou aumento de cerca de 1,1 vezes em relação aos respectivos controles (Figuras 7a e 7b), com o sistema radicular liberando mais eletrólitos em comparação às folhas (Figuras 7c e 7d). Maia *et al.* (2012), em cultivares de feijão-caupi, também observaram um aumento crescente na liberação de eletrólitos quando as sementes foram submetidas ao potencial osmótico de 100 mM de NaCl (aproximadamente -0,25 MPa) em relação ao tratamento controle.

Figura 7. Extravasamento de eletrólitos nos tecidos foliares e radiculares dos genótipos de feijão-caupi em diferentes potenciais osmóticos e acondicionados com ácido ascórbico.



* significativo a 5%; ** significativo a 1%.

O condicionamento com ácido ascórbico possibilitou um aumento no mecanismo de defesa das plântulas de feijão-caupi à seca, sendo observado que, quando utilizado a concentração de 0,50 mM de AsA nas sementes do genótipo BRS Marataoã, os danos às membranas para o potencial osmótico mais baixo (-1,2 MPa) foi inferior ou semelhantes ao apresentado para o tratamento controle (não tratadas e ausência do déficit hídrico), 42,00% e 48,00%; e 48,20% e 47,50%, para folhas e sistema radicular, respectivamente. As demais concentrações de AsA também proporcionaram reduções no extravasamento de eletrólitos (Figuras 7a e 7c). Para o genótipo Setentão, em todas as concentrações de AsA testadas foram obtidos valores inferiores aos encontrados nas sementes não tratadas. No tratamento controle

foram encontrados os valores de 47,70% e 48,60 %, enquanto ao serem tratadas com 0,75 mM de AsA e expostas a -1,2 MPa, percebeu-se uma redução nesses valores, ficando em torno de 43,00% e 49,40% para folhas e raízes, respectivamente (Figuras 7b e 7d).

O ácido ascórbico é considerado um antioxidante de grande importância às plantas, por ser essencial à síntese de hormônios e uma série de enzimas antioxidantes (KHAN *et al.*, 2011), protegendo as macromoléculas dos danos oxidativos ocasionados pelas espécies reativas de oxigênio (DEHGHAN *et al.*, 2011).

CONCLUSÃO

O condicionamento das sementes com ácido ascórbico nas concentrações de 0,50 mM para o genótipo BRS Marataoã e 0,75 mM para o Setentão, possibilitou o desenvolvimento de plântulas mais vigorosas e a redução dos danos às membranas ocasionado pelo estresse oxidativo tanto na ausência do déficit hídrico quanto para os potenciais osmóticos testados, inclusive no mais baixo.

4 ARTIGO 2

Submetido a Revista *Journal of Seed Science*

Efeitos do ácido ascórbico na germinação e vigor de sementes de feijão-caupi sob estresse salino

RESUMO

A salinidade afeta negativamente o crescimento e o metabolismo vegetal, por desencadear o aumento da produção das espécies reativas de oxigênio (EROs). O ácido ascórbico (AsA) é conhecido por proteger organelas e células contra as EROs evitando seu acúmulo. Objetivou-se estudar os efeitos do AsA em sementes de feijão-caupi submetidas ao estresse salino. As sementes foram condicionadas nas concentrações 0,0; 0,25; 0,50; 0,75 e 1,00 mM de AsA e semeadas em rolos de papel (Germitest®), umedecidos nos níveis salinos de 0,0; 1,5; 3,0, 4,5; 6,0 e 7,5 dS m⁻¹, acondicionados em germinador de bancada a 25 °C. Conduzido em DIC, esquema de fatorial 2×5×6, com quatro repetições de 50 sementes por tratamento. As variáveis analisadas foram porcentagem de germinação, primeira contagem de germinação, índice de velocidade de germinação, comprimento da parte aérea e da raiz, massa seca total da plântula e extravasamento de eletrólitos das folhas e da raiz. O ácido ascórbico nas concentrações de 0,50 mM para o BRS Marataoã e 0,75 mM para o Setentão, possibilitou o desenvolvimento de plântulas mais vigorosas e a redução dos danos às membranas ocasionado pelo estresse oxidativo tanto na ausência de sal quanto para os níveis salinos testados, inclusive no mais elevado.

Palavras-chave: *Vigna unguiculata* L.. Extresse oxidativo. Potencial fisiológico. Salinidade

Effects of ascorbic acid on germination and vigor of cowpea seeds under saline stress

ABSTRACT

Salinity adversely affects plant growth and metabolism by triggering increased production of reactive oxygen species (ROS). Ascorbic acid (AsA) is known to protect organelles and cells against ROS by preventing accumulation. The objective of this study was to study the effects of AsA on cowpea beans submitted to saline stress. Seeds were conditioned at concentrations of 0.0; 0.25; 0.50; 0.75 and 1.00 mM AsA and seeded on paper rolls (Germitest®), moistened at saline levels of 0.0; 1.5; 3.0, 4.5; 6.0 and 7.5 dS m⁻¹, packed in a bench germinator at 25 ° C. Conducted in ICD, 2 × 5 × 6 factorial scheme, with four replicates of 50 seeds per treatment. The analyzed variables were percentage of germination, first germination count, germination speed index, shoot and root length, total seedling dry mass, and extravasation of leaf and root electrolytes. Ascorbic acid at concentrations of 0.50 mM for BRS Marataoã and 0.75 mM for the Seventy, allowed the development of more vigorous seedlings and the reduction of membrane damage caused by oxidative stress both in the absence of salt and in the levels saline tested, including the highest.

Keywords: *Vigna unguiculata* L.. Oxidative stress. Physiological potential. Salinity

4.1 - Introdução

O feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] constitui-se numa importante fonte de proteína à alimentação humana nas regiões Norte e Nordeste do Brasil devido ao seu baixo custo. Cultivado tanto por pequenos produtores em condições de subsistência e com venda de pequenos volumes excedentes, quanto por médios e grandes produtores que objetivam os mercados nacionais e internacionais (FREIRE *et al.*, 2007). Em condições de campo, para se obter plantas vigorosas e estande uniforme, além da escolha de sementes de qualidade, faz-se necessário algumas condições específicas quanto à disponibilidade de água, temperatura, luz e profundidade de semeadura (MONDO *et al.*, 2010).

Um fator importante que acomete as sementes é a salinidade, que pode estar presente na água utilizada na irrigação, no solo ou em ambos. O aumento da salinidade interfere no meio de crescimento, na germinação e no desenvolvimento das plântulas. É provável que isso ocorra em virtude da redução da absorção de água pelas plantas, devido ao excesso de sais, causando redução no potencial hídrico do solo que associada aos efeitos tóxicos dos íons no protoplasma da semente, prejudicam a germinação e sua velocidade, resultando na formação de plântulas com crescimento reduzido, caracterizado pela diminuição no comprimento e menor acúmulo de biomassa (CONUS *et al.*, 2009).

Os efeitos iônicos resultam da elevada absorção dos íons, especialmente Na^+ e Cl^- , alterando a homeostase iônica das células, a qual é essencial às atividades de muitas enzimas citosólicas e para manutenção do potencial da membrana celular (YU *et al.*, 2012). Secundariamente, a salinidade também induz o estresse oxidativo ao provocar o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs), tais como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e os radicais livres, superóxido (O_2^-) e hidroxil (OH). Em altas concentrações, essas espécies são extremamente prejudiciais às células, causando danos oxidativos aos lipídios da membrana, proteínas e ácidos nucleicos (XU *et al.*, 2017).

Para se proteger das EROs, as plantas desenvolveram mecanismos de defesa altamente eficientes representados por enzimas antioxidantes que incluem a superóxido dismutase, a catalase e o ascorbato peroxidase (MUNNÉ-BOSCH *et al.*, 2013). Existem também os protetores antioxidantes não enzimáticos como o ácido ascórbico (AsA), glutationa (GSH), α -tocoferóis, flavonóides, alcalóides, carotenóides, hormônios e vitaminas, que participam ativamente no controle da EROs nas células (APEL; HIRT, 2004).

Nas plantas, o ascorbato é o mais importante antioxidante e, em associação com outros componentes do sistema de defesa, protege as plantas contra os danos oxidativos

resultantes do metabolismo aeróbio, fotossíntese e uma série de poluentes, inibindo a peroxidação membranosa, protegendo a célula dos danos e atrasando sua senescência (ZHANG, 2013).

Diante do exposto objetivou-se estudar os efeitos do ácido ascórbico no condicionamento de sementes de feijão-caupi submetidos ao estresse salino.

4.2 - Material e métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Fitotecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, Campus do Pici - Fortaleza, utilizando sementes de feijão-caupi dos genótipos BRS Marataoã e Setentão.

Inicialmente, às sementes foram submetidas a determinação do grau de umidade e do peso de mil sementes conforme descrito por BRASIL (2009).

As sementes foram desinfetadas por meio da imersão em solução de álcool 70% (v/v) com agitação por 30 segundos, seguida de duas lavagens rápidas com água destilada. Logo após, imersas em solução de hipoclorito de sódio 2,5% (v/v) por 2 minutos, lavadas com água destilada e, secadas em papel toalha. Posteriormente, procedeu-se o condicionamento destas em rolos de papel tipo Germitest®, umedecidos com solução de ácido ascórbico nas concentrações de 0,0; 0,25; 0,50; 0,75 e 1,0 mM (Tabela 4), na proporção de 2,5 vezes o peso do substrato, por um período de 4 horas a 25 °C (BRILHANTE *et al.*, 2013).

Tabela 4 – Quantidade de Ácido ascórbico (AsA) utilizada para o preparo das diferentes concentrações para condicionamento das sementes de feijão-caupi.

Concentração (mM)	AsA (g.L ⁻¹ de água destilada)
0,0	0,00
0,25	48,93
0,50	97,85
0,75	146,78
1,00	195,70

Decorrido esse tempo, as sementes condicionadas foram distribuídas em rolos de papel, umedecidos com solução salina, na proporção de 2,5 vezes o peso do substrato. As soluções foram ajustadas às concentrações de 0,0 (controle); 1,5; 3,0; 4,5; 6,0 e 7,5 dS m⁻¹ pela

diluição de cloreto de sódio (NaCl) em água destilada (Tabela 5), com base na fórmula proposta por RICHARDS (1954). Para cada tratamento foram utilizadas 200 sementes, as quais foram distribuídas em 4 rolos de papel, com 50 sementes cada e acondicionados em germinador de bancada com a temperatura regulada a 25 °C.

Tabela 5 – Quantidade de cloreto de sódio (NaCl) utilizada para o preparo dos diferentes potenciais osmóticos para umedecimento do substrato.

Níveis de salinidade (dS m ⁻¹)	NaCl (g.L ⁻¹ de água destilada)
0,00	0,00
1,50	1,072
3,00	2,142
4,50	3,213
6,00	4,283
7,50	5,353

A primeira contagem e a contagem final do teste de germinação foram realizadas no quinto e oitavo dia após a instalação do teste, respectivamente. Foi considerada a porcentagem de plântulas normais utilizando como critério de classificação, as definições estabelecidas nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Diariamente, foram realizadas contagens do número de plântulas normais para o cálculo do índice de velocidade de germinação proposto por MAGUIRE (1962).

A análise do crescimento da parte aérea e da raiz principal foi determinada oito dias após a instalação do teste de germinação, das quais foram selecionadas dez plântulas normais por tratamento, para proceder com as mensurações auxiliadas por uma régua graduada em centímetros. Em seguida, as plântulas foram levadas para estufa com circulação de ar forçada à temperatura constante de 65 °C por 72 horas. Logo após, foram pesadas em balança de precisão com três casas decimais para obtenção da fitomassa seca, com resultado expressos em miligramas.plântulas⁻¹.

A permeabilidade das membranas foi determinada por meio do extravasamento de eletrólitos no oitavo dia após a instalação do teste de germinação. Utilizou-se discos foliares e raízes dos terços mediano e superior do sistema radicular, selecionando aproximadamente 0,1 gramas e acondicionando-os em tubos de ensaio contendo 10 mL de água destilada. Em seguida, foram fechados e mantidos em repouso por 24 horas em temperatura ambiente (25 °C).

Decorrido esse tempo, procedeu-se com a leitura da condutividade inicial (C1) usando condutivímetro de bancada devidamente calibrado. Posteriormente, os tubos foram submetidos a temperatura de 80 °C por 60 minutos em banho-maria e, após o resfriamento do conteúdo dos mesmos, aferiu-se a condutividade final (C2). A permeabilidade relativa foi calculada pela relação $[C1/(C1+C2)] \times 100$ (TARHANEN *et al.*, 1999).

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, distribuídos em esquema de fatorial triplo 2 (genótipos) x 5 (concentrações de ácido ascórbico) x 6 (níveis salinos). Cada tratamento composto por 4 repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e posteriormente a análise de regressão ao nível de 5% de significância, no software estatístico SISVAR® (FERREIRA, 2000). Para representação gráfica dos resultados foi utilizado software Sigmaplot, versão 12.5.

4.3 - Resultados e discussão

As sementes apresentaram valores distintos para o grau de umidade e peso de mil sementes, em que, para o genótipo BRS Marataoã foram encontrados 13% e 182,53 g e para o Setentão 11% e 178,30 g, respectivamente.

A germinação e o vigor das sementes de feijão-caupi foram influenciados tanto pelo estresse salino quanto pelas concentrações de ácido ascórbico. Na tabela 6, nota-se que não houve interação entre os três fatores estudados (genótipo, concentrações de AsA e níveis de salinidade) para as variáveis analisadas. Observando significância apenas para as concentrações de AsA e níveis de salinidade. A não interação entre os genótipos pode ser atribuídas às diferenças nas características físicas apresentadas pelas sementes dos genótipos utilizados (teor de água e peso de mil sementes).

Tabela 6 – Valores do quadrado médio e significância para as variáveis Teste de germinação (G%), Primeira contagem de germinação (PC%), Índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da parte aérea (CPA) e do sistema radicular (CR), massa seca da plântula inteira (MSP), extravasamento de eletrólitos das folhas (EPA) e do sistema radicular (ER) sob estresse salino.

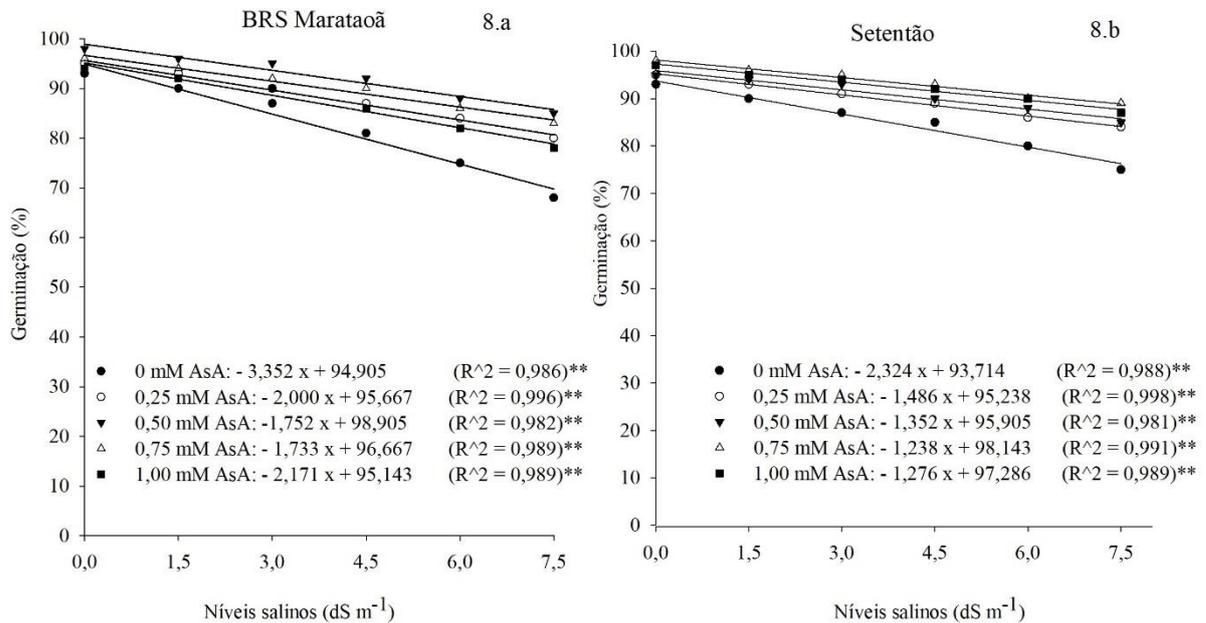
F.V	Quadrado médio das Variáveis							
	G (%)	PC (%)	IVG	CPA	CR	MSP	EPA	ER
Gt	183,75*	183,75**	123,27**	17,95**	308,61*	0,00301*	5,82*	33,38*
AsA	385,77*	385,77*	77,50**	85,91**	66,35**	0,00122*	130,97*	631,71*
Sal	1539,49*	1539,49*	98,99*	333,52*	732,88*	0,00248*	49,81*	16,63*
Gt*AsA	72,87 ^{ns}	72,87 ^{ns}	18,98 ^{ns}	5,25 ^{ns}	29,95 ^{ns}	0,00091 ^{ns}	7,93 ^{ns}	9,92 ^{ns}
Gt*Sal	41,79 ^{ns}	41,79 ^{ns}	2,27 ^{ns}	7,47 ^{ns}	31,63 ^{ns}	0,00033 ^{ns}	10,76 ^{ns}	8,09 ^{ns}
AsA*Pot	51,61*	51,61**	4,26**	3,59**	9,70**	0,00009*	18,10**	71,77*
Gt*AsA*Sal	13,26 ^{ns}	13,26 ^{ns}	1,75 ^{ns}	5,27 ^{ns}	5,19 ^{ns}	0,000087 ^{ns}	4,43 ^{ns}	8,42 ^{ns}
Média	89,61	79,61	13,42	10,93	13,62	0,075	48,10	45,70
C.V. (%)	1,73	1,95	3,36	4,12	1,01	1,88	0,98	1,42

Gt – genótipo; AsA – concentrações de ácido ascórbico; Sal – níveis de salinidade

* Significativo a 5%; ** significativo a 1%; ns - não significativo

A germinação das sementes de feijão-caupi foi influenciada negativamente pela salinidade, em que, na ausência de sal, o BRS Marataoã apresentou uma germinação de 95% e 94% para Setentão. Quando submetidas a 7,5 dS m⁻¹ esses valores reduziram para 68% e 75%, respectivamente, com o primeiro mostrando-se mais sensível a salinidade (Figuras 8a e 8b).

Figura 8. Germinação de sementes de feijão-caupi em diferentes níveis salinos e condicionados com ácido ascórbico.



* significativo a 5%; ** significativo a 1%.

Esses resultados corroboram com o relatado por Deuner *et al.* (2011), ao observaram que na ausência do sal, a germinação média de sementes dos genótipos de feijão-miúdo foi de 93%, com esses valores se mantendo até a concentração de 100 mM de NaCl (aproximadamente 10 dS.m⁻¹), mas em concentrações mais elevadas, 150 e 200 mM (equivalentes a 15 e 20 dS.m⁻¹, respectivamente) apresentaram redução gradual na germinação, chegando a valores inferiores a 10% na maior concentração testada para os genótipos Amendoim, Baio e Preto e a 15% para o Mosqueado. Enquanto Ferreira *et al.* (2017) e Gomes *et al.* (2015) não encontraram redução na germinação de sementes dos genótipos de feijão (*Phaseolus spp.*) quando submetidos a crescentes níveis salinos.

Sementes de soja também tiveram sua germinação afetada pela salinidade. Para o genótipo transgênico RR, a germinação se manteve acima de 80% somente até 15 mmol.L⁻¹ de NaCl (equivalente a 1,5 dS.m⁻¹), apresentando redução drástica quando submetidas a 120 mmol.L⁻¹ (equivalente a 12 dS.m⁻¹) (CARVALHO *et al.*, 2012). Para feijão-guandu (*Cajanus cajan*), a germinação final das sementes na ausência da salinidade chegaram a 88%, reduzindo para 48% quando submetidas a 1,5 MPa de NaCl (equivalente a 60 dS.m⁻¹) (PINHEIRO *et al.*, 2013).

O condicionamento das sementes de feijão-caupi com ácido ascórbico (AsA) promoveu um incremento no percentual de germinação de sementes dos genótipos avaliados,

atingindo os valores de 85% e 89% para BRS Marataoã e Setentão, respectivamente, mesmo quando submetidos ao nível salino mais elevado ($7,5 \text{ dS.m}^{-1}$). Esse aumento pode ser justificado devido à elevada concentração endógena de ácido ascórbico nas sementes em virtude do condicionamento, assim, possibilitando a promoção da biossíntese de giberelina (KHAN *et al.*, 2011).

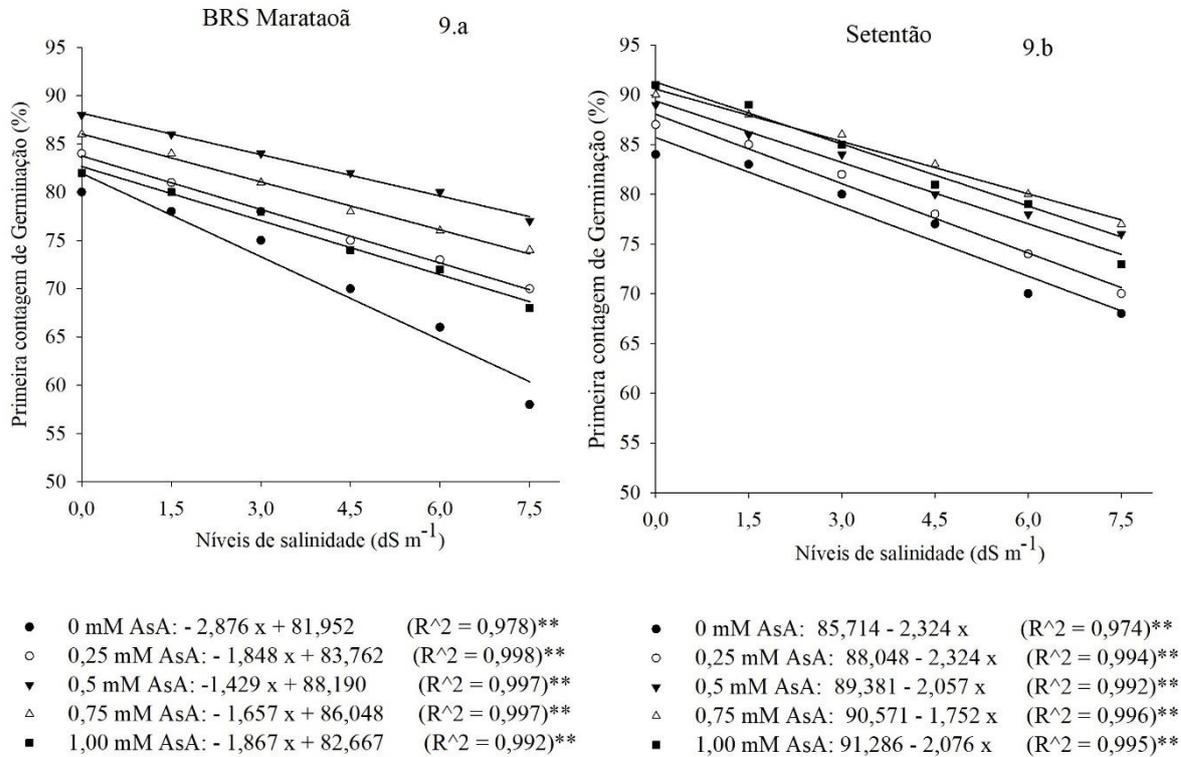
Os genótipos apresentaram comportamento distintos em resposta a aplicação do ácido ascórbico diante da salinidade, em que, para o BRS Marataoã, a concentração de $0,50 \text{ mM}$ de AsA proporcionou os maiores valores, com uma germinação média superior a 90% até o nível de $4,5 \text{ dS.m}^{-1}$, apresentando redução conforme se intensificou a salinidade, em que, quando submetida a $7,5 \text{ dS.m}^{-1}$, 85% de suas sementes germinaram. Valor esse superior ao observado nas sementes sem o tratamento com AsA e expostas a $4,5 \text{ dS.m}^{-1}$ (81%). Já para o genótipo Setentão, sugere-se a concentração de $0,75 \text{ mM}$ de AsA (Figuras 8a e 8b).

O ácido ascórbico além de atuar como regulador do metabolismo das plantas (TALLA *et al.*, 2011), também está envolvido no processo de crescimento, ou seja, na embriogênese, durante o desenvolvimento da semente (RAZA *et al.*, 2013). Mas quando aplicadas altas doses, a germinação pode ser anulada ou reduzida como relatada por Ishibashi e Iwaya-Inoue (2006) em sementes de trigo ao serem tratadas com 50 e 100 mM de ácido ascórbico.

Os benefícios do tratamento de sementes com AsA na promoção da germinação diante do estresse salino já foram comentados por alguns autores, dentre eles, Çavusoglu e Bilir (2015), observaram em sementes de cevada um acréscimo na germinação conforme se elevaram as concentrações de AsA, porém alertam que só se deve proceder com a aplicação diante de alguma situação extressante. Azooz e Al-Fredan (2009), em sementes de *Vicia faba* L. cv. Hassawi, detectaram redução do poder germinativo quando submetidas a diferentes diluições de água salina, mas quando tratadas com 100 ppm de vitamina C, esses valores foram elevados. Em sementes de soja a aplicação de 400 mL.L^{-1} de AsA promoveu aumentos na germinação mesmo quando induzidas a 50 mM de NaCl (aproximadamente $5,0 \text{ dS.m}^{-1}$) (DEHGHAN *et al.*, 2011).

Assim como no teste de germinação, o teste da primeira contagem de germinação influenciado pelas concentrações salinas e de AsA. Novamente percebe-se que o tratamento das sementes com ácido ascórbico foi eficaz na resistência aos danos causados pela salinidade, recomendando a concentração de $0,50 \text{ mM}$ para o genótipo BRS Marataoã e $0,75 \text{ mM}$ para o Setentão (Figuras 9a e 9b).

Figura 9. Primeira contagem de germinação de sementes de feijão-caupi em diferentes níveis salinos e condicionados com ácido ascórbico.



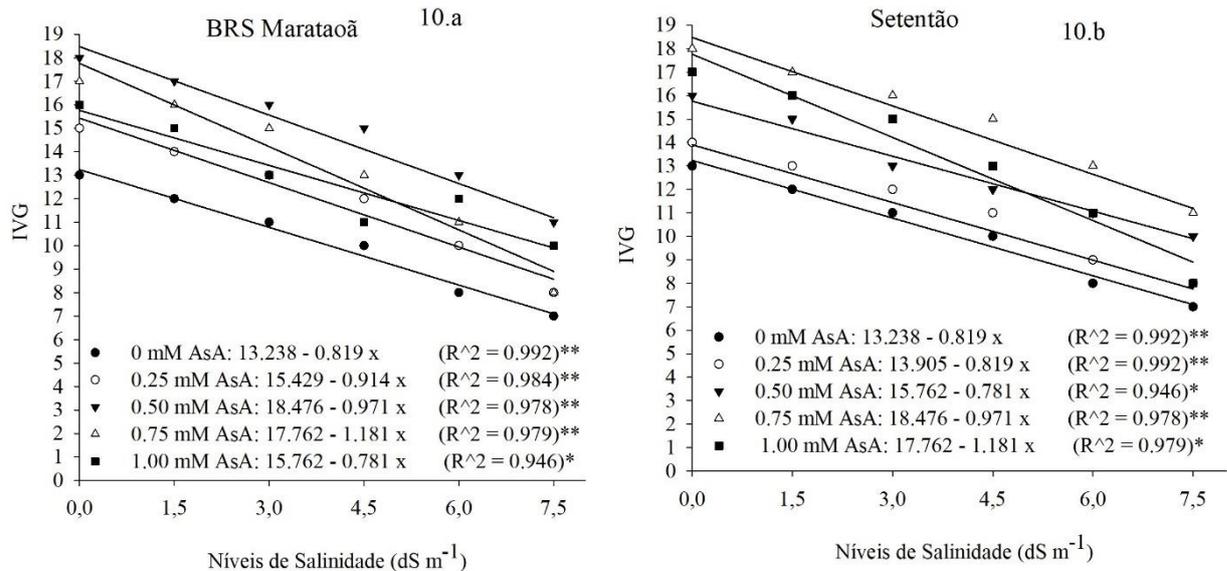
* significativo a 5%; ** significativo a 1%.

O estresse salino foi prejudicial à germinação das sementes de feijão-caupi para os dois genótipos avaliados, sendo observado um decréscimo linear conforme se elevavam os níveis salinos no substrato. Deuner *et al.* (2011) observaram o mesmo comportamento em genótipos de feijão-miúdo, relatando um retardo e redução na germinação a partir da concentração de 50 mM de NaCl. Enquanto para concentrações mais elevadas (150 e 200 mM) as sementes ainda não haviam germinado. Sementes de soja também tiveram a primeira contagem de germinação afetada negativamente pelo estresse salino (SOARES *et al.*, 2015). No entanto, em sementes de feijão-vagem, Gomes *et al.* (2015) não encontraram diferença entre os valores observados para a testemunha e os demais tratamentos salinos para essa variável.

Essa redução pode ser atribuída à elevada concentração de solutos na solução, devido à ação de alguns íons, decorrente dos elevados teores de Na⁺ e Cl⁻ e da alterada relação K⁺/Na⁺ e outros nutrientes (WILLADINO; CAMARA, 2010).

Quanto ao índice de velocidade de germinação observou-se maior velocidade na ausência de sal e, à medida que a salinidade aumentou, as sementes necessitaram de mais tempo para embeber e germinar (Figuras 10a e 10b).

Figura 10. Índice de velocidade de germinação de feijão-caupi em diferentes níveis salinos e condicionados com ácido ascórbico.

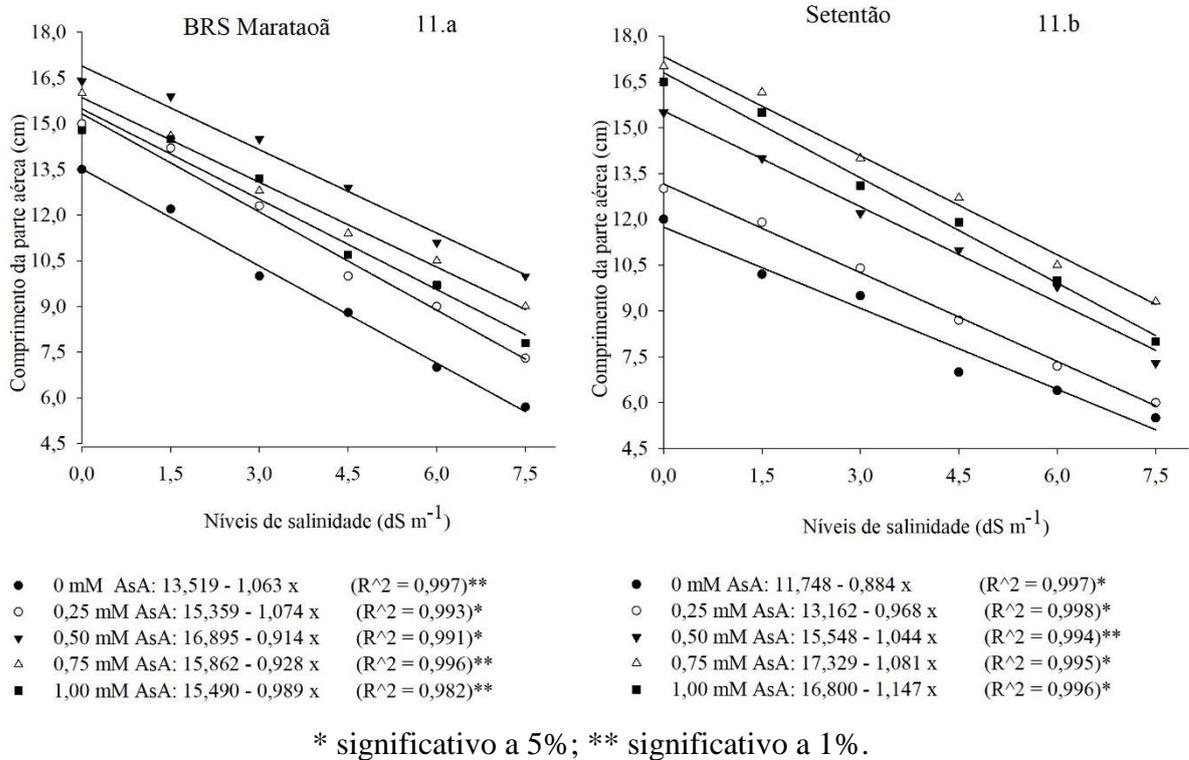


* significativo a 5%; ** significativo a 1%.

As sementes que foram condicionadas com AsA, embeberam e germinaram mais rapidamente. No genótipo Marataoã, o valor do índice de velocidade de germinação foi de 13, para as sementes não condicionadas e não expostas a salinidade, mas quando condicionadas, esses valores foram crescentes, chegando a uma germinação média de 18 sementes na concentração de 0,50 mM de ácido ascórbico. Ainda nessa mesma concentração, quando as sementes foram submetidas ao nível salino mais elevado (7,5 dS.m⁻¹), o IVG foi 11, valor esse semelhante ao obtido nas sementes não tratadas e expostas a 4,5 dS.m⁻¹ (Figura 10a). Já no genótipo Setentão, a concentração de 0,75 mM de AsA proporcionou os maiores valores de IVG (Figura 10b). O ácido ascórbico afeta vários processos fisiológicos, incluindo diferenciações metabólicas das plantas sob condições salinas e o aumento na disponibilidade de água e nutrientes (KHAN *et al.*, 2011).

Em relação à avaliação do crescimento das plântulas, verificou-se que os genótipos de feijão-caupi apresentaram elevada sensibilidade a ambientes salinos, interferindo diretamente no desenvolvimento da parte aérea (Figura 11).

Figura 11. Comprimento da parte aérea das plântulas dos genótipos de feijão-caupi em diferentes níveis salinos e condicionados com ácido ascórbico.



Ao analisar o comprimento da parte aérea através do ajuste das curvas de regressão para os dois genótipos avaliados, observou-se que os mesmos apresentaram tendência semelhante em resposta aos tratamentos utilizados. Para as medidas efetuadas nas plântulas sem o tratamento com ácido ascórbico, e submetidas às concentrações crescentes de sal, percebeu-se uma queda constante para essa variável, chegando aos valores de 5,70 e 5,50 cm para Marataoã e Setentão, respectivamente, ao nível de 7,5 dS.m⁻¹. Nesses ambientes, a elevada concentração de Na⁺ e Cl⁻ no interior das células causaram desnaturação das proteínas e desestabilização de membranas pela redução da hidratação dessas macromoléculas, assim, prejudicando o crescimento e desenvolvimento, principalmente, devido à redução do potencial hídrico da célula (TAIZ *et al.*, 2017).

No entanto, o condicionamento das sementes com AsA nas concentrações de 0,50 para o genótipo BRS Marataoã e 0,75 mM para o Setentão proporcionou um maior crescimento das plântulas, atingindo valores médios de 10,00 e 7,80 cm quando expostas ao maior nível de salinidade testado. Mesmo quando não submetidos ao estresse salino, as sementes tratadas mostraram-se mais vigorosas quando comparadas às não tratadas, podendo ser observado pelo comprimento da parte aérea, em que, o genótipo Marataoã, os valores ficaram em 15,00 cm,

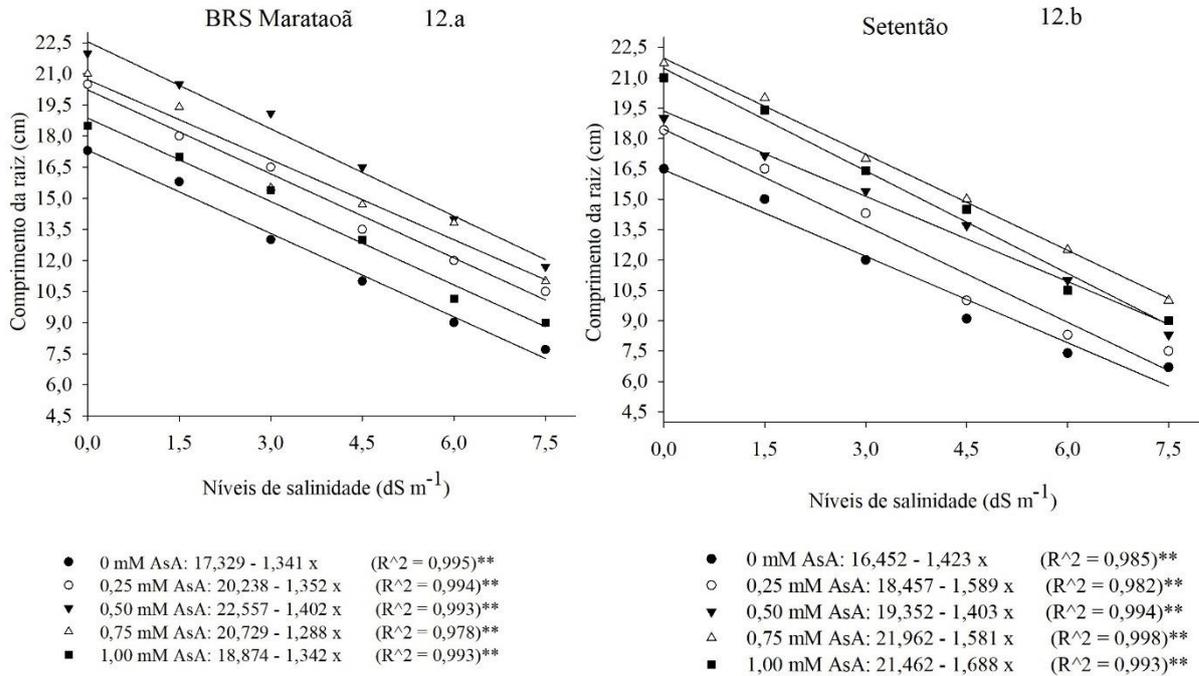
enquanto a não tratada foi de 13,50 cm (Figura 11a). Já o genótipo Setentão, esses valores foram superiores a 13,00 e as não tratadas de 12,00 cm (Figura 11b).

Estudos visando avaliar os efeitos do sal no crescimento inicial de plântulas foram realizados, dentre eles, Nascimento *et al.* (2017), trabalhando com feijão-fava, constataram relação inversamente proporcional entre o comprimento da parte aérea e o aumento da salinidade do substrato para o genótipo Rosinha a temperatura de 25 °C, enquanto, diante as mesmas condições, os genótipos Branca e Orelha de vó não foram influenciados pelo presença de NaCl. Em soja, também foi relatado decréscimos no tamanho das plântulas conforme se elevava a concentração salina, com o genótipo convencional mostrando mais sensível e com reduções mais drásticas em relação ao transgênico. Essa paralisação no crescimento das plantas deve-se ao elevado custo metabólico de energia que elas necessitam para se adaptarem a salinidade (CARVALHO *et al.*, 2012).

Os benefícios do ácido ascórbico no crescimento da parte aérea já foram relatados por alguns autores, dentre eles, El-Hak *et al.* (2012) em plantas de ervilhas, após pulverizar 200 ppm de ácido ascórbico nas folhas. As concentrações de 400 e 600 ppm proporcionou um maior comprimento nas plantas de girassol quando irrigadas com água salina na concentração de 5000 ppm (DAWOOD *et al.*, 2017). Dehghan *et al.* (2011), ao tratar sementes de soja da cultivar DPX com 400 mg.L⁻¹ de AsA, observaram que as plântulas que foram induzidas ao estresse salino de 50 mM apresentaram comprimento médio superior ao obtido no tratamento controle (ausência de sal e sementes não tratadas).

Os fatores analisados também interferiram no crescimento radicular das plântulas de feijão-caupi. Para o genótipo BRS Marataoã, os maiores valores ocorreram nas sementes tratadas com 0,50 mM de AsA, em que, mesmo no nível salino mais elevado (7,5 dS m⁻¹), esse valor foi superior ao obtido no tratamento controle quando exposto a 4,5 dS.m⁻¹. O mesmo pode ser observado para o genótipo Setentão nas sementes tratadas com 0,75 mM de ácido ascórbico. Em ambos os genótipos, os menores comprimento da raiz foi observado na ausência de AsA (Figuras 12a e 12b).

Figura 12. Comprimento da raiz das plântulas de feijão-caupi em diferentes níveis salinos e condicionados com ácido ascórbico.

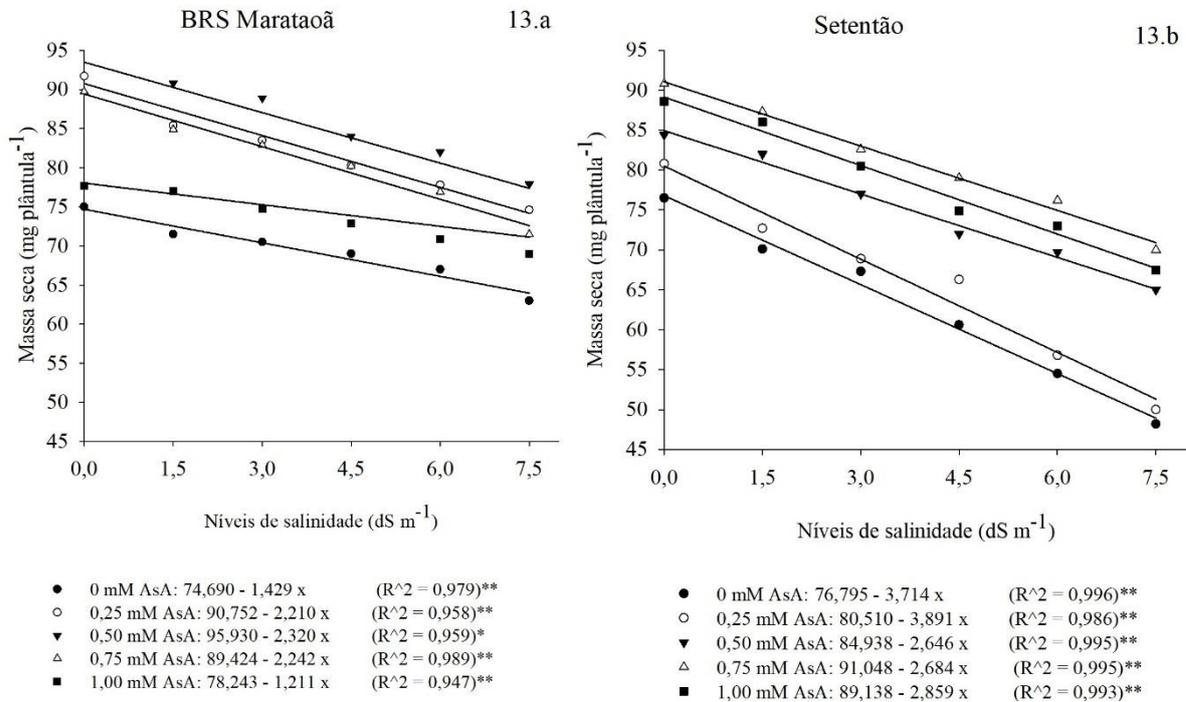


* significativo a 5%; ** significativo a 1%.

Estes resultados corroboram com os encontrados por outros autores, dentre eles, Dalchiavon *et al.* (2016) em sementes de feijão-comum observaram redução no crescimento radicular, conforme se elevaram os teores salinos, com os valores variando de 11,90 cm para testemunha e 9,00 cm para a maior concentração de sal testada. Maia *et al.* (2012) verificaram reduções de 56% e 25% no comprimento do sistema radicular das cultivares Pitiúba e Pérola, sob a concentração de sal mais elevada (NaCl 100 mM – 10 dS.m⁻¹), em relação às testemunhas. Deuner *et al.* (2011), também encontraram diferença nos valores observados entre os tratamentos controle e a indução do estresse salino, havendo queda constante nessa variável e, quando submetidos à concentração de 200 mM (20 dS.m⁻¹) de NaCl foi perceptível apenas o início da protrusão da raiz primária em plântulas de feijão-miúdo.

Quando em concentrações mais elevadas, o estresse salino provocou redução na massa seca das plântulas, para os dois genótipos de feijão-caupi (Figura 13). Este fator é atribuído ao fornecimento das reservas do cotilédone às estruturas primárias da planta, raiz e caule (DALCHIAVON *et al.*, 2016).

Figura 13. Massa seca das plântulas de feijão-caupi em diferentes níveis salinos e condicionados com ácido ascórbico.

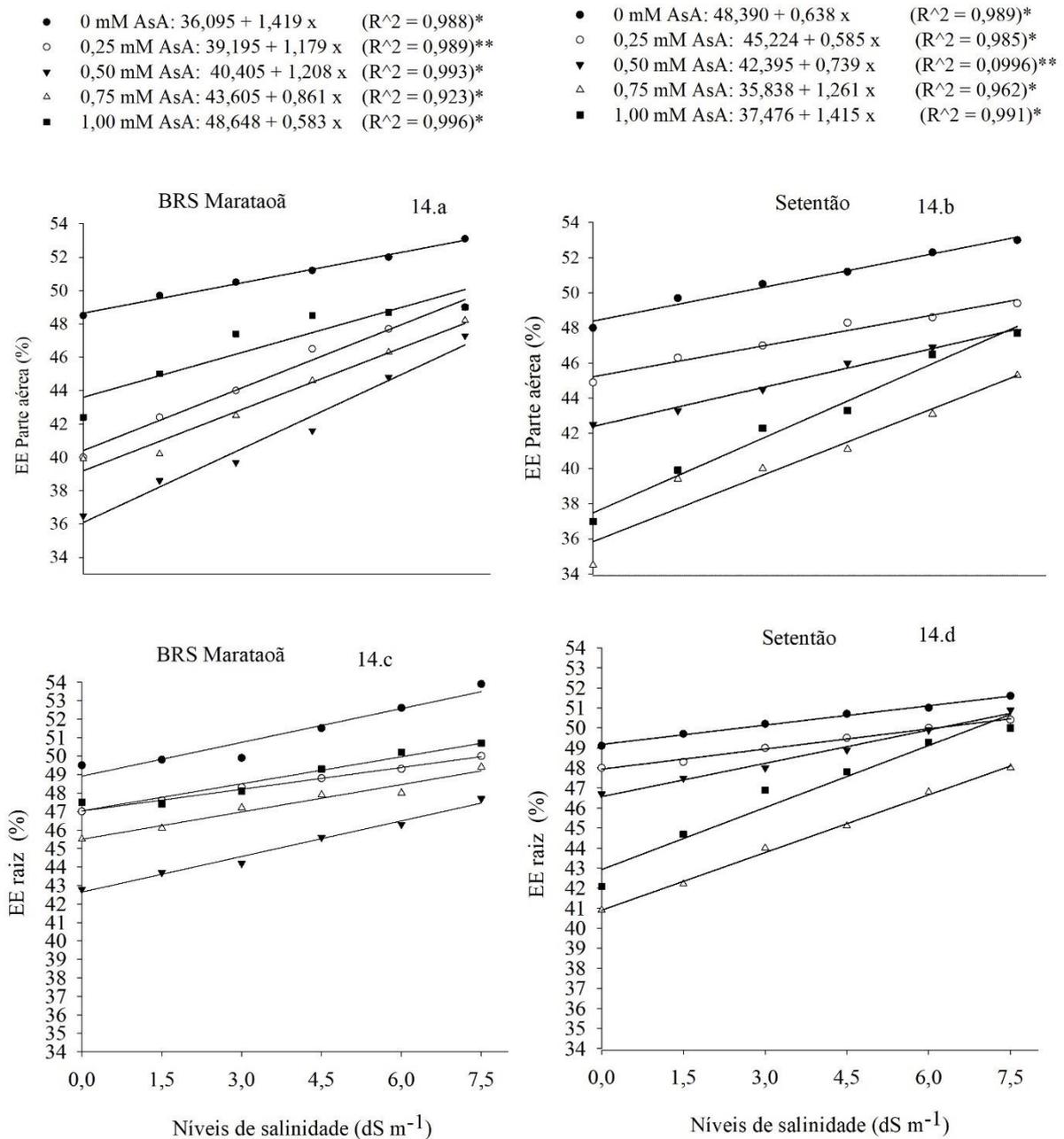


* significativo a 5%; ** significativo a 1%.

Em feijão-caupi irrigado com água de condutividade elétrica a partir de 2,2 dS.m⁻¹, Bezerra *et al.* (2010) observaram menores pesos para matéria seca da folha, da haste, da vagem e da parte aérea. Em feijão-fava, Dalchiavon *et al.* (2016), mencionaram que o estresse salino reduz a capacidade de reserva nutricional das sementes, e, conseqüentemente, plântulas mais leves, em que, o peso encontrado diante da elevada concentração salina variou entre 121 e 132 mg, enquanto para o testemunha, entre 171 e 195 mg.plântula⁻¹. No entanto, Deuner *et al.* (2011), afirmaram que em plantas de *Vigna radiata* doses de até 150 mM de NaCl expressaram aumento de massa seca de caule, enquanto o mesmo foi observado para as folhas até a dose de 100 mM. Os tratamentos salinos ocasionaram o aumento dos danos em membranas, baseados no extravasamento de eletrólitos, nos tecidos foliares e radiculares dos genótipos BRS Marataoã e Setentão. Na concentração de sal mais elevada, a liberação dos eletrólitos nestes tecidos apresentou aumento de cerca de 1,2 vezes em relação aos respectivos controles (Figuras 14a e 14b), com o sistema radicular liberando mais eletrólitos em comparação às folhas (Figuras 14c e 14d). Esses resultados corroboram aos encontrados por Maia *et al.* (2012), nas cultivares de

feijão-caupi Pérola e Pitiúba, ao observarem um aumento de três vezes da concentração mais elevada (100 mM, aproximadamente 10 dS.m⁻¹) em relação ao controle.

Figura 14. Extravazamento de eletrólitos nos tecidos foliares e radiculares de feijão-caupi em diferentes níveis salinos e condicionados com ácido ascórbico.



* significativo a 5%; ** significativo a 1%.

O estresse salino, como outros fatores de estresse abiótico, induz os danos oxidativo às células vegetais catalisadas pelas espécies reativas de oxigênio (EROs), em que, quando as plantas estão expostas a tais situações necessitam desenvolver mecanismos de defesa, capazes de perceber o estímulo, gerar e transmitir sinais e instigar mudanças bioquímicas para ajustar seu metabolismo. Em que no geral, não conseguem produzir antioxidantes naturais em quantidade suficiente para amenizar esses danos, e conseqüentemente, passam a apresentar reduções nos parâmetros de desenvolvimento e produção, conforme observado nas variáveis analisadas nesse trabalho para as sementes não tratadas com AsA.

O condicionamento com ácido ascórbico possibilitou um aumento no mecanismo de defesa das plântulas de feijão-caupi à salinidade, sendo observado que, quando utilizado a concentração de 0,50 mM de AsA nas sementes do genótipo BRS Marataoã, os danos às membranas para o nível salino mais elevado ($7,5 \text{ dS.m}^{-1}$) foi inferior ao apresentado para o tratamento controle tanto nas folhas quanto no sistema radicular. As demais concentrações de AsA também proporcionaram reduções no extravasamento de eletrólitos (Figuras 14a e 14c). Para o genótipo Setentão, em todas as concentrações de AsA testadas foram obtidos valores inferiores aos encontrados nas sementes não tratadas. No tratamento controle foram encontrados os valores de 48,00% e 49,50 %, enquanto ao serem tratadas com 0,75 mM de AsA e expostas a $7,5 \text{ dS.m}^{-1}$, percebeu-se uma redução nesses valores, ficando em torno de 45,30% e 48,00% para folhas e raízes, respectivamente (Figuras 14b e 14d).

Essa redução deve-se a grande importância do ácido ascórbico às plantas, por ser considerado como uma substância chave ao mecanismo antioxidante e essencial à síntese de uma série de enzimas antioxidantes (KHAN *et al.*, 2011). Protege as macromoléculas dos danos oxidativos causados pelos radicais hidroxila, superóxido e oxigênio singleto (DEHGHAN *et al.*, 2011).

4.4 - Conclusão

O condicionamento das sementes com ácido ascórbico nas concentrações de 0,50 mM para o genótipo BRS Marataoã e 0,75 mM para o Setentão, possibilitou o desenvolvimento de plântulas mais vigorosas e a redução dos danos às membranas ocasionado pelo estresse oxidativo tanto na ausência de sal quanto para os níveis salinos testados, inclusive no mais elevado.

5 CONCLUSÃO

O condicionamento das sementes com ácido ascórbico nas concentrações de 0,50 e 0,75 mM para os genótipos BRS Marataoã e Setentão, respectivamente possibilitou o desenvolvimento de plântulas mais vigorosas e a redução dos danos às membranas ocasionado pelo estresse oxidativo tanto na ausência de água e sal quanto para os potenciais osmóticos e os níveis salinos testados.

REFERÊNCIAS

- ALQURAINY, Fahad. Responses of bean and pea to vitamin C under salinity stress. **Research Journal of Agriculture and Biological Sciences**, Jordânia, v. 3, n. 6, p. 714-722, 2007. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/228482136_Responses_of_bean_and_pea_to_vitamin_C_under_salinity_stress. Acessado em 21 dez 2018.
- ANJUM, Shakell ahmad; XIE, Xiao-yu; WANG, Long-chang; SALEEM, Muhammad Farrukh; MAN, Chen; LEI, Wang. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. **African Journal of Agricultural Research**, Nigéria, v. 6, n. 9, p. 2026–2032, 2011. Disponível em: https://academicjournals.org/article/article1380900919_Anjum%2520et%2520al.pdf. Acessado em 21 dez 2018.
- APEL, Klaus; HIRT, Heribert. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, Estados Unidos, v. 55, p. 373–399, 2004. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15377225>. Acessado em 21 dez 2018.
- ARAFA; KHAFAGY, Mahmoud; EL-BANNA, Mostafa. The effect of glycinebetaine or ascorbic acid on the salt-stress induced damages in sorghum plant cells. **International Journal of Botany**, Paquistão, v. 3, n. 3, p. 251-259, 2007. Disponível em: <https://scialert.net/abstract/?doi=ijb.2007.251.259>. Acessado em 21 dez 2018.
- AZOOZ, Mohamed; AL-FREDAN, Mohamed. The inductive role of vitamin C and its mode of application on growth, water status, antioxidant enzyme activities and protein patterns of *Vicia faba* L. cv. Hassawi grown under seawater irrigation. **American Journal of Plant Physiology**, Estados Unidos, v. 4, n. 1, p. 38-51, 2009. Disponível em: <https://scialert.net/fulltextmobile/?doi=ajpp.2009.38.51>. Acessado em 01 dez 2018.
- BAILLY, Christophe; EL-MAAROUF-BOUTEAU, Hayat; CORBINEAU, Françoise. From intracellular signaling networks to cell death: The dual role of reactive oxygen species in seed physiology. **Comptes Rendus Biologies**, França, v. 331, n. 10, p. 806-814, 2008. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18926495>. Acessado em 01 dez 2018.
- BARBOSA, Marta Ribeiro; ARAÚJO SILVA, Marina Medeiros; WILLADINO, Lilia; ULISSES, Claudia; CAMARA, Terezinha Rangel. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciências Agrárias**, Santa Maria, v. 44, n. 3, p. 453-460, 2014. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782014000300011&script=sci_abstract&tlng=pt. Acessado em 01 dez 2018.
- BARH, Debmalya; SRIVASTAVA; MAZUMDAR. Self fruit extract and vitamin-C improves tomato seed germination. **Journal of Applied Sciences Research**, Paquistão, v. 4, n. 2, p. 156-165, 2008. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/228510377_Self_fruit_extract_and_vitamin-c-improves_tomato_seed_germination. Acessado em 09 dez 2018.
- BELTAGI, Mohamed Salah. Exogenous ascorbic acid (vitamin C) induced anabolic changes for salt tolerance in chick pea (*Cicer arietinum* L.) plants. **African Journal Plant Science**,

Nigéria, v. 2, n. 10, p. 118-123, 2008. Disponível em:
http://www.academicjournals.org/app/webroot/article/article1380018084_Beltagi.pdf.
 Acessado em 09 dez 2018.

BECANA, Manuel; MATAMOROS, Manuel; UDVARDI, Michael; DALTON, David. Recent insights into antioxidant defenses of legume root nodules. **New Phytologist**, Reino Unido, v. 188, n. 4, p. 960-976, 2010. Disponível em:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21039567>. Acessado em 29 nov 2018.

BEZERRA, Anna Karine Paiva; LACERDA, Claudivan, Feitosa de; HERNANDEZ, Fernando Felipe Ferreyra; BATISTA da SILVA, Flávio; GHEYI, Hans Raj. Rotação cultural feijão caupi/milho utilizando-se águas de salinidades diferentes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 5, p. 1075-1082, 2010. Disponível em:
http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782010000500012&script=sci_abstract&tlng=pt. Acessado em 29 nov 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399 p. Disponível em:
http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/arquivos-publicacoes-insumos/2946_regras_analise__sementes.pdf. Acessado em 09 nov 2018.

BRILHANTE, Jean Carlos Araújo; OLIVEIRA, Alexandre Bosco; LIMA e SILVA, José Wendney; ENÉAS FILHO, Joaquim. Ação do ácido ascórbico exógeno na qualidade fisiológica de sementes de feijão de corda envelhecidas artificialmente. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 3, p. 985-994, 2013. Disponível em:
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=445744121004>. Acessado em 19 nov 2018.

CALVET, Amanda Soraya Freitas; PINTO, Ciro de Miranda; LIMA, Reivany Eduardo Moraes; MAIA-JOCA, Rebeca Peres Moreno; BEZERRA, Marlos Alves. Crescimento e acumulação de solutos em feijão-caupi irrigado com águas de salinidade crescente em diferentes fases de desenvolvimento. **Irriga**, Botucatu, v. 18, n. 1, p. 148-159, 2013. Disponível em: <http://revistas.fca.unesp.br/index.php/irriga/article/view/514>. Acessado em 19 nov 2018.

CARVALHO, Tereza Cristina de; SILVA, Sibelle Santana da; SILVA, Rosemeire Carvalho da; PANOBIANCO, Maristela. Germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de soja convencional e sua derivada transgênica RR em condições de estresse salino. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 8, p.1366-1371, 2012. Disponível em:
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0103-84782012000800006&lng=en&nrm=iso&tlng=pt. Acessado em 19 nov 2018.

CARVALHO, Ivan Ricardo; SOUZA, Velci Queiróz de; FOLLMANN, Diego Nicolau; NARDINO, Maicon; SCHMIDT, Denise; PELISSARI, Guilherme; BARETTA, Diego. Desempenho fisiológico de cultivares de soja com a regulação hídrica por manitol. **Revista Agrian**, Dourados, v. 9, n. 31, p. 34-43, 2016. Disponível em:
<http://ojs.ufgd.edu.br/index.php/agrarian/article/view/3398>. Acessado em 19 nov 2018.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia a produção**. Jaboticabal: Funep, 5 ed., 2012. 590p.

CAVALCANTI, Fabio Rossi; OLIVEIRA, José Tadeu Abreu; MARTINS-MIRANDA, Aparecida Simone; VIÉGAS, Ricardo Almeida, SILVEIRA, Joaquim Albenísio Gomes. Superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities do not confer protection against oxidative damage in salt-stressed cowpea leaves. **New Phytologist**, Reino Unido, v. 163, n. 3, p. 563-571, 2004. Disponível em: <https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1469-8137.2004.01139.x>. Acessado em 19 nov 2018.

ÇAVUSOGLU, Kursat; BILIR, Goksel. Effects of ascorbic acid on the seed germination, seedling growth and leaf anatomy of barley under salt stress. **Journal of Agricultural and Biological Science**, Estados Unidos, v. 10, n. 4, p. 124-129, 2015. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/275327611_Effects_of_ascorbic_acid_on_the_seed_germination_seedling_growth_and_leaf_anatomy_of_barley_under_salt_stress. Acessado em 19 nov 2018.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra Brasileira de grãos**, v. 6, Safra 2018/19 - Primeiro levantamento, Brasília, p. 1-129, outubro, 2018. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/graos>. Acessado em 09 nov 2018.

CONUS, Lenita Aparecida; CARDOSO, Paulo César; VENTUROSO, Luciano dos Reis; SCALON, Silvana de Paula Quintão. Germinação de Sementes e Vigor de plântulas de milho submetidas ao estresse salino induzido por diferentes sais. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 4, p. 67-74, 2009. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-31222009000400008. Acessado em 19 nov 2018.

CUSTÓDIO, Ceci Castilho; SALOMÃO, Gisele Rabelo; MACHADO NETO, Nelson Barbosa Estresse hídrico na germinação e vigor de sementes de feijão submetidas à diferentes soluções osmóticas. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 40, n. 4, p. 617-623, 2009. Disponível em: <http://ccarevista.ufc.br/seer/index.php/ccarevista/article/view/491>. Acessado em 19 nov 2018.

DALCHIAVON, Flávio; NEVES, Graciele; HAGA, Kuniko. Efeito de stresse salino em sementes de *Phaseolus vulgaris*. **Revista de Ciências Agrárias**, Recife, v. 39, n. 3, p. 404-412, 2016. Disponível em: http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0871-018X2016000300009. Acessado em 19 nov 2018.

DAWOOD, Mona; EL-AWADI, Mohamed; ABDEL-BAKY; SADAK, Mervat. Physiological role of ascobin on sunflower plants irrigated with sodium chloride solution. **Agricultural Engineering International**, Japão, v. 19, Special issue, p. 16-26, 2017. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/325100791_Physiological_role_of_ascobin_on_luaility_and_productivity_of_sunflower_plants_irrigated_with_sodium_chloride_solution. Acessado em 19 nov 2018.

DEGHAN, Gholamreza; REZAZADEH, Leyla; HABIBI, Ghader Exogenous ascorbate improves antioxidant defense system and induces salinity tolerance in soybean seedlings. **Acta Biologica Szegediensis**, Hungria, v. 55, n. 2, p. 261-264, 2011. Disponível em: <https://www2.sci.u-szeged.hu/ABS/2011/Acta%20HPb/55261.pdf>. Acessado em 10 nov 2018.

DEUNER, Cristiane; MAIA, Manoel de Souza; DEUNER, Sidnei; ALMEIDA, Andréia da Silva; MENEGHELLO, Géri Eduardo. Viabilidade e atividade antioxidante de sementes de genótipos de feijão-miúdo submetidos ao estresse salino. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 33, n. 4, p. 711-720, 2011. Disponível em:

<http://www.scielo.br/pdf/rbs/v33n4/13.pdf>. Acessado em 10 nov 2018.

DINAKAR, Challabathula; DJILIANOV, Dimitar; BARTELS, Dorothea. Photosynthesis in desiccation tolerant plants: energy metabolism and antioxidative stress defense. **Plant Science**, Holanda, v. 182, p. 29-41, 2012. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22118613>. Acessado em 10 nov 2018.

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. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici ClujNapoca**, Romênia, v. 36, n. 2, p. 61-66, 2008. Disponível em:

<https://www.notulaebotanicae.ro/index.php/nbha/article/view/70Oil>. Acessado em 10 nov 2018.

DUARTE, Daiane Marques; SILVA, Diana Cristina da; ROCHA, Ednaldo Cândido; PEREIRA Helton Santos; RODRIGUES, Febrício. Simulação de déficit hídrico em diferentes genótipos de feijão pela diminuição do potencial osmótico. **In: 7º Congresso Brasileiro de Melhoramento de plantas**, p. 1515-1518, 2013. Disponível em:

<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/87822/1/p1515.pdf>.

Acessado em 10 nov 2018.

EL-BAKY, Abd; HANAA; MOHAMED; AMAL; HUSSEIN. Influence of salinity on lipid peroxidation, antioxidant enzymes and electrophoretic patterns of protein and isoenzymas in leaves of some onion cultivars. **Asian Journal of Plant Sciences**, Paquistão, v. 2, n. 17, p. 1220-1227, 2003. Disponível em: <https://scialert.net/abstract/?doi=ajps.2003.1220.1227>.

Acessado em 10 nov 2018.

EL-HAK; AHMED; MOUSTAFA. Effect of foliar application with two antioxidants and humic acid on growth, yield and yield components of peas (*Pisum sativum* L.). **Journal of Horticultural Science & Ornamental Plants**, Reino Unido, v. 4, n. 3, p. 318-328, 2012. Disponível em:

Disponível em:

<https://pdfs.semanticscholar.org/6977/646c3db0ed881550c792a91070de8ac560eb.pdf>.

Acessado em 10 nov 2018.

ESTEVEES, Bruno dos Santos; SUZUKI, Marina Satika. Efeito da salinidade sobre as plantas. **Oecologia Australis**, Rio de Janeiro, v.12, n. 4, p. 662-679, 2008. Disponível em:

<https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/2883337.pdf>. Acessado em 12 nov 2018.

FERREIRA, Aureane Cristina Teixeira; FELITO, Ricardo Adriano; ROCHA, Adriano Maltezo; CARVALHO, Maro Antônio Camillo; YAMASHITA, Oscar Mitsuo. Water and salt stresses on germination of cowpea (*Vigna unguiculata* cv. BRS Tumucumaque) seeds. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 30, n. 4, p. 1009-1016, 2017. Disponível em:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1983-21252017000401009.

Acessado em 12 nov 2018.

FOYER, Christine; SHIGEOKA, Shigeoka. Understanding oxidative stress and antioxidant functions to enhance photosynthesis. **Plant Physiology**, Estados Unidos, v.155, p.93-100, 2011. Disponível em: <http://www.plantphysiol.org/content/155/1/93>. Acessado em 12 nov 2018.

FOYER, Christine; NOCTOR, Graham. Redox homeostasis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses. **The Plant Cell**, Estados Unidos, v. 17, n. 7, p. 1866-875, 2005. Disponível em: <http://www.plantcell.org/content/17/7/1866>. Acessado em 12 nov 2018.

FREIRE FILHO, Francisco Rodrigues; RIBEIRO, Valdenir Queiroz; ROCHA, Maurisrael de Moura; DAMASCENO e SILVA, Kaesel Jackson; NOGUEIRA, Maria do Socorro da Rocha; RODRIGUES, Erina Vitório. **Feijão-caupi no Brasil: produção, melhoramento genético, avanços e desafios**. 1 ed. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2011. 84p. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/916831/1/feijaocaupi.pdf>. Acessado em 12 nov 2018.

FREIRE FILHO, Francisco Rodrigues; RIBEIRO, Valdenir Queiróz; BARRETO, Paulo Diógenes; SANTOS, Carlos Antônio Fernandes. Feijão-Caupi: Melhoramento genético, resultados e perspectivas. In: Simpósio nordestino de genética e melhoramento 34 de plantas, 2009, Fortaleza. O melhoramento genético no contexto atual. **Anais...** Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical/UFC. p. 25-59. Disponível em: <http://www.cpatia.embrapa.br/catalogo/livroorg/caupinordeste.pdf>. Acessado em 12 nov 2018.

FREIRE FILHO, Francisco Rodrigues; VILARINHO, Aloisio Alcantara; CRAVO, Manoel da Silva; CAVALCANTI, Emanuel da Silva. Panorama da cultura do feijão-caupi no Brasil. In: Workshop sobre a Cultura do Feijão-Caupi em Roraima. Embrapa Roraima. **Anais**. Boa Vista: Embrapa Roraima, 2007. p. 11-14 (Embrapa Roraima. Documentos, 4). Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/347668>. Acessado em 12 nov 2018.

FREIRE FILHO, Francisco Rodrigues; LIMA, José Albérico de Araújo; RIBEIRO, Valdenir Queiroz. Feijão-Caupi Avanços Tecnológicos. Brasília: **Embrapa Informação Tecnológica**, 2005(a). 519 p. Disponível em: https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/cap6_000fm0xytbj02wyiv80kxlb3612vq547.pdf. Acessado em 12 nov 2018.

FREIRE FILHO, Francisco Rodrigues; RIBEIRO, Valdenir Queiroz; ALCÂNTARA, José dos Prazeres; BELARMINO FILHO, José; ROCHA, Maurisrael de Moura. BRS Marataoã: novo cultivar de feijão-caupi com grão tipo sempre-verde. **Revista Ceres**, Voçosa, v. 52, n.303, p.771-777, 2005(b). Disponível em: <http://www.ceres.ufv.br/ojs/index.php/ceres/article/view/3087/976>. Acessado em 11 nov 2018.

FREIRE FILHO, Francisco Rodrigues; RIBEIRO, Valdenir Queiroz; ALCÂNTARA, José dos Prazeres; BELARMINO FILHO, José; ROCHA, Maurisrael de Moura. **BRS Marataoã: novo cultivar de feijão-caupi com grão tipo sempre-verde**. Embrapa Meio Norte, 2004 (Folder). Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/64335/brs-marataoa-cultivar-de-feijao-caupi-com-grao-sempre-verde>. Acessado em 11 nov 2018.

FREITAS, Raquel Alves de; DIAS, Denise Cunha Fernandes dos Santos; DIAS, Luiz Antonio dos Santos; OLIVEIRA, Maria Goreti de Almeida; JOSE, Ines Chamel. Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de algodão submetidas ao envelhecimento artificial. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 22, n. 1, p. 67-76, 2006.

FURTADO, Roselayne Ferro; MANO, Ana Raquel de Oliveira; ALVES, Carlucio Roberto; FREITAS, Sílvia Maria de; MEDEIROS FILHO, Sebastião. Efeito da salinidade na germinação de sementes de algodão. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 38, n. 2, p. 224-227, 2007. Disponível em: <http://ccarevista.ufc.br/seer/index.php/ccarevista/article/view/135>. Acessado em 01 dez 2018.

GAD EL-HAK; AHMED; MOUSTAFA. Effect of foliar application with two antioxidants and humic acid on growth, yield and yield components of peas (*Pisum sativum* L.). **Journal of Horticultural Science & Ornamental Plants**, Reino Unido, v. 4, n. 3, p. 318-328, 2012. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/233884938_Effect_of_Foliar_Application_with_Two_Antioxidants_and_Humic_Acid_on_Growth_Yield_and_Yield_Components_of_Peas_Pisum_sativum_L. Acessado em 11 dez 2018.

GALLIE, Daniel. The role of L-ascorbic acid recycling in responding to environmental stress and in promoting plant growth. **Journal of Experimental Botany**, Reino Unido, v. 64, n. 2, p. 433-443, 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23162122>. Acessado em 11 dez 2018.

GEST, Noe; GAUTIER, Hélène; STEVENS, Rebeca. Ascorbate as Seen Through Plant Evolution: the Rise of a Successful Molecule? **Journal of Experimental Botany**, Reino Unido, v. 64, n. 1, p. 33-53, 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23109712>. Acessado em 11 dez 2018.

GILL, Sarvajeet Singh; TUTEJA, Narendra. Reactive Oxygen Species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, Holanda, v. 48, p. 909-930, 2010. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20870416>. Acessado em 11 dez 2018.

GOMES, Guilherme Renato; ALMEIDA, Luiz Henrique Campos de; TAKAHASHI, Lúcia Sadayo Assari. Efeito do estresse hídrico e salino no vigor e germinação de sementes de feijão-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.). **Cultura Agronômica**, Ilha Solteira, v. 24, n. 1, p. 83-92, 2015. Disponível em: ojs.unesp.br/index.php/rculturaagronomica/article/download/2304/1717. Acessado em 05 dez 2018.

ISHIBASHI, Yushi; IWAYA-INOUE, Mari. Ascorbic Acid Suppresses Germination and Dynamic States of Water in Wheat Seeds. **Plant Production Science**, Japão, v. 9, n. 2, p. 172-175, 2006. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1626/ppls.9.172>. Acessado em 05 dez 2018.

JALEEL, Cheruth Abdul; MANUVANNAN, Paramasivam; WAHID, Abdul; FAROOQ, Muhammad. Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. **International Journal of Agriculture Biology**, Paquistão, v. 11, n. 1, p. 100-105, 2009. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/253008137_Drought_Stress_in_Plants_A_Review_on_Morphological_Characteristics_and_Pigments_Composition. Acessado em 05 dez 2018. KAPPES, Claudinei; ANDRADE, João Antônio da Costa; HAGA, Kuniko Iwamoto; FERREIRA, João Paulo; ARF, Marcelo Valentini. Germinação, vigor de sementes e crescimento de plântulas de milho sob condições de déficit hídrico. **Scientia agraria**, Curitiba, v. 11, n. 2, p. 125-134, 2010. Disponível em: <https://revistas.ufpr.br/agraria/article/viewFile/16464/11479>. Acessado em 05 dez 2018.

KHAN, Taqi Ahmed; MAZID, Mohd; MOHAMMAD, Firoz. A review of ascorbic acid potentialities against oxidative stress induced in plant. **Journal of Agrobiology**, República Tcheca, v. 28, n. 2, p. 97-111, 2011. Disponível em: https://www.zf.jcu.cz/dokumenty/dokumenty-journal-of-agrobiology/2011-number-2/11-211_Khan_imprim.pdf. Acessado em 05 dez 2018.

KIBINZA, Serge; VINEL, Dominique; CÔME, Daniel; BAILLY, Christophe; CORBINEAU, Françoise. Sunflower seed deterioration as related to moisture content during ageing, energy metabolism and active oxygen species scavenging. **Physiologia Plantarum**, Reino Unido, v. 128, n. 3, p. 496-506, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2006.00771.x>. Acessado em 05 dez 2018.

KRANNER, Ilse; BIRTIC, Simona; ANDERSON, Kim; PRITCHARD, Hugh. Glutathione half-cell reduction potencial: a universal stress marker and modulator of programmed cell death? **Free Radical Biology & Medicine**, Holanda, v. 40, n. 12, p. 2155-2165, 2006. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16785029>. Acessado em 07 dez 2018.

LACERDA, Claudivan Feitosa; CAMBRAIA, José; OLIVA, Marco Antonio; RUIZ, Hugo Alberto; PRISCO, José Tarquínio. Solute accumulation and distribution shoot and leaf development in two sorghum genotypes under salt stress. **Environmental and Experimental Botany**, Holanda, v. 49, n. 2003, p. 107-120, 2003. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0098-8472\(02\)00064-3](https://doi.org/10.1016/S0098-8472(02)00064-3). Acessado em 07 dez 2018.

LISAR, Seyed; MATAFAKKERAZAD, Ruhollah; HOSSAIN, Mosharraf; RAHMAN, Ismail. Water stress in plants: causes, effects and responses. In RAHMAN, Ismail; HIROSHI, Hasegawa **Water Stress**, Rijeka: INTECH, 2012, p. 1-14. Disponível em: <https://www.intechopen.com/books/water-stress/water-stress-in-plants-causes-effects-and-responses>. Acessado em 07 dez 2018.

LOPES, José Carlos; MACEDO, Célia Maria Peixoto de. Germinação de sementes de couve chinesa sob influência do teor de água, substrato e estresse salino. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 30, n. 3, p. 079-085, 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-31222008000300011>. Acessado em 09 dez 2018.

LORETO, Francesco; VELIKOVA, Violeta; DI MARCO, Giorgio. Respiration in the light measured by $^{12}\text{CO}_2$ emission in $^{13}\text{CO}_2$ atmosphere in maize leaves. **Australian Journal of Plant Physiology**, Austrália, v. 28, n. 11, p. 1103-1108, 2001. Disponível em: https://www.academia.edu/24980885/Respiration_in_the_light_measured_by_12CO_2_emission_in_13CO_2_atmosphere_in_maize_leaves. Acessado em 09 dez 2018.

MAIA, Josemir Moura; FERREIRA-SILVA, Sérgio Luiz; VOIGT, Eduardo Luiz; MACÊDO, Cristiane Elizabeth Costa de; PONTE, Luiz Ferreira Aguiar; SILVEIRA, Joaquim Albenísio

Gomes. Atividade de enzimas antioxidantes e inibição do crescimento radicular de feijão caupi sob diferentes níveis de salinidade. **Acta Botânica Brasílica**, Belo Horizonte, v. 26, n. 2, p. 342-349, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-33062012000200010>. Acessado em 09 dez 2018.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2. ed., Londrina: ABRATES, 2015. 660p

McCUE, Patrick; ZHENG, Zouxing; PINKHAM, Jennifer; SHETTY, Kalidas. Model for enhanced pea seedling vigour following low pH and salicylic acid treatments. **Processes Biochemistry**, Reino Unido. v. 35, n. 6, p. 603-613, 2000. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/222245193_A_model_for_enhanced_pea_seedling_vigor_following_low_pH_and_salicylic_acid_treatments. Acessado em 09 dez 2018.

MENEZES, Carlos Henrique; LIMA, Henrique Guedes de Moraes; LIMA, Marcos Magalhães de Andrade; VIDAL, Mácia. Aspectos genéticos e moleculares de plantas submetidas ao déficit hídrico. **Revista de Oleaginosas e Fibrosas**, Campina Grande, v. 10, n. 1-2, p. 1039-1072, 2006. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_nlinks&pid=S0006-8705201500010002500022&lng=en. Acessado em 09 dez 2018.

MITTLER, Ron. Oxidative stress, antioxidantes and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, Holanda, v. 7, n. 9, p. 405-410, 2002. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1360138502023129>. Acessado em 09 dez 2018.

MOHAMMADI; SOLTANI, Afshin; SADEGHIPOUR, Hamid Reza; ZEINALI. Effects of seed aging on subsequent seed reserve utilization and seedling growth in soybean. **International Journal of Plant Production**, Irã, v. 5, n. 1, p. 65-70, 2011. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/279526414_Effects_of_seed_aging_on_subsequent_seed_reserve_utilization_and_seedling_growth_in_soybean. Acessado em 09 dez 2018.

MONDO, Vitor Henrique Vaz; CARVALHO, Saul Jorge Pinto de; DIAS, Ana Carolina Ribeiro; MARCOS FILHO, Júlio. Efeitos da luz e temperatura na germinação de sementes de quatro espécies de plantas daninhas do gênero *Digitaria*. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 32, n. 1, p. 131-137, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-31222010000100015>. Acessado em 09 dez 2018.

MOTERLE, Lia Mara; LOPES, Pablo de Carvalho; BRACCINI, Alessandro de Lucca e; SCAPIM, Carlos Alberto. Germinação de sementes e crescimento de plântulas de cultivares de milho-pipoca submetidas ao estresse hídrico e salino. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 28, n. 3, p. 169-176, 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-31222006000300024>. Acessado em 09 dez 2018.

MÜLLER-MOULÉ, Patrícia; GOLAN, Talila; NIYOGI, Krishna. Ascorbate-deficient mutants of *Arabidopsis* grow in high light despite chronic photooxidative stress. **Plant Physiology**, Estados Unidos, v. 134, p. 1163-1172, 2004. Disponível em: <http://www.plantphysiol.org/content/134/3/1163>. Acessado em 24 nov 2018.

MUNNÉ-BOSCH, Sergi; QUEVAL, Guillaume; FOYER, Christine. The Impact of Global Change Factors on Redox Signaling Underpinning Stress Tolerance. **Plant Physiology**,

Estados Unidos, v. 161, n. 1, p. 5-19, 2013. Disponível em:

<http://www.plantphysiol.org/content/161/1/5>. Acessado em 18 nov 2018.

MUNNS, Rana; TESTER, Mark. Mechanisms of salinity tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, Estados Unidos, v. 59, p. 651-681, 2008. Disponível em:

<https://www.semanticscholar.org/paper/Mechanisms-of-salinity-tolerance.-Munns-Tester/1e2def6198722cdc550dbe945fb14905e15ee878>. Acessado em 26 nov 2018.

NASCIMENTO, Maria das Graças Rodrigues do; ALVES, Edna Ursulino; SILVA, Maria Lúcia Maurício; RODRIGUES, Caroline Marques. Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) seeds exposed to different salt concentrations and temperatures. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 30, n. 3, p. 738-747, 2017. Disponível em:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1983-21252017000300738. Acessado em 31 out 2018.

NASCIMENTO, Sebastião; BASTOS, Edson; ARAÚJO, Eugênio; FREIRE FILHO, Francisco; SILVA, Everaldo. Tolerância ao déficit hídrico em genótipos de feijão-caupi.

Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, Campina Grande, v. 15, n. 8, p. 853-860, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbeaa/v15n8/13.pdf>. Acessado em 22 nov 2018.

NASR, Seyed Mohammad Hosseini; PARSAKHOO, Aidin; NAGHAVI, Hamed; KOOHI, Sekineh Kiani Savad. Effect of salt stress on germination and seedling growth of *Prosopis juliflora* (Sw.). **New Forests**, Holanda, v. 43, n. 1, p. 45-55, 2012. Disponível em:

<https://link.springer.com/article/10.1007/s11056-011-9265-9>. Acessado em 02 dez 2018.

NÓBREGA, José; RAO, Tantravahi; BELTRÃO, Napoleão; FIDELES FILHO, José. Análise de crescimento do feijoeiro submetido a quatro níveis de umidade do solo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 5, n. 3, p. 437-443, 2001.

Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-43662001000300012. Acessado em 01 dez 2018.

OLIVEIRA, Inocencio Júnior de; FONTES, José Roberto Antoniol; DAMASCENO e SILVA, Kaesel Jackson; ROCHA, Maurisrael Moura. **BRS Marataoã: novo cultivar de feijão-caupi com grão tipo sempre-verde para o Amazonas**. Embrapa Amazônia Ocidental, Circular Técnico, n.107, 2014. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/996072/brs-marataoa---cultivar-de-feijao-caupi-com-grao-sempre-verde-para-o-amazonas>. Acessado em 08 dez 2018.

PAIVA, José Braga; TEÓFILO, Elizita Maria; SANTOS, José Higinio Ribeiro dos; LIMA, José Albérico de Araújo; GONÇALVES, Maria de Fátima Barros; SILVEIRA, Lúcia de Fátima Sousa. "Setentão" uma nova cultivar de feijão de corda para o estado do Ceará. **Acta Botânica Brasílica**, Belo Horizonte, v.4, n.2, p. 165-169, 1990. Disponível em:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-33061990000300017. Acessado em 13 dez 2018.

PASTORI, Gabriela; FOYER, Christine. Common components, networks, and pathways of cross-tolerance to stress. The central role of 'redox' and abscisic acid-mediated controls. **Plant Physiology**, Estados Unidos, v. 129, p. 7460-7468, 2002. Disponível em:

<http://www.plantphysiol.org/content/129/2/460>. Acessado em 12 dez 2018.

PINHEIRO, Gabriela Gai; ZANOTTI, Rafael Fonsêca; PAIVA, Carlos Eduardo Costa; LOPES, José Carlos; GAI, Zelia Teresinha. Efeito do estresse salino em sementes e plântulas de feijão-guandu. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 9, n.16, p. 901-912, 2013. Disponível em:

<http://www.conhecer.org.br/enciclop/2013a/agrarias/Efeito%20do%20estresse%20salino.pdf>. Acessado em 21 nov 2018.

RAZA, Syed Hammad; SHAFIQ, Fahad; CHAUDHARY Mahwish; KHAN, Imran. Seed invigoration with water, ascorbic and salicylic acid stimulates development and biochemical characters of okra (*Ablemoschus esculentus*) under normal and saline conditions.

International Journal of Agriculture and Biology, Paquistão, v. 15, p. 486-492, 2013.

Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/236344034_Seed_Invigoration_with_Water_Ascorbic_and_Salicylic_Acid_Stimulates_Development_and_Biochemical_Characters_of_Okra_Ablemoschus_esculentus_under_Normal_and_Saline_Conditions. Acessado em 24 nov 2018.

RHEIN, Andressa Freitas Lima; SANTOS, Durvalina Maria Mathias; CARLIN, Samira Domingues. Atividade da enzima redutase do nitrato e teores de prolina livre em raízes de cana-de-açúcar sob estresse hídrico e ácido no solo. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 4, p. 1345-1360, 2011. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/276998764_Atividade_da_enzima_redutase_do_nitrato_e_teores_de_prolina_livre_em_raizes_de_cana-de-acucar_sob_os_estresses_hidrico_e_acido_no_solo. Acessado em 03 dez 2018.

ROCHA, Maurisrael de Moura; CARVALHO, Kênnia Jhouanny Martins de; FREIRE FILHO, Francisco Rodrigues; LOPES, Ângela Celis de Almeida; GOMES, Regina Lúcia Ferreira; SOUSA, Iradenia da Silva. Controle genético do comprimento do pedúnculo em feijão-caupi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 3, p. 270-275, 2009. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2009000300008. Acessado em 22 dez 2018.

SANTOS, Osvaldir Feliciano dos; BROETTO, Fernando; OLIVEIRA, Dariane Priscila Franco de; GALVÃO, Ícaro Monteiro; SOUZA, Mara Lúcia Cruz de; BASÍLIO, Josiana Jussara Nazaré. Ácido ascórbico, uma alternativa para minimizar os efeitos da deficiência hídrica em rabanete. **Revista Irriga**, Botucatu, v. 1, n. 1, p. 79-91, 2018. Disponível em: <http://revistas.fca.unesp.br/index.php/irriga/article/view/3541>. Acessado em 20 dez 2018.

SCANDALIOS. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, São Paulo, v. 38, n. 7, p. 995–1014, 2005. Disponível em:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-879X2005000700003. Acessado em 16 dez 2018.

SOARES, Marcos Moraes; SANTOS JÚNIOR, Hamilton Carvalho; SIMÕES, Mateus Geraldo; PAZZIN, Dalcionei; SILVA, Laércio Júnio da. Estresse hídrico e salino em sementes de soja classificadas em diferentes tamanhos. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 45, n. 4, p. 370-378, 2015. Disponível em:

<http://www.scielo.br/pdf/pat/v45n4/1517-6398-pat-45-04-0370.pdf>. Acessado em 20 dez 2018.

SORATTO, Rogério Peres; ARF, Orivaldo; RODRIGUES, Ricardo Antonio Ferreira; BUZZETTI, SALATIÉR; SILVA, Tiago Benetoli da. Resposta do feijoeiro ao preparo do solo, manejo de água e parcelamento do nitrogênio. **Acta Scientiarum: Agronomy**, Maringá, v. 25, n. 1, p. 89-96, 2003. Disponível em:

<http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAgron/article/view/2453>. Acessado em 23 nov 2018.

SOUSA, Maria das Dores Mota de; CARVALHO, Clayton Moura de; SABINO, Rita de Kácia; LOPEZ, Pedro Henrique; ALCÂNTARA, Vanessa da Silva; SILVESTRE, Ana Célia Alvez. Feito da adubação potássica no crescimento do feijão de corda preto. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, Fortaleza, v. 7, n. 1, p. 66 - 73, 2013. Disponível em:

<http://www.inovagri.org.br/revista/index.php/rbai/article/view/139>. Acessado em 04 dez 2018.

SOUZA, Rogéria Pereira; MACHADO, Eduardo Caruso; SILVEIRA, Joaquim Albenísio Gomes; RIBEIRO, Rafael Vasconcelos. Fotossíntese e acúmulo de solutos em feijoeiro caupi submetido à salinidade. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 6, p. 586-592, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/pab/v46n6/a03v46n6.pdf>. Acessado em 27 nov 2018.

SUN, Wei-Hong; DUAN, Ming; DEFENG, Shu; YANG, Sha. Overexpression of StAPX in tobacco improves seed germination and increases early seedling tolerance to salinity and osmotic stresses. **Plant Cell Reports**, Alemanha, v. 29, n. 8, p. 917-926, 2010. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/44650105_Over-expression_of_StAPX_in_tobacco_improves_seed_germination_and_increases_early_seedling_tolerance_to_salinity_and_osmotic_stresses. Acessado em 10 dez 2018.

TAIZ, Lincoln; ZEIGER, Eduardo; MOLLER, Ian Max; MURPHY, Angus. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6 ed. Porto Alegre, Artmed, 2017.

TAKEMURA, Yukitoshi; SATOH, Motohiko; SATOH, Kiyotoshi; HAMADA, Hironobu; SEKIDO, Yoshitaka; KUBOTA, Shunichiro. High dose of ascorbic acid induces cell death in mesothelioma cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Estados Unidos, v. 394, n. 2, p. 249-253, 2010. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006291X10002123>. Acessado em 10 dez 2018.

TALLA, Saikrishna; RIAZUNNISA, Khateef; PADMAVATHI; SUNIL, Bobba; RAGHAVENDRA, Agepati. Ascorbic acid is a key participant during the interactions between chloroplasts and mitochondria to optimize photosynthesis and protect against photoinhibition. **Journal of Biosciences**, Índia, v. 36, p. 163-173, 2011. Disponível em: <https://www.semanticscholar.org/paper/Ascorbic-acid-is-a-key-participant-during-the-and-Talla-Riazunnisa/c43246d0434150a402688e9e1196f479bc4aa2a9>. Acessado em: 03 dez 2018.

TARHANEN; RINNÉ, Susanne; HOLOPAINEN, Toini; OKSANEN, Juha. Membrane permeability response of lichen *Bryoria fuscescens* to wet deposited heavy metals and acid rain. **Environmental Pollution**, Reino Unido, v. 104, p. 121-129, 1999. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/248420750_Membrane_permeability_response_of_1

ichen_Bryoria_Fuscescens_to_wet_deposited_heavy_metals_and_acid_rain. Acessado em: 03 dez 2018.

TOMMASI, Franca; PACIOLLA, Costantino; PINTO, Maria Concetta de; GARA, Laura de. A comparative study of glutathione and ascorbate metabolism during germination of *Pinus pinea* L. seeds. **Journal of Experimental Botany**, Reino Unido, v. 52, n. 361, p. 1647-1654, 2001. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11479329>. Acessado em 05 dez 2018.

VENKATESH, Jelli; UPADHYAYA, Chandrama Prakash; YU, Jae-Woong; HEMAVATHI, Ajappala; KIM, Doo Hwan; STRASSER, Reto; PARK, Se Won. Chlorophyll a fluorescence transient analysis of transgenic potato overexpressing D-galacturonic acid reductase gene for salinity stress tolerance. **Horticulture, Environment, and Biotechnology**, Coréia do Sul, v. 53, n. 4, p. 320-328, 2012. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13580-012-0035-1>. Acessado em 01 dez 2018.

VIÇOSI, Karen Andreon; FERREIRA, Aparecido Alves Serafim; OLIVEIRA, Luis Augusto Batista de; RODRIGUES, Fabrício. Estresse hídrico simulado em genótipos de feijão, milho e soja. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia, v. 4, Suplemento 1, p. 36-42, 2017. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/327783387_ESTRESSE_HIDRICO_SIMULADO_EM_GENOTIPOS_DE_FEIJAO_MILHO_E_SOJA. Acessado em 30 nov 2018.

VOSS; SUNIL; SCHEIBE; RAGHAVENDRA. Emerging concept for the role of photorespiration as an import part of abiotic stress response. **Plant Biology**, Estados Unidos, v. 15, n. 4, p. 713-722, 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23452019>. Acessado em 30 nov 2018.

WILSON, Clyde; LIU, Xuan; LESCH, Scott; SUAREZ, Donald. Growth response of major USA cowpea cultivars. I. Biomass accumulation and salt tolerance. **Hort Science**, Estados Unidos, v. 41, n. 1, p. 225–230, 2006. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/43269925_Growth_Response_of_Major_US_Cowpea_Cultivars_I_Biomass_Accumulation_and_Salt_Tolerance. Acessado em 20 dez 2018.

WILLADINO, Lilia; CAMARA, Terezinha Rangel. Tolerância das plantas à salinidade: aspectos fisiológicos e bioquímicos. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 6, n. 11, p. 01-23, 2010. Disponível em: <http://www.conhecer.org.br/enciclop/2010c/tolerancia%20das%20plantas.pdf>. Acessado em 20 dez 2018.

XU, Junhuan; TRAN, Thu; MARCIA, Carmen Padilla; BRAUN, David; GOGGIN, Fiona. Superoxide-responsive gene expression in *Arabidopsis thaliana* and *Zea mays*. **Plant Physiology and Biochemistry**, Holanda, v. 117, p. 51-60, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28587993>. Acessado em 10 dez 2018.

YU; WANG; WANG. Recent progress of salinity tolerance research in plants. **Russian Journal of Genetics**, Rússia, v. 48, p. 497-505, 2012. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1134/S1022795412050225>. Acessado em 10 dez 2018.

ZHANG, Chanjuan; LIU, Junxia; ZHANG, Yuyang; CAI, Xiaofeng; GONG, Pengjuan; ZHANG, Junhong; WAG, Taotao; LI, Hanxia; YE, Zhibio. Overexpression of SIGMEs leads to ascorbate accumulation with enhanced oxidative stress, cold, and salt tolerance in tomato. **Plant Cell Reports**, Alemanha, v. 30, n. 3, p. 389-398, 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20981454>. Acessado em 10 dez 2018.