

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E VIABILIDADE DE SEMENTES DE GIRASSOL APÓS ESTRESSE HÍDRICO E SALINO¹

MARÍLIA MÉRCIA LIMA CARVALHO CARNEIRO², SIDNEI DEUNER³, PABLO VALADÃO DE OLIVEIRA⁴, SHEILA BIGOLIN TEIXEIRA⁵, CAMILA PINHO SOUSA⁶, MARCOS ANTONIO BACARIN⁷, DARIO MUNT DE MORAES⁸

RESUMO – A presente pesquisa teve por objetivo avaliar o efeito de agentes indutores de estresse hídrico e salino na germinação, crescimento e resposta antioxidante de plântulas de girassol. Sementes da cv. M735 foram germinadas em papel umedecido com soluções osmóticas nos potenciais de 0,0; -0,2; -0,4 e -0,8 MPa, induzidos com PEG 6000 e NaCl. O teste de germinação foi conduzido com quatro subamostras de 100 sementes e quatro repetições por tratamento, em câmara de germinação sob temperatura média de 25 °C, na ausência de luz. Foram avaliados a porcentagem final e índice de velocidade de germinação das sementes, além do crescimento inicial e atividade de enzimas antioxidantes das plântulas. O estresse hídrico induzido por PEG 6000 aumentou a porcentagem de sementes germinadas no potencial de -0,2 MPa, por outro lado, para o NaCl no potencial de -0,8 MPa, houve significativa redução. Para este mesmo potencial, também houve redução no índice de velocidade de germinação das sementes para ambos os agentes condicionantes. Para os parâmetros de crescimento, o comprimento da parte aérea reduziu linearmente com o aumento das concentrações de PEG 6000 e NaCl. Já para a massa seca de folhas e raízes e o comprimento das raízes, este efeito foi mais expressivo somente no potencial de -0,8 MPa. As enzimas SOD, APX e CAT apresentaram tendência de menor atividade nas plântulas oriundas de sementes acondicionadas em PEG 6000. Na presença do NaCl, a atividade da SOD nas folhas aumentou significativamente nos três potenciais testados em relação a testemunha. Para a APX e CAT este aumento foi observado nos potenciais de -0,2 e -0,4 MPa. Nas raízes não foi observada diferença significativa. A análise conjunta dos parâmetros avaliados indica que a cv de girassol M735, nas condições testadas, apresenta tolerância ao estresse hídrico e salino até o potencial de -0,4 MPa.

Termos para indexação: *Helianthus annuus* L., germinação, crescimento e estresse oxidativo.

ANTIOXIDANT ACTIVITY AND THE VIABILITY OF SUNFLOWER SEEDS AFTER SALINE AND WATER STRESS

ABSTRACT – This study aimed to evaluate the effect of agents inducing water and saline stress on the seed germination and early growth and antioxidant activity in sunflower seedlings. Sunflower seeds, cv. M735, were germinated on moistened paper in solutions with osmotic potentials of 0.0,

¹Submetido em 22/10/10. Aceito para publicação em 09/05/2011.

²Bióloga, MSc. Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, Departamento de Biologia, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Campus UFLA, 37200-000. Lavras, MG. *E-mail: mariliamercia@yahoo.com.br

³Eng. Agr., Pesquisador Embrapa Cerrados, BR 020, km18, 73310-970. Planaltina, DF. E-mail: sidnei.deuner@cpac.embrapa.br

^{4,5}Estudante de Graduação em Agronomia (UFPEL), Campus Universitário S/N, 96160-000. Capão do Leão, RS. E-mail: pvoliveira.faem@gmail.

com; sheila_bigoli@hotmail.com

⁶Eng. Agr., Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, Instituto de Biologia, Depto. Botânica (UFPEL), Campus Universitário S/N, 96160-000. Capão do Leão, RS. E-mail: camilafepi@hotmail.com

^{7,8} Eng. Agr., Dr., Prof. do Instituto de Biologia, Depto de Botânica, UFPEL, Campus Universitário, s/n, 96160-000. Capão do Leão, RS. E-mail: bacarin@ufpel.edu.br, moraesdm@ufpel.edu.br

-0.2, -0.4 and -0.8 MPa induced by PEG 6000 and NaCl. The germination test was conducted with four samples of 100 seeds and four replicates per treatment, in a germination chamber at 25 °C without light. We evaluated the final percentage and speed of germination index, and the initial growth and activity of antioxidant enzymes in sunflower seedlings. Water stress induced by PEG 6000 increased the percentage of seeds germinated in the potential of -0.2 MPa, on the other hand, for NaCl in the potential of -0.8 MPa, there was a significant reduction. For this same potential, there was also a reduction in the rate of seed germination speed index in both conditioning agents. For the parameters of growth, shoot length decreased linearly with increasing concentrations of PEG 6000 and NaCl. As for the dry mass of leaves and roots and root length, this effect was more significant only in the potential of -0.8 MPa. The enzymes SOD, APX and CAT activity tended to be lower in seedlings originating from seeds in PEG 6000. In the presence of NaCl, the activity of SOD in the leaves increased significantly in the three tested for potential witnesses. For APX and CAT increase was observed at potentials of -0.2 and -0.4 MPa. In the roots there was no significant difference. An analysis of the evaluated parameters indicates that sunflower cv M735, under the conditions tested, showed tolerance to drought stress and salt until the potential of -0.4 MPa.

Index terms: *Helianthus annuus* L., germination, growth and oxidative stress.

INTRODUÇÃO

O girassol (*Helianthus annuus* L.), juntamente com a soja e a canola, representa grande importância na economia mundial, sendo uma das três mais importantes culturas anuais produtoras de óleo do mundo. As perspectivas de crescimento da área cultivada com esta espécie são bastante favoráveis e vêm aumentando em diversas regiões do Brasil (Barros, 2009), visando atender o mercado de óleos comestíveis nobres, produção de silagem e de mel, além do ramo de flores ornamentais (Embrapa, 2008). Outro fator é alto teor de óleo no grão, que varia de 40 a 54%, dependendo da cultivar e do ambiente de cultivo (Rossi, 1998). O girassol desponta assim, como uma nova opção para a produção de biocombustíveis (Balbinot Jr., 2009).

Além destas características, o girassol tem grande importância nos sistemas de rotação e sucessão de culturas nas regiões produtoras de grãos, porém, devido ao seu cultivo, na maioria das vezes em segunda época ou safrinha, está frequentemente sujeito a condições climáticas desfavoráveis ao seu desenvolvimento (Dickmann, 2005), em especial a disponibilidade hídrica do solo, por ocasião da sementeira (Backes et al., 2008).

Fatores como o estresse hídrico ou solos salinos podem limitar a germinação e o desenvolvimento de diversas espécies em diferentes regiões e, a adaptação às condições de estresse resulta em eventos integrados que ocorrem em vários níveis, envolvendo alterações morfológicas,

anatômicas, celulares, bioquímicas e moleculares (Nogueira et al., 2005). Essas alterações variam com a espécie e o estágio de desenvolvimento da planta, assim como com o tipo de estresse, a duração e a intensidade do mesmo (Larcher, 2000).

Entre as diversas consequências da seca sobre o desenvolvimento de plantas, a restrição na aquisição de nutrientes e água é comumente reconhecida (Manivannan et al., 2008). Evidências sugerem que a seca provoca estresse oxidativo em várias plantas, em que espécies reativas de oxigênio (EROs), tais como o radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$), radical hidroxila (OH^{\bullet}), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio singleto (1O_2), são produzidos (Jaleel et al., 2007). A produção de EROs parece ser um evento dinâmico durante o desenvolvimento vegetal, bem como uma resposta da planta a estresses bióticos e abióticos (Apel e Hirt, 2004).

Para eliminar essas espécies reativas, as plantas apresentam sistemas enzimáticos antioxidantes que constituem uma importante defesa primária contra os radicais livres gerados sob condições de estresse, como a superóxido dismutase (SOD) que catalisa a dismutação do radical superóxido em H_2O_2 e O_2 , a catalase (CAT) e a ascorbato peroxidase (APX) que podem quebrar o H_2O_2 em H_2O e O_2 . Entretanto, esta regulação pode ser perdida se o estresse for mais severo, aumentando consideravelmente a produção de radicais livres que podem levar a uma cascata de eventos que inicia com a peroxidação de lipídeos, avançando para a degradação de membranas e morte celular

(Greggains et al., 2000).

Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a germinação de sementes e o crescimento inicial e resposta antioxidante em plântulas de girassol submetidas a diferentes potenciais osmóticos simulando estresse hídrico e salino, por meio dos agentes indutores polietilenoglicol (PEG 6000) e cloreto de sódio (NaCl).

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Metabolismo Vegetal do Departamento de Botânica do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas-RS. Sementes de girassol da cultivar M735, foram colocadas para germinar em papel germitest umedecidos com soluções contendo os agentes osmóticos polietilenoglicol (PEG 6000) e cloreto de sódio (NaCl) para simular estresse hídrico e salino, respectivamente, nas concentrações de zero; -0,2; -0,4 e -0,8 MPa. O uso destes potenciais osmóticos foi baseado em testes preliminares.

O teste de germinação foi conduzido com 400 sementes (quatro subamostras de 100 sementes) e quatro repetições por tratamento, conforme especificado pelas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009). Depois de estabelecidos os diferentes tratamentos, as sementes foram colocadas para germinar em câmara de germinação tipo BOD com temperatura média de $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e 50% umidade relativa (UR), no escuro.

Foram consideradas germinadas as sementes que apresentaram extensão radicular igual ou superior a 2 mm (Rehman et al., 1996). Os cálculos de porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação (IVG) foram realizados de acordo com Labouriau e Valadares (1976) e Maguire (1962).

Aos 10 dias do início do teste, quando a germinação havia estabilizado, foi determinado o comprimento da parte aérea e da raiz principal em 10 plântulas de cada subamostra, avaliadas ao acaso para cada um dos tratamentos com o auxílio de uma régua graduada. A seguir, as mesmas plântulas utilizadas para a avaliação das características de crescimento tiveram suas partes separadas e transferidas para estufa a $65\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, até obtenção de massa constante para determinação da massa seca de raízes e de partes aéreas.

Além das características de crescimento, foram avaliadas as atividades das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT) com a finalidade de verificar

o efeito dos agentes estressantes sobre o metabolismo antioxidante nas plântulas de girassol. Para tanto, 200 mg de tecido foliar, coletados ao final da germinação, foram macerados com 50% de polivinilpolipirrolidona (PVPP) insolúvel, suficiente para evitar oxidação do material, e homogeneizado em 1,5 mL do tampão de extração composto por fosfato de potássio 100 mM (pH 7,0), EDTA 0,1 mM e ácido ascórbico 10 mM. O homogeneizado foi centrifugado a 13.000 g por 10 minutos a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ e o sobrenadante coletado.

A avaliação da atividade da SOD foi baseada na capacidade da enzima em inibir a fotorredução do azul de nitrotetrazólio (NBT) (Giannopolitis e Ries, 1977) em um meio de reação contendo fosfato de potássio 100 mM (pH 7,8), metionina 14 mM, EDTA 0,1 μM , NBT 75 μM e riboflavina 2 μM . As leituras foram realizadas a 560 nm. Uma unidade da SOD corresponde à quantidade de enzima capaz de inibir em 50% a fotorredução do NBT nas condições de ensaio.

A atividade da APX foi realizada segundo Nakano e Asada (1981), por meio da avaliação da taxa de oxidação do ascorbato a 290 nm. O meio de reação incubado a $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ foi composto de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,0), ácido ascórbico 0,5 mM e H_2O_2 0,1 mM.

A atividade da CAT foi determinada conforme Azevedo et al. (1998), com pequenas modificações, estimada pelo decréscimo na absorbância a 240 nm durante 2 min em um meio de reação contendo fosfato de potássio 100 mM (pH 7,0) e H_2O_2 12,5 mM.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2×5 , sendo os fatores os agentes indutores e os potenciais osmóticos. Os dados foram submetidos à análise da variância ($p \leq 0,05$), e quando foi constatado efeito significativo, estes foram testados por modelos de regressão polinomial (Machado e Conceição, 2007). A escolha dos modelos baseou-se na significância estatística (teste F), no ajuste do coeficiente de determinação (R^2) e no significado biológico do modelo, conforme o proposto por Adati et al. (2006). Para a plotagem das figuras foi utilizado o programa SigmaPlot, versão 10.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A capacidade germinativa das sementes de girassol nos diferentes potenciais osmóticos revelou que, para o PEG 6000 houve aumento significativo na porcentagem de sementes germinadas na concentração de -0,2 MPa,

sendo superior à testemunha e às demais concentrações osmóticas (Tabela 1). Na concentração de -0,4 MPa também houve uma maior germinação em relação a testemunha, porém, esta diferença não foi significativa.

TABELA 1. Germinação e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de girassol cultivar M 735, submetidas ao estresse hídrico (PEG 6000) e salino (NaCl).

Potencial osmótico (MPa)	Germinação (%)		IVG	
	PEG 6000	NaCl	PEG 6000	NaCl
0,0	72,75 b*	72,75 a	21,75 ab	21,75 a
-0,2	87,50 a	72,25 a	26,00 a	21,25 a
-0,4	79,00 b	72,25 a	20,00 b	17,75 a
-0,8	73,75 b	37,00 b	13,75 c	8,50 b

* Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste F ($p \leq 0,05$).

Por outro lado, a indução do estresse salino com NaCl não afetou a porcentagem de plântulas normais oriundas de sementes girassol germinadas em potenciais osmóticos de -0,2 e -0,4 MPa. Em contrapartida, houve redução significativa na germinação das sementes em potencial osmótico de -0,8 MPa, onde apenas 37% das sementes germinaram, correspondente a uma redução de aproximadamente 50%, em relação a testemunha (Tabela 1).

Em relação ao IVG, assim como observado na germinação, o agente osmótico PEG 6000 na concentração de -0,2 MPa, também expressou um índice superior ao observado nas sementes correspondentes à testemunha (Tabela 1). Nos potenciais de -0,4 e -0,8 MPa houve redução no IVG em relação à testemunha, sendo esta redução mais significativa no menor potencial, -0,8 MPa. Para o agente osmótico NaCl, somente sob potencial de -0,8 MPa o IVG apresentou significativa queda em relação à testemunha, apesar de todos os potenciais terem afetado negativamente este parâmetro. Desta forma, à medida em que os níveis de potencial osmótico tornaram-se mais negativos, devido ao aumento nas concentrações das soluções, maiores foram as reduções no desempenho fisiológico das plântulas, sendo o NaCl o agente com maior efeito sobre a redução na porcentagem de germinação e do IVG das sementes de girassol.

Este fato se deve ao aumento da concentração de sais no substrato, o qual determina a redução no potencial hídrico, resultando em menor capacidade de absorção de água pelas sementes, o que geralmente influencia na capacidade germinativa e no desenvolvimento das plântulas (Rebouças et al., 1989). A salinidade também

afeta a germinação por facilitar a entrada de íons em quantidades tóxicas nas sementes durante a embebição (Santos et al., 1992), e a presença de níveis mais elevados de íons em plantas menos tolerantes à deficiência hídrica, pode exercer efeitos adversos na permeabilidade das membranas celulares (Greenway e Munns, 1980).

Em estudo realizado com duas cultivares de girassol (Helio 253 e Catissol-01) submetidas ao estresse hídrico induzido por PEG 6000, Cunha et al. (2010) também observaram aumento da porcentagem de germinação no potencial de -0,22 MPa, o que mostra que o PEG 6000 em potenciais moderados, pode estimular a germinação. Porém, Kaya et al. (2006), compararam a germinação de sementes de girassol da cultivar Sanbro em uma série de potenciais osmóticos de PEG 6000 e NaCl e verificaram que a mesma foi influenciada pelo estresse hídrico e salino, mas a inibição foi maior em PEG 6000, sendo que na maior concentração (-1,2 MPa) não houve germinação das sementes.

Dickman et al. (2005), avaliando o desempenho fisiológico de sementes de girassol sob diferentes soluções salinas (NaCl e CaCl₂) concluíram que o aumento do potencial osmótico das soluções salinas diminuem a germinação e o vigor, podendo esta espécie ser incluída entre as glicófilas pouco tolerantes a salinidade.

Moterle et al. (2006), avaliando o efeito do estresse hídrico e salino sob a germinação de três cultivares de milho-pipoca, verificaram redução na porcentagem de plântulas normais em todas as cultivares pelo decréscimo nos níveis de potencial osmótico de KCl, sendo a germinação totalmente inibida quando as sementes foram submetidas ao menor potencial (-0,9 MPa). Já Conus

et al. (2009) não observaram diferença significativa na germinação de sementes de milho submetidas a estresse salino induzido por diferentes potenciais osmóticos das soluções de NaCl, KCl e CaCl_2 .

Para as variáveis comprimento da parte aérea e raízes e massa seca da parte aérea a análise da variância demonstrou interação significativa entre PEG 6000 e NaCl, já para a variável massa seca das raízes não houve interação significativa entre os dois agentes indutores testados.

Os dados relativos ao comprimento da parte aérea se ajustaram a modelos lineares. A inclinação da curva mostra que o condicionamento osmótico afetou negativamente o comprimento da parte aérea das plântulas

de girassol, no décimo dia do teste de germinação (Figura 1A). Sendo que o comportamento foi semelhante para ambos os agentes osmóticos, PEG 6000 e NaCl, com redução linear no crescimento das plântulas à medida que aumentaram as concentrações, apresentando os menores valores no potencial osmótico de -0,8 MPa. Essa redução nos valores de comprimento das plântulas foi mais acentuada do que o efeito sobre a germinação das sementes. Esses fatos podem ser explicados pela diminuição no metabolismo das sementes em função da menor disponibilidade de água para digestão das reservas e translocação dos produtos metabolizados e que são caracterizados por Bewley e Black (1994), por um padrão trifásico da germinação.

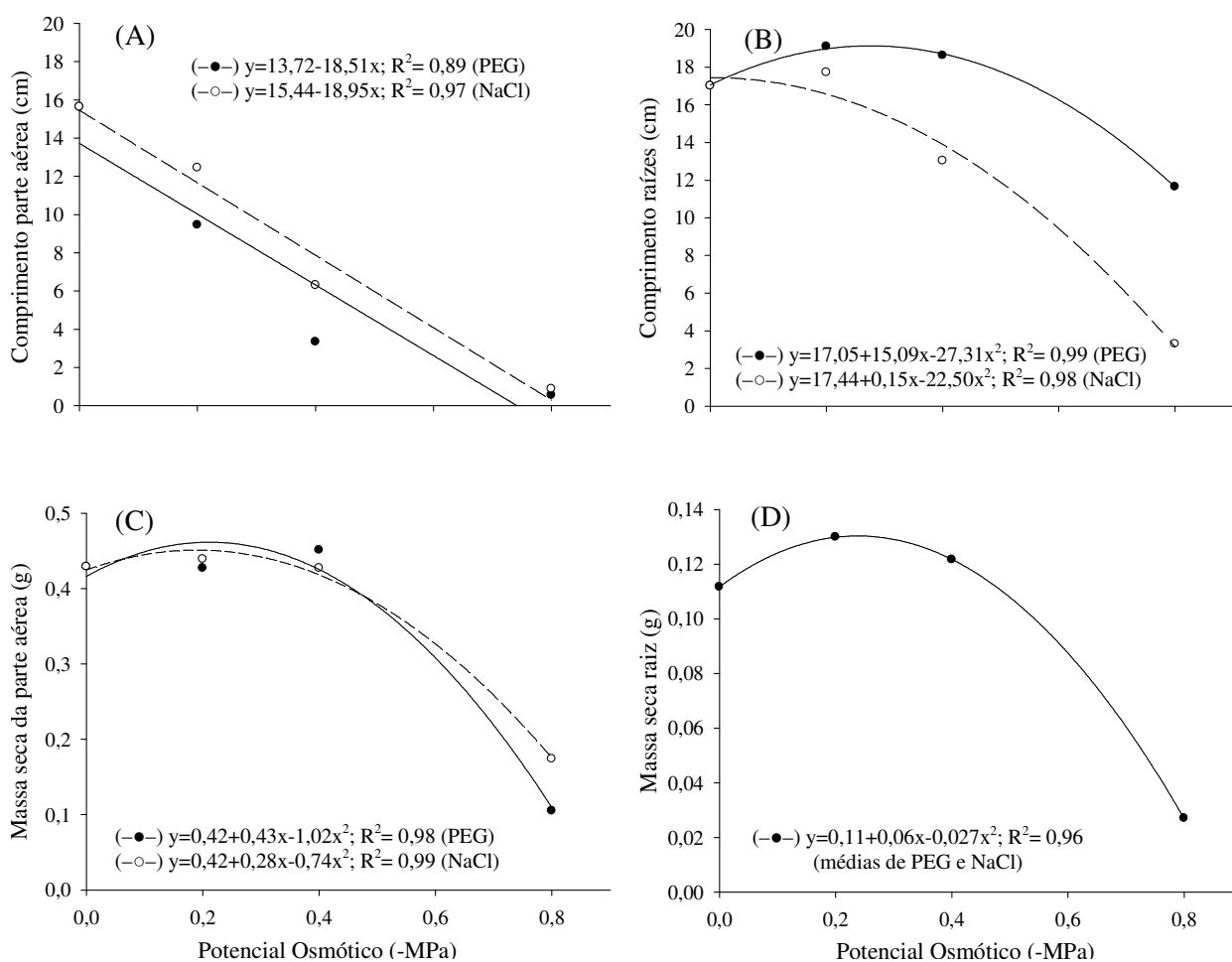


FIGURA 1. Comprimento de parte aérea (A), comprimento de raiz (B), massa seca de parte aérea (C) e massa seca de raiz (D) de plântulas de girassol cultivar M735, submetidas ao estresse hídrico (—●— PEG 6000) e salino (---○--- NaCl).

Por outro lado, o comprimento das raízes foi superior a testemunha para as plântulas germinadas nos potenciais osmóticos de -0,2 e -0,4 MPa para o agente osmótico PEG 6000, e no potencial de -0,2 MPa para o agente NaCl (Figura 1B). Quando acondicionadas sob potenciais osmóticos inferiores aos citados, houve uma expressiva redução no crescimento radicular.

Em relação à massa seca da parte aérea, houve tendência de aumento para as plântulas sob as concentrações de -0,2 e -0,4 MPa, tanto em PEG 6000 como NaCl quando comparado à testemunha (Figura 1C), indicando haver um crescimento preferencial em espessura do caule, uma vez que o comprimento da parte aérea das plântulas, nestas concentrações, sofreu expressiva redução (Figura 1A). Já no menor potencial osmótico, a massa seca da parte aérea das plântulas foi expressivamente reduzida.

Não houve efeito dos agentes osmóticos sobre a massa seca das raízes e, tanto em massa seca de raízes como de partes aéreas, ocorreu um incremento quando as sementes foram submetidas aos potenciais osmóticos de -0,2 e -0,4 MPa, durante o processo de germinação (Figura 1D). No nível mais negativo de potencial osmótico (-0,8 MPa), o decréscimo na absorção de água pelas sementes, proporcionou uma drástica redução na massa seca das raízes, assim como também observado na parte aérea, evidenciando o efeito prejudicial da baixa disponibilidade de água sobre a germinação e o crescimento das plântulas de girassol.

Esses dados estão de acordo com Moraes et al. (2005), onde observaram que plântulas de feijão tiveram pequeno aumento na massa seca nas menores concentrações osmóticas testadas, diminuindo nos potenciais mais negativos. A redução da massa seca de plântulas em função da restrição hídrica se dá devido à menor velocidade dos processos fisiológicos e bioquímicos ou pela dificuldade de hidrólise e mobilização das reservas da semente (Bewley e Black, 1994).

Kaya et al. (2006) observaram que sementes de girassol da cultivar Sanbro submetidas a diferentes potenciais osmóticos induzidos pelos agentes condicionantes PEG 6000 e NaCl, sofreram redução no comprimento da parte aérea e raízes, bem como da massa fresca das plântulas, sendo esse resultado mais evidente em PEG 6000. Ainda segundo o autor, potencial hídrico de -0,6 MPa já é considerado crítico para a germinação de sementes de girassol por causar restrição hídrica. Muito embora na presente pesquisa não tenha sido testado o potencial de -0,6 MPa, e a germinação das sementes de girassol da cultivar M735 acondicionadas em PEG 6000 não tenham sofrido redução significativa sob potencial de -0,8 MPa

em relação a testemunha nas demais variáveis, a indução do estresse hídrico e salino pelos menores potenciais osmóticos resultou em um efeito negativo significativo.

O mecanismo de defesa das plântulas submetidas aos agentes osmóticos PEG 6000 e NaCl foi avaliado por meio da atividade de enzimas antioxidantes. A enzima SOD apresentou menor atividade na parte aérea das plântulas de girassol oriundas de sementes acondicionadas em PEG 6000, no menor potencial osmótico (-0,8 MPa). Nos demais potenciais não houve diferenças significativas (Figura 2A). Por outro lado, quando as sementes foram acondicionadas em NaCl, houve um significativo aumento na atividade desta enzima em todos os potenciais osmóticos, em relação à testemunha. Nas raízes, o efeito do PEG 6000 sobre a atividade da SOD seguiu a mesma tendência observada na parte aérea das plântulas (Figura 2B). Já o NaCl não ocasionou efeitos significativos na atividade desta enzima.

O radical superóxido produzido sob condições de estresse é tóxico, tendo uma meia-vida de menos de um segundo e, geralmente, dismutado de forma rápida pela SOD a H_2O_2 , um produto relativamente estável que pode ser detoxificado por catalases e peroxidases. Estas metaloenzimas constituem numa importante defesa primária das células contra os radicais superóxido gerados sob condições de estresse, assim, o aumento na atividade da SOD é conhecido por conferir tolerância ao estresse oxidativo (Jaleel et al., 2007).

A atividade das enzimas APX (Figura 2C) e CAT (Figura 2E) na parte aérea das plântulas, cujas sementes foram submetidas ao agente PEG 6000, seguiu a mesma tendência observada na SOD (Figura 2A), inferindo que até o nível de -0,4 MPa, possivelmente as plântulas germinadas em PEG 6000 não sofreram estresse oxidativo, uma vez que a atividade das enzimas antioxidantes não diferiu significativamente da testemunha. Este comportamento pode ser justificado analisando a produção de massa seca da parte aérea, onde também não houve redução para os mesmos níveis de potencial osmótico (Figura 1C). Por outro lado, a significativa queda na atividade das enzimas para o potencial de -0,8 MPa, sugere que este nível de potencial tenha ocasionado um excessivo estresse hídrico às partes aéreas das plântulas, o que também é observado nos parâmetros de crescimento (Figura 1). Quando as enzimas antioxidantes não atuam de forma eficiente na eliminação das EROs geradas, a peroxidação lipídica se torna mais evidente, sendo este o principal sintoma atribuído ao dano oxidativo, frequentemente utilizada como um indicador de dano às membranas celulares (Hernandez et al., 2000).

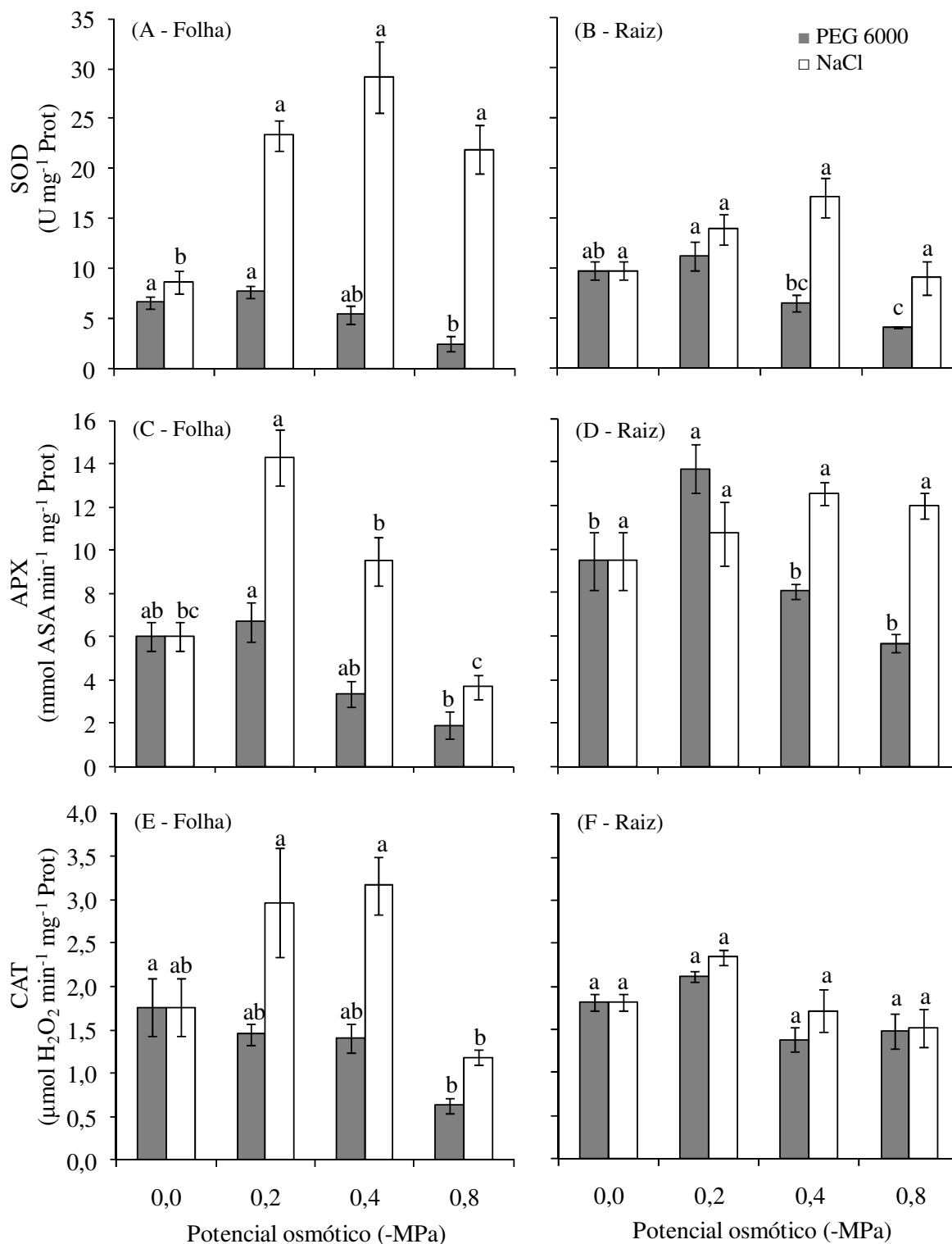


FIGURA 2. Atividade específica das enzimas superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT) em folhas e raízes de plântulas de girassol cultivar M735, submetidas ao estresse hídrico (■ PEG 6000) e salino (□ NaCl). Médias seguidas pela mesma letra, comparando os potenciais osmóticos para cada agente estressante, não diferem entre si pelo teste F ($p \leq 0,05$).

Para o condicionamento em NaCl, as enzimas APX e CAT apresentaram aumento na atividade nas partes aéreas das plântulas, em relação a testemunha nos potenciais de -0,2 e -0,4 MPa (Figura 2C e 2E). No potencial osmótico de -0,8 MPa, ao contrário do observado na atividade da SOD, as enzimas APX e CAT sofreram redução, o que sugere um acúmulo de H₂O₂ gerado pela dismutação do radical superóxido.

Nas raízes, foi observado aumento na atividade da APX somente no potencial de -0,2 MPa para PEG 6000, em relação a testemunha (Figura 2D). Já o NaCl não induziu diferença significativa na atividade da APX entre os diferentes potenciais osmóticos. Para a atividade da CAT nas raízes (Figura 2F), não houve diferença significativa entre os tratamentos para ambos os agentes indutores de estresse.

A APX desempenha papel chave no ciclo ascorbatoglutaciona e na eliminação de H₂O₂ nos cloroplastos e citossol, sendo que, mudanças na atividade dessa enzima estão estritamente correlacionadas com a tolerância das plantas ao estresse oxidativo (Lee et al., 2001; Sudhakar et al., 2001). Em arroz sob estresse salino, Lee et al. (2001) observaram uma maior atividade da APX em folhas, mas não nas raízes. Panda e Khan (2009) observaram redução na atividade da APX em raízes de *Vigna radiata* sob estresse salino, porém na parte aérea não observaram diferença. Para a CAT, os mesmos autores não observaram mudanças na atividade de folhas, caules e raízes, porém, no período de recuperação pós-estresse, observaram aumento na atividade em todas as partes das plantas, mostrando maior capacidade para a remoção do H₂O₂ gerado durante o período de recuperação pós-estresse salino.

Hernandez e Almansa (2002) demonstraram que a atividade da APX não se alterou em folhas de ervilha durante curto prazo sob estresse salino. Sob estresse hídrico a atividade da APX em arroz manteve-se uniforme, com respostas semelhantes no período de recuperação (Srivalli et al., 2003).

Decréscimo na atividade da CAT promove acúmulo de H₂O₂, aumentando a peroxidação de lipídios e danos às membranas de plantas sob estresse. Desta forma, o aumento na atividade da CAT é importante para eliminar o acúmulo de H₂O₂ e assim reduzir a peroxidação de lipídios (Vaidyanathan et al., 2003; Eyidogan e Oz, 2007).

CONCLUSÕES

O estresse hídrico e salino até os níveis de potencial

osmótico de -0,4 MPa não afeta o desempenho fisiológico da cultivar de girassol M735.

O estresse mais severo, sob potencial de -0,8 MPa, reduz o crescimento e a capacidade antioxidante das plântulas, o que confere menor tolerância ao estresse hídrico e salino.

REFERÊNCIAS

- ADATI, C.; OLIVEIRA, V.A.; KARAM, D. Análise matemática e biológica dos modelos de estimativa de perdas de rendimento na cultura devido à interferência de plantas daninhas. **Planta Daninha**, v.24, p.1-12, 2006. <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/489816>
- APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, v.55, p.373-399, 2004. <http://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701>
- AZEVEDO, R.A.; ALAS, R.M.; SMITH, R.J.; LEA, P.J. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and a catalase-deficient mutant of barley. **Physiology Plantarum**, v.104, p.280-292, 1998. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1034/j.1399-3054.1998.1040217.x/abstract>
- BACKES, R.L.; SOUZA, A.M.; BALBINOT JUNIOR, A.A.; GALLOTTI, G.J.M.; BAVARESCO, A. Desempenho de cultivares de girassol em duas épocas de plantio de safrinha no planalto norte catarinense. **Scientia Agraria**, v.9, p.41-48, 2008. <http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2901076>
- BALBINOT JR.; A.A.; BACKES, R.L.; SOUZA, A.M. Desempenho de cultivares de girassol em três épocas de semeadura no planalto norte catarinense. **Scientia Agraria**, v.10, p.127-133, 2009. <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/995/99515565006.pdf>
- BARROS, C.S.; ROSSETTO, C.A.V. Teste de germinação sob condições de restrição hídrica para avaliar o vigor de sementes de girassol. **Ciência Rural**, v.39, p.2621-2624, 2009. <http://www.scielo.br/pdf/cr/v39n9/a383cr1419.pdf>
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2nd ed. Plenum Press, New York. 1994. 445p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 395p. <http://www.bs.cca.ufsc.br/publicacoes/>

[regras%20analise%20sementes.pdf](#)

CONUS, L.A.; CARDOSO, P.C.; VENTUROSO, L.R.; SCALON, S.P.Q. Germinação de sementes e vigor de plântulas de milho submetidas ao estresse salino induzido por diferentes sais. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, p.67-74, 2009. http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-31222009000400008&script=sci_arttext

CUNHA, J.R.; RIBEIRO, L.M.P.; ASEVEDO, K.C.S.; MACÊDO, C.E.C.; MAIA, J.M.; VOIGT, E.L. Germinação de girassol sob estresse hídrico induzido por PEG 6000. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA & SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE OLEAGINOSAS ENERGÉTICAS**, João Pessoa- PB, 2010, p.889-903. <http://www.cbmamona.com.br/pdfs/FIS-22.pdf>

DICKMANN, L.; CARVALHO, M.A.C.; BRAGA, L.F.; SOUSA, M.P. Comportamento de sementes de girassol (*Helianthus annuus* L.) submetidas a estresse salino. **Revista de Ciências Agro-Ambientais**, v.3, p.64-75, 2005. http://www.unemat.br/revistas/rcaa/docs/vol3/6_resumo_abstract_v3.pdf

EMBRAPA. Tecnologia de Produção. **Girassol**. exigências climáticas. Disponível em <http://www.cnpsa.embrapa.br/producaogirassol/exigencias.htm>. 2008. Acesso em: 20 jul. 2010.

EYIDOGAN, F.; OZ, M.T. Effect of salinity on antioxidant responses of chickpea seedlings. **Acta Physiology Plant**, v.29, 48-493, 2007. <http://dx.doi.org/10.1007/s11738-007-0059-9>

GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Superoxide dismutases. I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v.59, p.309-314, 1977. <http://www.plantphysiol.org/content/59/2/309.full.pdf>

GREENWAY, H.; MUNN, R. Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. **Annual Review of Plant Physiology**, v.31, p.149-190, 1980. <http://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.pp.31.060180.001053>

GREGGAINS, V.; FINCH-SAVAGE, W.E.; QUICK, W.P.; ATHERTON, N.M. Metabolism-induced free radical activity does not contribute significantly to loss of viability in moist-stored recalcitrant seeds of contrasting species. **New Phytologist**, v.148, p.267-276, 2000. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1469-8137.2000.00757.x/abstract>

HERNÁNDEZ, J.A.; JIMENEZ, A.; MULLINEAUX, P.; SEVILLA, F. Tolerance of pea plants (*Pisum sativum*) to long term salt stress is associated with induction of antioxidant defences. **Plant Cell and Environment**,

v.23, p.853-862, 2000. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-3040.2000.00602.x/full>

HERNÁNDEZ, J.A.; ALMANSA, M.S. Short-term effects of salt stress on antioxidant systems and leaf water relations of pea leaves. **Physiologia Plantarum**, v.115, p.251-257, 2002. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1034/j.1399-3054.2002.1150211.x/full>

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

KAYA, M.D.; OKÇU, G.; ATAK, M.; ÇIKILI, Y.; KOLSARICI, O. Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). **European Journal of Agronomy**, v.24, p.291-295, 2006. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1161030105000936>

LABOURIAU, L.G.; VALADARES, M.E.B. On the germination of seeds *Calatropis procera* (Ait.). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.48, n.2, p.263-284, 1976. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0306456577900146>

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima, 2000. 531p.

LEE, D.H.; KIM, Y.S.; LEE C.B. The inductive responses of the antioxidant enzymes by salt stress in the rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Plant Physiology**, v.158, p.737-745, 2001. <http://dx.doi.org/10.1078/0176-1617-00174>

MACHADO, A.A.; CONCEIÇÃO, A.R. **WinStat – Sistema de Análise Estatística para Windows versão 1.0**. Universidade Federal de Pelotas, 2007.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination and in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, p.176-177, 1962. <http://dx.doi.org/10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x>

MANIVANNAN, P.; JALEEL, C.A.; SOMASUNDARAM, R.; PANNEERSELVAN, R. Osmoregulation and antioxidant metabolism in drought-stressed *Helianthus annuus* L. under triadimefon drenching. **Comptes Rendus Biologies**, v.331, p.418-425, 2008. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1631069108000826>

MORAES, G.A.F.; DE MENEZES, N.L.; PASQUALLI, L.L. Comportamento de sementes de feijão sob diferentes

- potenciais osmóticos. **Ciência Rural**, v.35, n. 4, p.776-780, 2005. <http://www.scielo.br/pdf/cr/v35n4/a04v35n4.pdf>
- MOTERLE, L.M.; LOPES, F.C.; BRACCINI, A.L.; SCAPIM, C.A. Germinação de sementes e crescimento de plântulas de cultivares de milho-pipoca submetidas ao estresse hídrico e salino. **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, p.169-176, 2006. <http://www.scielo.br/pdf/rbs/v28n3/24.pdf>
- NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, v.22, p.867-880, 1981. <http://pcp.oxfordjournals.org/content/22/5/867.abstract>
- NOGUEIRA, R.J.M.C.; MORAES, J.A.P.V.; BURITY, H.A. Alterações na resistência à difusão de vapor das folhas e relações hídricas em aceroleiras submetidas a déficit de água. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.13, p.75-87, 2005. <http://www.scielo.br/pdf/rbfv/v13n1/9275.pdf>
- PANDA, S.K.; KHAN, M.H. Growth, oxidative damage and antioxidant responses in greengram (*Vigna radiata* L.) under short-term salinity stress and its recovery. **Journal of Agronomy & Crop Science**, v.195, p.442-454, 2009. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1439-037X.2009.00371.x/pdf>
- REBOUÇAS, M.A.; FAÇANHA, J.G.V.; FERREIRA, L.G.R.; PRISCO, J.T. Crescimento e conteúdo de N, P, K e Na em três cultivares de algodão sob condições de estresse salino. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.1, n.1, p.79-85, 1989. <http://www.cnpdia.embrapa.br/rbfv/v1n1.html>
- REHMAN, S.; HARRIS, P.J.C.; BOURNE, W.F.; WILKEIN, J. The effect of sodium chloride on germination and the potassium and calcium contents of *Acacia* seeds. **Seed Science and Technology**, v.25, n.1, p.45-57, 1996. <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsid=2682205>
- ROSSI, R.O. **Girassol**. Curitiba: Tecnoagro, 1998. 333p.
- SANTOS, V.L.M.; CALIL, A.C.; RUIZ, H.A.; ALVARENGA, E.M.; SANTOS, C.M. Efeito do estresse salino e hídrico na germinação e vigor de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v.14, n.2, p.189-194, 1992. <http://www.abrates.org.br/revista/artigos/1992/v14n2/artigo16.pdf>
- SRIVALLI, B.; SHARMA, G.; KHANNA-CHOPRA, R. Antioxidative defense system in an upland rice cultivar subjected to increasing intensity of water stress followed by recovery. **Plant Physiology**, v.119, p.503-512, 2003. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1399-3054.2003.00125.x/pdf>
- SUDHAKAR, C.; LAKSHMI, A.; GIRIDARAKUMAR, S. Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. **Plant Science**, v.161, n.5, p.613-619, 2001. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168945201004502>
- VAIDYANATHAN, H.; SIVAKUMAR, P.; CHAKRABARSTY, R.; THOMAS, G. Scavenging of reactive oxygen species in NaCl - stressed rice (*Oryza sativa* L.) - differential response in salt-tolerant and sensitive varieties. **Plant Science**, v.165, n. 10, p.1411-1418, 2003. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168945203003704>