

MARTHA FREIRE DA SILVA

**ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM SEMENTES E
PLÂNTULAS DE *Crambe abyssinica* Hochst SOB ESTRESSES HÍDRICO
E SALINO**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Fitotecnia, para obtenção do título
de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2015

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central
da Universidade Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

S586a
2015
Silva, Martha Freire da, 1986-
Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes e plântulas
de *Crambe abyssinica* Hochst sob estresses hídrico e salino / Martha
Freire da Silva. - Viçosa, MG, 2015.
ix, 42f. : il. ; 29 cm.

Inclui anexo.

Orientador: Eduardo Fontes Araújo.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f.31-40.

1. *Crambe abyssinica*. 2. Sementes. 3. Plantas - Consumo hídrico.
4. Plantas - Efeito do sal. 5. Polietilenoglicol. I. Universidade Federal de
Viçosa. Departamento de Fitotecnia. Programa de Pós-graduação em
Fitotecnia. II. Título.

CDD 22. ed. 583.64

MARTHA FREIRE DA SILVA

**ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM SEMENTES E
PLÂNTULAS DE *Crambe abyssinica* Hochst SOB ESTRESSES HÍDRICO
E SALINO**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Fitotecnia, para obtenção do título de
Magister Scientiae.

APROVADA: 11 de Fevereiro de 2015

Roberto Fontes Araujo

Laércio Junio da Silva

Luiz Antônio dos Santos Dias

Eduardo Fontes Araujo
(Orientador)

*A Deus, ao meu namorado, meus familiares e amigos;
companheiros de todas as horas...
Dedico!*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre guiar meu caminho, dando-me forças nos momentos de fragilidade e respostas nos momentos de indecisão.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Fitotecnia pela oportunidade de participação no mestrado e por todo o conhecimento adquirido nesta etapa.

Aos meus pais e familiares, em especial ao meu tio Silmar, pelo apoio, incentivo, conselhos, dedicação e amor.

Ao meu namorado, Reginaldo, pelo amor, companheirismo, paciência e apoio.

Aos professores Eduardo Fontes Araujo, Luiz Antônio S. Dias, Denise C. F. S. Dias e Laércio Junio da Silva, pela orientação, paciência, ensinamentos, apoio e amizade.

Ao professor Fernando Luiz Finger por disponibilizar seu laboratório para a realização das análises enzimáticas.

À Fundação MS, especialmente ao pesquisador Carlos Pitol, por cederem as sementes para execução do experimento e por solucionar todas as minhas dúvidas referente à cultura, contribuindo para a realização e conclusão da presente pesquisa.

Aos amigos do Laboratório de Sementes, especialmente ao Hugo Tiago, pelo apoio constante, pela ajuda na condução de todas as etapas do experimento, pelos ensinamentos e amizade.

Aos amigos e funcionários do Laboratório de Melhoramento de Oleaginosas, incluindo todos do Laboratório de Soja e do Laboratório de Agroenergia, em especial à Poliane, Maria Eduarda e Ana Flávia, pela ajuda, apoio, incentivo e amizade.

Aos amigos da graduação e da pós-graduação pelo apoio e amizade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de nível Superior (CAPES) pelas bolsas concedidas aos programas de pós-graduação.

À todos que, de alguma forma, tornaram possível a realização e conclusão deste trabalho.

Muito Obrigada!!!

BIOGRAFIA

Martha Freire da Silva, filha de Antônio Francisco da Silva e Josefa Freire da Silva, nasceu na cidade de São Paulo (SP), no dia 27 de janeiro de 1986.

No ano de 2006 iniciou a graduação no curso de Agronomia na Universidade Federal de Viçosa, graduando-se em novembro de 2012.

Durante a graduação participou de dois intercâmbios no exterior. Em 2010, estagiou na empresa Bergen's Greenhouse, em Detroit Lakes-Minnesota-USA, e na empresa Constellation Wines, em Gonzales-Califórnia-USA. Em 2011 participou do intercâmbio entre universidades, promovido pelo programa MARCA-MERCOSUL, estudando Agronomia durante um período letivo na Universidad Nacional de La Plata (UNLP), em La Plata-Buenos Aires-Argentina.

Em 2012, seguido ao término da graduação, ingressou no curso de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, com ênfase na área de Tecnologia e Produção de Sementes.

Atualmente é funcionária concursada, concurso 01/2012, cargo Assistente de Laboratório, prestando auxílio à pesquisa no Laboratório de Melhoramento de Oleaginosas da Universidade Federal de Viçosa. Nesta instituição foi possível a atividade concomitante de servidora e a participação no curso de Mestrado da Fitotecnia-UFV.

SUMÁRIO

RESUMO.....	vi
ABSTRACT	viii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REFERENCIAL TEÓRICO	3
2.1. Efeito do estresse hídrico e da salinidade na germinação de sementes	3
2.2. Simulação do efeito de estresse hídrico e da salinidade na germinação de sementes	5
3. MATERIAL E MÉTODOS	6
3.1. Grau de umidade	7
3.2. Curvas de embebição.....	7
3.3. Teste de germinação (G).....	8
3.4. Primeira contagem de germinação (PCG)	8
3.5. Emergência (EM)	8
3.6. Índice de velocidade de emergência (IVE).....	9
3.7. Comprimento de radícula (CR) e de hipocótilo (CH).....	9
3.8. Matéria fresca (MF), seca (MS) e teor de água (TA) de plântulas.....	10
3.9. Determinação da atividade de enzimas do complexo de defesa antioxidativo das plântulas.....	10
3.9.1. Obtenção do material vegetal.....	10
3.9.2. Obtenção do extrato bruto para determinação da atividade enzimática.....	10
3.9.3. Determinação de proteína.....	11
3.9.4. Determinação da atividade de superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1).....	11
3.9.5. Determinação da atividade de catalase (CAT, EC 1.11.1.6).....	11
3.9.6. Determinação da atividade das peroxidases (POX, EC 1.11.1.7).....	12
3.10. Delineamento experimental e análise estatística.....	12
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	13
4.1. Curvas de embebição.....	13
4.2. Germinação, vigor e atividade enzimática.....	16
4.2.1. Germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG), emergência (EM) e índice de velocidade de emergência (IVE).....	16
4.2.2. Comprimento de radícula (CR) e de hipocótilo (CH).....	20
4.2.3. Matéria fresca (MF), seca (MS) e teor de água (TA) de plântulas.....	22
4.2.4. Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase (POX).....	25
5. CONCLUSÕES.....	30
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	31
ANEXO.....	41

RESUMO

SILVA, Martha Freire da, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2015. **Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes e plântulas de *Crambe abyssinica* Hochst sob estresses hídrico e salino.** Orientador: Eduardo Fontes Araujo.

O crambe (*Crambe abyssinica* Hochst), oleaginosa pertencente à família Brassicaceae, é uma planta rústica, tolerante ao déficit hídrico, ao frio e às pragas. Sua produção comercial no Brasil ainda não é expressiva. Contudo, devido a características de rusticidade, a cultura apresenta potencial para ser cultivada nas diversas regiões brasileiras. Sabe-se que fatores abióticos, como o déficit hídrico e a salinidade dos solos, podem ocorrer em áreas agrícolas e prejudicam o metabolismo das plantas. Estudos que visam avaliar o desempenho do crambe sob condições de estresses são ainda incipientes. Diante disso, o presente estudo teve por objetivo avaliar as alterações fisiológicas e o sistema de defesa antioxidativo de sementes e plântulas de crambe quando submetido aos estresses hídrico e salino. Sementes da cultivar FMS BRILHANTE foram submetidas aos estresses hídrico e salino, simulados pelas soluções de PEG 6000 e KCl, nos potenciais -0,2, -0,4, -0,6 e -0,8 MPa. As sementes de crambe semeadas diretamente sob o substrato umedecido com água destilada, potencial 0,0 MPa, constituíram-se como tratamento testemunha. Os efeitos dos tratamentos foram avaliados por meio da determinação do grau de umidade; das curvas de embebição; dos testes de germinação; primeira contagem de germinação; emergência; índice de velocidade de emergência; comprimento de raiz e de hipocótilo; matéria fresca, seca e teor de água das plântulas; e da determinação da atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase (POX). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x5 (tipos de solução e potenciais osmóticos), com quatro repetições. Para comparar o efeito das duas soluções, utilizou-se o teste F e para comparar o efeito de cada tratamento com relação à testemunha, processou-se o teste Dunnett. Para os potenciais osmóticos, foi utilizada a análise de regressão. A redução do potencial osmótico da solução afetou a absorção de água pelas sementes de crambe, prolongou a fase II e atrasou

a emissão radicular, sendo o efeito de restrição de água mais pronunciado no estresse hídrico, simulado pelo PEG 6000, que no estresse salino, induzido pelo KCl. A germinação e o vigor de sementes e plântulas de crambe foram mais afetados negativamente pelo estresse hídrico, por PEG 6000, que pelo salino, por KCl. Sob estresse salino, houve aumento da atividade das enzimas SOD e CAT nas concentrações intermediárias de sal e redução linear da POX com o aumento da salinidade. O crambe apresentou moderada tolerância à salinidade.

ABSTRACT

SILVA, Martha Freire, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2015. **Physiological and biochemical changes in seeds and seedlings of *Crambe abyssinica* Hochst under water and salt stresses.** Adviser: Eduardo Fontes Araujo.

The crambe (*Crambe abyssinica* Hochst), oilseed crop belongs to Brassicaceae family, is a rustic plant, tolerant to drought, cold and pests. Its commercial production in Brazil is still not significant. However, due to hardiness characteristics, the culture presents the potential to be cultivated in different regions of Brazil. It is known that abiotic factors such as drought and salinity of soils may occur in agricultural areas and impair metabolism of plants. Studies aimed at evaluating the performance of crambe under stressful conditions are still incipient. Therefore, this study aimed to evaluate the physiological changes and the antioxidant defense system of seeds and seedlings of crambe when subjected to water and salt stresses. Seeds from the cultivar FMS BRILHANTE were submitted to the water and salt stresses, simulated by PEG 6000 and KCl, under the potential -0.2, -0.4, -0.6 and -0.8 MPa. Crambe seeds sown directly under the substrate moistened with distilled water, potential 0.0 MPa, were constituted as a control treatment. The effects of the treatments were evaluated by determining the degree of humidity; the soaking curves; the germination tests; first count; emergency; emergence speed index; root length and hypocotyl; fresh and dry weight and seedling water content; and determining the activity of the enzymes superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and peroxidase (POX). The experimental design was completely randomized in a factorial 2x5 (types of solutions and osmotic potential), with four replications. In order to compare the effect of two solutions, it was used the F test and to compare the effect of each treatment compared to the control it was processed the Dunnett test. The regression analysis was used to analyse the osmotics potentials. The reduction of the osmotic potential of the solution affected the absorption of water by crambe seed, prolonged the phase II, delayed the radicle emission, and the water restriction effect was most pronounced in water stress, simulated by PEG 6000, which in saline stress, induced by KCl. The germination and vigor of seeds and seedlings of crambe were more

negatively affected by water stress by PEG 6000, which by salt, with KCl. Under salt stress, there was increased activity of SOD and CAT in the intermediate concentrations of salt and linear reduction of POX, with the increasing of salinity. The crambe presented moderate tolerance to salinity.

1. INTRODUÇÃO

O crambe (*Crambe abyssinica* Hochst) é uma cultura oleaginosa pertencente à família Brassicaceae. Em cultivo, apresenta ciclo curto, de aproximadamente 90 dias, destacando-se por apresentar boa produção de grãos, 1000 a 1500 Kg ha⁻¹, alta tolerância a déficit hídrico e a baixas temperaturas, baixa incidência de pragas, alto teor de óleo e proteína, além de baixo custo de produção (Pitol et al., 2010).

Devido ao alto teor de óleo não comestível nos grãos, que varia de 36 a 38%, o crambe tem sido relatado como cultura com potencial promissor para produção de biocombustíveis (Pitol et al., 2010; Feroldi et al., 2012). Além de ser matéria prima para o biodiesel, tem diversos usos na indústria, podendo ser utilizado na produção de plásticos biodegradáveis, tinturas, lubrificantes, emulsificantes e cosméticos (Lazzeri et al., 1997; Pitol et al., 2010). O farelo, subproduto da produção de óleo, pode, ainda, ser destinado à alimentação de bovinos, adicionado em até 15% ao farelo de soja (Mendonça, 2012). Destaca-se, também, como planta fitorremediadora, já que possui mecanismo de acúmulo de metais pesados em seus tecidos, podendo ser eficiente na descontaminação de área com arsênio e cromo, entre outros (Artus, 2006; Gonçalves Jr. et al., 2013).

A espécie é originária de regiões do Mediterrâneo (Weiss, 1983) e tem sido descrita como planta rústica, que pode ser cultivada em diversas regiões, sendo alternativa para o cultivo de outono/inverno no Brasil (Pitol et al., 2010). Devido a sua rusticidade, acredita-se que o crambe possa desenvolver-se satisfatoriamente sob condições climáticas adversas. No entanto, as pesquisas com a cultura são ainda incipientes, sendo necessários, portanto, estudos que caracterizem o comportamento da espécie quando submetida a diferentes tipos de estresses ambientais.

Dentre os estresses abióticos que reduzem o desenvolvimento das plantas, estão os estresses hídrico e salino, sendo muitas as áreas propensas a ambos. As regiões áridas e semiáridas são as que mais sofrem pela falta de água e pelo processo de intensa salinização dos solos. Estima-se que, no mundo, 19,5% das terras irrigadas, ou seja, 45 milhões de hectares, e 2,1% das não irrigadas, cerca de 32 milhões de hectares,

estejam afetadas pela salinidade (Oliveira et al., 2010; Gupta e Huang, 2014), sendo que, a cada ano, cerca de 0,25 a 0,5 milhões hectares se tornam impróprios para a agricultura em função da salinização do solo (FAO, 2002).

Assim, o estresse hídrico e o salino estão entre os fatores abióticos que mais afetam o desenvolvimento das plantas e ocorrem com frequência em campos agrícolas. Logo, identificar culturas que possam se desenvolver sob essas condições pode ser alternativa para o desenvolvimento econômico e social destes locais.

As plantas têm seu desenvolvimento comprometido quando submetidas a condições de estresses ambientais. No entanto, espécies tolerantes utilizam vários mecanismos bioquímicos e fisiológicos a fim de tentarem sobreviver sob estas condições (Zhu, 2001; Gupta e Huang, 2014). Os mecanismos incluem a homeostase iônica, a regulação do crescimento e a ativação de enzimas antioxidantes, que promovem desintoxicação celular (Zhu, 2001). Diversos estudos têm mostrado correlação entre a tolerância aos estresses e a presença de um eficiente sistema antioxidativo de defesa. Dentre estes, podem-se relatar as pesquisas de Mishra et al. (2013), em *Oryza sativa* e Ahmad et al. (2014), em *Brassica juncea*.

Estudos que visam avaliar o desempenho do crambe sob condições de estresses são ainda incipientes. Diante disso, o presente estudo teve por objetivo avaliar as alterações fisiológicas e o sistema de defesa antioxidativo de sementes e plântulas de crambe quando submetido aos estresses hídrico e salino.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Efeito do estresse hídrico e da salinidade na germinação de sementes

Diversas pesquisas relatam a importância da disponibilidade hídrica para a germinação das sementes e desenvolvimento de plântulas e descrevem o efeito negativo da redução do potencial osmótico. Lopes e Macedo (2008) observaram que a redução do potencial fisiológico de sementes de couve chinesa (*Brassica rapa pekinensis*) é proporcional à redução do potencial osmótico da solução de embebição. Santos et al. (2012) constataram redução acentuada na germinação e no crescimento das plântulas de canola (*Brassica napus*), conforme o decréscimo no potencial osmótico. Lopes et al. (2014) observaram decréscimo na qualidade fisiológica de sementes de brócoli (*Brassica oleracea*) à medida que o potencial osmótico da solução de embebição tornou-se mais negativo.

O estresse hídrico atua diminuindo a velocidade e a porcentagem de germinação de sementes, devido à redução da atividade de enzimas, o que possivelmente atrasa o desenvolvimento meristemático e a emergência radicular (Hadas, 1976).

A presença de sais interfere no potencial hídrico do solo, reduzindo o gradiente de potencial entre o solo e a superfície da semente, restringindo a captação de água, e, conseqüentemente, reduzindo a taxa de germinação das sementes (Lopes e Macedo, 2008). A salinidade, muitas vezes, não afeta apenas a absorção de água pelas sementes. O sal pode promover, ainda, efeito tóxico, levando à inibição da síntese de proteínas e atraso na síntese de RNA, causando diversos distúrbios celulares (Rauser e Hanson, 1966). A predominância de íons salinos no protoplasma pode causar toxidez e mudanças na capacidade da planta em absorver, transportar e utilizar os íons essenciais ao seu crescimento (Hasegawa et al., 2000). A integridade das membranas celulares, a atividade de várias enzimas, a função dos nutrientes no metabolismo e o aparato fotossintético das plantas são, geralmente, muito propensos aos efeitos tóxicos provocados por altos teores de sais (Zhu, 2001; Mahajan e Tuteja, 2005).

As plantas, dependendo da espécie e da cultivar, exibem diferentes comportamentos fenotípicos quanto à sensibilidade ao sal, por existir variação genética quanto ao grau de tolerância, podendo estas variar de sensíveis, ditas glicófitas, a tolerantes, ditas halófilas (Gupta e Huang, 2014).

Em geral, tanto as espécies halófilas como as glicófitas respondem de modo semelhante ao estresse salino, ou seja, a porcentagem e a velocidade de germinação são inversamente proporcionais ao aumento da salinidade, variando apenas o limite máximo de tolerância ao sal (Gupta e Huang, 2014). No entanto, as espécies tolerantes utilizam vários mecanismos bioquímicos e fisiológicos para sobreviverem às condições de estresses. Estes mecanismos incluem a homeostase iônica e compartimentalização, mudanças no transporte e absorção, biossíntese de osmoprotetores e solutos compatíveis, modulação de hormônios e a ativação de enzimas antioxidantes, que promovem desintoxicação celular (Gupta e Huang, 2014). Zhu (2001) inclui, ainda, a regulação do crescimento como um importante fator associado à tolerância das espécies a estresses.

Acredita-se que as enzimas do sistema antioxidativo estejam envolvidas com os principais mecanismos de tolerância das plantas a estresses ambientais (Zhu, 2001). Estresses abióticos, como o estresse hídrico e salino, geralmente estimulam a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) e o radical hidroxil ($HO^{\cdot}$), que acarretam inúmeras alterações ao metabolismo celular (Mittler, 2002). Os sistemas enzimáticos associados ao mecanismo de defesa antioxidativo em plantas incluem as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidases (POX) (Esen et al., 2012). A SOD, enzima presente em cloroplastos, mitocôndrias, citosol e peroxissomos, dismuta o $O_2^{\cdot-}$ a H_2O_2 , que é metabolizado a H_2O pela catalase e outras peroxidases (Mittler et al., 2004). Segundo Witlekens et al. (1995), catalases e peroxidases correspondem aos dois maiores sistemas para a remoção enzimática do peróxido de hidrogênio em plantas, sendo a diferença de atuação a forma de dismutar o H_2O_2 . Enquanto a catalase converte diretamente o peróxido de hidrogênio à água, a peroxidase necessita de um substrato redutor para efetuar o processo, sendo as peroxidases classificadas conforme a sua especificidade ao

substrato (Willekens et al., 1995). Catalases em plantas são responsáveis pela remoção de H_2O_2 em peroxissomos. A principal fonte de H_2O_2 em peroxissomos são provenientes de várias oxidases, que incluem acil-CoA-oxidase, glicolato oxidase e urato oxidase (Willekens et al., 1995). As peroxidases, que são geralmente encontradas no citosol, vacúolo e parede celular, podem se dividir em dois grupos, de acordo com as funções fisiológicas no metabolismo: peroxidases que atuam no processo de biossíntese de lignificação de paredes, biossíntese de etileno, degradação de ácido indolacético e nos demais processos, onde possa usar a doação de elétrons dos substratos doadores e peroxidases, cuja função reside na eliminação de peróxido de hidrogênio ou peróxidos orgânicos (Asada, 1992).

Sob estresse moderado, as plantas ativam o sistema antioxidativo de defesa, que geralmente são eficientes para evitar o dano oxidativo às células (Reddy et al., 2004). Entretanto, quando o estresse é severo, a produção de EROs pode exceder a capacidade de neutralização dos sistemas antioxidativos e pode ocorrer dano oxidativo (Esen et al., 2012).

Estudos recentes têm mostrado correlação entre a tolerância aos estresses e a presença de um eficiente sistema antioxidativo nos genótipos tolerantes. Dentre estes, podem-se relatar as pesquisas de Esen et al. (2012), em *Gypsophila aucherii*; Mishra et al. (2013), em *Oryza sativa*; Ahmad et al. (2014), em *Brassica juncea*; Anjum et al. (2014), em *Juncus maritimus* e Rivero et al. (2014), em *Solanum lycopersicon*.

2.2. Simulação do efeito de estresse hídrico e da salinidade na germinação de sementes

Uma das técnicas mais usadas para simular condições de baixa umidade no substrato tem sido o uso de soluções com diferentes potenciais osmóticos (Taylor e Harman, 1990). Soluções osmóticas podem simular ambiente com déficit hídrico e condições salinas. Um dos produtos mais usados para simular o estresse hídrico é o polietilenoglicol 6000 (PEG 6000), que é um soluto quimicamente inerte e atóxico, que não é absorvido pelas sementes devido ao grande tamanho de suas moléculas (Villela et al., 1991). As condições de salinidade geralmente são induzidas com soluções de NaCl, KCl, $CaCl_2$ e $MgCl_2$.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Pesquisa em Sementes e no Laboratório de Pós Colheita da Universidade Federal de Viçosa, sendo utilizadas sementes de crambe, cultivar FMS BRILHANTE, safra 2013, cedidas pela Fundação Mato Grosso do Sul.

Para simular o estresse hídrico, foram utilizadas soluções de polietilenoglicol 6000 (PEG 6000), preparadas de acordo com Villela et al. (1991), e para simular o estresse hídrico e salino, soluções de cloreto de potássio (KCl), preparadas a partir da fórmula de Van't Hoff (Salisbury e Ross, 1991), onde :

$$\Psi_{os} = - C i R T$$

sendo:

Ψ_{os} = potencial osmótico (atm),

C = concentração (mol L⁻¹),

i = coeficiente isotônico,

R = constante geral dos gases perfeitos (0,082 atm mol⁻¹ °K⁻¹),

T = temperatura (°K).

As soluções de PEG 6000 e KCl induziram os potenciais osmóticos: 0,0; -0,2; -0,4; -0,6 e -0,8 MPa, sendo o potencial zero a testemunha, sem estresse, em que utilizou-se apenas água destilada. Estes potenciais osmóticos corresponderam, respectivamente, às concentrações de 0; 112,23; 169,43; 213,64 e 251,03 g L⁻¹ de PEG 6000 e 0; 3,38; 6,77; 10,16; 13,55 g L⁻¹ de KCl.

Logo, os tratamentos foram:

T1 – Testemunha (0,0 MPa);

T2 – PEG 6000 (-0,2 MPa);

T3 – PEG 6000 (-0,4 MPa);

T4 – PEG 6000 (-0,6 MPa);

T5 – PEG 6000 (-0,8 MPa);

T6 – KCl (-0,2 MPa);

T7 – KCl (-0,4 MPa);

T8 – KCl (-0,6 MPa);

T9 – KCl (-0,8 MPa).

Os efeitos dos tratamentos foram avaliados por meio da determinação do grau de umidade das sementes, das curvas de embebição, dos testes de germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG), emergência (EM), índice de velocidade de emergência (IVE), comprimento de raiz (CR), comprimento de hipocótilo (CH), matéria fresca (MF), matéria seca (MS), teor de água das plântulas (TA), e da determinação da atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase (POX).

3.1. Grau de umidade

Foi determinado pelo método da estufa, a $105 \pm 3^{\circ}\text{C}$, durante 24 horas, com utilização de quatro repetições de cinquenta sementes, sendo os resultados expressos em porcentagem (Brasil, 2009).

3.2. Curvas de embebição

A curva de embebição de cada tratamento foi obtida por pesagens sucessivas, sendo utilizadas quatro repetições de 50 sementes por tratamento. As sementes foram inicialmente pesadas e posteriormente postas para embeber, entre três folhas de papel toalha umedecidas com 10 mL de solução, de acordo com os tratamentos descritos.

Foram realizadas pesagens a cada duas horas, nas primeiras 12 horas de embebição, e de 12 em 12 horas, nas horas subsequentes, até que 50% das sementes apresentassem a protusão radicular ou até o sétimo dia, data da última contagem da germinação, para o tratamento que não apresentou emissão de radícula.

O grau de umidade adquirido pelas sementes no decorrer das horas foi calculado com base no peso inicial, conforme a fórmula descrita abaixo:

$$U_f = ((P_f \cdot 100) - (P_i \cdot (100 - U_i))) / P_f$$
, sendo:

U_f = umidade final das sementes (%);

Pf = peso final das sementes (g);
Pi = peso inicial das sementes (g);
Ui = umidade inicial das sementes (%).

Foram plotadas curvas para cada tratamento, sendo os resultados expressos em porcentagem de umidade.

3.3. Teste de germinação (G)

Para garantir a desinfestação, as sementes foram imersas, durante um minuto, em solução de hipoclorito de sódio 2%, lavadas em água corrente e posteriormente tratadas com o fungicida Captan (3 g L^{-1}). Após o tratamento, quatro subamostras de 50 sementes foram dispostas em caixas gerbox, entre três folhas de papel toalha (germitest), umedecidas com 10 mL de solução, conforme os tratamentos descritos. Os gerbox foram embalados em sacos plásticos transparentes de polietileno e colocados em câmara do tipo BOD, sob temperatura constante de 25°C. As avaliações foram realizadas no quarto e sétimo dias após a semeadura, e os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais (Brasil, 2009).

3.4. Primeira contagem de germinação (PCG)

Foi realizada junto ao teste de germinação, registrando-se a porcentagem de plântulas normais no 4º dia após a instalação do teste, sendo os resultados expressos em % (Brasil, 2009).

3.5. Emergência (EM)

As sementes foram imersas, por um minuto, em solução de hipoclorito de sódio 2%, lavadas em água corrente e posteriormente tratadas com o fungicida Captan (3 g L^{-1}). Após o tratamento, quatro subamostras de 50 sementes foram dispostas em caixas gerbox, contendo areia umedecida com as devidas soluções e potenciais osmóticos referentes aos tratamentos, sendo o volume de solução usado correspondente a 100% da capacidade de retenção do substrato. As sementes foram postas para germinar em câmara de germinação, à 25°C, e os resultados foram expressos em % de plântulas

emergidas. Foram consideradas emergidas as plântulas com protrusão da parte aérea de comprimento igual ou superior a 5 mm. (Brasil, 2009).

3.6. Índice de velocidade de emergência (IVE)

Foi avaliado junto ao teste de emergência, em que foram realizadas contagens diárias do número de plântulas emergidas durante sete dias. O índice de velocidade de emergência foi calculado empregando a fórmula de Maguire (1962):

$$IVE = \frac{E_1}{N_1} + \frac{E_2}{N_2} + \dots + \frac{E_n}{N_n}$$

Em que:

IVE é o índice de velocidade de emergência;

E_1 até E_n é o número de plântulas emergidas computadas no primeiro dia até o último dia;

N_1 até N_n é o número de dias da semeadura à primeira até à última contagem.

3.7. Comprimento de radícula (CR) e de hipocótilo (CH)

As sementes foram imersas, por um minuto, em solução de hipoclorito de sódio 2%, lavadas em água corrente e tratadas com o fungicida Captan (3 g L⁻¹). Em seguida, foram postas em gerbox, entre três folhas de papel toalha umedecidas com 10 mL das soluções nos diferentes potenciais, conforme os tratamentos. Na determinação dos comprimentos foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes cada, efetuando-se medições no 7º dia após o início do teste.

Os gerbox foram embalados em sacos plásticos transparentes de polietileno e as sementes postas para germinar em câmara tipo BOD sob a temperatura constante de 25°C. O comprimento médio da raiz primária (CR) e do hipocótilo (CH) foram determinados usando-se paquímetro digital, somando as medidas tomadas de cada plântula normal, em cada repetição, e dividindo pelo número de sementes germinadas. O resultado foi expresso em mm plântula⁻¹.

3.8. Matéria fresca (MF), seca (MS) e teor de água (TA) de plântulas

Foram usadas as plântulas resultantes do teste de comprimento de plântulas. Ao final deste teste, para a obtenção da matéria fresca, pesaram-se as plântulas normais de cada repetição com balança de precisão 0,0001 g, sem a retirada do cotilédone, e os resultados foram expressos em mg plântula⁻¹. As plântulas normais obtidas foram então colocadas dentro de sacos de papel e secas em estufa, com circulação forçada de ar, à 70°C, por 72 horas, para determinação da matéria seca. Os resultados foram também expressos em mg plântula⁻¹. Para o teor de água das plântulas, utilizou-se a fórmula a seguir:

$TA = ((P_i - P_f)/P_i) \times 100$, em que:

TA = Teor de água das plântulas (%);

P_i = Peso inicial (Peso da matéria fresca) (g);

P_f = Peso final (Peso da matéria seca) (g).

3.9. Determinação da atividade de enzimas do complexo de defesa antioxidativo das plântulas

3.9.1. Obtenção do material vegetal

As plântulas utilizadas para mensuração da atividade de enzimas foram obtidas ao final do teste de germinação. No sétimo dia após a semeadura, as plântulas normais foram coletadas, acondicionadas em sacos de papel alumínio, e congeladas, sob congelamento rápido, em nitrogênio líquido, sendo posteriormente liofilizadas e armazenadas em dessecador vedado.

3.9.2. Obtenção do extrato bruto para determinação da atividade enzimática

Para a obtenção do extrato enzimático bruto, foram utilizadas quatro repetições de 50 mg de tecido vegetal seco por tratamento. Os tecidos foram macerados a pó fino, com nitrogênio líquido, sendo adicionados 4,0 mL de tampão de extração, contendo tampão fosfato de potássio 0,1 mM, pH 6,8, etilenodiaminotetracético (EDTA) 0,1 mM, polivinilpolipirrolidona (PVPP) 1% (p/v), e fluoreto de fenilmetilsulfônico (PMSF) 1 mM (Peixoto et al., 1999). O

conteúdo foi centrifugado a 12.000 *xg* durante 15 minutos a 4°C e o sobrenadante preservado em banho de gelo até o preparo do meio de reação e aferição da atividade enzimática.

3.9.3. Determinação de proteína

A determinação de proteína foi realizada conforme a metodologia descrita por Bradford (1976), usando-se BSA como padrão e 100 µl do extrato. A leitura foi realizada no comprimento de onda de 595 nm. A determinação de proteína se faz necessária para compor o cálculo da atividade das enzimas SOD, CAT e POX.

3.9.4. Determinação da atividade de superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1)

A atividade da SOD foi determinada pela reação de 100 µL do extrato com 2,90 mL de meio de reação contendo tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7,8, metionina 13 mM, EDTA 0,1 mM, riboflavina 2 µM e azul de p-nitro tetrazólio (NBT) 75 µM (Del Longo et al., 1993). A reação foi realizada em câmara de reação, com iluminação de lâmpada fluorescente de 15 W, sendo as amostras mantidas sob luz constante durante três minutos. Após a interrupção de luz, foi realizada a leitura a 560 nm. O branco foi obtido nas mesmas condições, mas sem a presença de luz (Giannopolitis e Ries, 1977). Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima capaz de inibir em 50 % a fotorredução do NBT (Beauchamp e Fridovich, 1971).

3.9.5. Determinação da atividade de catalase (CAT, EC 1.11.1.6)

A atividade da catalase foi determinada pela reação de 100 µL do extrato com 2,9 mL de meio de reação contendo tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7,0 e H₂O₂ 12,5 mM (Havir e Mchale, 1987). Foi mensurado o decréscimo na absorvância a 240 nm, à temperatura de 25°C, durante um minuto. A atividade enzimática foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de 36 M⁻¹ cm⁻¹ (Anderson et al., 1995) e expressa em µmol min⁻¹mg⁻¹ de proteína.

3.9.6. Determinação da atividade das peroxidases (POX, EC 1.11.1.7)

A atividade das peroxidases foi determinada pela reação de 100 µL do extrato com 2.9 mL de meio de reação contendo tampão fosfato de potássio 25 mM, pH 6,8, guaiacol 20 mM e H₂O₂ 20 mM (Kar e Mishra, 1976). Foi medido o incremento na absorvância a 420 nm, à temperatura de 25°C, durante um minuto. A atividade enzimática foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de 2,47 mM L⁻¹ cm⁻¹ (Chance e Maehley, 1955) e expressa em µmol min⁻¹ mg⁻¹ de proteína.

3.10. Delineamento experimental e análise estatística

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, sendo os tratamentos dispostos em esquema fatorial 2 x 5 , sendo analisados dois tipos de soluções osmóticas para simular o estresse (PEG 6000 e KCl) e cinco potenciais osmóticos (0, -0,2, -0,4, -0,6 e -0,8 MPa).

Averiguaram-se as pressuposições da análise de variância e os dados de germinação e da atividade da enzima da superóxido dismutase foram transformados pelas funções arco seno $\sqrt{X+1}$ e $\sqrt{X+1}$, respectivamente, para adequações quanto à normalidade dos erros. No entanto, os dados apresentados foram os originais, não transformados.

Para comparar o efeito das soluções de PEG 6000 e KCL, dentro de cada potencial, utilizou-se o teste F, a 5% de probabilidade, e, para comparar o efeito de cada tratamento com a testemunha, processou-se o teste Dunnett, a 5% de probabilidade. Para os potenciais osmóticos, dentro de cada tipo de solução, usou-se análise de regressão. As análises estatísticas foram realizadas com o programa R para Windows, versão 3.1.0.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Curvas de embebição

Inicialmente as sementes apresentavam 7,8% de grau de umidade. As curvas de embebição das sementes de cada tratamento são observadas na Figura 1.

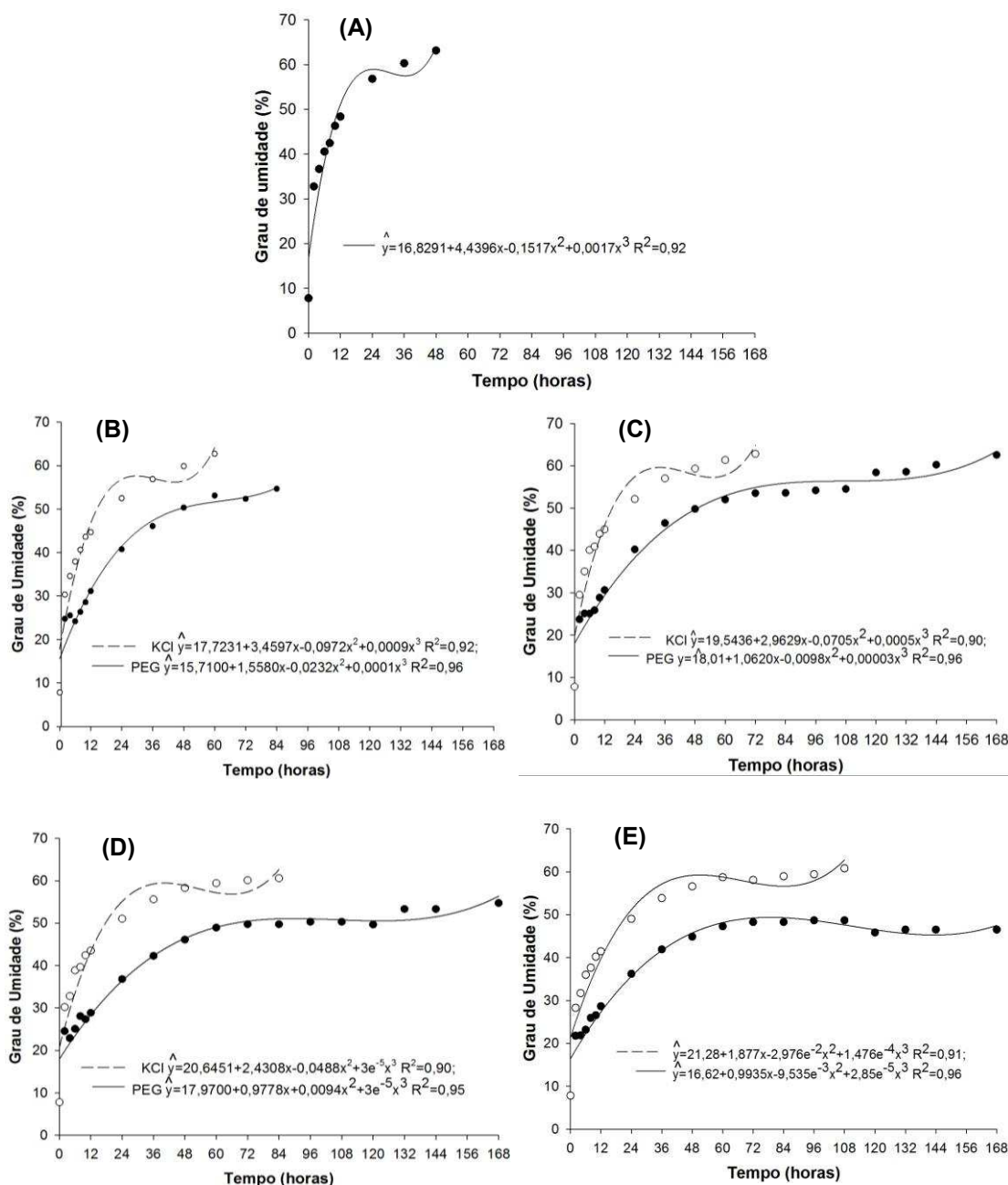


FIGURA 1. Curvas de embebição de sementes *Crambe abyssinica* submetidas ao estresse hídrico (PEG 6000) e salino (KCl), em diferentes potenciais osmóticos (ψ_s). (A) $\psi_s = 0$ MPa (testemunha/água destilada); (B) $\psi_s = -0,2$ MPa; (C) $\psi_s = -0,4$; (D) $\psi_s = -0,6$ MPa; (E) $\psi_s = -0,8$ MPa.

Verificou-se que as sementes do tratamento testemunha, submetidas ao potencial 0 MPa, utilizando-se água destilada, evidenciada na Figura 1 - A, apresentaram comportamento trifásico de embebição. Para este potencial osmótico, observou-se a fase I, com duração aproximada de 15 horas, quando as sementes alcançaram cerca de 55% de grau de umidade, a fase II, durando por volta de 21 horas, e a fase III, evidenciada pela emissão radicular, após 36 horas de embebição, quando as sementes apresentavam grau de umidade aproximado de 59% (Tabela 1 e Figura 1-A). Estes resultados são importantes na caracterização da curva de embebição de sementes de crambe, uma vez que existem poucos trabalhos conclusivos sobre o tema. Ruas et al. (2010) observaram o comportamento de embebição das sementes de crambe, em água destilada, durante 10 horas e concluíram que este tempo não foi suficiente para que a espécie atingisse a fase II de embebição. Os resultados estão, também, de acordo com Bewley et al. (2013) que afirmam que sob condições ótimas de suprimento de água, a captura de água pelas sementes segue um padrão trifásico, caracterizado por três fases distintas, sendo o movimento de água em cada fase regido pela diferença no potencial hídrico entre o substrato e a semente.

De acordo com Bewley et al. (2013), a fase I caracteriza-se por absorção rápida de água pelas sementes, sendo este processo de captura de água, puramente físico, regido pelo baixo potencial matricial da semente, que ocorre independente da viabilidade das sementes. A fase II é descrita como fase estacionária, onde as sementes não absorvem ou absorvem pouca água lentamente, ocorrendo apenas em sementes viáveis, incluindo as dormentes. A fase III é iniciada com a protrusão radicular, sendo atingida apenas por sementes viáveis não dormentes, onde, a partir deste ponto, é retomado o aumento no grau de umidade das sementes. É importante ressaltar que o tempo levado em cada fase varia entre espécies e depende das condições a qual cada semente é submetida (Bewley et al., 2013), sendo o decréscimo no potencial osmótico um dos fatores que afetam a captura de água pelas sementes (Gupta e Huang, 2014).

Todas as curvas exibiram o modelo trifásico, exceto a do tratamento com potencial osmótico -0,8 MPa induzido por PEG 6000, em que não foi observada a emissão radicular, havendo apenas fase I e II (Figura 1).

Ao se comparar as curvas de embebição de todos os tratamentos, observa-se que as sementes do tratamento testemunha, $\psi_s = 0$ MPa, apresentaram maior velocidade de absorção de água e mais rápida protrusão radicular em relação aos demais tratamentos (Figura 1 e Tabela 1). Isso se deve ao fato de os tratamentos com PEG 6000 e KCl terem reduzido o potencial osmótico do meio, dificultando a entrada de água nas células e, conseqüentemente, retardando o avanço dos estádios que culminam com a emissão radicular (Bewley et al. 2013).

TABELA 1. Pontos de transição e duração das fases das curvas de embebição de sementes de *Crambe abyssinica*, submetidas ao estresse hídrico (PEG 600) e salino (KCl), em diferentes potenciais osmóticos (Ψ_s).

Ψ_s (MPa)	Solução	Pontos de Transição (horas)		Duração das fases (horas)	
		Fase I – II	Fase II - III	Fase I	Fase II
0,0	Testemunha	15	36	15	21
-0,2	PEG 6000	36	72	36	36
	KCl	20	48	20	28
-0,4	PEG 6000	48	120	48	72
	KCl	24	60	24	36
-0,6	PEG 6000	60	156	60	96
	KCl	30	72	30	42
-0,8	PEG 6000	60	Não houve	60	---
	KCl	36	84	36	48

Observou-se, ainda, que houve redução na velocidade de absorção de água e atraso na emissão de radícula proporcional ao decréscimo do potencial osmótico, tanto para os tratamentos com PEG 6000, quanto para os com KCl (Tabela 1).

Durante o processo de embebição de sementes de café, foram observadas progressivas reduções na taxa de absorção de água pelas sementes à medida que aumentava as concentrações de PEG 6000 (Sguarezi et al. 2001). Em sementes de garapa (*Apuleia leiocarpa*), foi também constatado um atraso no início da protrusão da radícula quando houve redução dos potenciais osmóticos, tanto para a solução de NaCl quanto para a de PEG 6000 (Spadeto et al., 2012).

A redução do potencial osmótico acarretou, ainda, aumento na duração da fase II, para ambas as soluções, sendo, no entanto, muito mais pronunciado em tratamentos com PEG 6000 que com KCl (Tabela 1). De

acordo com Bewley et al. (2013), a temperatura e o decréscimo do potencial osmótico podem estender o tempo requerido para completar a fase II.

As sementes que foram submetidas aos tratamentos com KCl absorveram mais água que aquelas submetidas aos tratamentos com PEG 6000, em todos os potenciais osmóticos (Figura 1 B-E). Possivelmente, esta maior absorção explica o fato de as sementes tratadas com KCl terem, também, atingido mais rapidamente a fase III que as sementes dos tratamentos com PEG 6000.

Diante destes resultados (Figura 1 e Tabela 1), levando-se em consideração o processo de absorção de água pelas sementes de crambe sob reduções nos potenciais osmóticos, fica evidente que a redução do potencial osmótico afeta a absorção de água, prolonga a fase II e atrasa a emissão radicular. As sementes submetidas aos tratamentos com PEG 6000 apresentaram menor velocidade de absorção de água, fase II mais prolongada e emissão radicular mais tardia em relação aos tratamentos com KCl.

4.2. Germinação, vigor e atividade enzimática

Os resultados da análise de variância revelaram efeito significativo das soluções e potenciais osmóticos, bem como da interação, a 5% de probabilidade, para todas as variáveis (Anexo).

4.2.1. Germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG), emergência (EM) e índice de velocidade de emergência (IVE)

Observou-se queda na germinação e no vigor, evidente pela redução na G, PCG, EM e IVE, proporcional ao decréscimo do potencial osmótico (Figura 2).

Teixeira et al. (2011) também observaram redução do potencial fisiológico de sementes de crambe (*Crambe abyssinica*) proporcional à redução do potencial osmótico da solução de embebição. Da mesma forma, foi constatada redução acentuada na germinação e no vigor de sementes de canola (*Brassica napus*), em função do decréscimo no potencial osmótico (Ávila et al., 2007; Santos et al., 2012). Lopes et al. (2014) também observaram decréscimo na qualidade fisiológica de sementes de brócoli

(*Brassica oleracea*), à medida que o potencial osmótico da solução de embebição tornou-se mais negativo.

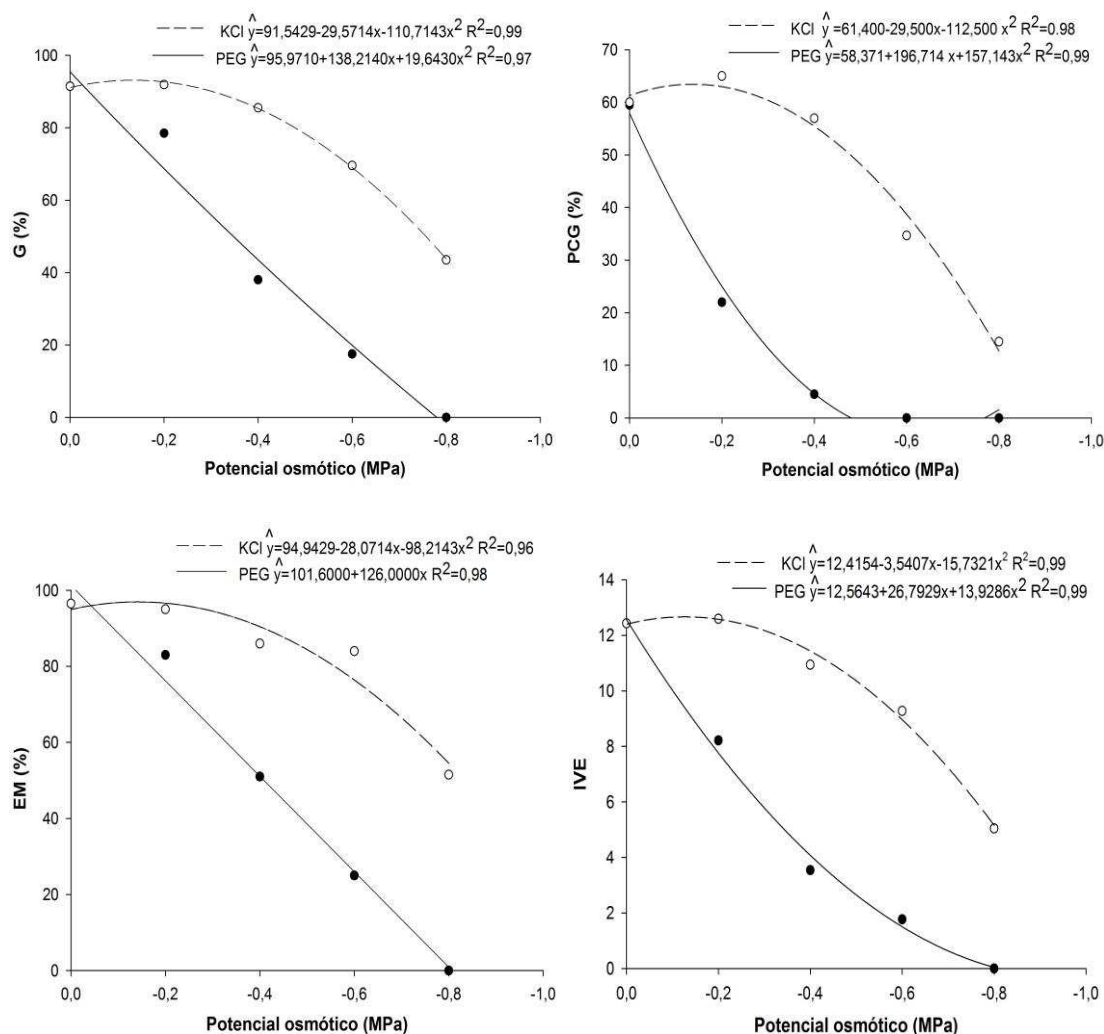


FIGURA 2. Germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG), emergência (EM) e índice de velocidade de emergência (IVE) de sementes de *Crambe abyssinica* submetidas ao estresse hídrico (PEG 6000) e salino (KCl) em função dos potenciais

A redução na germinação e vigor proporcionados pelo decréscimo no potencial osmótico, induzidos por PEG e KCl, pode ser resultado do efeito osmótico e/ou iônico que dificulta a absorção de água ou facilita a penetração de íons nas células. A diminuição da germinação também pode ser atribuída à menor mobilização das reservas, menor síntese e atividade enzimática ou mudanças na turgescência celular (Bewley et al., 2013). A taxa de germinação, geralmente, diminui com o decréscimo do potencial hídrico externo, mas, para cada espécie, há um potencial abaixo do qual não

ocorre a germinação (Ávila et al., 2007). Os resultados do presente trabalho mostraram que as sementes de crambe não germinaram sob estresse hídrico quando submetido ao potencial -0,8 MPa simulado pela solução de PEG 6000. Teixeira et al. (2011) também constataram redução significativa na germinação e no vigor das sementes de crambe quando submetidas a baixos potenciais osmóticos, não ocorrendo germinação a partir do potencial -0,6 MPa induzidos pelo agente osmótico PEG 6000. Esta diferença entre os resultados de germinação pode ser devido ao vigor inicial das sementes, que apresenta importante papel na tolerância ao estresse. Neste trabalho, utilizaram-se sementes que apresentavam, inicialmente, alta germinação e vigor (Tabela 2), enquanto Teixeira et al. (2011) trabalharam com sementes apresentando germinação inicial de aproximadamente 50%.

TABELA 2. Germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG), emergência (EM) e índice de velocidade de emergência (IVE) de sementes de *Crambe abyssinica* submetidas ao estresse hídrico (PEG 6000) e salino (KCl) em diferentes potenciais osmóticos (ψ_s).

ψ_s (MPa)	G (%)			PCG (%)			EM (%)			IVE		
	PEG 6000	KCl	Média	PEG 6000	KCl	Média	PEG 6000	KCl	Média	PEG 6000	KCl	Média
0,0	92A	92A	92	60A	60A	60	97A	97A	97	12,43A	12,43A	12,43
- 0,2	79B*	91A	85	22B*	65A	49	83B*	97A	90	8,21B*	12,59A	10,40
- 0,4	38B*	86A*	62	5B*	57A*	31	51B*	86A*	67	3,54B*	10,94A*	7,24
- 0,6	18B*	70A*	44	0B*	34A*	17	25B*	85A*	56	1,77B*	9,28A*	5,52
- 0,8	0 B*	44A*	22	0B*	15A*	7	0B*	52A*	26	0,00B*	5,04A*	2,53
Média	45	76		17	48		51	84		5,19 B	10,06	
CV (%)		5,29			3,14			3,94			7,38	

- Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem estatisticamente, a 5% de probabilidade, pelo teste F.

- Médias seguidas por * na mesma coluna, diferem estatisticamente da testemunha, $\psi_s = 0,0$ MPa, a 5% de probabilidade, pelo teste Dunnett.

Quando comparados os efeitos das soluções osmóticas de PEG 6000 e KCl, observou-se que os resultados de todas as variáveis foram sempre menores quando utilizada a solução de PEG 6000, em todos os potenciais osmóticos (Tabela 2). Quando utilizada a solução de PEG 6000, os resultados foram inferiores ao da testemunha em todos os potenciais osmóticos para todas as variáveis. No entanto, para a solução de KCl, os resultados foram significativamente menores nos potenciais -0,4, -0,6 e -0,8 MPa (Tabela 2). Evidenciou-se comportamento quadrático para ambas as

soluções, no entanto, notou-se queda mais acentuada na germinação e no vigor quando utilizada a solução de PEG 6000 (Figura 2). Verificou-se, ainda, que no potencial osmótico -0,8 MPa não houve germinação quando as sementes foram submetidas ao tratamento com PEG 6000. Entretanto, quando submetidas ao tratamento com KCl houve, ainda, germinação de 44%. Assim, estes resultados mostraram efeito mais drástico de redução das variáveis quando as sementes foram submetidas aos tratamentos com PEG 6000 em relação ao KCl. O efeito mais drástico evidenciado para o PEG 6000 pode ser atribuído à alta viscosidade da solução, que compromete, além da disponibilidade de água, a disponibilidade de O₂ para o embrião (Bradford, 1995). Esta dificuldade de absorção imposta pelo PEG pode ter intensificado o efeito de restrição à entrada de água e oxigênio já existente no crambe, uma vez que suas sementes apresentam pericarpo com elevado conteúdo de lignina e de celulose, constituintes estes que dificultam a permeabilidade do tegumento (Gastaldi et al., 1998). Outra hipótese para o efeito mais drástico do PEG em relação ao KCl está no fato de o PEG 6000 apresentar grande tamanho de suas moléculas, não sendo absorvido pelas sementes, apresentando, portanto, um efeito mais intenso de restrição à entrada de água, ao contrário dos sais que podem penetrar nas células (Hadas, 1976).

Outros trabalhos também evidenciaram maior efeito prejudicial do PEG 6000 em comparação a outras soluções osmóticas. Sementes de corticeira (*Erythrina falcata*) apresentaram menor tolerância ao PEG que ao manitol e NaCl (Pelegrini et al., 2013). Sementes de angico branco (*Anadenanthera colubrina*) foram mais afetadas por PEG que por manitol e KCl (Rego et al., 2011). Em paineira (*Chorisia speciosa*), o PEG apresentou efeito de redução na germinação maior que o efeito do manitol, NaCl, KCl e CaCl₂ (Fanti et al., 2004). A qualidade fisiológica de sementes de feijão foi mais afetada por PEG do que por NaCl (Moraes et al., 2005). Sementes de soja foram, também, mais afetadas por solução de PEG do que por soluções salinas de NaCl, KCl, MgCl₂ (Moraes e Menezes, 2003).

4.2.2. Comprimento de radícula (CR) e de hipocótilo (CH)

O estresse hídrico, simulado por PEG 6000, e o salino, induzido por KCl, afetaram o desenvolvimento inicial das plântulas de crambe (Figura 3).

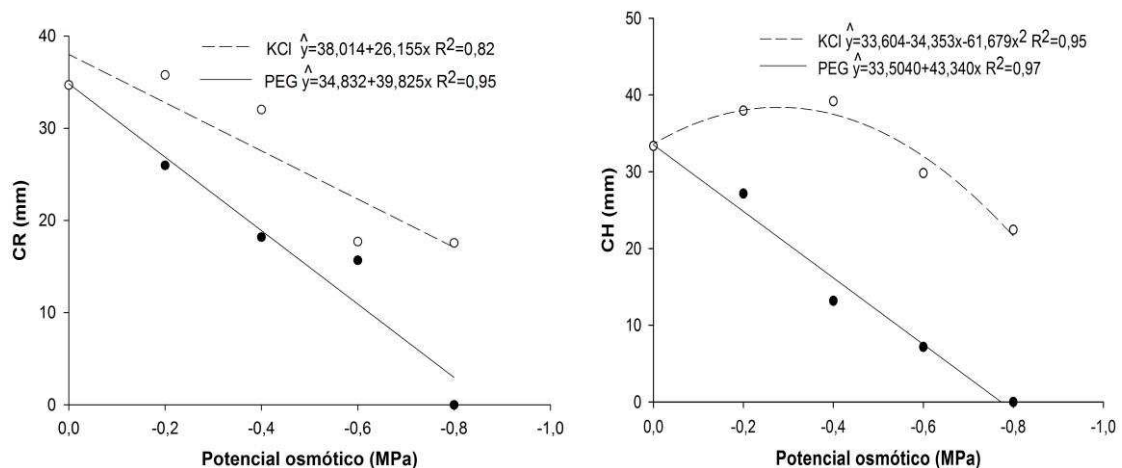


FIGURA 3. Comprimento de raiz (CR) e comprimento de hipocótilo (CH), de plântulas de *Crambe abyssinica* submetidas ao estresse hídrico (PEG 6000) e salino (KCl), em função dos potenciais osmóticos.

Obteve-se efeito linear decrescente no CR quando as plântulas foram submetidas a ambas soluções osmóticas. No entanto, em relação ao CH, observou-se comportamento distinto quando utilizadas as diferentes soluções. Notou-se queda linear no CH com o decréscimo do potencial osmótico, induzido por PEG 6000. Entretanto, utilizando-se o KCl, o CH seguiu um comportamento quadrático, onde o decréscimo no potencial até -0,28 MPa provocou incremento no crescimento, atingindo o valor máximo estimado de 38,39 mm. A partir deste potencial, houve redução nos valores, verificando-se 21,62 mm de CH no potencial -0,8 MPa (Figura 3).

Masseto et al. (2011) também encontraram redução no CR e CH em plântulas de crambe, quando submetidas a estresse hídrico induzido por PEG 6000. Harter et al. (2014), trabalhando com sementes de mogango (*Cucurbita pepo*), observaram decréscimos no CR e CH com aumento das concentrações de sal no meio, evidenciando diminuição mais acentuada no comprimento de raiz que na parte aérea. Da mesma forma, Santos et al. (2012), avaliando o desempenho de sementes de canola (*Brassica napus*) com diferentes umidades iniciais, verificaram redução no comprimento das

plântulas proporcional ao decréscimo nos potenciais osmóticos induzidos por PEG 6000.

O estresse hídrico e salino, se severos, podem inibir por completo a divisão e a expansão celular, levando a planta à morte, de modo que é importante que haja controle na regulação do crescimento, que permita que a planta continue crescendo, ainda que em menor taxa, não cessando a divisão e a expansão celular (Zhu, 2001).

Sob estresse, ocorre o fechamento dos estômatos, o que, conseqüentemente, limita a absorção de dióxido de carbono (Zhu, 2001; Osakabe et al., 2014). Em geral, plantas com suprimento limitado de água costumam crescer menos do que com suprimento não limitado, sendo a inadequada fotossíntese uma das principais causas da redução na taxa de crescimento.

Notou-se, ainda, que o estresse salino teve menor efeito prejudicial ao comprimento de plântulas do que o estresse hídrico, sendo evidente pelos resultados superiores de CR e CH dos tratamentos com KCl, em todos os potenciais osmóticos (Tabela 3).

TABELA 3. Comprimento de raiz (CR) e de hipocótilo (CH), de plântulas de *Crambe abyssinica* submetidas ao estresse hídrico (PEG 6000) e salino (KCl), em diferentes potenciais osmóticos (ψ_s).

ψ_s (MPa)	CR (mm plântula ⁻¹)			CH (mm plântula ⁻¹)		
	PEG 6000	KCl	Média	PEG 6000	KCl	Média
0,0	34,68 A	34,68 A	34,68	33,35 A	33,35 A	33,35
- 0,2	25,97 B*	35,78 A	30,57	27,15 B	37,95 A	32,55
- 0,4	18,18 B*	32,03 A	25,10	13,17 B*	39,17A	26,17
- 0,6	15,68 A*	17,71 A*	16,69	7,17 B*	29,81 A	18,48
- 0,8	0,00 B*	17,56 A*	8,77	0,00 B*	22,43 A*	11,22
Média	18,90	27,56		16,17	32,53	
CV (%)		18,66			25,39	

- Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem estatisticamente, a 5% de probabilidade, pelo teste F;

- Médias seguidas por * na mesma coluna, diferem da testemunha, $\psi_s=0,0$ MPa, a 5% de probabilidade, pelo teste de Dunnett.

O CR foi menor em relação à testemunha em todos os potenciais induzidos por PEG 6000. No entanto, esta diferença apenas foi significativa nos potenciais -0,6 e -0,8 MPa quando utilizada a solução de KCl (Tabela 3). Para o CH, quando utilizada a solução de PEG 6000, notou-se diferença

significativa em relação à testemunha nos potenciais -0,4, -0,6 e -0,8 MPa e, quando usada a solução de KCl, o CH foi diferente da testemunha apenas no potencial -0,8 MPa.

Assim, o estresse hídrico, simulado por PEG 6000, teve maior efeito de redução no CR e no CH que o estresse hídrico e salino, induzido pelo KCl, sendo o CR mais afetado que o CH para ambas as soluções osmóticas (Figura 3 e Tabela 3).

4.2.3. Matéria fresca (MF), seca (MS) e teor de água (TA) de plântulas

Os resultados de MF e MS de plântulas de *Crambe abyssinica* foram afetados pelo decréscimo no potencial osmótico induzido por soluções de PEG 6000 e KCl (Figura 4).

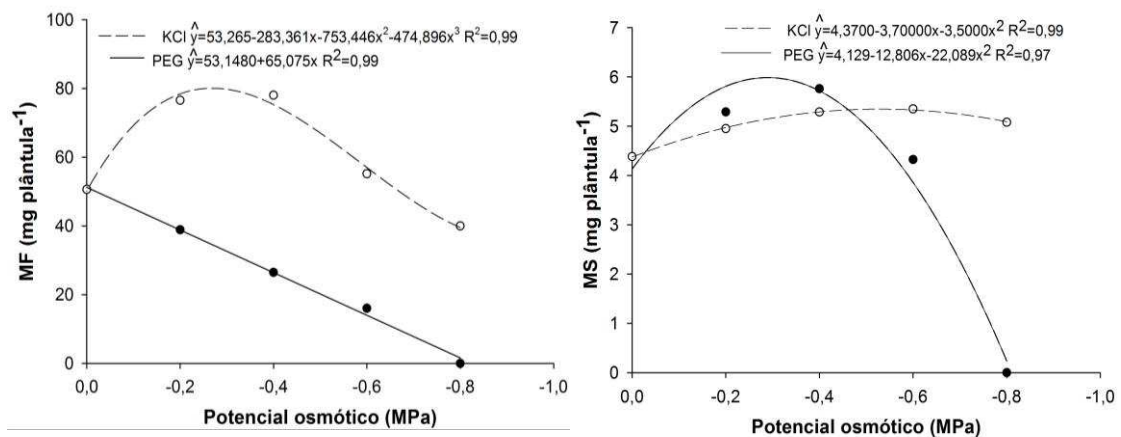


FIGURA 4. Matéria fresca (MF) e matéria seca (MS) de plântulas de *Crambe abyssinica*, submetidas aos estresses hídrico (PEG 6000) e salino (KCl), em função dos potenciais

Observou-se queda acentuada na MF quando as plântulas foram submetidas à diminuição do potencial osmótico, simulado por PEG 6000 (Figura 4). Entretanto, sob estas mesmas condições, notou-se que a MS apresentou comportamento distinto, havendo incremento até o potencial -0,29 MPa, atingindo um máximo de 5,99 mg plantula⁻¹ de MS, seguido de queda a partir deste potencial (Figura 4).

Quando as plântulas foram submetidas ao estresse salino, induzido por KCl, evidenciou-se incremento de MF até o potencial -0,24 MPa, chegando a atingir 84,44 mg plântula⁻¹, e incremento de MS até o potencial -0,53 MPa, atingindo o valor máximo de 5,35 mg plântula⁻¹. Após estes

potenciais, foi observada gradativa diminuição na produção de MF e MS, chegando a valores de 40,90 mg de MF e 5,09 mg de MS por plântula no potencial osmótico -0,8 MPa.

Decréscimos na MF provocados sob estresse hídrico são constantemente observados, uma vez que o estresse hídrico induz ao fechamento dos estômatos e à redução na disponibilidade de CO₂, com consequente redução na produção de massa da planta (Osakabe et al., 2014). Por outro lado, as plantas podem promover diversos mecanismos osmorreguladores, tais como acúmulo de açúcares e proteínas ou captura de íons do meio, a fim de tentarem manter a pressão de turgor dentro das células e sobreviverem em condições de estresse (Bray, 1997). Há relatos que fornecem evidências de associação positiva entre a osmorregulação e a produção de matéria seca, como exemplo, o estudo utilizando linhagens de trigo e sorgo onde foi evidenciado que as plantas com maior nível de osmorregulação obtiveram maior produção de massa seca, tanto de raízes quanto de parte aérea, em relação àquelas que apresentavam menor nível (Morgan, 1984).

De acordo com Zhu (2001), sob estresse salino, as plantas tolerantes costumam tentar manter a homeostase, por meio da produção e acúmulo de vários compostos, a fim de diminuir o potencial osmótico interno e manter a absorção de água da solução salina pelas plantas. A produção e acúmulo de compostos podem interferir no valor da matéria fresca e seca. Assim, de acordo com os resultados encontrados neste trabalho, pode-se supor que tenha havido acúmulo de compostos que contribuíram para aumento da massa fresca e massa seca sob estresse salino em crambe (Figura 4).

Os valores de MF obtidos foram sempre superiores quando utilizada a solução de KCl em relação a de PEG 6000, em todos os potenciais osmóticos. Já para a MS, esta diferença não foi muito evidente entre as soluções osmóticas (Tabela 4).

TABELA 4. Matéria fresca (MF), matéria seca (MS) e teor de água (TA) de plântulas de *Crambe abyssinica*, submetidas ao estresse hídrico (PEG 6000) e salino (KCl) em diferentes potenciais osmóticos (ψ_s).

ψ_s (MPa)	MF (mg plântula ⁻¹)			MS (mg plântula ⁻¹)			TA (%)		
	PEG 6000	KCl	Média	PEG 6000	KCl	Média	PEG 6000	KCl	Média
0,0	53,12 A	53,12 A	53,12	4,38 A	4,38 A	4,38	91 A	91 A	91
- 0,2	39,95 B*	84,18 A*	62,06	5,29 A*	4,95 A	5,12	87 B	94 A	90
- 0,4	26,48 B*	75,58 A*	51,02	5,76 A*	5,29 A*	5,52	78 B*	93 A	86
- 0,6	16,04 B*	55,20 A	35,62	4,32 B	5,35 A*	4,84	73 B*	91 A	82
- 0,8	0,00 B*	40,75 A*	20,38	0,00 B*	5,08 A*	2,54	0 B*	87 A	44
Média	27,12	61,76		3,95	5,01		66	91	
CV (%)		4,65			7,45			3,21	

- Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem estatisticamente, a 5% de probabilidade, pelo teste F;

- Médias seguidas por * na mesma coluna, diferem da testemunha, $\psi_s=0,0$ MPa, a 5% de probabilidade, pelo teste de Dunnett.

Notou-se que, quando utilizada a solução de PEG 6000, a produção de MF foi inferior à testemunha em todos os potenciais testados e a MS foi significativamente superior nos potenciais -0,2 e -0,4 MPa. Quando utilizada a solução de KCl, nos potenciais -0,2 e -0,4 para a MF e nos potenciais -0,4, -0,6 e -0,8 MPa para a MS, os resultados foram superiores ao da testemunha.

Em relação ao teor de água das plântulas, observou-se que nos potenciais -0,4, -0,6 e -0,8 MPa os resultados apresentaram-se inferiores ao da testemunha quando utilizada a solução de PEG 6000. Por outro lado, quando usada a solução de KCl, os resultados foram estatisticamente iguais ao da testemunha em todos os potenciais osmóticos (Tabela 4). Estes resultados evidenciam que o potencial hídrico da plântula pode ter sido reduzido com o estresse hídrico, porém não foi afetado pelo estresse salino. Moura et al. (2012) analisaram o potencial hídrico e o conteúdo relativo de água (CRA) em plantas de crambe e constataram que, sob estresse hídrico (45% da capacidade de campo), o CRA variou de 70 a 87%, dados semelhantes aos encontrados por este trabalho (Tabela 4). Maia et al. (2012), trabalhando com soluções salinas no desempenho de cultivares de feijão, observaram estabilidade no CRA da planta por volta dos 90%, valores, também, muito próximos aos obtidos neste trabalho (Tabela 4).

Desta forma, evidenciou-se que a MF, MS e o TA de crambe foram mais afetados negativamente pelo estresse hídrico, simulado por PEG 6000, que pelo salino, induzido por KCl, sendo o teor de água das plântulas praticamente constante quando sob estresse salino. Notou-se, ainda, que, sob estresse salino, a MF e MS obtiveram aumentos, podendo-se supor sobre a existência de mecanismo osmorregulador de controle osmótico interno que pode ter contribuído para este ganho de matéria. No entanto, maiores estudos são necessários para comprovar a ativação deste mecanismo.

4.2.4. Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase (POX)

A atividade das enzimas SOD, CAT e POX em plântulas de crambe foi afetada pelo decréscimo do potencial osmótico produzido por soluções de PEG 6000 e KCl (Figura 5).

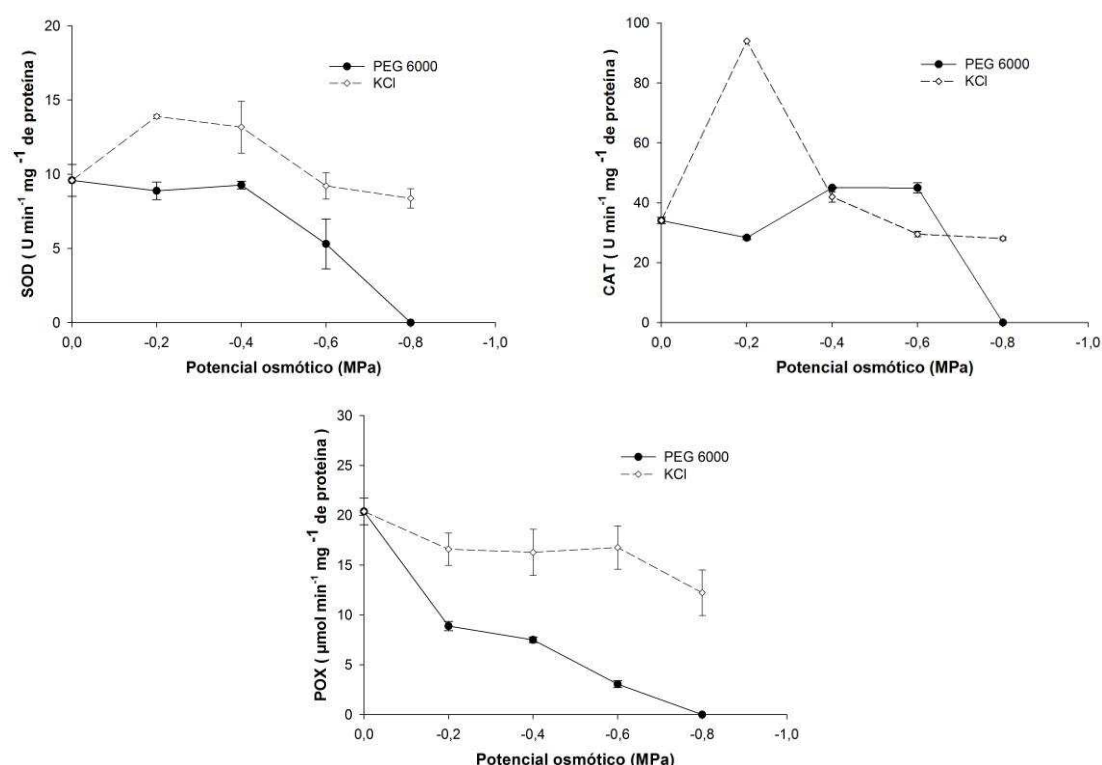


FIGURA 5. Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase (POX) em plântulas de *Crambe abyssinica*, submetidas ao estresse hídrico (PEG 6000) e salino (KCl), em função dos potenciais osmóticos.

Sob condições de estresses, as plantas, geralmente, aumentam a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), que causam distúrbios celulares (Bowler et al., 1992). Enquanto sob condições normais de crescimento da planta, a produção de EROs na célula é baixa ($240 \mu\text{M s}^{-1}\text{O}_2^-$ e nível de estado estacionário de $0,5 \mu\text{M}$ de H_2O_2 nos cloroplastos), vários estresses, como o hídrico e salino, causam mudanças no processo homeostático celular e ocasionam aumento na produção de EROs (aumento de até $720 \mu\text{M s}^{-1}\text{O}_2^-$ e nível de estado estacionário de 5 a $15 \mu\text{M}$ de H_2O_2) (Polle, 2001). Quando EROs são percebidas, ocorre a sinalização celular para que haja controle na sua produção e eliminação (Mittler et al., 2004). Há, então, aumentos na atividade do sistema de defesa antioxidativo que inicia um processo sincronizado de desintoxicação dos radicais tóxicos existentes (Mittler, 2002). Dentre os mecanismos enzimáticos do complexo de defesa antioxidativo, que atuam sob os radicais tóxicos, estão inclusas as enzimas SOD, CAT e POX. A SOD atua na primeira linha de defesa, dismutando o O_2^- a peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Mittler, 2002). As enzimas CAT e POX convertem, então, o H_2O_2 à H_2O e O_2 , promovendo a destoxificação celular (Mittler, 2002). A ação sincronizada das enzimas responsáveis pela remoção das ERO confere maior tolerância às plantas sob condições de estresse; o grau de atividade de cada enzima antioxidante e a quantidade que ela aumenta sob estresses são extremamente variáveis entre as espécies e até mesmo entre as cultivares (Reddy et al., 2004).

Observou-se queda na atividade da SOD e CAT quando induzido o estresse hídrico por PEG 6000 (Figura 5). No entanto, os valores observados foram apenas significativamente menores que a testemunha nos potenciais $-0,6$ e $-0,8$ MPa para a atividade de SOD e no potencial $-0,8$ MPa para a CAT (Tabela 5). Notou-se que o teor de água das plântulas no potencial $-0,6$ MPa era 73%, significativamente menor que a testemunha, sem estresse (Tabela 4). Esta significativa redução no teor de água das plântulas pode ter afetado o desempenho da enzima SOD e ocasionado o decréscimo na sua atividade, uma vez que a água é um solvente essencial para que ocorra as reações enzimáticas e a sua diminuição pode ocasionar redução na atividade de enzimas.

TABELA 5. Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase (POX), em plântulas de *Crambe abyssinica*, submetidas ao estresse hídrico (PEG 6000) e salino (KCl), em diferentes potenciais

ψ_s (MPa)	SOD (U min ⁻¹ mg proteína ⁻¹)			CAT (μmol min ⁻¹ mg proteína ⁻¹)			POX (μmol min ⁻¹ mg proteína ⁻¹)		
	PEG 6000	KCl	Média	PEG 6000	KCl	Média	PEG 6000	KCl	Média
0,0	9,58 A	9,58 A	9,58	34,08 A	34,08 A	34,08	20,37 A	20,37 A	20,37
- 0,2	8,88 B	13,89 A*	11,39	28,33 B	95,98 A*	62,16	8,88 B*	16,59 A*	12,74
- 0,4	9,27 B	13,16 A*	11,21	44,99 A	41,96 A*	43,47	7,50 B*	16,29 A*	11,89
- 0,6	5,30 B*	9,21 A	7,26	44,98 A	29,53 B	37,21	3,06 B*	16,76 A*	9,91
- 0,8	0,00 B*	8,37 A	4,18	0,00 B*	28,05 A	14,02	0,00 B*	12,22 A*	6,11
Média	6,61	10,85		30,46	45,92		7,96	16,45	
CV (%)		9,64			34,22			12,11	

- Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem estatisticamente, a 5% de probabilidade, pelo teste F.

-Médias seguidas por * na mesma coluna, difere da testemunha, $\psi_s=0,0$ MPa, a 5% de probabilidade, pelo teste Dunnett.

Evidenciou-se incremento na atividade de SOD e CAT, seguido de queda, quando induzido o estresse hídrico e salino por KCl (Figura 5), sendo os valores observados maiores que a testemunha nos potenciais -0,2 e -0,4 MPa para as duas enzimas (Tabela 5). O incremento na atividade destas enzimas está associado ao mecanismo de defesa antioxidativo, que promove o aumento da atividade enzimática a fim de evitar danos oxidativos às células. Pôde-se observar que o CR, CH, MF e MS não foram afetados negativamente até o potencial -0,4 MPa sob estresse hídrico e salino, induzido por KCl (Tabelas 3 e 4). Logo, há evidências de que, até este potencial, o desempenho das plântulas tenha sido mantido devido a este eficiente mecanismo de defesa antioxidativo presente. Resultados similares foram encontrados por Deuner et al. (2011), em que, nas concentrações intermediárias de sal, as enzimas antioxidantes apresentaram atividade eficiente na proteção contra o estresse salino, porém, este efeito não foi mantido para a maior dose testada, em genótipos de feijão miúdo (*Vigna unguiculata*). Kusvuran et al. (2012), estudando o comportamento de genótipos de melão (*Cucumis melo*) sensíveis e tolerantes à salinidade, observaram aumento na atividade de SOD e CAT em genótipos tolerantes, o

que não foram observados em genótipos sensíveis, concluindo que as plantas de melão tolerantes ao estresse salino respondem à indução salina pelo aumento de sua atividade enzimática antioxidante.

Houve queda na atividade de POX, para ambas as soluções osmóticas utilizadas (Figura 5), sendo a atividade significativamente menor em relação à testemunha em todos os potenciais testados (Tabela 5). Por meio destes resultados, pôde-se supor que a POX não foi eficiente na desintoxicação de espécies reativas de oxigênio em crambe, uma vez que sua atividade foi constantemente reduzida com o decréscimo do potencial osmótico. Stevens et al. (1978) estudaram a utilização da peroxidase como um indicador de estresse fisiológico em 11 cultivares de brássicas sob estresse salino e, evidenciaram decréscimos na atividade da POX com o aumento da concentração do sal. Devido a este decréscimo, os autores concluíram que não há um paralelo entre as respostas antioxidativas de defesa e a atividade da peroxidase nas brássicas analisadas. Estes autores especulam que, pela diversidade de respostas encontradas nos níveis de peroxidase entre as cultivares, a atividade desta enzima parece estar mais relacionada com a regulação hormonal e o processo de lignificação que com o mecanismo de defesa contra o efeito dos sais. Siegel et al. (1982), também, encontraram decréscimo na atividade da peroxidase, quando induzida a salinidade em 11 cultivares de brássicas, 10 de cucumis e nas espécies *Curica papaya* e *Zea mays*.

A atividade das enzimas SOD e POX foram sempre maiores quando em estresse salino induzido por KCl que quando em estresse hídrico simulado por PEG 6000 (Tabela 5). No entanto, para a atividade da CAT, não foi muito evidente esta diferença (Tabela 5). A enzima SOD também apresentou tendência de menor atividade em girassol (*Helianthus annuus* L.) quando sob estresse hídrico, simulado por PEG 6000, que quando submetido ao estresse salino por NaCl (Carneiro et al., 2011). Estes resultados podem ser devido à entrada de sal nas células, o que pode ter afetado o metabolismo celular, havendo maior indução à atividade das enzimas antioxidantes sob o estresse salino que sob o hídrico.

Os resultados da presente pesquisa evidenciaram que o estresse hídrico, simulado com PEG 6000, não induziu ao aumento da atividade das

enzimas antioxidantes em plântulas de crambe oriundas do sétimo dia após a semeadura. No entanto, sob estresse hídrico e salino, induzido por KCl, houve aumento da atividade de SOD e CAT, nos potenciais osmóticos -0,2 e -0,4 MPa, que correspondem às concentrações de KCl de 3,38 e 6,77 g L⁻¹, respectivamente. Notou-se que, quando utilizada a concentração de 6,77 g L⁻¹, a germinação ainda foi bastante alta, 86%, e o comprimento de raiz e de hipocótilo, bem como a massa fresca, seca e o teor de água, não foram afetados negativamente nesta concentração de sal. Estes resultados representam uma forte evidencia de que, até esta concentração, o desenvolvimento do crambe não foi, ainda, afetado. Brouwer et al. (1985) descrevem como altamente tolerantes as culturas que podem resistir à concentração de sal de 10 g L⁻¹, moderadamente tolerantes as que podem suportar concentração de sal até 5 g L⁻¹ e as sensíveis que não toleram cerca de 2,5 g L⁻¹. Dentro desta escala, o crambe se enquadra, portanto, como moderadamente tolerante ao sal. Fowler (1991) também classificam o crambe como uma cultura que apresenta moderada tolerância ao sal.

5. CONCLUSÕES

A redução do potencial osmótico da solução afetou a absorção de água pelas sementes de crambe, prolongou a fase II e atrasou a emissão radicular, sendo o efeito de restrição de água mais pronunciado no estresse hídrico, simulado pelo PEG 6000, que no estresse salino, induzido pelo KCl.

A germinação e o vigor de sementes/plântulas de crambe foram mais afetados negativamente pelo estresse hídrico, por PEG 6000, que pelo salino, por KCl.

Sob estresse salino, houve aumento da atividade das enzimas SOD e CAT nas concentrações intermediárias de sal e redução linear da POX com o aumento da salinidade.

O crambe apresentou moderada tolerância à salinidade.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMAD, P.; ASHRAF, M.; HAKEEM, K.R; AZOOZ, M.M.; RASOOL, S.; CHANDNA, R.; AKRAM, N.A. Potassium starvation-induced oxidative stress and antioxidant defense responses in *Brassica juncea*. **Journal of Plant Interactions**, v.9, n.1, p.1-9, 2014.
- ANDERSON, M.D.; PRASAD, T.K.; STEWART, C.R. Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotylus of maize seedlings. **Plant Physiology**, v.109, p.1247-1257, 1995.
- ANJUM, N.A.; DUARTE, A.C.; PEREIRA, E.; AHMAD, I. Oxidative stress status, antioxidant metabolism and polypeptide patterns in *Juncus maritimus* shoots exhibiting differential mercury burdens in Ria de Aveiro coastal lagoon (Portugal). **Environmental Science and Pollution Research**, v.21, p.6652-6661, 2014.
- ARTUS, N.N. Arsenic and cadmium phytoextraction potential of crambe compared with Indian mustard. **Journal of Plant Nutrition**, v.29, p.667-679, 2006.
- ASADA, K. Ascorbate peroxidase - a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. **Physiologia Plantarum**, v.85, p.235-41, 1992.
- ÁVILA, M.R.; BRACCINI, A.L.; SCAPIM, C.A.; FAGLIARI, J.R.; SANTOS, J.L. Influência do estresse hídrico simulado com manitol na germinação de sementes e crescimento de plântulas de canola. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, n.1, p.98-106, 2007.

BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide Dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, v.44, p.276-287, 1971.

BEWLEY, J.D.; BRADFORD, K.J.; HILHORST, H.W.M.; NONOGAKI, H. **Seeds: physiology of development, germination and dormancy**. Springer. Third Edition, 2013. 392p.

BOWLER, C.; MONTAGU, M.V.; INZE, D. Superoxide dismutase and stress tolerance. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.43, p.83-116, 1992.

BRADFORD, K.J. Water relations in seed germination. In: KIGEL, J.; GALILI, G. (Ed.). **Seed development and germination**. New York: Marcel Dekker Inc., p.351-396, 1995.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes / **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399 p.

BRAY, E.A. Plant responses to water deficit. **Trends in Plant Science**, v.2, n.2, p.48-54, 1997.

BROUWER, C.; GOFFEAU, A.; HEIBLOEM, M. Irrigation water management: training manual, N.1 – Introduction to irrigation. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, Rome, Italy, 1985. Disponível em <<http://www.fao.org/docrep/R4082E/R4082E00.htm>>. Acesso em 10/01/2015.

- CARNEIRO, M.M.L.C.; DEUNER, S.; OLIVEIRA, P.V.; TEIXEIRA, S.B.; SOUSA, C.P.; BACARIN, M.A.; MORAES, D.M. Atividade antioxidante e viabilidade de sementes de girassol após estresse hídrico e salino. **Revista Brasileira de Sementes**, v.33, n.4, p.754-763, 2011.
- CHANCE, B.; MAEHLEY, A.C. Assay of catalases and peroxidases. **Methods in Enzymology**, v.2, p.764-775, 1995.
- DEL LONGO, O.T.; GONZÁLEZ, A.; PASTORI, G.M.; TRIPPI, V.S. Antioxidant defenses under hyperoxygenic and hyperosmotic conditions in leaves of two lines of maize with differential sensitivity to drought. **Plant and Cell Physiology**, v.34, p.1023-1028, 1993.
- DEUNER, C.; MAIA, M.S.; DEUNER, S.; ALMEIDA, A.S.; MENEGUELLO, G.E. Viabilidade e atividade antioxidante de sementes de genótipos de feijão-miúdo submetidos ao estresse salino. **Revista Brasileira de Sementes**, v.33, n.4, p.711-720, 2011.
- ESEN, A.H.S.; OZGUR, R.; UZİLDAY, B.; TANYOLAC, Z.O.; DİNC, A. The response of the xerophytic plant *Gypsophila aucheri* to salt and drought stresses: the role of the antioxidant defence system. **Turkish Journal of Botany**, v.36, p.697–706, 2012.
- FANTI, S.C.; GUALTIERE, S.C.J.; PEREZ, A. Processo germinativo de sementes de paineira sob estresse hídrico e salino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.903-909, 2004.
- FAO. **Crops and drops: making the best use of water for agriculture**. Roma, 2002. 22p. Disponível em <<http://www.fao.org/docrep/005/y3918e/y3918e00.htm>>.
- FEROLDI, M.; CREMONEZ, P.A.; FEIDEN, A.; ROSSI, E.; NADALETI, W.C.; ANTONELLI, J. Cultivo do crambe: potencial para produção de biodiesel. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v.2, p.11-22, 2012.

- FERREIRA, E.G.B.S.; MATOS, V.P.; SENA, L.H.M; OLIVEIRA, R.G.; SALES, A.G.F.A. Processo germinativo e vigor de sementes de *Cedrela odorata* L. sob estresse salino. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.23, n.1, p.99-105, 2013.
- FOWLER, J.L. Interaction of salinity and temperature on the germination of Crambe. **Agronomy Journal**, v.83, n.1, p.169-172, 1991.
- GASTALDI, G.; CAPRETTI, G.; FOCHER, B.; COSENTINO, C. Characterization and proprieties of cellulose isolated from the *Crambe abyssinica* hull. **Industrial Crops and Products**, v.8, p.205–218, 1998.
- GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Superoxide dismutases. **Plant Physiology**, v.59, p.309-314, 1977.
- GONÇALVES JR., C.G.; RUBIO, F.; MENEGHEL, A.P.; COELHO, G.F.; DRAGUNSKI, D.C.; STREY, L. The use of *Crambe abyssinica* seeds as adsorbent in the removal of metals from waters. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, v.17, p.306-311, 2013.
- GUPTA, B.; HUANG, B. Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization. **International Journal of Genomics**, v.2014, Article ID 701596, 18 pages, 2014.
- HADAS, A. Water uptake and germination of leguminous seeds under changing external water potencial in osmotic solution. **Journal Express Botany**, v.27, p. 480-489, 1976.
- HAMPTON, J.G.; TEKRONY, D.M. International Seed Testing Association-Ista. **Handbook of Vigour Test Methods**. Third Edition., 1995. 117p.

- HARTER, L.S.H.; HARTER, F.S.; DEUNER, C.; MENEGHELLO, G.E.; VILLELA, F.A. Salinidade e desempenho fisiológico de sementes e plântulas de mogango. **Horticultura Brasileira**, v.32, n.1, p.80-85, 2014.
- HASEGAWA, P.M.; BRESSAN, R.A. Plant cellular and molecular responses to high salinity. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 51, p.463-499, 2000.
- HAVIR, E.A.; MCHALE, N.A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiology**, v.84, p.450-455, 1987.
- KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant Physiology**, v.57, p.315-319, 1976.
- KUSVURAN, S.; ELLIALTIOGLU, S.; YASAR, F.; ABAK, K. Antioxidative enzyme activities in the leaves and callus tissues of salt-tolerant and salt-susceptible melon varieties under salinity. **African Journal of Biotechnology**, v.11, n.3, p. 635-641, 2012.
- LAZZERI, L.; MATTEI, F.; BUCELLI, F.; PALMIERI, S. Crambe oil - a potential new hydraulic oil and quenchant. **Industrial Lubrication and Tribology**, Amsterdam, v.49, n.2, p.71-77, 1997.
- LEVITT, J. **Responses of plants to environmental stress**. New York: Academic Press, 1972. 697p.
- LOPES, J.C.; MACEDO, C.M.P. Germinação de sementes de couve chinesa sob influencia do teor de água, substrato e estresse salino. **Revista Brasileira de Sementes**, v.30, n.3, p.79-85, 2008.
- LOPES, K.P.; NASCIMENTO, M.G.R.; BARBOSA, R.C.A; COSTA, C.C. Salinidade na qualidade fisiológica em sementes de *Brassicas oleracea* L.

- var. *itálica*. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.35, n.5, p.2251-2260, 2014.
- MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, n.1, p.176-177, 1962.
- MAHAJAN, S.; TUTEJA, N. Cold, salinity and drought stresses: An overview. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.444, p.139-158, 2005.
- MAIA, J.M.; FERREIRA-SILVA, S.L.; VOIGT, E.L.; MACÊDO, C.E.C.; PONTE, L.F.A.; SILVEIRA, J.A.G. Atividade de enzimas antioxidantes e inibição do crescimento radicular de feijão caupi sob diferentes níveis de salinidade. **Acta Botanica Brasilica**, v.26, p.342-349, 2012.
- MASSETO, T.E.; QUADROS, J.B.; RIBEIRO, D.M.; REZENDE, R.K.S.; SCALON, S.P.Q. Potencial hídrico do substrato e teor de água das sementes na germinação do crambe. **Revista Brasileira de Sementes**, v.33, n.3, p.511-519, 2011.
- MENDONÇA, B.P.C. **Coproduto do crambe na alimentação de bovinos**. 2012. 58f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 2012.
- MISHRA, P.; KUMARI, B.; DUBEY, R.S. Differential responses of antioxidative defense system to prolonged salinity stress in salt-tolerant and salt-sensitive Indica rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. **Protoplasma**, v.250, p.3-19, 2013.
- MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v.7, n.9, p.405-410, 2002.
- MITTLER, R.; VANDERAUWERA, S.; GOLLERY, M.; BREUSEGEM, F.V. Reactive oxygen gene network of plants. **Trends Plant Science**, v.9, n.10, p.490-498, 2004.

- MORAES, G.A.F.; MENEZES, N.L. Desempenho de sementes de soja sob condições diferentes de potencial osmótico. **Ciência Rural**, v.33, n.2, p.219-226, 2003.
- MORAES, G.A.F.; 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.
- MORGAN, J.M. Osmoregulation and water stress in higher plants. **Annual Review Plant Physiology**, v.35, p.299-319, 1984.
- MOURA, L.M.F.; COSTA, A.C.; MEGGUER, C.A.; CAMPOS, G.W.B.; ALVES, R.R.P. Potencial hídrico e conteúdo relativo de água em plantas de crambe submetidas a déficit hídrico. Congresso Brasileiro de Mamona, 5; Simpósio Internacional de Oleaginosas Energéticas, 2 & Fórum Capixaba de Pinhão Manso, 2012, Guarapari. Desafios e Oportunidades: **Anais...** Campina Grande: Embrapa Algodão, 2012. p.173.
- OLIVEIRA, A.B.; GOMES-FILHO, E.; ENÉIAS-FILHO, J. O problema da salinidade na agricultura e as adaptações das plantas ao estresse salino. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v.6, n.11, 2010.
- OSAKABE, Y.; OSAKABE, K.; SHINOZAKI, K.; TRAN, L.S.P. Response of plants to water stress. **Frontier in Plant Science**, v.5, n.86, 2014.
- PEIXOTO, P.H.P.; CAMBRAIA, J.; SANT'ANA, R.; MOSQUIM, P.R.; MOREIRA, M.A. Aluminum effects on lipid peroxidation and on activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.11, p.137-143, 1999.
- PELEGRINI, L.L.; BORCIONI, E.; NOGUEIRA, A.C.; KOEHLER, H.S.; QUOIRIN, M.G.G. Efeito do estresse hídrico simulado com NaCl, manitol

- e PEG (6000) na germinação de sementes de *Erythrina falcata* Benth. **Ciência Florestal**, v.23, n.2, p.513-521, 2013.
- PITOL, C.; BROCH, L.D.; ROSCOE, R. **Tecnologia e produção**: Crambe 2010. Fundação MS, 2010.
- POLLE, A. Dissecting the superoxide dismutase–ascorbate peroxidase–glutathione pathway in chloroplasts by metabolic modeling. Computer simulations as a step towards flux analysis. **Plant Physiology**, v.126, n.1, p.445-462, 2001.
- RAUSER, W.E.; HANSON, J.B. The metabolic status of ribonucleic acid in soybean roots exposed to saline media. **Canadian Journal of Botany**, v.44, p.759-776, 1966.
- REDDY, A.R.; CHAITANYA, K.V.; VIVEKANANDAN, M. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. **Journal of Plant Physiology**, v.161, p.1189–1202, 2004.
- REGO, S.S.; FERREIRA, M.M.; NOGUEIRA, A.C.; GROSSI, F.; SOUSA, R.K.; BRONDANI, G.E.; ARAUJO, M.A.; SILVA, A.L.L. Estresse hídrico e salino na germinação de sementes de *Anadenanthera colubrina* (Veloso) Brenan. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v.2, n.4, p.37-42, 2011.
- RIVERO, R.M.; MESTRE, T.C.; MITTLER, R.; RUBIO, F.; GARCIA-SANCHEZ, F.; MARTINEZ, V. The combined effect of salinity and heat reveals a specific physiological, biochemical and molecular response in tomato plants. **Plant, Cell and Environment**, v.37, p.1059–1073, 2014.
- RUAS, R.A.A.; NASCIMENTO, G.B.; BERGAMO, E.P.; DAUR JÚNIOR, R.H.; ARRUDA, R.G. Embebição de sementes de crambe (*Crambe abyssinica*). **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.40, p.61-65, 2010.

SALISBURY, F.B.; ROSS, C.W. **Plant physiology**. Forth edition. Belmont: Wadworth, 1991. 682p.

SANTOS, A.; SCALON, S.P.Q.; MASETTO, T.E.; NUNES, D.P. Disponibilidades hídricas do substrato na qualidade fisiológica de sementes de canola com diferentes teores de água. **Agrarian**, v.5, n.18, p.356-364, 2012.

SGUAREZI, C.N.; BRACCINI, A.L.; SCAPIM, C.A.; BRACCINI, M.C.L.; DALPASQUALE, V.A. Avaliação de tratamentos pré germinativos para melhorar o desempenho de sementes de café. **Revista Brasileira de Sementes**, v.23, n.2, p.152-161, 2001.

SIEGAL, S.M.; CHEN, J.; KOTTENMEIER, W.; CLARK, K.; SIEGEL, B.Z.; CHANG, H. Reduction in peroxidase in *Cucumis*, Brassica and other seedlings cultured in saline waters, **Phytochemistry**, v.21, p.539–542, 1982.

SPADETO, C.; LOPES, J.C.; MENGARDA, L.H.G.; MATHEUS, M.T.; BERNARDES, P.M. Estresse salino e hídrico na germinação de sementes de garapa (*Apuleia leiocarpa* (VOGEL.) J. F. Macbr.). **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, v.8, n.14; p.539-551, 2012.

STEVENS, H.C.; CALVAN, M.; LEE, K.; SIEGEL, B.Z. Peroxidase activity as a screening parameter for salt stress in *Brassica* species, **Phytochemistry**, v.17, p.1521–1525, 1978.

TAYLOR, A.G.; HARMAN, G.E. Concepts and technologies of selected seed treatments. **Annual Review Phytopathology**, v.28, p.321-339, 1990.

TEIXEIRA, R.N.; TOLEDO, M.Z.; FERREIRA, G.; CAVARIANI, C.; JASPER, S.P. Germinação e vigor de sementes de crambe sob estresse hídrico. **Irriga**, v.16, n.1, p.42-51, 2011.

VILLELA, F.A.; DONI FILHO, L.; SEQUEIRA, E.L. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietileno glicol 6000 e da temperatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.26, n.11/12, p.1957-1968, 1991.

WEISS, E. A. **Oilseed Crops**, Tropical Agriculture Series. Longman, New York, 1983. 660p.

WILLEKENS, H.; INZÉ, D.; MONTAGU, M.V.; CAMP, W.V. Catalases in plants. **Molecular Breeding**, v.1, p.207-228, 1995.

ZHU, J.K. Plant salt tolerance. **Trends in Plant Science**, v.6, n.2, p.66-71, 2001.

ANEXO

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

GERMINAÇÃO

FV	GL	SQ	QM	F	p>F
Solução	1	9796.9	9796.9000	2696.3945	<0.001
P. osmótico	4	26923.0	6730.7500	1852.5	<0.001
Solução:P.osmótico	4	4272.6	1068.1500	293.9862	<0.001
Residuals	30	109.0	3.6333	-	-

PRIMEIRA CONTAGEM DE GERMINAÇÃO

FV	GL	SQ	QM	F	p>F
Solução	1	9302.5	9302.5000	3135.6742	<0.001
P. osmótico	4	14989.4	3747.3500	1263.1517	<0.001
Solução:P.osmótico	4	4285.0	1071.2500	361.0955	<0.001
Residuals	30	89.0	2.9667	-	-

EMERGÊNCIA

FV	GL	SQ	QM	F	p>F
Solução	1	10627.6	10627.6000	1503.9057	<0.001
P. osmótico	4	25878.6	6469.6500	915.5165	<0.001
Solução:P. osmótico	4	5235.4	1308.8500	185.2146	<0.001
Residuals	30	212.0	7.0667	-	-

ÍNDICE DE VELOCIDADE DE EMERGÊNCIA

FV	GL	SQ	QM	F	p>F
Solução	1	236.6822	236.6822	748.5523	<0.001
P. osmótico	4	491.0908	122.7727	388.2918	<0.001
Solução:P. osmótico	4	74.6440	18.6610	59.0189	<0.001
Residuals	30	9.4856	0.3162	-	-

COMPRIMENTO DE RAIZ

FV	GL	SQ	QM	F	p>F
Solução	1	747.7969	747.7969	39.8063	<0.001
P. osmótico	4	3557.6846	889.4211	47.3452	<0.001
Solução:P. osmótico	4	452.5503	113.1376	6.0225	0.0011
Residuals	30	563.5767	18.7859	-	-

COMPRIMENTO DE HIPOCÓTILO

FV	GL	SQ	QM	F	p>F
Solução	1	2680.8168	2680.8168	70.1046	<0.001
P. osmótico	4	2866.3545	716.5886	18.7391	<0.001
Solução:P. osmótico	4	935.4577	233.8644	6.1157	0.001
Residuals	30	1147.2073	38.2402	-	-

MATÉRIA FRESCA

FV	GL	SQ	QM	F	p>F
Solução	1	12004.1461	12004.1461	2813.452	<0.001
P. osmótico	4	8688.7803	2172.1951	509.1046	<0.001
Solução:P. osmótico	4	3117.3433	779.3358	182.6555	<0.001
Residuals	30	128.0009	4.2667	-	-

MATÉRIA SECA

FV	GL	SQ	QM	F	p>F
Solução	1	11.2042	11.2042	100.5788	<0.001
P. osmótico	4	43.1994	10.7998	96.9487	<0.001

Solução:P. osmótico	4	43.1875	10.7969	96.9221	<0.001
Residuals	30	3.3419	0.1114	-	-

TEOR DE ÁGUA

FV	GL	SQ	QM	F	p>F
factor_1	1	6426.225	6426.2250	10563.6575	<0.001
factor_2	4	12515.100	3128.7750	5143.1918	<0.001
factor_1:factor_2	4	10024.400	2506.1000	4119.6164	<0.001
Residuals	30	18.250	0.6083	-	-

SUPERÓXIDO DISMUTASE

FV	GL	SQ	QM	F	p>F
Solução	1	179.8184	179.8184	254.2348	<0.001
P. osmótico	4	294.0605	73.5151	103.9388	<0.001
Solução:P. osmótico	4	71.7875	17.9469	25.374	<0.001
Residuals	30	21.2188	0.7073	-	-

CATALASE

FV	GL	SQ	QM	F	p>F
Solução	1	2391.044	2391.044	14.0005	<0.001
P. osmótico	4	9630.334	2407.584	14.0973	<0.001
Solução:P. osmótico	4	8826.474	2206.618	12.9206	<0.001
Residuals	30	5123.491	170.783	-	-

PEROXIDASE

FV	GL	SQ	QM	F	p>F
Solução	1	719.7826	719.7826	329.5806	<0.001
P. osmótico	4	876.8712	219.2178	100.3774	<0.001
Solução:P. osmótico	4	227.7905	56.9476	26.0757	<0.001
Residuals	30	65.5180	2.1839	-	-