



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA  
DOUTORADO EM FITOTECNIA

MARIA LILIA DE SOUZA NETA

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE CULTIVARES DE  
PEPINO SOB A AÇÃO DE ATENUADORES DE ESTRESSES ABIÓTICOS**

MOSSORÓ

2021

MARIA LILIA DE SOUZA NETA

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE CULTIVARES DE  
PEPINO SOB A AÇÃO DE ATENUADORES DE ESTRESSES ABIÓTICOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Doutora em Fitotecnia.

Linha de Pesquisa: Tecnologia de Sementes

Orientador: Prof. Dr. Salvador Barros Torres

Coorientadora: Dra. Emanoela Pereira de Paiva

Coorientadora: Dra. Marciana Bizerra de Moraes

MOSSORÓ

2021

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

S719r Souza Neta, Maria Lilia de.  
Respostas fisiológicas e bioquímicas de  
cultivares de pepino sob a ação de atenuadores de  
estresses abióticos / Maria Lilia de Souza Neta. -  
2021.  
99 f. : il.

Orientador: Salvador Barros Torres.  
Coorientadora: Emanoela Pereira de Paiva.  
Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural  
do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em  
Fitotecnia, 2021.

1. Cucumis sativus L. 2. Estresse hídrico. 3.  
Estresse salino. 4. Tolerância. 5. Mitigação de  
estresse . I. Torres, Salvador Barros, orient.  
II. Paiva, Emanoela Pereira de, co-orient. III.  
Título.

Ficha catalográfica elaborada por sistema gerador automático em conformidade  
com AACR2 e os dados fornecidos pelo) autor(a).  
Biblioteca Campus Mossoró / Setor de Informação e Referência  
Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva  
CRB: 15/120

MARIA LILIA DE SOUZA NETA

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE CULTIVARES DE  
PEPINO SOB A AÇÃO DE ATENUADORES DE ESTRESSES ABIÓTICOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Doutora em Agronomia: Fitotecnia.

Linha de Pesquisa: Tecnologia de Sementes

Defendida em: 31/08/2021

**BANCA EXAMINADORA**



Prof. Dr. Salvador Barros Torres  
Presidente



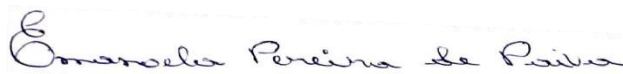
Dra. Marciana Bizerra de Moraes  
Membro Examinador



Prof. Dr. Francisco de Assis de Oliveira  
Membro Examinador



Profa. Dra. Clarisse Pereira Benedito  
Membro Examinador



Dra. Emanoela Pereira de Paiva  
Membro Examinador

Aos meus pais, Raimundo Vieira e Rita Monteiro, por todos os ensinamentos de vida repassados e por me ensinarem a agradecer sempre a Deus por todas as bênçãos alcançadas. Aos meus irmãos: Cosme e Damiana, e sobrinhos José Elias e Enzo, fica aqui minha gratidão e o amor que sinto por vocês!

***DEDICO***

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e por toda proteção; por ter me dado coragem e perseverança, permitindo mais essa conquista na minha vida.

Aos meus pais, Raimundo Vieira de Souza e Rita Monteiro de Freitas, por todo amor, dedicação e apoio, me fazendo acreditar que tudo é possível. Hoje mais do que nunca sei que sem o apoio incondicional de vocês eu não teria conseguido chegar até aqui.

À Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), pela oportunidade de cursar graduação e pós-graduação, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia (UFERSA), pela oportunidade e por toda estrutura disponibilizada.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo, possibilitando o desenvolvimento da pesquisa.

Ao meu orientador, professor D. Sc. Salvador Barros Torres, pela disponibilidade e ensinamentos repassados.

As minhas coorientadoras, D. Sc. Emanoela Pereira de Paiva, pela amizade, paciência e ajuda durante a realização deste trabalho. Que nossa amizade só se fortaleça ao longo dos anos. E, D. Sc. Marciana Bizerra de Moraes pela disponibilidade e todo conhecimento repassado.

À empresa Sakata Seed Sudamerica por ter disponibilizado as sementes utilizadas nesta pesquisa.

Aos professores das bancas examinadoras de qualificação e defesa de tese: Cynthia Cavalcanti de Albuquerque, Givanildo Zildo da Silva, Lisiane Lucena Bezerra, Francisco de Assis de Oliveira, Clarisse Pereira Benedito, por terem aceitado o convite para participar e contribuir com este trabalho.

À equipe do Laboratório de Fisiologia e Bioquímica de Plantas, da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte (UERN), Mossoró, RN, em especial a Profa. Cynthia Cavalcanti e Marciana Bizerra, por toda ajuda necessária nas análises enzimáticas.

À equipe do Centro de Pesquisas em Ciências Vegetais do Semi-Árido (CPVSA), em especial aos professores Jefferson Dombroski e Ioná Araujo, e as técnicas Juliana Maria e Naama Melo do Centro de Ciências Agrárias/UFERSA, pela disponibilidade dos equipamentos para as análises bioquímicas.

A toda a equipe do Laboratório de Análises de Sementes (LAS), em especial a Moadir Leite, Kleane Targino, Sara Monaliza, Roseane Rodrigues, Giovana Sousa,

Tatianne Raianne, Bruno Guirra, Eduardo Silva, Simara Melo, Washington Brito e Ana Alessandra pela ajuda e companheirismo desenvolvido durante a realização das análises.

Aos meus irmãos Cosmo Freitas e Damiana Freitas por todo o carinho e incentivo. Essa conquista é de vocês. Aos meus sobrinhos/afilhados: José Elias e Enzo, que são bençãos de Deus em nossas vidas e por todas as alegrias que já nos proporcionaram.

A toda minha família, em especial a minha cunhada Neurisia Sousa, meus tios, Francisco Vieira e Fátima Freitas, e meus primos: Marta Freitas, Maria da Paz, Sousa Júnior, Marcelo Freitas, Maciel Freitas, Maciana Freitas, e Dilma Monteiro. Obrigada pelo apoio.

Aos amigos Adailha Torres, Uilma Laurentino, Sandy Thomaz e Dennis Darkyan pelos momentos compartilhados.

À todos que acompanharam este percurso, dando-me forças e torcendo por mim.

Minha eterna gratidão!

Tudo tem seu tempo determinado, e há tempo para todo o propósito debaixo do céu.  
(Eclesiastes 3:1)



## RESUMO

O pepineiro (*Cucumis sativus* L.), pertencente à família das cucurbitáceas, é originário da região tropical da Índia e que se adaptou perfeitamente às condições climáticas do Brasil. Seu cultivo apresenta limitações para a produção em razão das condições edafoclimáticas desfavoráveis, pois os estresses ambientais são considerados fatores limitantes durante a germinação e estabelecimento das plantas em campo. Com isso, objetivou-se avaliar a tolerância e a ação de atenuadores de estresse em cultivares de pepino submetidas aos estresses hídrico e salino durante a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas. A pesquisa foi realizada em dois experimentos com duas etapas cada. A primeira etapa do experimento I foi realizada em esquema fatorial 5 x 7, sendo cinco níveis de potencial osmótico (0; -0,1; -0,2; -0,3 e -0,4 MPa simulados pelo polietilenoglicol - PEG 6000) e sete cultivares de pepino (Safira, Prêmio, Compadre, Campeiro, Runner, Diplomata e Sliced Max). Na segunda etapa, os tratamentos foram arranjados em esquema fatorial 2 x 6, sendo duas cultivares (uma sensível e outra tolerante, determinadas na etapa I) submetidas a diferentes combinações de potencial osmótico e pré-tratamento de sementes: T1 = 0,0 MPa (controle), T2 = -0,4 MPa (estresse hídrico), T3 = -0,4 MPa + hidrocondicionamento, T4 = -0,4 MPa + ácido giberélico, T5 = -0,4 MPa + ácido salicílico e T6 = -0,4 MPa + peróxido de hidrogênio. No segundo experimento, a primeira etapa foi realizada em esquema fatorial 5 x 7, cinco níveis de potencial osmótico (0; -0,2; -0,4; -0,6 e -0,8 MPa simulados pelo cloreto de sódio (NaCl) e sete cultivares de pepino (Safira, Prêmio, Compadre, Campeiro, Runner, Diplomata e Sliced Max). Na segunda etapa, os tratamentos foram arranjados em esquema fatorial 2 x 6 sendo duas cultivares (uma sensível e outra tolerante, determinadas na etapa I) e o segundo fator correspondente a combinação do potencial osmótico e pré-tratamento de sementes (T1 = 0,0 MPa (controle), T2 = -0,8 MPa (estresse hídrico), T3 = -0,8 MPa + hidrocondicionamento, T4 = -0,8 MPa + ácido giberélico, T5 = -0,8 MPa + ácido salicílico e T6 = -0,8 MPa + peróxido de hidrogênio). Em ambas as etapas o delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado e tiveram quatro repetições, compostas por 50 sementes cada. Nos dois experimentos para a primeira etapa foram avaliadas as seguintes variáveis: germinação, índice de velocidade de germinação, comprimento e massa seca de plântulas, açúcares solúveis totais e aminoácidos livres totais. Enquanto, na segunda etapa, acrescentou-se a relação raiz/parte aérea, peroxidação lipídica (conteúdo de malondialdeído - MDA e de peróxido de hidrogênio), e ação do sistema de defesa antioxidativo mediante a atividade da superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX). Quanto ao experimento I, a germinação das cultivares de pepino Safira, Prêmio, Compadre, Campeiro, Runner, Diplomata e Sliced Max não foi afetada até o potencial osmótico de -0,4 MPa. Potencial osmótico de -0,4 MPa é crítico para as características fisiológicas das cultivares de pepino. As cultivares Compadre e Diplomata são apontadas como sensível e tolerante ao estresse hídrico ao nível de -0,4 MPa, respectivamente. Os tratamentos pré-germinativos de sementes por meio de hidrocondicionamento, ácido giberélico, ácido salicílico e peróxido de hidrogênio são eficientes para mitigar o efeito do estresse hídrico sob a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de pepino. O emprego das substâncias atenuadoras provoca aumento da atividade das enzimas antioxidantes na cultivar Compadre, com consequente redução dos conteúdos de malondialdeído e peroxidação lipídica; enquanto para a cultivar Diplomata não há resposta a essa atividade enzimática. Quanto ao experimento II, a germinação das cultivares de pepino Safira, Prêmio, Compadre, Campeiro, Runner, Diplomata e Sliced Max não foi afetada até o potencial osmótico de -0,8 MPa. Potencial osmótico de -0,8 MPa é crítico para as características fisiológicas das cultivares de pepino. As cultivares Runner e Diplomata

são apontadas como sensível e tolerante ao estresse salino ao nível de -0,8 MPa, respectivamente. Os tratamentos pré-germinativos de sementes por meio de hidrocondicionamento, ácido giberélico, ácido salicílico e peróxido de hidrogênio são eficientes para mitigar o efeito do estresse salino sob a germinação e crescimento inicial de plântulas de pepino. O emprego das substâncias atenuadoras provocou reduções no conteúdo de malondialdeído apenas na cultivar Runner. Não houve um comportamento em conjunto para a atividade das enzimas, superóxido dismutase, catalase e ascorbato peroxidase para nenhuma das cultivares.

**Palavras-chave:** *Cucumis sativus* L., Estresse hídrico, Estresse salino, Tolerância, Mitigação de estresse

## ABSTRACT

The cucumber (*Cucumis sativus* L.), belonging to the Cucurbitaceae family, is originally from the tropical region of India and has adapted perfectly to the climatic conditions of Brazil. Its cultivation has limitations for production due to unfavorable edaphoclimatic conditions, as environmental stresses are considered limiting factors during germination and establishment of plants in the field. With this, the objective was to evaluate the tolerance and the action of stress attenuators in cucumber cultivars subjected to water and salt stress during germination and initial seedling development. The research was carried out in two experiments with two stages each. The first stage of experiment I was carried out in a 5 x 7 factorial scheme, with five levels of osmotic potential (0; -0.1; -0.2; -0.3 and -0.4 MPa simulated by polyethylene glycol - PEG 6000) and seven cucumber cultivars (Sapphire, Premium, Compadre, Campeiro, Runner, Diplomata and Sliced Max). In the second step, the treatments were arranged in a 2 x 6 factorial scheme, with two cultivars (one sensitive and one tolerant, determined in step I) subjected to different combinations of osmotic potential and seed pre-treatment: T1 = 0.0 MPa (control), T2 = -0.4 MPa (water stress), T3 = -0.4 MPa + hydroconditioning, T4 = -0.4 MPa + gibberellic acid, T5 = -0.4 MPa + salicylic acid and T6 = -0.4 MPa + hydrogen peroxide. In the second experiment, the first step was carried out in a 5 x 7 factorial scheme, five levels of osmotic potential (0; -0.2; -0.4; -0.6 and -0.8 MPa simulated by sodium chloride (NaCl) and seven cucumber cultivars (Sapphire, Prêmio, Compadre, Campeiro, Runner, Diplomata and Sliced Max). step I) and the second factor corresponding to the combination of osmotic potential and seed pre-treatment (T1 = 0.0 MPa (control), T2 = -0.8 MPa (water stress), T3 = -0.8 MPa + hydroconditioning, T4 = -0.8 MPa + gibberellic acid, T5 = -0.8 MPa + salicylic acid and T6 = -0.8 MPa + hydrogen peroxide). four replications, consisting of 50 seeds each. In the two experiments for the first stage, the following variables were evaluated: germination, speed index of germination, length and dry mass of seedlings, total soluble sugars and total free amino acids. While, in the second stage, the root/shoot ratio, lipid peroxidation (malondialdehyde - MDA and hydrogen peroxide content) and the action of the antioxidative defense system through the activity of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX). As for experiment I, the germination of cucumber cultivars Safira, Premio, Compadre, Campeiro, Runner, Diplomata and Sliced Max was not affected up to the osmotic potential of -0.4 MPa. Osmotic potential of -0.4 MPa is critical for the physiological characteristics of cucumber cultivars. Cultivars Compadre and Diplomata are identified as sensitive and tolerant to water stress at the level of -0.4 MPa, respectively. Pre-germinative seed treatments through hydroconditioning, gibberellic acid, salicylic acid and hydrogen peroxide are efficient to mitigate the effect of water stress on germination and initial development of cucumber seedlings. The use of attenuating substances causes an increase in the activity of antioxidant enzymes in the cultivar Compadre, with a consequent reduction in the contents of malondialdehyde and lipid peroxidation; while for the Diplomata cultivar there is no response to this enzymatic activity. As for experiment II, the germination of cucumber cultivars Safira, Premio, Compadre, Campeiro, Runner, Diplomata and Sliced Max was not affected up to the osmotic potential of -0.8 MPa. Osmotic potential of -0.8 MPa is critical for the physiological characteristics of cucumber cultivars. The Runner and Diplomata cultivars are identified as sensitive and tolerant to salt stress at the level of -0.8 MPa, respectively. Pre-germinative seed treatments through hydroconditioning, gibberellic acid, salicylic acid and hydrogen peroxide are efficient to mitigate the effect of salt stress on germination and initial growth of cucumber seedlings. The use of attenuating substances caused

reductions in the malondialdehyde content only in the Runner cultivar. There was no joint behavior for the activity of enzymes, superoxide dismutase, catalase and ascorbate peroxidase for any of the cultivars.

Keywords: *Cucumis sativus* L., Water stress, Salt stress, Tolerance, Stress mitigation

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 2

- Figura 1** – Germinação (A) e índice de velocidade de germinação - IVG (B) de cultivares de pepino (*Cucumis sativus* L.), submetidas a diferentes potenciais osmóticos induzidos por PEG 6000.....39
- Figura 2** – Comprimento de plântula - CP (A) e massa seca de plântulas - MSP (B e C) de cultivares de pepino (*Cucumis sativus* L.), submetidas a diferentes potenciais osmóticos induzidos por PEG6000.....41
- Figura 3** – Açúcares solúveis totais (A) e teores de aminoácidos livres totais (B), de plântulas de cultivares de pepino (*Cucumis sativus* L.), submetidas a diferentes potenciais osmóticos induzidos por PEG 6000.....43
- Figura 4** – Dendrograma de dissimilaridade dos grupos formados pela combinação de níveis de potencial osmótico (N) e cultivares (C) de pepino C1 = Safira; C2 = Prêmio; C3 = Compadre; C4 = Campeiro; C5 = Runner; C6 = Diplomata e C7 = Sliced Max.....44
- Figura 5** Germinação de cultivares de pepino (*Cucumis sativus* L.) submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos e estresse hídrico. T1: Controle (H<sub>2</sub>O); T2: sementes sob estresse (-0,4 MPa) e sem atenuadores; T3: estresse salino (-0,4 MPa) + hidrocondicionamento; T4: estresse hídrico (-0,4 MPa) + ácido giberélico; T5: estresse hídrico (-0,4 MPa)+ ácido salicílico; T6: estresse hídrico (-0,4 MPa)+ peróxido de hidrogênio.....46
- Figura 6** Índice de velocidade de germinação – IVG (A e B) de cultivares de pepino (*Cucumis sativus* L.) submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos e estresse hídrico. T1: Controle (H<sub>2</sub>O); T2: sementes sob estresse (-0.4 MPa) e sem atenuadores; T3: estresse hídrico (-0.4 MPa) + hidrocondicionamento; T4: estresse hídrico (-0.4 MPa) + ácido giberélico; T5: estresse hídrico (-0.4 MPa) + ácido salicílico; T6: estresse hídrico (-0.4 MPa) + peróxido de hidrogênio (PH).....47
- Figura 7** Comprimento de plântulas – CP (A) e massa seca total – MST (B) e relação raiz/parte aérea – RRPA (C) de cultivares de pepino (*Cucumis sativus* L.) submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos e estresse hídrico. T1: Controle (H<sub>2</sub>O); T2: sementes sob estresse (-0.4 MPa) e sem atenuadores; T3: estresse hídrico (-0.4 MPa) + hidrocondicionamento; T4: estresse hídrico (-0.4 MPa) + ácido giberélico; T5: estresse hídrico (-0.4 MPa) + ácido salicílico; T6: estresse hídrico (-0.4 MPa) + peróxido de hidrogênio (PH).....49
- Figura 8** Teores de açúcares solúveis totais - AST (A) e aminoácidos livres totais - AALT (B) de cultivares de pepino (*Cucumis sativus* L.) submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos e estresse hídrico. T1: Controle (H<sub>2</sub>O); T2: sementes sob estresse (-0.4 MPa) e sem atenuadores; T3: estresse hídrico (-0.4 MPa) + hidrocondicionamento; T4: estresse hídrico (-0.4 MPa) + ácido giberélico; T5: estresse hídrico (-0.4 MPa) + ácido salicílico; T6: estresse hídrico (-0.4 MPa) + peróxido de hidrogênio (PH).....51
- Figura 9** Peroxidação lipídica expressa pelo teor de malondialdeído (A) e Peróxido de hidrogênio (B) de cultivares de pepino (*Cucumis sativus* L.) submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos e estresse hídrico. T1: Controle (H<sub>2</sub>O); T2: sementes sob estresse (-0.4 MPa) e sem atenuadores; T3: estresse hídrico (-0.4 MPa) + hidrocondicionamento; T4: estresse hídrico (-0.4 MPa) + ácido giberélico; T5: estresse hídrico (-0.4 MPa) + ácido salicílico; T6: estresse hídrico (-0.4 MPa) + peróxido de hidrogênio (PH).....53

<b>Figura 10</b>	Atividade da enzima superóxido dismutase - SOD (A), Catalase - CAT (B) e ascorbato peroxidase - APX (C) de cultivares de pepino ( <i>Cucumis sativus</i> L.) submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos e estresse hídrico. T1: Controle (H <sub>2</sub> O); T2: sementes sob estresse (-0.4 MPa) e sem atenuadores; T3: estresse hídrico (-0.4 MPa) + hidrocondicionamento; T4: estresse hídrico (-0.4 MPa) + ácido giberélico; T5: estresse hídrico (-0.4 MPa) + ácido salicílico; T6: estresse hídrico (-0.4 MPa) + peróxido de hidrogênio (PH).....	55
------------------	---	----

### CAPÍTULO 3

<b>Figura 1</b>	– Germinação (A) e índice de velocidade de germinação - IVG (B) de cultivares de pepino ( <i>Cucumis sativus</i> L.), submetidas a diferentes potenciais osmóticos induzidos por NaCl.....	74
<b>Figura 2</b>	– Comprimento de plântula - CP (A) e massa seca de plântulas - MSP (B e C) de cultivares de pepino ( <i>Cucumis sativus</i> L.), submetidas a diferentes potenciais osmóticos induzidos por NaCl.....	76
<b>Figura 3</b>	– Açúcares solúveis totais- AST (A) e teores de aminoácidos livres totais- AALT (B), de plântulas de cultivares de pepino ( <i>Cucumis sativus</i> L.), submetidas a diferentes potenciais osmóticos induzidos por NaCl.....	78
<b>Figura 4</b>	Dendrograma de dissimilaridade dos grupos formados pela combinação de níveis de potencial osmótico (N) e cultivares (C) de pepino C1 = Safira; C2 = Prêmio; C3 = Compadre; C4 = Campeiro; C5 = Runner; C6 = Diplomata e C7 = Sliced Max.....	79
<b>Figura 5</b>	– Germinação de cultivares de pepino ( <i>Cucumis sativus</i> L.) submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos e estresse salino. T1: Controle (H <sub>2</sub> O); T2: sementes sob estresse (-0,8 MPa) e sem atenuadores; T3: estresse salino (-0,8 MPa) + hidrocondicionamento; T4: estresse salino (-0,8 MPa) + ácido giberélico; T5: estresse salino (-0,8 MPa)+ ácido salicílico; T6: estresse salino (-0,8 MPa)+ peróxido de hidrogênio.....	80
<b>Figura 6</b>	Índice de velocidade de germinação – (IVG) de cultivares de pepino ( <i>Cucumis sativus</i> L.) submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos e estresse salino. T1: Controle (H <sub>2</sub> O); T2: sementes sob estresse (-0,8 MPa) e sem atenuadores; T3: estresse salino (-0,8 MPa) + hidrocondicionamento; T4: estresse salino (-0,8 MPa) + ácido giberélico; T5: estresse salino (-0,8 MPa)+ ácido salicílico; T6: estresse salino (-0,8 MPa)+ peróxido de hidrogênio.....	82
<b>Figura 7</b>	Comprimento de plântulas – CP (A e B) de cultivares de pepino ( <i>Cucumis sativus</i> L.) submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos e estresse salino. T1: Controle (H <sub>2</sub> O); T2: sementes sob estresse (-0,8 MPa) e sem atenuadores; T3: estresse salino (-0,8 MPa) + hidrocondicionamento; T4: estresse salino (-0,8 MPa) + ácido giberélico; T5: estresse salino (-0,8 MPa)+ ácido salicílico; T6: estresse salino (-0,8 MPa)+ peróxido de hidrogênio.....	83
<b>Figura 8</b>	Massa seca total – MST (A) e relação raiz/parte aérea – RRPA (B) de cultivares de pepino ( <i>Cucumis sativus</i> L.) submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos e estresse salino. T1: Controle (H <sub>2</sub> O); T2: sementes sob estresse (-0,8 MPa) e sem atenuadores; T3: estresse salino (-0,8 MPa) + hidrocondicionamento; T4: estresse salino (-0,8 MPa) + ácido giberélico; T5: estresse salino (-0,8 MPa)+ ácido salicílico; T6: estresse salino (-0,8 MPa)+ peróxido de hidrogênio.....	84
<b>Figura 9</b>	Teores de açúcares solúveis totais - AST (A) e aminoácidos livres totais - AALT (B) de cultivares de pepino ( <i>Cucumis sativus</i> L.) submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos e estresse salino. T1: Controle (H <sub>2</sub> O); T2: sementes	

sob estresse (-0,8 MPa) e sem atenuadores; T3: estresse salino (-0,8 MPa) + hidrocondicionamento; T4: estresse salino (-0,8 MPa) + ácido giberélico; T5: estresse salino (-0,8 MPa)+ ácido salicílico; T6: estresse salino (-0,8 MPa)+ peróxido de hidrogênio.....86

**Figura  
10**

Peroxidação lipídica expressa pelo teor de malondialdeído MDA (A) e Peróxido de hidrogênio (B) de cultivares de pepino (*Cucumis sativus* L.) submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos e estresse salino. T1: Controle (H<sub>2</sub>O); T2: sementes sob estresse (-0,8 MPa) e sem atenuadores; T3: estresse salino (-0,8 MPa) + hidrocondicionamento; T4: estresse salino (-0,8 MPa) + ácido giberélico; T5: estresse salino (-0,8 MPa)+ ácido salicílico; T6: estresse salino (-0,8 MPa)+ peróxido de hidrogênio.....87

**Figura  
11**

Atividade da enzima superóxido dismutase - SOD (A), Catalase - CAT (B) e ascorbato peroxidase - APX (C) de cultivares de pepino (*Cucumis sativus* L.) submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos e estresse salino. T1: Controle (H<sub>2</sub>O); T2: sementes sob estresse (-0,8 MPa) e sem atenuadores; T3: estresse salino (-0,8 MPa) + hidrocondicionamento; T4: estresse salino (-0,8 MPa) + ácido giberélico; T5: estresse salino (-0,8 MPa)+ ácido salicílico; T6: estresse salino (-0,8 MPa)+ peróxido de hidrogênio.....89

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO GERAL E REFERENCIAL TEÓRICO</b>	<b>16</b>
<b>1 INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>16</b>
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>19</b>
2.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS SOBRE A CULTURA DO PEPINO.....	19
2.2 ESTRESSES ABIÓTICOS .....	20
2.3 ATENUADORES DE ESTRESSES .....	22
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>25</b>
<b>CAPÍTULO 2 - ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE SEMENTES DE PEPINO (<i>Cucumis sativus</i> L.) PRÉ-TRATADAS COM ATENUADORES E SUBMETIDAS AO ESTRESSE HÍDRICO.....</b>	<b>30</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>30</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>31</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>32</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>34</b>
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>39</b>
<b>4 CONCLUSÕES.....</b>	<b>57</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>58</b>
<b>CAPÍTULO 3 - ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE SEMENTES DE PEPINO (<i>Cucumis sativus</i> L.) PRÉ-TRATADAS COM ATENUADORES E SUBMETIDAS AO ESTRESSE SALINO.....</b>	<b>64</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>64</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>65</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>66</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>68</b>
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>74</b>
<b>4 CONCLUSÕES.....</b>	<b>91</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>92</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>97</b>



## CAPÍTULO 1

### INTRODUÇÃO GERAL E REFERENCIAL TEÓRICO

#### 1. INTRODUÇÃO GERAL

O pepino (*Cucumis sativus* L.) é uma hortaliça de grande importância socioeconômica para o semiárido brasileiro. Seu cultivo vem se destacando por contribuir cada vez mais da renda dos pequenos produtores, no entanto, a falta de informações sobre o manejo adequado da cultura vem dificultando o aumento da produção (MARTINS et al., 2018).

Os estresses abióticos são responsáveis pela coletiva perda de safras em todo o mundo. Dentre esses, a escassez de água e o alto teor de sais são dois dos fatores de estresse mais destrutivos e amplos que limitam o crescimento e a progressão das plantas e, por sua vez, causam impacto negativo durante todo o ciclo da cultura (DU et al., 2020).

A fase germinativa e o crescimento inicial são consideradas as fases fenológicas mais sensíveis ao déficit hídrico, pois a água compõe a matriz necessária à maioria dos processos bioquímicos e fisiológicos (TAIZ et al., 2017). Ainda segundo esses autores, a água é responsável por ativar as vias essenciais no desenvolvimento da plântula, além do controle sobre a estrutura e propriedade das proteínas, membranas, ácidos nucleicos e de outros constituintes celulares. Desse modo, a disponibilidade e a manutenção hídrica dos tecidos da semente estão intimamente relacionadas com a germinação e o desenvolvimento de diversas espécies em diferentes regiões, ficando claro a importância de manter a disponibilidade de água em níveis satisfatórios nessas fases fenológicas (DUTRA et al., 2017).

Com relação ao estresse salino, os primeiros sinais nas plantas é a ocorrência do estresse osmótico e a toxicidade iônica (ZHU et al., 2016). O osmótico diz respeito à elevada concentração de sais na solução do solo ou qualquer outro ambiente de cultivo (NÓBREGA et al., 2018). Segundo os mesmos autores, o déficit hídrico é devido à redução do potencial osmótico, enquanto o efeito tóxico é decorrente dos elevados níveis dos íons que entram nas vias de transporte por meio da transpiração, reduzindo a absorção de elementos essenciais e causando danos morfológicos a planta. Os efeitos secundários são mais complexos, como o estresse oxidativo que provoca a disfunção metabólica e causa danos nos lipídios das membranas, proteínas e ácidos nucleicos (ZHU et al., 2016).

Para se sobressair em meio as condições adversas provocadas pelos estresses, as plantas desenvolvem sistemas sofisticados e complexos de defesa, que as auxiliam a lidar com essa situação de estresse em vários níveis, como processos moleculares, celulares, fisiológicos e de desenvolvimento. Algumas substâncias podem colaborar melhorando a eficiência de processos metabólicos ou atuando diretamente em rotas metabólicas de resposta ao ambiente desfavorável permitindo adaptações às mudanças. O uso de tratamentos pré-germinativos usando uma variedade de compostos naturais ou sintéticos tem sido realizado para diminuir a exposição prolongada das sementes às condições desfavoráveis; pois quando preparadas as sementes tem fortes respostas de defesa celular contra aos estresses abióticos, promovendo o aumento da germinação e iniciando os processos relacionados a esta (ZAHRA et al., 2020).

Conforme verificado por Shah et al. (2021), produtos à base de hormônios e osmoprotetores melhoram o desempenho das sementes sob condições de estresse salino, auxiliando no ajuste osmótico, absorção de nutrientes, trocas gasosas e produção de antioxidantes.

Pesquisas vêm sendo desenvolvidas visando encontrar técnicas ou substâncias mitigadoras dos efeitos dos estresses abióticos (hídrico e salino) durante a germinação e crescimento inicial. Entre essas, destaca-se o hidrocondicionamento, que consiste na imersão das sementes em água antes da sementeira e tem desempenhado papel importante na germinação de diferentes culturas (SINGH et al., 2015). O uso de produtos, tais como os ácidos orgânicos e outros componentes, também vêm sendo aplicados em semente como atenuadores de estresses, conferindo maior tolerância em relação àquelas que não recebem o tratamento.

Entre os ácidos orgânicos utilizados nas pesquisas, destaca-se o ácido giberélico, regulador vegetal que age como promotor da germinação, atuando na ativação do crescimento vegetativo do embrião e no enfraquecimento da camada do endosperma, assim como na mobilização de reservas energéticas (TAIZ et al., 2017).

Outra substância importante é o ácido salicílico, que é um sinalizador endógeno na resistência sistêmica adquirida, devido a sua função como hormônio vegetal, é também considerado um agente potencial no sistema antioxidante enzimático, estando relacionado à ativação de respostas em defesa do vegetal em condições de estresse (ZULFIQAR et al., 2021).

O peróxido de hidrogênio é usado para aumentar o desempenho germinativo de sementes; pois trata-se de um metabolito que em baixas concentrações pode agir como

um agente sinalizador para diversos processos metabólicos importantes na tolerância ao estresse (OLIVEIRA JUNIOR, 2017).

Diante da importância inerente ao processo de germinação, torna-se necessário a realização de estudos que visem a seleção de cultivares de pepino tolerantes aos estresses abióticos. Com isso, objetivou-se determinar o nível de tolerância a esses estresses durante a germinação e o crescimento inicial de plântulas, bem como, avaliar o uso de atenuadores nessas condições.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A CULTURA DO PEPINO

O pepino é originário da Índia e tem sido cultivado desde a antiguidade na Ásia, África e Europa, e foi trazido para a América por Cristóvão Colombo (EMBRAPA, 2018). Pertence à família Cucurbitaceae, mesmo grupo das abóboras, chuchu, melancia e melão, constituindo-se em importante hortaliça com elevado benefício econômico, além de ser amplamente cultivada em diversos países (CUI et al., 2020).

No Brasil, o cultivo do pepino ganhou mais força com a chegada dos imigrantes do Oriente Médio e do Japão, que utilizam bastante essa hortaliça em sua culinária (CEASA, 2016). Segundo o maior mercado atacadista da América Latina, a CEAGESP, o pepino, nos meses de março e abril, tem uma produção forte, sendo considerado o melhor período para a comercialização desta hortaliça. Dessa forma, o pepino é uma espécie que não se adaptada bem ao cultivo sob baixas temperaturas. O desenvolvimento da planta é favorecido por temperaturas superiores a 20 °C (JORNAL ENTREPOSTO, 2018).

Com relação aos dados de produção, a China é considerada o maior produtor, responsável por aproximadamente 60% da produção mundial, seguida pela Turquia, Irã, Rússia e Estados Unidos. No Brasil, segundo dados divulgados pelo IBGE, através do Censo Agropecuário de 2017, a produção anual de pepino é de 184.161 toneladas (ANÚARIO HORTIFRUTI, 2020).

Na região Nordeste do Brasil, dados de área plantada e de produção são escassos. No entanto, verifica-se que seu cultivo apresenta risco, devido à grande parte dessa região apresentar clima semiárido, caracterizado por baixas precipitações pluviométricas, drenagem deficiente e utilização de águas de qualidade inferior para irrigação, contendo altas concentrações de sais (PEDROTTI et al., 2015).

Tendo em vista que a germinação pode ser considerada como fase inicial determinante e crítico para o sucesso da cultura, promover aumentos na capacidade germinativa é essencial para aumentar o rendimento final desta (DEMIR et al., 2018). No entanto, as influências abióticas, como o baixo potencial hídrico e acúmulo de sais no meio provocam reduções na germinação, emergência e assim resultando em impedimento do crescimento inicial (BEZHIN et al., 2018; CARRILLO-RECHE et al., 2018).

## 2.2 ESTRESSES ABIÓTICOS

Dentre os fatores que limitam a produtividade das culturas agrícolas, destacam-se os estresses ambientais que podem ser causados pelas mudanças climáticas, como alterações na temperatura, salinidade e déficit hídrico, cujos fatores isolados ou em combinação, às quais as plantas estão expostas representam os mais limitantes para a produtividade agrícola em todo o mundo (KUMAR, 2020). Desses, a deficiência hídrica é o estresse ambiental mais severo na agricultura, ocasionando perdas significativas na produtividade das culturas, particularmente em regiões áridas e semiáridas (ZULFIQAR; ASHRAF 2020).

O estresse hídrico afeta o desenvolvimento das culturas, por causar distúrbios fisiológicos à planta. Quando as sementes são submetidas à essas condições podem sofrer alterações em seu metabolismo, prejudicando significativamente suas características desejáveis como poder germinativo e vigor (PEREIRA et al., 2020). Ataíde et al. (2016) afirmam que a água age de forma decisiva no processo germinativo, primeiro ocorre a absorção que resulta na reidratação dos tecidos, com consequente intensificação da respiração e de todas outras atividades metabólicas, culminando com o fornecimento de energia e nutrientes necessários a retomada do crescimento do eixo embrionário.

Estudos relacionados com a resposta germinativa de sementes à condição de estresses artificiais acabam sendo de grande importância, pois constituem-se em ferramentas que possibilitam a avaliação dos limites e tolerância de sobrevivência e adaptação de espécies às condições de estresses naturais (ROCHA et al., 2019).

Nesse sentido, pesquisas têm sido conduzidas utilizando soluções com diferentes potenciais osmóticos para verificar o comportamento ao estresse hídrico na fase de germinação. Em pepino, Matias et al. (2015) verificaram que sob estresse hídrico, a germinação de sementes se manteve superior a 90% até o potencial osmótico -0,4 MPa e no entanto, não houve germinação sob -0,8MPa. Estudo realizado por Pinheiro et al. (2016) com melão, afirmaram que a germinação das sementes sob estresse hídrico a -0,3 e -0,6 MPa foi eficiente para detectar diferenças no potencial fisiológico, mas estas desaparecem sob estresse hídrico severo de -0,9 MPa.

Em estudo recente com sementes de nabo, Oliveira et al. (2019) verificaram que sementes da cultivar IPR 116 tiveram melhor germinação e crescimento de plântulas em relação à cultivar CATI AL 1000, quando submetidas a níveis de potenciais osmóticos bastantes negativos (-1,0 e -1,2 MPa). Com isso, constatou-se que os estágios de

germinação e crescimento inicial são os mais susceptíveis ao déficit hídrico, sendo responsável por baixa germinação, diminuição ou atraso no crescimento e consequentemente no desenvolvimento das mudas (DUTRA et al., 2017).

O estresse salino é outro fator que afeta o processo de embebição da semente, isso porque a concentração de sais afeta adversamente a germinação por ocasionar estresse osmótico, efeitos fitotóxicos de íons específicos que afetam algumas atividades enzimáticas, além de causar o estresse oxidativo (ACOSTA-MOTOS et al., 2017).

Desse modo, a salinidade afeta o crescimento das plantas em todos os estádios de desenvolvimento, todavia, a germinação e o crescimento inicial são os mais sensíveis a esse estresse (IBRAHIM et al. 2016). Estudos apontam para o efeito deletério da salinidade nas fases de germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de melão (NOBREGA et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2019) e de pepino (ROCHA et al., 2019). Segundo esses autores, a diminuição progressiva do potencial osmótico é prejudicial as características germinativas.

O acúmulo excessivo dos sais no tecido vegetal também altera o metabolismo das plantas, aumentando a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), tais como o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e os radicais livres como superóxido ( $O_2$ ) e o hidroxil (OH) (JAYAKANNAN et al., 2015). Ainda segundo os autores, esses compostos em altas concentrações são tóxicos para as células em altas concentrações por causarem danos oxidativos.

As plantas neutralizam os efeitos deletérios das EROs graças aos antioxidantes por elas produzidos a fim de reparar os danos provocados, como é o caso da atuação das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) (NAHAR et al., 2016). Estudos apontam que a aplicação de fitormônios exógenos e fitoprotetores induzem a expressão gênica das enzimas antioxidantes e consequentemente aumentam suas atividades, o que mitiga os efeitos prejudiciais provocados pelo estresse salino (RIZWAN et al., 2015; WANG et al., 2015).

Sendo assim, esse sistema de defesa pode ter uma melhor resposta com aplicação de substâncias que tendem a mitigar o efeito deletério do estresse, como é o caso do ácido salicílico (AS), ácido giberélico (AG) e peróxido de hidrogênio (PH). Além desses, o condicionamento osmótico tem se constituído em técnica promissora para essa finalidade (SILVA et al., 2016). O condicionamento osmótico age sincronizando ao máximo a germinação, mediante a ativação do metabolismo de sementes procurando atingir um

nível uniforme e mais próximo possível do estágio de protrusão da raiz primária, via hidratação controlada (MARCOS-FILHO, 2015).

Diante da importância inerente ao processo de germinação, é importante entender os mecanismos que conferem às sementes a capacidade de germinar, mesmo sob condições de estresse, buscando uma futura tolerância. Nesse sentido, Kataria et al. (2017) destacam a importância em desenvolver medidas para amenizar os efeitos negativos provocados pelos estresses, e citam que o pré-tratamento de sementes com agentes protetores pode estimular os processos metabólicos da germinação e melhorar o desempenho da semente em diversas condições ambientais.

### 2.3 ATENUADORES DE ESTRESSE

O tratamento das sementes é visto como um método potencialmente capaz de melhorar o desempenho destas, promovendo a superação dos efeitos negativos associados a condição estressante (ALVES et al., 2020). Tudo isso porque durante o início do processo de germinação ocorrem alterações físico-químicas que modificam os caracteres protoplasmáticos, aumentando a atividade fisiológica do embrião, ocasionando maior absorção de água e elasticidade celular (SINGH et al., 2018).

Métodos são testados a fim de aumentar a velocidade de germinação e, conseqüentemente, aumentar a taxa de uniformidade de germinação, melhorando o desempenho germinativo e aumentando a tolerância das sementes às condições de estresse (BISOGNIN et al., 2016). Um desses é o hidrocondicionamento, que consiste na embebição controlada das sementes com água, podendo induzir mecanismos de proteção e reparação, promovendo uma possível aclimação e permitindo que estas tolerem algum estresse futuro (KUBALA et al., 2015).

Este procedimento tem como objetivo reduzir o período de germinação, bem como sincronizar e melhorar a emergência das plântulas, submetendo as sementes ao controle de hidratação suficiente para permitir os processos respiratórios essenciais à germinação, mas insuficiente para propiciar a emissão da radícula. As sementes completam as fases I e II da embebição, que são preparatórias para a germinação, sem, no entanto, avançarem para a fase III, caracterizada pelo alongamento celular e emissão da raiz primária (ARAÚJO et al., 2011).

O condicionamento fisiológico das sementes melhora o desempenho germinativo de sementes de diferentes espécies, como: repolho (YAN et al., 2016) tomate (BISOGNIN et al., 2016) e cebola (ZHAO et al., 2018). Segundo esses pesquisadores o hidrocondicionamento pode ser visto como uma técnica de baixo custo e eficiente para a melhoria da qualidade e uniformidades das plântulas das espécies avaliadas.

O emprego do ácido giberélico no tratamento de sementes é outra técnica que pode desempenhar papel importante mediante condições de estresses abióticos. Constitui-se em um importante fitohormônio, que vem sendo amplamente utilizado para melhorar a germinação, o crescimento das mudas e consequentemente, a produtividade (CHUNTHABUREE et al., 2014). A aplicação do ácido giberélico estimula as atividades de enzimas que são responsáveis pela hidrólise do amido, produzindo açúcares simples, aminoácidos e ácidos nucléicos, que liberados para o embrião vão acelerar a germinação com maior uniformidade (DILDEY et al., 2016; TAIZ; ZEIGER, 2017). Além disso, o pré-tratamento de sementes com o ácido giberélico supera a dormência principalmente devido ao enfraquecimento das camadas de endosperma e ativação do crescimento embrionário (PALLAORO et al., 2016).

Soluções com peróxido de hidrogênio e ácido salicílico também podem proporcionar mecanismos de atenuação aos estresses abióticos e aumentando o desempenho germinativo de sementes. Trata-se de uma molécula que está diretamente relacionada ao estresse oxidativo nos seres vivos e, em concentrações baixas, pode agir como agente sinalizador para diversos processos metabólicos importantes na tolerância ao estresse (OLIVEIRA JUNIOR, 2017).

O peróxido de hidrogênio é um metabolito que desempenha um papel importante na germinação de sementes, floração, desenvolvimento de raízes, regulação estomática, morte celular programada e senescência, bem como em resposta ao estresse ambiental (LATEF et al., 2019; CARVALHO; SILVEIRA, 2020; GOHARI et al., 2020). Estudos apontam a correlação entre a produção de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e óxido nítrico (NO). Sob condições de estresse, a geração de  $H_2O_2$  e NO aumenta simultaneamente e esses atuam juntos para realizar funções celulares vitais (HASANUZZAMAN et al., 2018; GOHARI et al., 2020). Além disso, as moléculas de  $H_2O_2$  e NO se engajam em interferência com íons de cálcio ( $Ca^{2+}$ ) para formar a rede de sinalização complexa em resposta aos estresses abióticos (GOHARI et al., 2020).

Com relação a aplicação exógena de ácido salicílico, sabe-se que é um composto fenólico que age na sinalização e ativação de genes que atuam como mecanismos de



defesa da planta contra os estresses (METHENNI et al., 2018; SILVA et al., 2018). Ahanger et al. (2020) afirmam que a aplicação exógena de ácido salicílico resulta em regulação positiva do complexo antioxidante enzimático quando comparado ao controle, demonstrando alívio significativo do dano oxidativo mediado pelo NaCl.

Diante do exposto, torna-se necessário a realização de estudos que visem a seleção de cultivares de pepino com tolerância aos estresses abióticos. Com isso, objetivou-se determinar o nível de tolerância ao estresse durante a germinação e o crescimento inicial de plântulas dessa espécie, bem como, avaliar o uso de atenuadores de estresses nessas condições.

## REFERÊNCIAS

- ACOSTA-MOTOS, J. R.; ORTUNO, M. F.; BERNAL-VICENTE, A.; DIAZ-VIVANCOS, P.; SANCHEZ-BLANCO, M. J.; HERNANDEZ, J. A. Plant responses to salt stress: adaptive mechanisms. **Agronomy**, v. 7, n.1, p. 1-18; 2017. <https://doi.org/10.3390/agronomy7010018>
- AHANGER, M. A.; UZIZ, U.; ALSAHLI, A. A.; ALYEMENI, M. N.; AHMAD, P. Influence of exogenous salicylic and nitric oxide on growth, photosynthesis, and ascorbate-glutathione cycle in salt stressed *Vigna angularis*, **biomolecules**, v. 10, n, 1, p. 1-16, 2020. <https://doi.org/10.3390/biom10010042>
- ALVES, R. C.; NICOLAU, M. C. M.; CHECCHIO, M. V.; SOUSA JUNIOR, G. S.; OLIVEIRA, F. A.; PRADO, R. M.; GRATÃO, P. L. Salt stress alleviation by seed priming with silicon in lettuce seedlings: an approach based on enhancing antioxidant responses. **Bragantia**, v. 79, n. 1, p.19-29, 2020. <https://doi.org/10.1590/1678-4499.20190360>
- ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTI&FRUTI 2020/ Cleonice de Carvalho, Benno Bernardo Kist e Romar Rudolfo Beling. – Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2019. 96 p.
- ARAÚJO, P. C.; TORRES, S. B.; BENEDITO, C. P.; PAIVA, E. P. Condicionamento fisiológico e vigor de sementes de maxixe. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, n. 3, p. 482-489, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222011000300011>
- ATAÍDE, G. M.; BORGES, E. L.; FILHO, A. L. Alterações fisiológicas e biométricas em sementes de *Melanoxylon brauna schott* durante a germinação em diferentes. **Revista Árvore**, v. 40, n. 1, p. 61–70, 2016. <https://doi.org/10.1590/0100-67622016000100007>
- BISOGNIN, M. B.; KULCZYNSKI, S. M.; FERRARI, M.; GAVIRAGHI, R.; PELEGRIN, A. J.; SOUZA, V. Q. Desempenho fisiológico de sementes olerícolas em diferentes tempos de hidrocondicionamento. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 39, n. 3, p. 349-359, 2016. <https://doi.org/10.19084/RCA15163>
- CARVALHO, F. E. L.; SILVEIRA, J. A. G. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-retrograde signaling as a pivotal mechanism to understand priming and cross stress tolerance in plants. In: **Priming mediated stress and cross-stress tolerance in crop plants**. Elsevier, p. 57–78 2020. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817892-8.00004-0>
- CEASA. **Mais saúde através do pepino**, 2016. Disponível em: <http://www.ceapi.com.br/materia.php?id=2027> acesso em 18 maio 2019.
- CHUNTHABUREE, S.; SANITCHON, J.; PATTANAGUL, W.; THEERAKULPISUT, P. Alleviation of salt stress in seedlings of black glutinous rice by seed priming with spermidine and gibberellic acid. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 42, n. 2, p. 405–413, 2014. <https://doi.org/10.1583/nbha4229688>

CUI, B. J.; NIU, W. Q.; DU, Y. D.; ZHANG, Q. Response of yield and nitrogen use efficiency to aerated irrigation and N application rate in greenhouse cucumber, **Scientia Horticulturae**, v. 265, e.109220, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109220>

DILDEY, O. D. F.; IURKIV, L.; HENKEMEIER, N. P.; FAVORITO, P.; VAZ, V. F.; RISSATO, B. B.; GUIMARÃES, V. F. Efeito da aplicação de ácido giberélico na germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de quinoa. **Journal of Agronomic Sciences**, v. 5, n. 2, p. 1-9, 2016.

DU, C.; LI, H.; LIU, C.; FAN, H. Understanding of the postgerminative development response to salinity and drought stresses in cucumber seeds by integrated proteomics and transcriptomics analysis. **Journal of Proteomics** e. 104062, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2020.104062>

DUTRA, W. F.; MELO, A. S.; SUASUNA, J. F.; DUTRA, A. F.; SILVA, D. C., MAIA, J. M. Antioxidative responses of cowpea cultivars to water deficit and salicylic acid treatment. **Agronomy Journal**, v. 109, n. 3, p. 895–905, 2017. <http://dx.doi.org/10.2134/agronj2015.0519>

EMBRAPA. **Pepino ideal para consumo em dias quentes**. In: Hortaliças na Web. Disponível em: <https://www.embrapa.br/hortalicasnaweb/pepino> acesso em 10 maio 2019.

GOHARI, G.; ALAVI, Z.; ESFANDIARI, E.; PANAHIRAD, S.; HAJIHOSEINLOU, S.; FOTOPOULOS, V. Interaction between hydrogen peroxide and sodium nitroprusside following chemical priming of *Ocimum basilicum* L. against salt stress. **Physiologia Plantarum**, v. 168, n. 2, p. 361–373, 2020. <https://doi.org/10.1111/ppl.13020>

HASANUZZAMAN, M.; OKU, H.; NAHAR, K.; BHUYAN, M. H. M. B.; MAHMUD, J. A. L.; BALUSKA, F.; FUJITA, M. Nitric oxide-induced salt stress tolerance in plants: ROS metabolism, signaling, and molecular interactions. **Plant Biotechnology Reports**, v. 12, n. 2; p. 77–92, 2018. <https://doi.org/10.1007/s11816-018-0480-0>

IBRAHIM, E. A. Seed priming to alleviate salinity stress in germinating seeds. **Journal of Plant Physiology**, v. 192, n. 2; p. 38-46, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2015.12.011>

JAYAKANNAN, M.; BOSE, J.; BABOURINA, O.; SHABALA, S.; MASSART, A.; POSCHENRIEDER, C.; RENGEL, Z. The NPR1-dependent salicylic acid signalling pathway is pivotal for enhanced salt and oxidative stress tolerance in Arabidopsis. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, n. 7, p. 1865-1875, 2015.

JORNAL ENTREPOSTO. **Guia de produtos: pepino**, 2018. Disponível em: <https://jornalentreposto.com.br/guia-de-produtos/legumes/2887-pepino> acesso em 04 junho 2019.

KATARIA, S.; BAGHEL, L.; GURUPRASAD, K. N. Pre-treatment of seeds with static magnetic field improves germination and early growth characteristics under salt stress

in maize and soybean. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 10, n. 1, p. 83–90, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2017.02.010>

KUBALA, S.; WOJTYLA, Ł.; QUINET, M.; LECHOWSKA, K.; LUTTS, S.; GARNCZARSKA, M. Enhanced expression of the proline synthesis gene P5CSA in relation to seed osmopriming improvement of *Brassica napus* germination under salinity stress. **Journal of Plant Physiology**, v.183, n.1, p. 1-12, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2015.04.009>

KUMAR, S. Abiotic stresses and their effects on plant growth, yield and nutritional quality of agricultural produce. **International Journal of Food Science and Agriculture**, v. 4, n. 4, p. 367-378, 2020. <https://doi.org/10.26855/ijfsa.2020.12.002>

LATEF, A. A. H.; KORDROSTAMI, M.; ZAKIR, A.; ZAKI, H.; SALEH, O.M. Eustress with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> facilitates plant growth by improving tolerance to salt stress in two wheat cultivars. **Plants**, v. 8, n. 9, 303–321 2019. <https://doi.org/10.3390/plants8090303>

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

MARTINS, J. K. D.; LUZ, S. R. O. T.; ENCK, B. F.; KEFFER, G. F.; DAMACENO, J. B. D. Avaliação da produtividade do pepino conduzido em sistemas de tutoramento horizontal e vertical com e sem consórcio com amendoim em Rondônia. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, v. 15, n. 27, p.150-167, 2018. [https://doi.org/10.18677/EnciBio\\_2018A14](https://doi.org/10.18677/EnciBio_2018A14)

MATIAS, J. R.; SILVA, T. C. F. S.; OLIVEIRA, G. M.; ARAGÃO, C. A.; DANTAS, B. F.; germinação de sementes de pepino cv. Caipira em condições de estresse hídrico e salino. **Revista Sodebras**, v. 10, n. 113, p. 33-39, 2015.

METHENNI, K.; ABDALLAH, M. B.; NOUAIRI, I.; SMAOUI, A.; AMMAR, W. B.; ZARROUK, M.; YOUSSEF, N. B.; Salicylic acid and calcium pretreatments alleviate the toxic effect of salinity in the Oueslati olive variety. **Scientia Horticulturae**, v. 233, n. 1, p. 349-358, 2018. [doi: 10.1016/j.scienta.2018.01.060](https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.01.060)

NÓBREGA, J. S.; FIGUEIREDO, F. R. A.; NASCIMENTO, R. G. S.; BRUNO, R. L. A.; ALVES, E. U.; CAVALCANTE, L. F. Qualidade fisiológica de sementes de melão pepino sob salinidade crescente da água de irrigação. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 41, n.4, p. 1011-1018, 2018. <https://doi.org/10.19084/RCA18146>

OLIVEIRA, C. E. S.; STEINER, F.; ZUFFO, A. M.; ZOZ, T.; ALVES, C. Z.; AGUIAR, V. C. B. Seed priming improves the germination and growth rate of melon seedlings under saline stress. **Ciência Rural**, v. 49, n. 7, p. 1-11, 2019. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20180588>

OLIVEIRA, S. S. C.; CRUZ, S. J. S.; MARTINS, C. C. Estresse hídrico e salino na germinação de sementes e crescimento de plântulas de nabo forrageiro. **Magistra**, v. 30, n. 1, p.435-444, 2019.

OLIVEIRA JUNIOR, L. C. **Tratamento pré-germinativo de sementes florestais com peróxido de hidrogênio** Dissertação. Universidade Federal de Lavras, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, LAVRAS - MG 2017.

PALLAORO, D. S.; CAROLINE, A.; AVELINO, D.; CAMILI, E. C.; GUIMARÃES, S. C. Priming corn seeds with plant growth regulator. **Journal of Seed Science**, v. 38, n. 3, p. 227–232, 2016. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v38n3163847>

PEDROTTI, A.; CHAGAS, R. M.; RAMOS, V. C.; PRATA, A. P. N.; LUCAS, A. A. T.; SANTOS, P. B. Causas e consequências do processo de salinização dos solos. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 19, n. 2, p. 1308-1324, 2015. <https://doi.org/105902/2236117016544>

PEREIRA, I. C.; CATÃO, H. C. R. M.; CAIXETA, F. Seed physiological quality and seedling growth of pea under water and salt stress. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 24, n. 2, p. 95-100, 2020. <http://dx.doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v24n2p95-100>

PINHEIRO, D. T.; SILVA, A. L.; SILVA, L. J.; SEKITA, M. C.; DIAS, D. C. F. S. Germination and antioxidant action in melon seeds exposed to salt stress. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 46, n. 3, p. 336-342, 2016. <https://doi.org/10.1590/1983-40632016v4640431>

RIZWAN, M.; ALI, S.; IBRAHIM, M.; FARID, M.; ADREES, M.; BHARWANA, S. A.; REHMAN, M. Z.; QAYYUM, M. F.; ABBAS, F. Mechanisms of silicon-mediated alleviation of drought and salt stress in plants: a review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 1, p. 15416–15431, 2015. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5305-x>

ROCHA, G. T.; PRADO, A. D. L.; MELO, B. S.; RODRIGUES, F. Germinação de espécies de eucalipto sob estresse hídrico simulado. **Revista de Biotecnologia & Ciência**, v. 8, n. 2, p. 1-8, 2019.

SILVA, T. C. F. S.; SILVA, R. C. B.; SILVA, J. E. S. B.; SANTOS, ARAGÃO, R. S. C. A.; DANTAS, B. F. Germinação de sementes de melancia sob diferentes métodos de tratamento com reguladores vegetais. **Scientia Plena**, v. 10, n. 03, 2014.

SILVA, M. L. M.; ALVES, E. U.; BRUNO, R. L. A.; MOURA, S. S.; SANTOS NETO, A. P. S. Germinação de sementes de *chorisia glaziovii* o. kuntze submetidas ao estresse hídrico em diferentes temperaturas. **Ciência Florestal**, v. 26, n. 3, p. 999–1007, 2016. <https://doi.org/10.5902/1980509824229>

SILVA, T. I.; NÓBREGA, J. S.; FIGUEIREDO, F. R. A.; SOUSA, L. V.; RIBEIRO, J. E. S.; BRUNO, R. L. A.; DIAS, T. J.; ALBUQUERQUE, M. B. *Ocimum basilicum* L. seeds quality as submitted to saline stress and salicylic acid. **Journal of Agricultural Science**, v. 10, n. 5, p. 159-166, 2018. <http://dx.doi.org/10.5539/jas.v10n5p159>

SINGH, P. K.; GAUTAM, S. Role of salicylic acid on physiological and biochemical mechanism of salinity stress tolerance in plants. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 35, n. 8, p. 2345-2353, 2013. <https://doi.org/10.1007/s11738-013-1279-9>

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2013. 918 p.

WANG, Y.; SHEN, W.; CHAN, Z.; WU, Y. Endogenous cytokinin overproduction modulates ROS homeostasis and decreases salt stress resistance in *Arabidopsis Thaliana*, **Frontiers in plant Science**, v. 6: 1004, 2015.  
<https://dx.doi.org/10.3389%2Ffpls.2015.01004>

YAN, M. Hydro-priming increases seed germination and early seedling growth in two cultivars of Napa cabbage (*Brassica rapa* subsp. pekinensis) grown under salt stress, **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 91, n. 4, p.1-6, 2016.  
<https://dx.doi.org/10.1080/14620316.2016.1162031>

ZAHRA, N.; RAZA, Z. A.; MAHMOOD, S. Effect of salinity stress on various growth and physiological attributes of two contrasting maize genotypes. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 63, e.20200072, 2020. <http://doi.org/10.1590/1678-4324-2020200072>

ZHAO, Y.; HU, M.; GAO, Z.; CHEN, X.; HUANG, D. Biological mechanisms of a novel hydro-electro hybrid priming recovers potential vigor of onion seeds. **Environmental and Experimental Botany**, v. 150, n. 1, p.260-271, 2018.  
<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.04.002>

ZHU, J-K. Abiotic stress signaling and responses in plants. **Cell**, v.167, n. 2, p. 313-324, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.08.029>

ZULFIQAR, F.; ASHRAF, M. Bioregulators: unlocking their potential role in regulation of the plant oxidative defense system. **Plant Molecular Biology**, v. 105, n. 1, p. 11-41, 2020. <https://doi.org/10.1007/s11103-020-01077-w>

ZULFIQAR, F.; CHEN, J.; FINNEGAN, P. M.; YOUNIS, A.; NAFEES, M.; ZORRIG, W.; HAMED, K. B. Application of trehalose and salicylic acid mitigates drought stress in sweet basil and improves plant growth. **Plants**, v. 10, n. 6, 2021.  
<https://doi.org/10.3390/plants10061078>

## CAPÍTULO 2

### RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE SEMENTES DE PEPINO (*Cucumis sativus* L.) PRÉ-TRATADAS COM ATENUADORES E SUBMETIDAS AO DÉFICIT HÍDRICO

**RESUMO:** O Pepino (*Cucumis sativus* L.) é uma das hortaliças de grande importância socioeconômica para o semiárido brasileiro. No entanto, essa região apresenta limitações para a produção dessa cultura em razão das condições edafoclimáticas, pois os estresses ambientais são considerados fatores limitantes durante a germinação e estabelecimento das plantas em campo. Com isso, objetivou-se avaliar a tolerância e a ação de atenuadores de estresse aplicados em cultivares de pepino submetidas às condições de estresse hídrico durante a germinação e crescimento das plântulas. A pesquisa foi realizada em duas etapas, sendo a primeira em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5 x 7, cinco níveis de potencial osmótico (0; -0,1; -0,2; -0,3 e -0,4 MPa simulados pelo polietilenoglicol (PEG 6000)) e sete cultivares de pepino (Safira, Prêmio, Compadre, Campeiro, Runner, Diplomata e Sliced Max). Na segunda etapa, o delineamento foi inteiramente casualizado, com os tratamentos arranjos em esquema fatorial 2 x 6 sendo duas cultivares (uma sensível e outra tolerante, determinadas na etapa I) e o segundo correspondente a combinação do potencial osmótico e pré-tratamento de sementes: T1 = 0,0 MPa (controle), T2 = -0,4 MPa (estresse hídrico), T3 = -0,4 MPa + hidrocondicionamento, T4 = -0,4 MPa + ácido giberélico, T5 = -0,4 MPa + ácido salicílico e T6 = -0,4 MPa + peróxido de hidrogênio. Ambas as etapas tiveram quatro repetições, compostas por 50 sementes cada e nos dois experimentos foram avaliadas as seguintes variáveis: germinação, índice de velocidade de germinação, comprimento e massa seca de plântulas, açúcares solúveis totais e aminoácidos livres totais. Na segunda etapa, acrescentou-se a relação raiz/parte aérea e variáveis bioquímicas do metabolismo oxidativo e sistema de defesa antioxidativo: conteúdo de malondialdeído (MDA), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), atividade da superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX). A germinação das cultivares de pepino Safira, Prêmio, Compadre, Campeiro, Runner, Diplomata e Sliced Max não é afetada até o potencial osmótico de -0,4 MPa. Potencial osmótico de -0,4 MPa é crítico para as características fisiológicas de das cultivares de pepino. As cultivares Compadre e Diplomata são apontadas como sensível e tolerante ao estresse hídrico ao nível de -0,4 MPa, respectivamente. Os tratamentos pré-germinativos de sementes por meio de hidrocondicionamento, ácido giberélico, ácido salicílico e peróxido de hidrogênio são eficientes para mitigar o efeito do estresse hídrico sob a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de pepino. O emprego das substâncias atenuadoras provoca aumento da atividade das enzimas antioxidantes na cultivar Compadre, com consequente redução dos conteúdos de malondialdeído (peroxidação lipídica); sendo assim conseguiram contornar os níveis de estresse para essa cultivar. Enquanto para a cultivar Diplomata há resposta a atividade enzimática ocorrendo investimento em outra rota metabólica. O peróxido e MDA são marcadores eficientes de estresse. E, quando acompanhados pela resposta sincrônica das enzimas conseguem mitigar os efeitos do estresse oxidativo.

**PALAVRAS-CHAVE:** Cucurbitaceae, tolerância, pré-tratamento de sementes, mitigadores de estresse.

**PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL RESPONSES OF CUCUMBER  
(*Cucumis sativus* L.) SEEDS PRE-TREATED WITH TENUATORS AND  
SUBMITTED TO WATER DEFICIT**

**ABSTRACT:** Cucumber (*Cucumis sativus* L.) is one of the vegetables of great socioeconomic importance for the Brazilian semiarid region. However, this region has limitations for the production of this crop due to edaphoclimatic conditions, as environmental stresses are considered limiting factors during germination and establishment of plants in the field. Thus, the objective was to evaluate the tolerance and action of stress attenuators applied to cucumber cultivars subjected to water stress conditions during germination and seedling growth. The research was carried out in two stages, the first in a completely randomized design, in a 5 x 7 factorial scheme, five levels of osmotic potential (0; -0.1; -0.2; -0.3 and -0.4 MPa simulated by polyethylene glycol (PEG 6000)) and seven cucumber cultivars (Sapphire, Prêmio, Compadre, Campeiro, Runner, Diplomata and Sliced Max). In the second step, the design was completely randomized, with treatments arranged in a 2 x 6 factorial scheme, with two cultivars (one sensitive and one tolerant, determined in step I) and the second corresponding to the combination of osmotic potential and seed pre-treatment: T1 = 0.0 MPa (control), T2 = -0.4 MPa (water stress), T3 = -0.4 MPa + hydroconditioning, T4 = -0.4 MPa + gibberellic acid, T5 = -0.4 MPa + salicylic acid and T6 = -0.4 MPa + hydrogen peroxide. Both stages had four replications, consisting of 50 seeds each, and in both experiments the following variables were evaluated: germination, germination speed index, seedling length and dry mass, total soluble sugars and total free amino acids. In the second stage, the root/shoot ratio and biochemical variables of oxidative metabolism and antioxidative defense system were added: malondialdehyde (MDA), hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX). The germination of Safira, Premio, Compadre, Campeiro, Runner, Diplomata and Sliced Max cucumber cultivars is not affected up to the osmotic potential of -0.4 MPa. Osmotic potential of -0.4 MPa is critical for the physiological characteristics of cucumber cultivars. Cultivars Compadre and Diplomata are identified as sensitive and tolerant to water stress at the level of -0.4 MPa, respectively. Pre-germinative seed treatments through hydroconditioning, gibberellic acid, salicylic acid and hydrogen peroxide are efficient to mitigate the effect of water stress on germination and initial development of cucumber seedlings. The use of attenuating substances causes an increase in the activity of antioxidant enzymes in the cultivar Compadre, with a consequent reduction in malondialdehyde contents (lipid peroxidation); thus, they managed to get around the stress levels for this cultivar. While for the Diplomata cultivar there is a response to enzymatic activity occurring investment in another metabolic route. Peroxide and MDA are efficient stress markers. And, when accompanied by the synchronous response of enzymes, they can mitigate the effects of oxidative stress.

**KEY WORDS:** Cucurbitaceae, Tolerance, seed pre-treatment, stress mitigators.



## 1 INTRODUÇÃO

O pepino (*Cucumis sativus* L.) contém em sua composição química grande porcentagem de água e vitaminas, além de possuir propriedades nutraceuticas, com elevada quantidade de fibras, baixo teor de calorias, folato, sais minerais, potássio e antioxidantes importantes para o organismo humano (BATISTA et al., 2019). Essas propriedades proporcionam destaque à espécie pois podem ser utilizadas nas indústrias de cosméticos, medicamentos e alimentos (UZUAZOKARO et al., 2018). Sendo assim, a demanda por essa hortaliça tem aumentado, requerendo a utilização de sementes de alta qualidade, como também, cultivares adaptadas a diferentes condições ambientais.

Os estágios de germinação e crescimento inicial são os mais susceptíveis às condições adversas, como déficit hídrico. Essa condição ambiental é responsável pela baixa germinação, diminuição ou atraso no crescimento e conseqüentemente no desenvolvimento das mudas (DUTRA et al., 2017). Além disso, o estresse hídrico ocasiona aumento na concentração de solutos, alteração do pH da solução intracelular, desnaturação de proteínas e, conseqüentemente, aumento expressivo no número de plântulas danificadas e anormais (MARCOS-FILHO, 2015).

Pesquisas relacionadas à resposta germinativa de sementes aos estresses artificiais são importantes, pois se constituem em ferramentas que possibilitam a avaliação dos limites e tolerância de sobrevivência e adaptação de espécies às condições estressantes (ROCHA et al., 2019).

A exposição das plantas ao déficit hídrico promove alterações no metabolismo, aumentando a produção e o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROS) incluindo os radicais livres (ânion superóxido  $O_2^-$ ; radical hidroperoxila  $HO_2$ ; e radical hidroxila  $OH$ ) e moléculas não radicais (peróxido de hidrogênio -  $H_2O_2$  e oxigênio singlete, ( $^1O_2$ ) (MEHLA et al., 2017; HASANUZZAMAN et al., 2019). Portanto, para contornar essa situação adversa as plantas ativam o sistema endógeno de defesa (LAXA et al., 2019). O sistema antioxidante pode ser representado pelas atividades de enzimas, como superóxido dismutase, catalase e ascorbato peroxidase. Essas regulam as alterações fisiológicas essenciais nas plantas afetadas pela redução do potencial hídrico celular, mantendo o equilíbrio de estado estacionário (MITTLER, 2017).

O sistema de defesa da planta pode ter melhor resposta com a aplicação de substâncias que tendem a mitigar o efeito deletério do estresse por atuarem diretamente nas rotas metabólicas, resultando em adaptação aos estresses abióticos (MEWARD et al., 2018) como

é o caso do ácido salicílico (AS), ácido giberélico (AG) e peróxido de hidrogênio (PH). Além disso, o condicionamento osmótico tem se mostrado como técnica promissora para esse fim (SILVA et al., 2016), pois age sincronizando ao máximo a germinação mediante a ativação do metabolismo da semente e, com isso, atingindo o nível de uniformidade mais próximo possível do estágio de protrusão da raiz primária, via hidratação controlada (MARCOS-FILHO, 2015).

O ácido salicílico tem sido relacionado à adaptação dos processos celulares associados à tolerância (DUTRA et al., 2017; ARAÚJO et al., 2018), como por exemplo, proporcionando incrementos na velocidade de germinação e no desenvolvimento de plântulas submetidas a estresse hídrico (GALVIZ-FAJARDO et al., 2020).

O ácido giberélico além de influenciar uma série de processos fisiológicos, também estimula as atividades de enzimas responsáveis pela hidrólise do amido, produzindo açúcares simples, aminoácidos e ácidos nucléicos que são liberados para o embrião e aceleram a germinação (DILDEY et al., 2016; TAIZ et al., 2017). Resultados demonstram que seu uso pode amenizar os efeitos deletérios causados pelos estresses abióticos (OLIVEIRA et al., 2016; AL-SHAHEEN; SOH; 2018; PEDÓ et al., 2018).

O peróxido de hidrogênio é utilizado como molécula sinalizadora de estresse (NIU; LIAO, 2016; AMOOAGHAIE; TABATABAIE, 2017). O uso em pré-tratamento de sementes promove o processo conhecido por “memória de estresse” (WOJTYLA et al., 2016). Esse fato é por conta do aumento da concentração de agentes antioxidantes que desempenham papel defensivo contra os estresses oxidativos (TALBI et al., 2015; GULER; PEHLIVAN, 2016; JAVED et al., 2018).

Diante do exposto, a adoção de estratégias para a caracterização de cultivares tolerantes ao estresse hídrico, mediante a avaliação de sementes acaba tendo grande importância, pois promove ganhos em tempo e recursos para os produtores de regiões semiáridas, onde há escassez hídrica. Nesse sentido, objetivou-se avaliar a tolerância de cultivares de pepineiro ao estresse hídrico e a ação de atenuadores de estresse em cultivares de pepino submetidas ao déficit hídrico durante a germinação e crescimento inicial de plântulas.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa em duas etapas foi conduzida no Laboratório de Análise de Sementes (LAS) e no Centro de Pesquisas em Ciências Vegetais do Semi-Árido (CPVSA), pertencentes ao Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, e no Laboratório de Fisiologia e Bioquímica de Plantas da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte - UERN, Mossoró, RN.

Os experimentos foram realizados no período de março de 2019 a março de 2020 utilizando sementes de sete cultivares de pepino (Safira, Prêmio, Compadre, Campeiro, Runner, Diplomata e Sliced Max) doadas pela empresa Sakata Seed Sudamerica. As sementes permaneceram em câmara fria até a realização dos experimentos.

### **Experimento I - Avaliação de sementes de pepino submetidas ao déficit hídrico**

As sementes de sete cultivares de pepino foram semeadas em papel toalha especial para germinação, umedecido com as soluções de polietilenoglicol (PEG 6000) de potenciais osmóticos de 0, -0,1; -0,2; -0,3; -0,4 MPa (VILLELA et al., 1991) na proporção de 2,5 vezes a massa seca do substrato (BRASIL, 2009). Os rolos de papel com as sementes foram incubados em germinador tipo *Biochemical Oxygen Demand* (B.O.D) a 25 °C com fotoperíodo de 8 h (BRASIL, 2009).

As avaliações foram diárias até o oitavo dia após a semeadura (BRASIL, 2009). Como sementes germinadas foram consideradas aquelas que apresentaram protrusão radicular. A partir dessas contagens diárias foram obtidas as seguintes variáveis:

a) Germinação (G) - correspondente à porcentagem de sementes germinadas até o oitavo dia, sendo consideradas como germinadas as que apresentavam a formação de plântula normal (BRASIL, 2009).

b) Índice de velocidade de germinação (IVG) - registro diário do número de sementes germinadas após a semeadura até o final do teste de germinação, conforme metodologia proposta por Maguire (1962).  $IVG = G1/N1 + G2/N2 + \dots + Gn/Nn$ ; em que: IVG = índice de velocidade de germinação; G1, G2 e Gn = número de plântulas normais, computadas na primeira, segunda e última contagem; N1, N2, Nn = número de dias de semeadura à primeira, segunda e última contagem.

c) Comprimento de plântulas - ao fim do teste de germinação, as plântulas normais foram mensuradas da raiz principal até o ápice foliar, utilizando uma régua graduada em milímetros e os resultados expressos em cm.

d) Massa seca de plântulas – após as mensurações, as plântulas foram separadas em raiz e parte aérea e acondicionadas em sacos de papel tipo kraft, sem descartar os cotilédones e postas para secar em estufa de circulação de ar forçado, a 65 °C por 72 horas, sendo posteriormente pesadas em balança de precisão e os resultados expressos em miligramas por plântula ( $\text{mg plântula}^{-1}$ ).

e) Aminoácidos livres totais (AALT) - foram colocados 0,2 g de massa fresca em tubos contendo 3 mL de álcool. Os tubos foram hermeticamente fechados e aquecidos em banho maria a 60 °C por 20 minutos. Para a quantificação dos teores de aminoácidos, realizou-se a medição da absorbância a 570 nm, com a aplicação do método da niidrina ácida (YEMM; COCKING, 1955), tendo a glicina como substância padrão e os resultados expressos em  $\mu\text{mol GLI g}^{-1}$  de massa fresca.

f) Açúcares solúveis totais (AST) – o teor de açúcares solúveis totais foi determinado pelo método da antrona (YEMM; WILLIS, 1954), com os resultados expressos em  $\text{mg de GLU g}^{-1}$  de massa fresca.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com esquema fatorial 5 x 7, com quatro repetições de 50 sementes cada. O primeiro fator foi constituído pelos cinco níveis de potenciais osmótico (0, -0,1; -0,2; -0,3; -0,4 MPa) e, o segundo, pelas sete cultivares de pepino (Safira, Prêmio, Compadre, Campeiro, Runner, Diplomata e Sliced Max).

## **Experimento II - Germinação e atividade antioxidante em cultivares de pepino sob atenuadores de estresse hídrico**

Nessa etapa foram verificados os efeitos dos ácidos giberélico e salicílico, peróxido de hidrogênio e hidrocondicionamento como atenuadores do estresse hídrico em duas cultivares de pepino selecionadas na etapa I (uma sensível e outra tolerante) de acordo com a análise de agrupamento. Para isso, tomou-se por base a distância Euclidiana como medida de dissimilaridade, tendo assim a formação de três grupos: controle, tolerante (melhor germinação, crescimento e maior acúmulo de massa seca na condição de maior estresse) e sensível (os piores desempenhos nas variáveis estudadas).

As concentrações dos atenuadores foram determinadas por meio da realização de pré-testes. Para o ácido giberélico utilizou-se 1 mM, o ácido salicílico foi de 0,05 mM e o peróxido de hidrogênio em 10 mM. Após o preparo das soluções as sementes ficaram embebidas por 12 horas, tempo necessário para que houvesse o ganho de umidade significativa, observado durante a curva de embebição. Após as 12 horas de embebição as sementes foram semeadas em substrato papel toalha, umedecido com soluções de polietilenoglicol (PEG 6000) sob concentração de -0,4 MPa.

O teste de germinação foi conduzido seguindo as recomendações das Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), sendo consideradas sementes germinadas aquelas que apresentaram formação de plântula normal. No final desse teste (8º dia) foram mensuradas as variáveis de germinação, índice de velocidade de germinação, comprimento e massa seca de plântulas, teor de açúcares solúveis totais e aminoácidos livres totais seguindo a mesma metodologia descritas na etapa I. Além disso, obteve-se a relação raiz/parte aérea, determinada através do acúmulo de biomassa do sistema radicular em relação à parte aérea da plântula.

A peroxidação lipídica foi determinada de acordo a metodologia de Health e Packer (1968), com modificações. A reação foi obtida por meio da produção de MDA (malondialdeído), um metabólito reativo ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBA). As amostras biológicas foram maceradas com nitrogênio líquido em TCA (ácido tricloroacético) 0,1% na proporção de 0,2 g/2 mL<sup>-1</sup> do tampão, juntamente com 20% de PVPP (polivinilpolipirrolidona). Após a homogeneização, a amostra foi centrifugada a 10.000 rpm durante cinco minutos. Em seguida foi retirado o sobrenadante 0,25 mL e transferido para outro tubo juntamente com 1,0 mL de solução contendo 20% de TCA e 0,5% de TBA. A mistura foi mantida em banho-maria a 95 °C durante 30 minutos, sendo rapidamente resfriada por 10 minutos. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 535 e 600 nm, após nova centrifugação por mais 10 min a 10.000 rpm para clarificação das amostras e os resultados expressos em nMol de MDA g<sup>-1</sup> de matéria fresca.

Para a quantificação do peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) seguiu-se a metodologia proposta por Alexieva et al (2001). As amostras frescas foram maceradas com ácido tricloroacético (TCA) a 0,1% na relação de 1,0 g/10 mL<sup>-1</sup> (w:v). As amostras foram centrifugadas a 10.000 rpm por cinco minutos, a 4 °C. Depois transferiu-se 200 µL do sobrenadante para outro ependorff e foi adicionado 200 µL de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5) e 800 µL de solução 1,0 M de iodeto de potássio. As amostras permaneceram em gelo e no escuro durante uma hora. Após este período, foram retiradas do gelo e mantidas em temperatura ambiente para estabilização da reação, e em seguida, realizou-se a leitura em

espectrofotômetro a 390 nm. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{Mol}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$   $\text{g}^{-1}$  de matéria fresca.

A extração de proteínas foi realizada seguindo método descrito por Azevedo et al. 1998, com modificações. o material vegetal macerado em  $\text{N}_2$  líquido e até formar um pó e adicionado 20% (p/v) de PVPP. Posteriormente, as amostras foram homogeneizadas na relação de 1 g/ 3  $\text{mL}^{-1}$  de solução tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5) suplementado com 1 mM de EDTA (ácido etilenodiaminotetracético), 3 mM de DTT (Dietiotreitol). Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 10.000 rpm por 30 minutos a 4 °C. O sobrenadante coletado (sempre no gelo) foi transferido para um novo tubo tipo Eppendorf, dividido em alíquotas e armazenados a -35 °C até os ensaios das atividades enzimáticas.

As determinações de proteínas solúveis totais foram com base na metodologia de Bradford (1976), usando o soro albumina bovina (BSA) como padrão. Os valores foram determinados utilizando-se a curva padrão de concentrações conhecidas de BSA por meio de regressão linear. Após determinar a curva, realizou-se as leituras das amostras. Para isso, foram pipetados 20  $\mu\text{L}$  de cada solução em cubeta e adicionado 1 mL do reagente de Bradford. As amostras permaneceram incubadas durante 5 minutos em temperatura ambiente até a realização da leitura em espectrofotômetro a 595 nm. O teor proteico da amostra foi expresso em mg de proteína  $\text{g}^{-1}$  de matéria fresca.

A atividade da superóxido dismutase (SOD) foi quantificada de acordo com a metodologia de Gianopolitis e Ries (1977) com modificações. Alíquotas de 50  $\mu\text{L}$  de extrato foram transferidas para o meio de reação contendo tampão fosfato de sódio com concentração 85 mM (pH 7,8), 780  $\mu\text{L}$  de metionina (13 mM), 30  $\mu\text{L}$  EDTA (0,1 mM) e 225  $\mu\text{L}$  de NBT (75 mM). A reação foi iniciada pela adição de 150  $\mu\text{L}$  de riboflavina (5  $\mu\text{M}$ ), totalizando 3 mL. A solução foi adicionada em tubos de vidro e irradiada com luz branca (lâmpada fluorescente de 15 W) por 5 min. Após esse período de exposição, a solução foi analisada por espectrofotômetro a 560 nm. Ressalte-se que uma unidade da SOD corresponde à quantidade de enzima capaz de inibir em 50% a fotoredução do NBT nas condições de ensaio. As análises para as amostras de cada tratamento foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos em U.mg proteína<sup>-1</sup>.

A atividade da catalase (CAT) foi determinada por espectrofotometria seguindo a metodologia de Havir e Mchale (1987) com modificações de Azevedo et al. (1998). Inicialmente, adicionou-se  $\text{H}_2\text{O}_2$  às amostras e a partir desse momento, a reação de degradação do peróxido foi monitorada durante 1 minuto. Utilizando cubetas de quartzo, as leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 240 nm (pico de absorção de luz pelo  $\text{H}_2\text{O}_2$ ), no tempo 0 e

após 60 segundos, a 25 °C. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg proteína}^{-1}$ . As análises da atividade da catalase para cada tratamento também foram realizadas em triplicata.

A atividade da ascorbato peroxidase (APX) foi determinada conforme método proposto por Nakano e Asada (1981), com algumas modificações. O meio de reação incubado (1 mL) foi composto de tampão 650  $\mu\text{L}$  de fosfato de potássio 80 mM (pH 7,0), 100  $\mu\text{L}$  de ascorbato (5 mM), 100  $\mu\text{L}$  de EDTA, 100  $\mu\text{L}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e 50  $\mu\text{L}$  do extrato proteico. A atividade da APX foi determinada pela taxa de oxidação do ascorbato durante 60 segundos, em espectrofotômetro a 290 nm sob temperatura de 30 °C e expressas em  $\mu\text{mol min}^{-1}\text{mg}^{-1}$  de proteína.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com os tratamentos arranjos em esquema fatorial 2 x 6 em quatro repetições de 50 sementes cada. O primeiro fator foi constituído por duas cultivares (uma sensível e outra tolerante) e o segundo correspondeu ao tratamento das sementes com os atenuadores e submetidas ao potencial osmótico -0,4 MPa (T1: controle ( $\text{H}_2\text{O}$ ); T2: -0,4 MPa + sementes não-tratadas-; T3: -0,4 MPa + hidrocondicionamento; T4: -0,4 MPa + ácido giberélico; T5: -0,4 MPa + ácido salicílico e T6: -0,4 MPa + peróxido de hidrogênio).

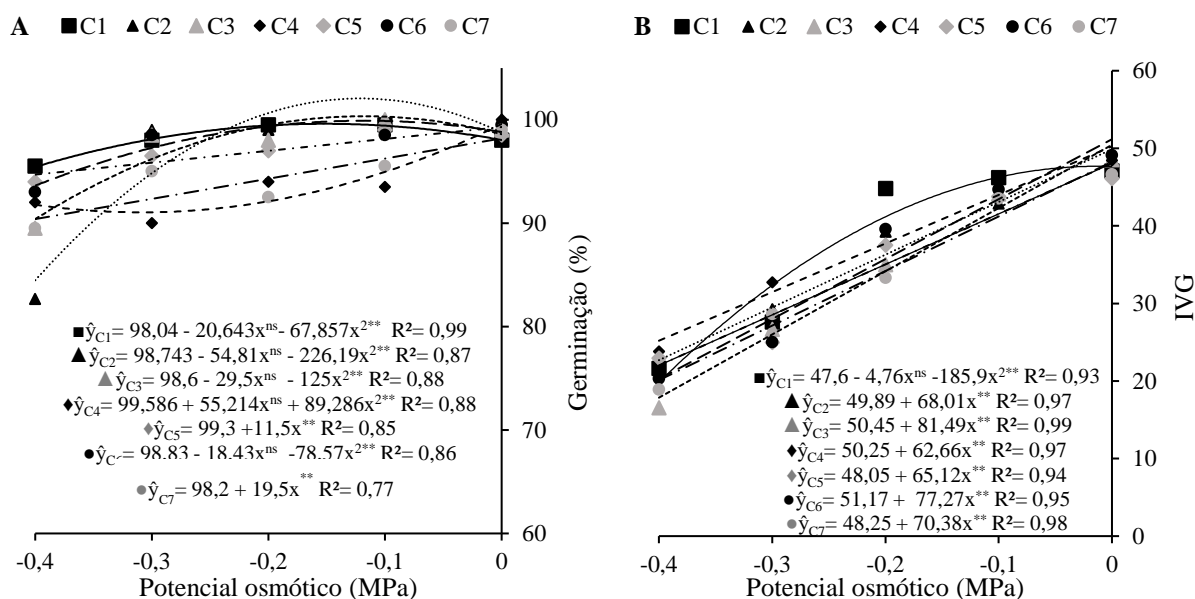
### **Análises estatísticas**

Os dados obtidos no experimento I foram submetidos a análise de variância, teste 'F', e nos casos de significância, foi aplicado o teste de agrupamento de médias Tukey para o fator cultivares e análise de regressão para os potenciais osmóticos, ambos ao nível de 5% de significância. Já os dados obtidos no experimento II foram submetidos a análise de variância, teste 'F', e nos casos de significância, realizou-se o teste t para cultivares e o teste de medias Tukey para os atenuadores, ao nível de 5% de significância. O software estatístico utilizado foi o SISVAR® (FERREIRA, 2011).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### Etapa I - Germinação e tolerância de cultivares de pepino sob estresse hídrico

A germinação das sementes foi reduzida em todas as cultivares de pepino à medida que os potenciais osmóticos induzidos pelo PEG 6000 se tornaram mais negativos. As cultivares Safira, Prêmio, Compadre, Campeiro e Diplomata tiveram comportamento quadrático, com reduções acentuadas a partir dos níveis -0,15; -0,12; -0,12; -0,3 e -0,12 MPa, respectivamente. Além disso, verificou-se que as cultivares Runner e Sliced Max tiveram reduções de germinação no primeiro nível (-0,15 MPa), apresentando comportamento lineares decrescentes, e que o maior nível de estresse resultou em germinação de 94 e 90%, respectivamente (Figura 1A). A redução da disponibilidade hídrica do substrato, causada pelo aumento da concentração de PEG 6000, promoveu diminuição do índice de velocidade de germinação das cultivares de pepino. O maior índice foi registrado para as cultivares Safira e Diplomata (51,4 e 51,2, respectivamente) no potencial osmótico de 0,0 MPa (Figura 1B).



<sup>ns</sup> e <sup>\*\*</sup> = não significativo, significativo a 0,01 ( $p < 0,01$ ) de probabilidade, respectivamente. C1 - Safira; C2 - Prêmio; C3 - Compadre; C4 - Campeiro; C5 - Runner; C6 - Diplomata e C7 - Sliced Max.

**Figura 1.** Germinação (A) e índice de velocidade de germinação - IVG (B) de cultivares de pepino (*Cucumis sativus* L.), submetidas a diferentes potenciais osmóticos induzidos por PEG 6000.

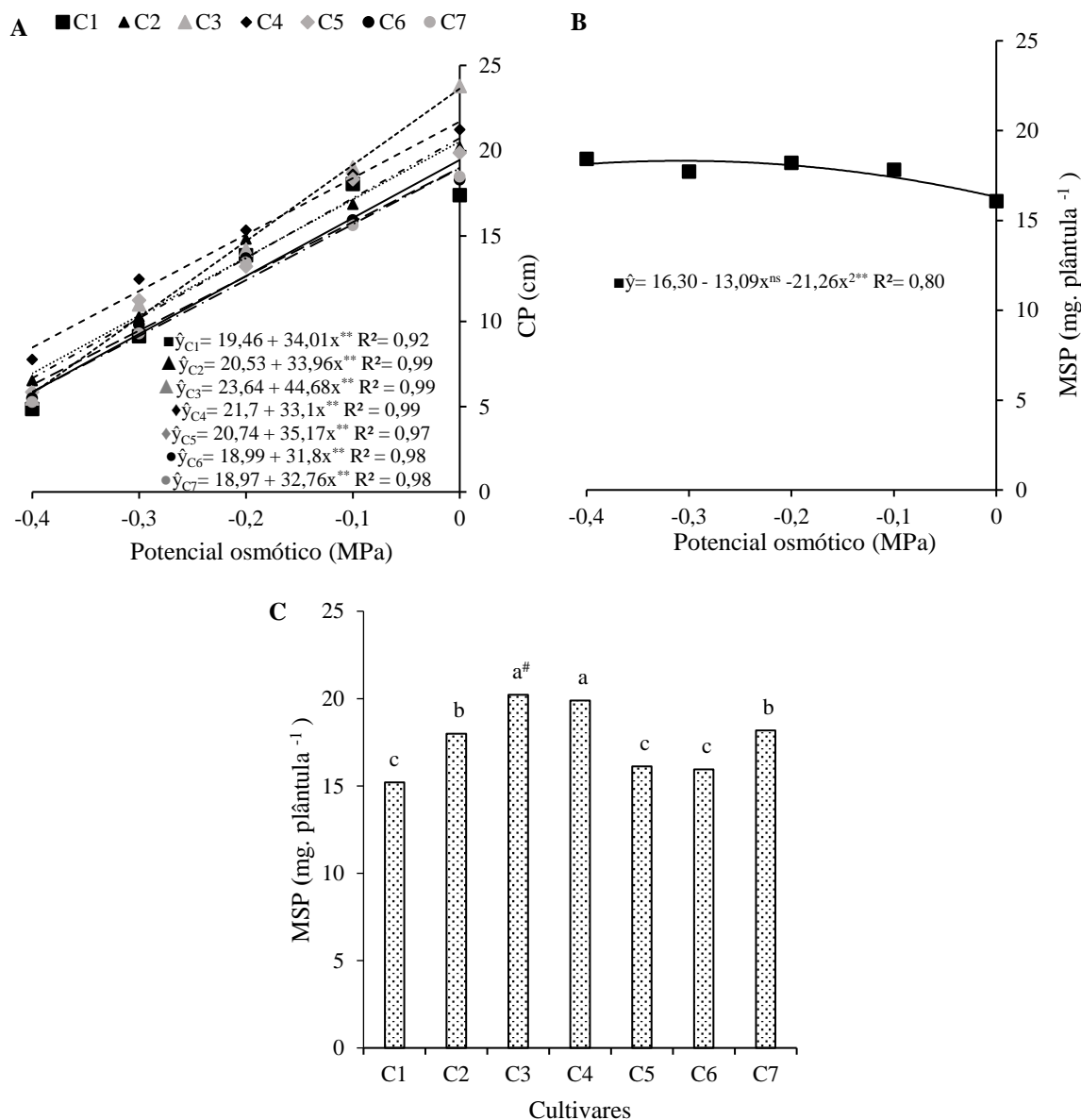


Conforme observado na figura 1A as cultivares ainda resultaram em germinação superior a 80% no nível de -0,4 MPa, corroborando o apresentado por Matias et al. (2015) os quais verificaram que sementes de pepino mantiveram germinação de 90% até o potencial osmótico -0,4 MPa. Para esses autores, possivelmente, o PEG tenha atuado até esse nível, proporcionando efeito de condicionamento osmótico relacionado aos processos de germinação, favorecendo e reduzindo o tempo destes eventos.

Por outro lado, a figura 1B aponta que no potencial hídrico de menor quantidade de água disponível (-0,4 MPa), o índice de velocidade de germinação foi reduzido para todas as cultivares, com menor valor de 17,8 para a Compadre, cuja redução foi de 64,7% em relação ao tratamento controle (0,0 MPa). Com isso, verificou-se que nessa condição a germinação foi mais lenta, apesar de não ter afetado o resultado final. Isso deve-se ao fato de que à medida em que o teor de água do solo ou do substrato diminui, ocorre inicialmente a redução da velocidade de germinação e restrições mais severas podem prejudicar a velocidade e o processo (MARCOS-FILHO, 2015).

Para o comprimento de plântulas foi constatado efeito significativo da interação entre cultivares e potenciais osmóticos. Todas as cultivares apresentaram comportamento linear decrescente, com valores médios de 5,8; 7,0; 5,8; 8,5; 6,7; 6,0 e 5,9 cm no maior nível de estresse (-0,4 MPa) equivalentes as reduções de 70; 66; 75; 61; 68; 67 e 69% para as cultivares Safira, Prêmio, Compadre, Campeiro, Runner, Diplomata e Sliced Max, respectivamente, quando comparadas ao controle (Figura 2A).

Para massa seca de plântula, verifica-se efeito isolado dos fatores estudados. Dentro dos níveis de potencial osmótico houve comportamento quadrático, apresentando acréscimos de massa seca de plântula até o nível -0,3 MPa, atingindo 18,3 mg. plântula<sup>-1</sup> (Figura 2B). Quanto ao efeito isolado para a massa seca de plântulas entre as cultivares, constatou-se que a cultivar Compadre resultou em maior acúmulo de massa (20,2 mg. plântula<sup>-1</sup>), não diferindo da Campeiro (20,07 mg. plântula<sup>-1</sup>). Em contrapartida, as cultivares Runner, Diplomata e Safira destacaram-se por apresentar redução de aproximadamente 20% de matéria seca: 16,1; 15,9 e 15,2 mg. plântula<sup>-1</sup>, respectivamente. (Figura 2C).



<sup>ns</sup> e <sup>\*\*</sup> = não significativo, significativo a 0,01 ( $p < 0,01$ ) de probabilidade, respectivamente. <sup>#</sup>Letras iguais não diferem perante o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ( $p < 0,05$ ). C1 - Safira; C2 - Prêmio; C3 - Compadre; C4 - Campeiro; C5 - Runner; C6 - Diplomata e C7 - Sliced Max.

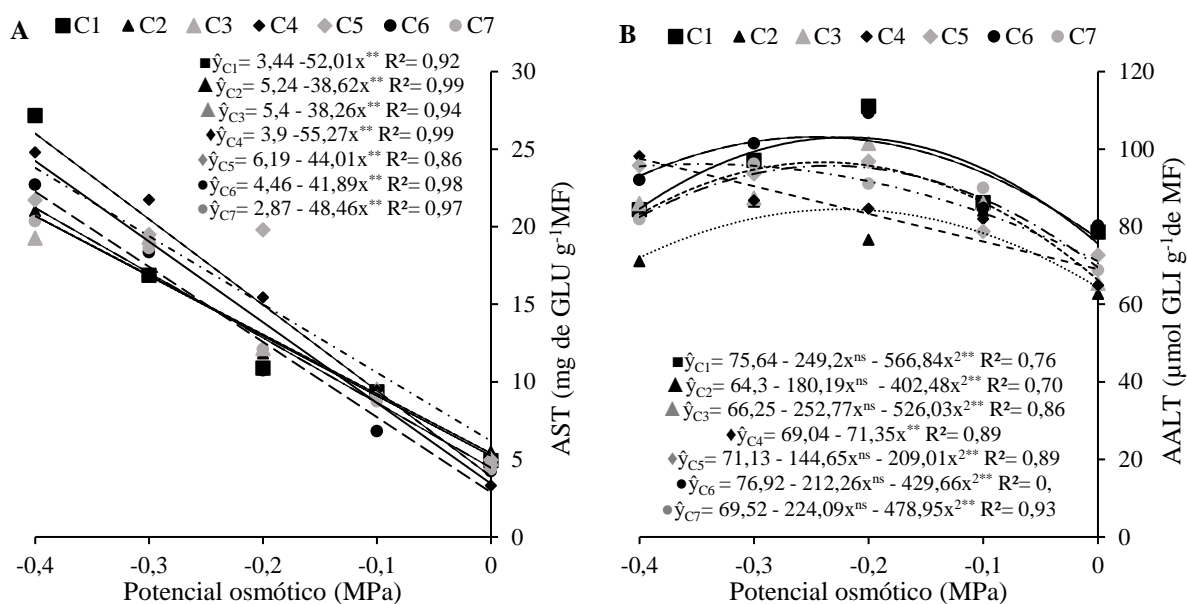
**Figura 2.** Comprimento de plântula - CP (A) e massa seca de plântulas - MSP (B e C) de cultivares de pepino (*Cucumis sativus* L.), submetidas a diferentes potenciais osmóticos induzidos por PEG6000.

O primeiro efeito mensurável do estresse hídrico é a diminuição do crescimento, conforme verificado neste trabalho. Esse fato é causado pela redução da expansão celular que necessita de potencial de turgor adequado (TAIZ et al., 2017). Os resultados encontrados estão coerentes com os obtidos em sementes de maxixe, em que a solução de PEG 6000 a partir do nível de -0,3 MPa, reduziu drasticamente o comprimento das plântulas (ALVES et al., 2014).

O incremento de massa seca observado também foi verificado por Masetto et al. (2011) em sementes de crambe (*Crambe abyssinica* Hochst). Esses autores constataram que houve incremento na massa seca mesmo com acentuada restrição hídrica do substrato. Isso indica que deve ter ocorrido o enrijecimento da parede de células em desenvolvimento como o mecanismo primário de ajuste à redução do potencial osmótico (MASETTO et al., 2011). Esse potencial não impediu a reativação do metabolismo do embrião, processo que exige água.

Neste sentido, a importância da variável matéria seca é relatada por Hossain et al. (2016). Segundo esses autores as respostas das cultivares, dentro de uma mesma espécie, podem diferir muito quando expostas a condições de déficit hídrico. Essas variações intraespecíficas importantes permitem distinguir novos marcadores que exibem padrões de expressão em resposta déficit hídrico o que fornecem uma base para estratégias efetivas de melhoramento das culturas.

Quanto aos teores de açúcares solúveis totais nas plântulas de pepino, o desdobramento da interação entre as cultivares e os potenciais osmóticos demonstrou que todas as cultivares tiveram comportamento semelhante, tendo o incremento da concentração de PEG 6000 no substrato provocado aumento no teor de açúcares solúveis. Esses ganhos foram de 5,2; 3,9; 3,9; 5,5; 4,4; 4,2 e 4,9 mg de GLU/ g MF para as cultivares Safira, Prêmio, Compadre, Campeiro, Runner, Diplomata e Sliced Max, respectivamente, para cada redução unitária do potencial osmótico (Figura 3A). Para os teores de aminoácidos livres totais houve comportamento quadrático para as cultivares, com maior concentração em torno do potencial -0,2 MPa, e seguido por acentuadas reduções a partir deste. A exceção foi a Campeiro, que apresentou acúmulo de glicina com o aumento do estresse, chegando à concentração de 97,6  $\mu\text{mol GLI g}^{-1}$  de massa fresca (Figura 3B).



<sup>ns</sup> e <sup>\*\*</sup> = não significativo, significativo a 0,01 ( $p < 0,01$ ) de probabilidade, respectivamente. C1 - Safira; C2 - Prêmio; C3 - Compadre; C4 - Campeiro; C5 - Runner; C6 - Diplomata e C7 - Sliced Max.

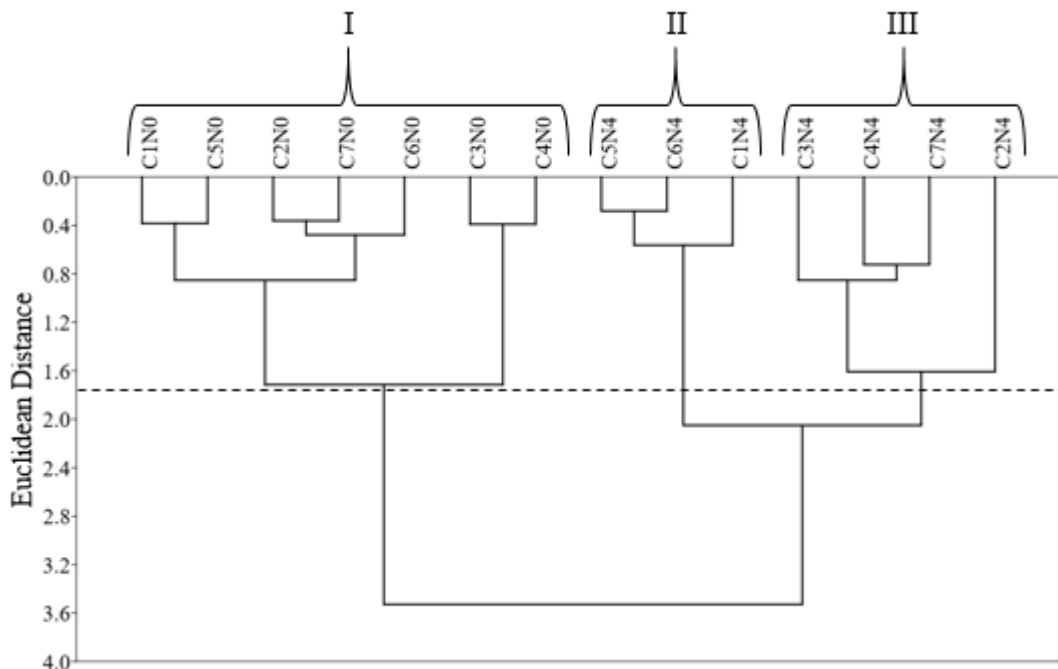
**Figura 3.** Açúcares solúveis totais (A) e teores de aminoácidos livres totais (B), de plântulas de cultivares de pepino (*Cucumis sativus* L.), submetidas a diferentes potenciais osmóticos induzidos por PEG 6000.

Os açúcares são importantes para a proteção contra a desidratação e podem funcionar como um osmoprotetor, estabilizando as membranas celulares, cujo acúmulo possibilita a diminuição do potencial osmótico celular e a manutenção do potencial hídrico e do turgor (DEVI; SUJATHA, 2014). O acúmulo de moléculas osmoprotetoras podem ainda auxiliar na tolerância das plantas sob baixa disponibilidade de água e proporcionar o crescimento e reprodução das plantas em ambientes com limitações hídricas (AKITHA; GIRIDHAR, 2015). O acúmulo de açúcares também pode prevenir a desnaturação de proteínas, preservar a estrutura de enzimas, proteger as membranas dos efeitos deletérios causados pelas espécies reativas de oxigênio (EROs) (COTINGUIBA et al., 2013). A exposição dos tecidos de plantas ao estresse pode ainda desencadear a acumulação de ácido abscísico (ABA), induzindo uma geração aumentada de EROs e essa superprodução de EROs não só ativa o sistema enzimático antioxidante para eliminar o excesso de EROs, como também para manter o estado redox ótimo nas plantas (QI et al., 2015).

No que diz respeito aos teores de aminoácidos livre, resultados semelhantes foram obtidos por Almeida et al. (2019) em plântulas de maxixe sob estresse hídrico em diferentes temperaturas. Para esses autores, esses resultados são indicações da intensidade do estresse

hídrico nas mudas trabalhadas, pois o aumento da síntese de solutos osmorregulatórios (ajuste osmótico) é uma das estratégias fisiológicas das plantas frente a condição de estresse submetida. Além disso, essa estratégia visa reduzir o potencial hídrico interno para níveis inferiores aos encontrados no substrato, permitindo absorver água, que é fundamental nos processos vitais e os solutos osmorregulatórios para atuarem como agentes protetores contra o estresse oxidativo (GUPTA; HUANG, 2014; TAIZ et al., 2017).

A partir da análise de agrupamento, tomou-se por base a Distância Euclidiana como medida de dissimilaridade, com corte a uma distância 1,8 para formação de três grupos de combinações entre níveis do potencial osmótico (N) e cultivares de pepino (C). O primeiro grupo (I) foi caracterizado pelas sete cultivares na condição do menor potencial (0,0 MPa), ou seja, em condições de ausência de estresse hídrico. No grupo (II), conglomerados podem ser caracterizados pelas cultivares com melhor germinação, crescimento e maior acúmulo de massa seca na condição de maior estresse (-0,4 MPa), sendo em ordem das mais tolerantes: Runner, Diplomata e Safira. No terceiro grupo III são constatadas as cultivares Compadre, Campeiro, Sliced Max e Prêmio, respectivamente, que apresentaram os piores desempenhos nas variáveis estudadas, destacando-se como sensíveis ao estresse hídrico (Figura 4).

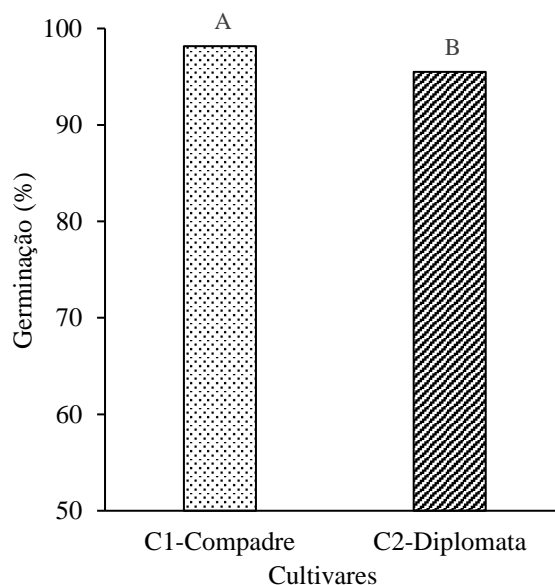


**Figura 4.** Dendrograma de dissimilaridade dos grupos formados pela combinação de níveis de potencial osmótico (N) e cultivares (C) de pepino C1 - Safira; C2 - Prêmio; C3 - Compadre; C4 - Campeiro; C5 - Runner; C6 - Diplomata e C7 - Sliced Max.

O dendrograma de dissimilaridade, tomando-se por base a Distância Euclidiana, pode ser usado como ferramenta importante na escolha de materiais resistente e tolerante. Trata-se de uma análise criteriosa quanto aos grupos de maior sensibilidade ao estresse, uma vez que, o processo multivariado leva em consideração as múltiplas variáveis pesquisadas. Neste trabalho e afim de dá continuidade na pesquisa para a etapa seguinte, entre as cultivares tolerantes do grupo II, optou-se pela cultivar Diplomata que possui características agronômicas com considerada facilidade na comercialização e qualidade dos frutos produzidos. No grupo III, que mais se distanciou do grupo controle (sem estresse hídrico), elegeu-se a Compadre. Trata-se de um material com qualidade pós-colheita, o que torna interessante na determinação do que ainda pode ser pesquisado para que este atinja essa importante característica.

## **Etapa II - Germinação e atividade antioxidante em cultivares de pepino sob atenuadores de estresse hídrico**

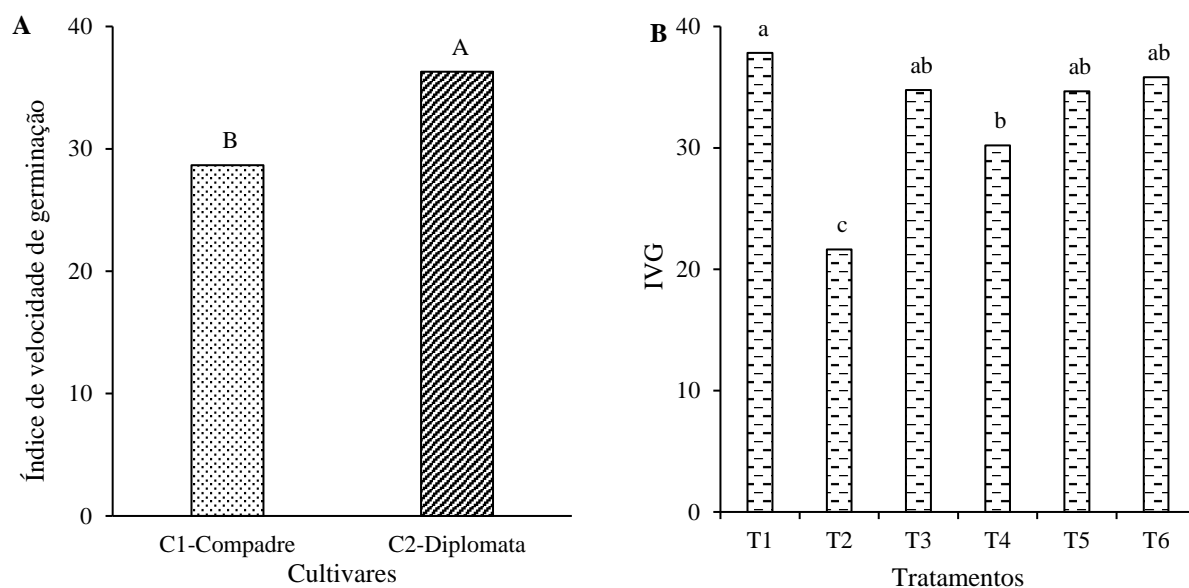
A germinação das sementes de pepino apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) apenas entre as cultivares. A cv. Diplomata teve redução de dois pontos percentuais, diferindo significativamente, quando comparada a cv. Compadre (Figura 5). Ambas cultivares tiveram valores elevados de germinação. Esse comportamento pode estar relacionado à capacidade da espécie em promover ajuste osmótico às concentrações de déficit hídrico, expressando potencial de sobrevivência, mesmo em condições adversas. Além disso, a capacidade da espécie em promover o ajustamento osmótico se deve à resposta fisiológica em função das condições as quais foram submetidas, possibilitando maior eficácia mesmo em situações de baixa absorção de água (ARGENTEL et al., 2013).



Média seguida pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, maiúscula (cultivares), pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Figura 5.** Germinação de cultivares de pepino (*Cucumis sativus* L.) submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos e estresse hídrico.

Para o índice de velocidade de germinação (IVG) ocorreu efeito isolado entre os fatores, cultivares e atenuadores. A cultivar Diplomata teve IVG superior ao da Compadre em 21% (Figura 6A). O estresse hídrico proporcionou redução de 43% no IVG quando comparado a ausência de estresse, e sob condições de estresse hídrico e todos os tratamentos pré-germinativos proporcionaram acréscimos no IVG de 61, 40, 61 e 66%, para o hidrocondicionamento, ácido giberélico, ácido salicílico e peróxido de hidrogênio, respectivamente; com exceção do ácido giberélico os demais se igualaram ao tratamento controle (Figura 6B).



Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, maiúscula (cultivares) e minúscula (tratamentos pré-germinativos), pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Figura 6.** Índice de velocidade de germinação – IVG (A e B) de cultivares de pepino (*Cucumis sativus* L.) submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos e estresse hídrico. T1: Controle (H<sub>2</sub>O); T2: sementes sob estresse (-0,4 MPa) e sem atenuadores; T3: estresse hídrico (-0,4 MPa) + hidrocondicionamento; T4: estresse hídrico (-0,4 MPa) + ácido giberélico; T5: estresse hídrico (-0,4 MPa) + ácido salicílico; T6: estresse hídrico (-0,4 MPa) + peróxido de hidrogênio (PH).

O maior IVG ocorreu para a cv. Diplomata, esse fato pode estar relacionado a tolerância desta ao estresse hídrico, assim como melhores características fisiológicas da semente (Figura 6A). Esse índice de vigor mensura o máximo de sementes germinadas em menor espaço de tempo. Por outro lado, a ocorrência de menor IVG sob condição de estresse pode ser em função da sensibilidade do genótipo ao déficit hídrico, que resultou na redução da velocidade de germinação (PATADE et al., 2011). Além disso, o fato dos tratamentos pré-germinativos, serem responsáveis pela retomada da alta velocidade de germinação pode estar relacionado ao aumento da síntese de enzimas hidrolíticas no tecido de reserva. Por conta dessa atividade, as substâncias são convertidas e transferidas para o embrião, proporcionando a germinação mais vigorosa (TAIZ et al., 2017). Resultados semelhantes foram verificados por Silva et al. (2019) em sementes de cebola (*Allium cepa* L.) pré-tratadas com ácido salicílico (50 µM) e submetidas ao estresse hídrico.

Uma das funções das giberelinas é a mobilização de reservas da semente para o embrião e embora não tenha diferido dos demais condicionantes, promoveu menor IVG. O



ácido salicílico (AS) protege a planta contra o estresse por atuar na sinalização e expressão de genes, ativando mecanismos de defesa vegetal, e consequentemente aumentando a tolerância às condições de estresse (METHENNI et al., 2018). A tolerância ao estresse provocada pelo pré-tratamento de sementes com peróxido de hidrogênio é atribuída à redução do teor de peróxido de hidrogênio endógeno, a sistemas antioxidantes mais eficazes, à expressão de proteínas de estresse e alta capacidade fotossintética, o que ajuda a aliviar os danos enquanto estimula o crescimento sob estresse (WOJTYLA et al., 2016).

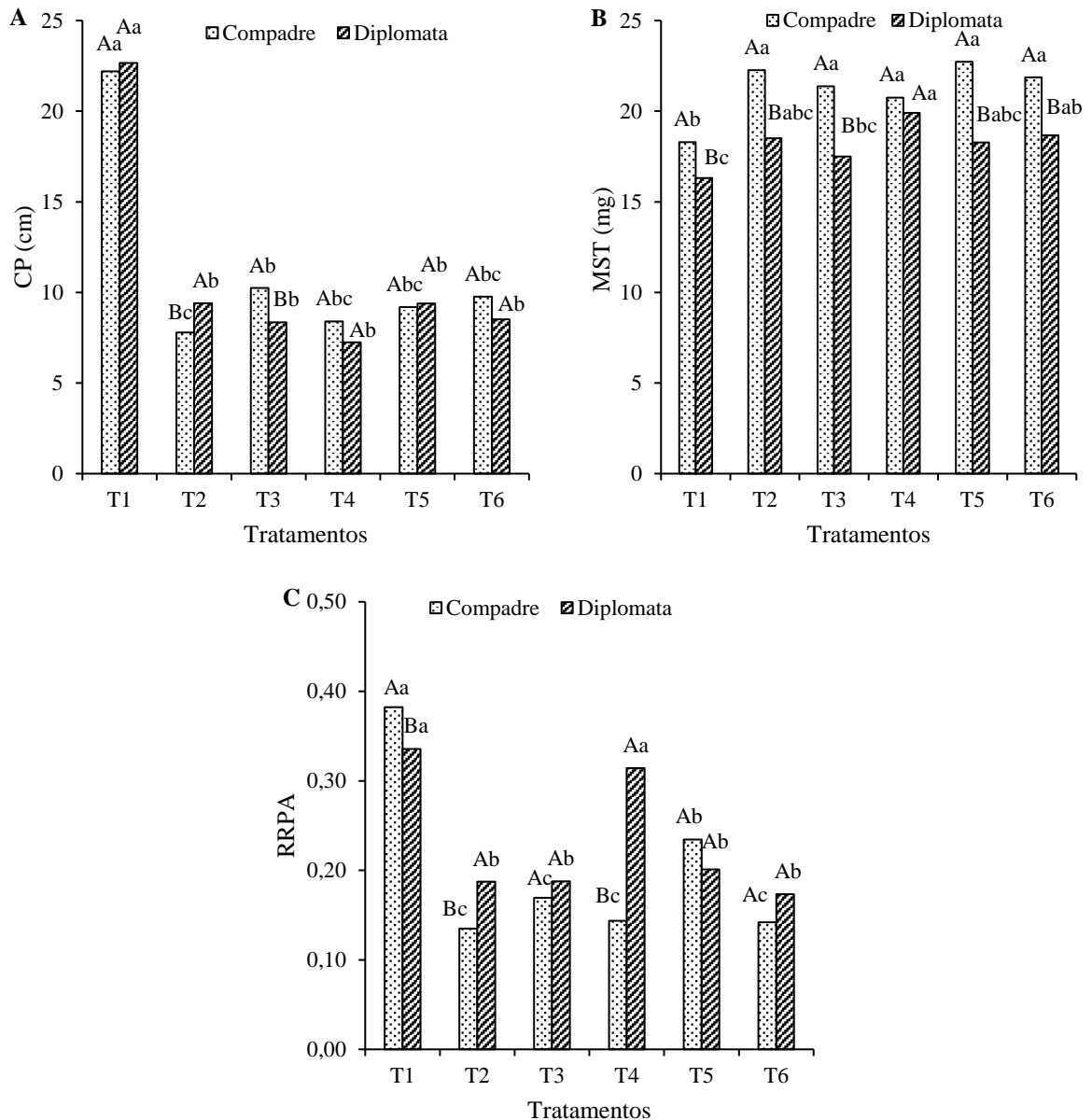
O comprimento total das plântulas de pepino foi reduzido sob estresse hídrico e sem uso de substâncias atenuadoras, em 14,4 cm e 13,3 cm para as cultivares Compadre e Diplomata, respectivamente, quando comparado ao tratamento controle (Figura 7A). As plântulas da cultivar Compadre, resultantes de sementes hidrocondicionadas, tiveram acréscimo de 31% no comprimento em relação a condição de estresse. (Figura 7A). Isso ocorre porque, mesmo as sementes estando sob deficiência hídrica, para algumas espécies há exigência de menor quantidade de água para a retomada do crescimento, fato conseguido com o emprego do hidrocondicionamento, já que a maior parte das reservas foi mobilizada (MARCOS-FILHO, 2015). Os demais tratamentos pré-germinativos não exerceram efeitos benéficos para o comprimento de plântulas das cultivares (Figura 7A).

A matéria seca de plântulas mostrou que houve direcionamento diferente em relação a parte aérea, sendo assim as plântulas submetidas a condição de estresse (-0,4 MPa) resultaram em maior massa seca total em comparação ao tratamento controle, com 22 e 13% para as cultivares Compadre e Diplomata, respectivamente (Figura 7B). Aproximadamente 80 a 95% da matéria fresca de uma planta é composta por água (TAIZ et al., 2017). Portanto, as sementes do tratamento controle degradaram suas reservas, germinaram e as plântulas se desenvolveram de forma satisfatória. Por outro lado, as plântulas sob estresse (-0,4 MPa) resultaram em maior peso e menos desenvolvidas.

Com relação ao uso de atenuadores, verificou-se que a cultivar Compadre obteve acréscimos de MST em todos os tratamentos, quando comparado ao controle. No entanto, para a Diplomata esse comportamento foi verificado quando as sementes foram pré-tratadas com ácido giberélico, ácido salicílico e peróxido de hidrogênio (Figura 7B).

A relação raiz/parte aérea é uma correlação de desenvolvimento, expressando o fato de que o crescimento no sistema radicular pode afetar o desenvolvimento da parte aérea e vice-versa (GOSS, 1973). Essa relação expressa um balanço funcional entre a fotossíntese e a absorção de água pelas raízes, que em condições ditas normais, apresenta certo equilíbrio (TAIZ et al., 2017). Em plântulas de pepino foram verificadas reduções de 65 e 44% nas

plântulas das cultivares Compadre e Diplomata, respectivamente, sob condição de estresse hídrico (Figura 7C). Sob condição de estresse e com o uso de atenuadores, o ácido salicílico (AS) proporcionou maior relação raiz/parte aérea, com incremento de 77% comparado a condição de estresse, nas plântulas da cultivar Compadre. Para a Diplomata, o ácido giberélico (AG) promoveu a maior relação se igualando estatisticamente ao controle, e os demais tratamentos pré-germinativos não diferiram da condição de estresse (Figura 7C).



Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, maiúscula (cultivares) e minúscula (tratamentos pré-germinativos), pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Figura 7.** Comprimento de plântulas – CP (A) e massa seca total – MST (B) e relação raiz/parte aérea – RRPA (C) de cultivares de pepino (*Cucumis sativus* L.) submetidas a

diferentes tratamentos pré-germinativos e estresse hídrico. T1: Controle (H<sub>2</sub>O); T2: sementes sob estresse (-0,4 MPa) e sem atenuadores; T3: estresse hídrico (-0,4 MPa) + hidrocondicionamento; T4: estresse hídrico (-0,4 MPa) + ácido giberélico; T5: estresse hídrico (-0,4 MPa) + ácido salicílico; T6: estresse hídrico (-0,4 MPa) + peróxido de hidrogênio (PH).

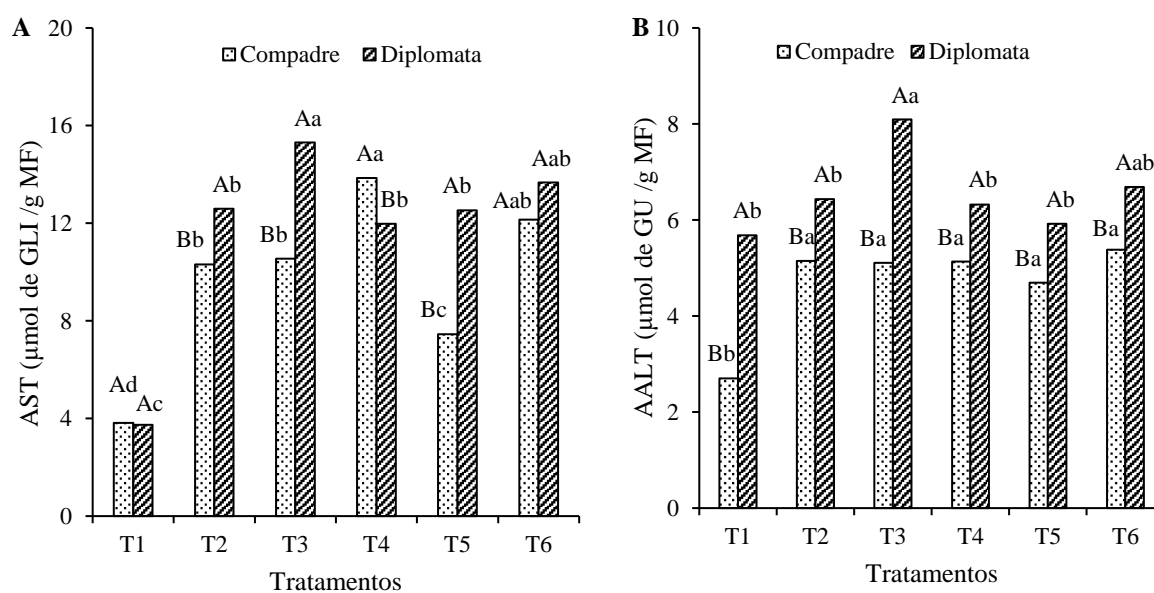
A redução nos comprimentos das plântulas pode ser causada pela diminuição do potencial hídrico promovido pela viscosidade do PEG entorno dos tecidos radiculares e da parte aérea (COSTA, 2018). Conforme dados apresentados por este autor, não houve efeito do ácido giberélico sobre o comprimento da parte aérea de plântulas de quinoa, apenas constatou a redução do comprimento em meio ao aumento das concentrações de PEG, em conformidade com este trabalho.

Com relação a massa seca de plântulas relatos na literatura afirmam que pode haver acúmulo de massa seca a partir do pré-tratamento de sementes com ácido giberélico em outras culturas, como em quinoa (COSTA, 2018). Esses autores constataram que sementes dessa espécie embebidas com ácido giberélico a 0,005 e 0,010 mg. L<sup>-1</sup> resultaram em aumento de massa seca sob condições de estresse hídrico, com maior incremento entre os potenciais de -0,4 e -0,8 MPa e de -0,4 a -1,6 MPa, respectivamente. Esse aumento na matéria seca em virtude da aplicação de ácido giberélico resulta da maior produção de assimilados (MIR et al., 2010). De forma geral, a cultivar Diplomata mesmo sendo classificada como tolerante apresentou menor conteúdo de MST. Essa ocorrência se deve provavelmente por ter atingido maior desenvolvimento, como mostra os dados referentes a relação raiz/parte aérea (Figura 7C). Com base nessa informação é possível afirmar que esse menor peso pode ser resultante do maior desenvolvimento e, conseqüentemente, da redução do peso dos cotilédones, que foram utilizados na pesagem da matéria seca.

A maior relação raiz/parte aérea reflete a capacidade genética de algumas plantas em desenvolver um sistema radicular adaptado a condições de estresse ou com características favoráveis à absorção de água e de sais minerais, sendo assim a maior razão é justificada pelo crescimento radicular em busca de água (SANES et al., 2013). A resposta para relação raiz/parte aérea apresentada pode estar relacionada ao acúmulo de hormônios vegetais, principalmente o ácido abscísico (ABA) e o etileno que estão ligados as mudanças morfológicas e fisiológicas sob condições de estresse hídrico. Ocorrendo aumento no nível de ABA, acredita-se que este estimule o fechamento estomático e diminua a relação raiz/parte aérea, devido ao estímulo do crescimento da raiz por reduzir a síntese de etileno e diminuir o crescimento do caule (TAIZ et al., 2017).

A aplicação ou suplementação exógena de fitoreguladores como é o caso do AS e do AG modulam as respostas das plantas ao estresse e regulam seu crescimento e desenvolvimento (WAQAS et al., 2019). Tratamentos pré-germinativos podem propiciar melhor desempenho das sementes e o condicionamento fisiológico permite à hidratação controlada das sementes (MARCOS-FILHO, 2015). Conforme constatado nesta pesquisa, o uso dos ácidos salicílico e giberélico promovem incrementos significativos na biomassa, sendo um meio de aumentar o vigor das plantas (AMARO et al., 2018).

Com relação aos açúcares solúveis totais, verifica-se que ambas as cultivares apresentaram incrementos destes carboidratos para todos os tratamentos quando submetidas ao estresse hídrico. Nas plântulas da cv. Compadre, as sementes tratadas com ácido giberélico e peróxido de hidrogênio resultaram em maior síntese de açúcares. Para as plântulas da cv. Diplomata, o maior acúmulo de AST foi constatado em plântulas provenientes de sementes hidrocondicionadas, que não diferiu do tratamento com peróxido de hidrogênio (Figura 8A). De uma forma geral, nos tratamentos com atenuadores e com estresse sem atenuadores, o nível de AST foi superior em relação ao controle.



Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, maiúscula (cultivares) e minúscula (tratamentos pré-germinativos), pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Figura 8.** Teores de açúcares solúveis totais - AST (A) e aminoácidos livres totais - AALT (B) de cultivares de pepino (*Cucumis sativus* L.) submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos e estresse hídrico. T1: Controle (H<sub>2</sub>O); T2: sementes sob estresse (-0,4 MPa) e sem atenuadores; T3: estresse hídrico (-0,4 MPa) + hidrocondicionamento; T4: estresse

hídrico (-0,4 MPa) + ácido giberélico; T5: estresse hídrico (-0,4 MPa) + ácido salicílico; T6: estresse hídrico (-0,4 MPa) + peróxido de hidrogênio (PH).

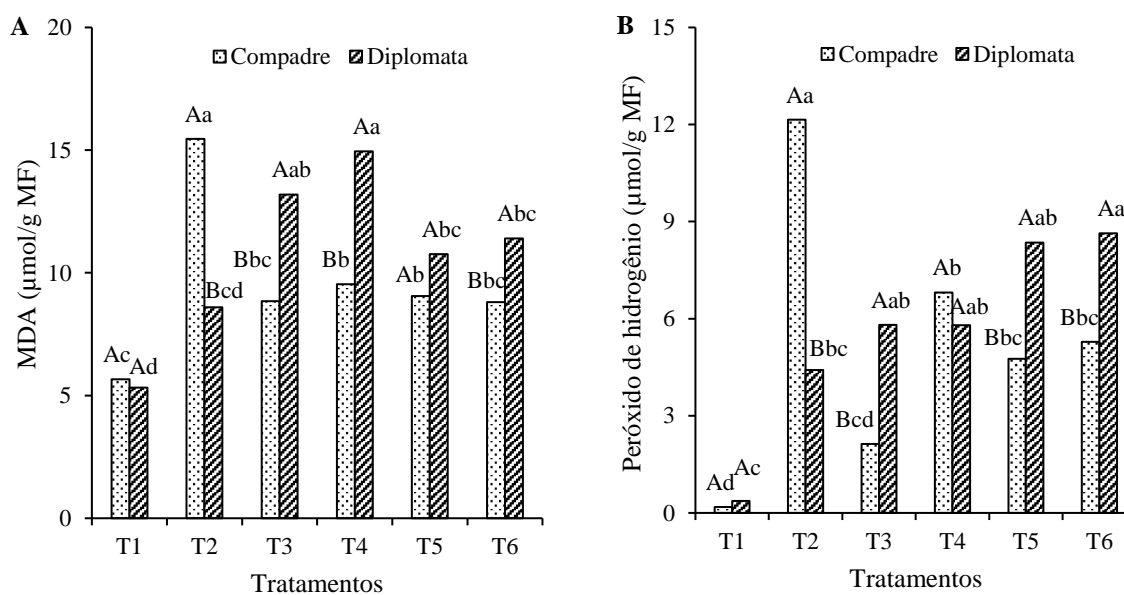
Os açúcares possuem função relacionado à osmorregulação. Assim, o acúmulo de açúcares presente nas plântulas submetidas à condição de estresse hídrico pode ter a finalidade de manter o nível de água e induzir o ajustamento osmótico na plântula, visando o equilíbrio osmótico celular (SINGH; GAUTAM, 2013). Quanto ao uso dos atenuadores é verificado a mesma resposta positiva, o aumento de AST, alterando a composição bioquímica do material, e apresentando menos danos as plântulas em meio ao estresse.

Sob estresse hídrico e sem atenuador foi verificado aumento no conteúdo de aminoácidos livres totais para a cv. Compadre registrando-se 89%, quando comparadas ao tratamento controle. Na presença de estresse hídrico não foi verificado diferenças para nenhum dos tratamentos da Compadre. Entretanto, o pré-tratamento das sementes da cultivar Diplomata com hidrocondicionamento promoveu acréscimo de 42% em relação ao controle, sendo os demais tratamentos semelhantes (Figura 8B). Assim, sugere-se que o acúmulo de AALT se faz necessário para que as plântulas tolerem a condição de estresse que está sendo imposta. A fim de lidar com toda essa situação adversa, as plântulas sintetizam e acumulam os osmoprotetores, que tem a função de suportar a pressão osmótica e manter o turgor e o gradiente de condução de água (GOLEC, 2011).

As plântulas também desenvolveram outros mecanismos para reconhecer os sinais externos, fazendo com que seja possível reagirem em meio as diferentes condições ambientais. Segundo Oliveira (2016), o sinal externo precisa ser repassado adequadamente ao interior da célula para poder modificar vias metabólicas relacionadas à tolerância a determinado estresse ambiental. Ainda segundo esses autores, essa sinalização pode ser enviada por meio de um sinal químico pelas espécies reativas de oxigênio (EROS), entre estas o peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), molécula moderadamente reativa, que é tóxica quando sua concentração é elevada.

O estresse hídrico contribuiu ativamente para a peroxidação lipídica de membrana como indicado pelo aumento no nível de MDA (malondialdeído) e peróxido de hidrogênio verificados em ambas as cultivares (Figura 9A e B, respectivamente). É possível ver o excesso de peróxido formado sob condição de estresse, possivelmente este passa a reagir com íons cobre e ferro e se transformando em radicais hidroxila. A análise de MDA é amplamente utilizada como indicadora da ocorrência de estresse oxidativo, uma vez que esse composto é resultado da reação entre as espécies reativas de oxigênio e ácidos graxos poliinsaturados de membranas (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015).

Para a cultivar Compadre, a utilização dos tratamentos pré-germinativos sob condições de estresse promoveu reduções no conteúdo de MDA e de peróxido de hidrogênio (Figura 9A e B, respectivamente). Esse fato denota efeito positivo no uso desses atenuadores para essa cultivar, embora continue ocorrendo a formação das EROs, é possível verificar maior equilíbrio homeostático. Conforme estudo já realizado Jafari et al., (2015), no qual os autores constataram reduções no conteúdo de MDA e peróxido de hidrogênio em mudas de pepino sob condições de estresse osmótico com a utilização de ácido salicílico, melhorando o desempenho da muda ao promover o aumento da atividade enzimática.



Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, maiúscula (cultivares) e minúscula (tratamentos pré-germinativos), pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Figura 9.** Peroxidação lipídica expressa pelo teor de malondialdeído (A) e Peróxido de hidrogênio (B) de cultivares de pepino (*Cucumis sativus* L.) submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos e estresse hídrico. T1: Controle (H<sub>2</sub>O); T2: sementes sob estresse (-0,4 MPa) e sem atenuadores; T3: estresse hídrico (-0,4 MPa) + hidrocondicionamento; T4: estresse hídrico (-0,4 MPa) + ácido giberélico; T5: estresse hídrico (-0,4 MPa) + ácido salicílico; T6: estresse hídrico (-0,4 MPa) + peróxido de hidrogênio (PH).

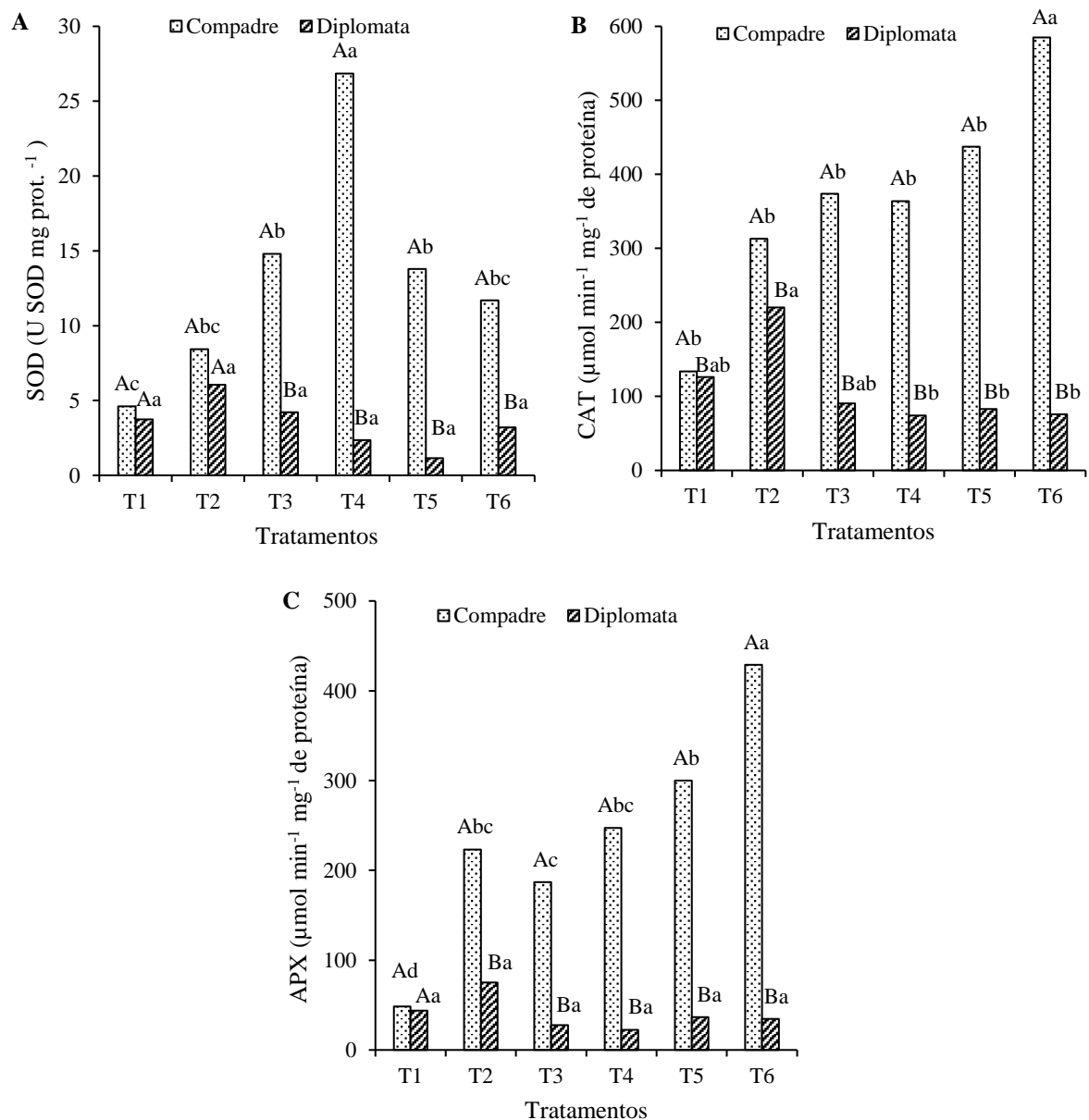
Para a cultivar Diplomata, os tratamentos com ácido giberélico e hidrocondicionamento foram os que promoveram maiores níveis de MDA, diferindo da condição de estresse sem atenuadores. No que se refere ao conteúdo de peróxido de hidrogênio, observou-se aumento desse composto quando as sementes de Diplomata foram

tratadas com peróxido de hidrogênio, os demais não diferiram da condição de estresse, fato que está diretamente ligado a atuação do sistema antioxidante de defesa (Figura 9A e 9B).

Para desintoxicar a célula das EROS produzidas, as plantas removem ou neutralizam essas moléculas, por meio do sistema enzimático formado pelas enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX), para impedir o processo de oxidação (BARBOSA et al., 2014).

Elevada atividade enzimática da SOD, CAT e APX foi constatada para a cultivar Compadre com acréscimos de 82%, 135% e 361%, respectivamente, sob condições de estresse quando comparado ao controle. Quanto aos tratamentos pré-germinativos, os maiores valores obtidos foram para o ácido giberélico (26,9) para SOD, peróxido de hidrogênio (584,9) na CAT (Figura 10A) e na APX (428,8) (Figura 10B). Na deficiência de água, o estresse é causado pela alta transpiração e para minimizar esse fato, o sistema enzimático foi ativado para equilibrar o sistema redox. A SOD é considerada a primeira linha de defesa contra as EROS, pois catalisam a dismutação de dois radicais  $O_2^-$  - gerando  $H_2O_2$  e  $O_2$  e a CAT e APX eliminam essas EROS, convertendo o  $H_2O_2$  em água e oxigênio molecular (BARBOSA et al., 2014).

Em contrapartida, verificou-se que na cultivar Diplomata ocorreu um colapso no sistema antioxidativo durante o estresse resultando da baixa atividade das enzimas. Isso fez com que não houvesse diferença entre os tratamentos, e conseqüentemente proporcionou aumento no teor de  $H_2O_2$  e MDA, conforme já verificado. Nessa cultivar, apenas a CAT resultou em alta atividade, com aumento de 75% sob condição de estresse (-0,4 MPa), e essa por sua vez não diferiu dos tratamentos controles e pré-germinativos (Figura 10 B). Em trabalhos realizados com soja, Santos Junior (2018) verificou que cultivares mais tolerantes não diferiram das sensíveis, quanto a atividade de enzimas.



Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, maiúscula (cultivares) e minúscula (tratamentos pré-germinativos), pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Figura 10.** Atividade da enzima superóxido dismutase - SOD (A), Catalase - CAT (B) e ascorbato peroxidase - APX (C) de cultivares de pepino (*Cucumis sativus* L.) submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos e estresse hídrico. T1: Controle (H<sub>2</sub>O); T2: sementes sob estresse (-0,4 MPa) e sem atenuadores; T3: estresse hídrico (-0,4 MPa) + hidrocondicionamento; T4: estresse hídrico (-0,4 MPa) + ácido giberélico; T5: estresse hídrico (-0,4 MPa) + ácido salicílico; T6: estresse hídrico (-0,4 MPa) + peróxido de hidrogênio (PH).

A comparação da atividade enzimática do sistema antioxidativo entre cultivares de pepino consideradas tolerantes e sensíveis ao déficit hídrico, sugere que outros mecanismos



de tolerância podem estar atuando. Portanto, mais estudos são necessários para o esclarecimento dos mecanismos da tolerância de plântulas dessa espécie ao déficit hídrico.

## 4 CONCLUSÕES

A germinação das cultivares de pepino Safira, Prêmio, Compadre, Campeiro, Runner, Diplomata e Sliced Max não é afetada até o potencial osmótico de -0,4 MPa.

Potencial osmótico de -0,4 MPa é crítico para as características fisiológicas de das cultivares de pepino.

As cultivares Compadre e Diplomata são apontadas como sensível e tolerante ao estresse hídrico ao nível de -0,4 MPa, respectivamente.

Os tratamentos pré-germinativos de sementes por meio de hidrocondicionamento, ácido giberélico, ácido salicílico e peróxido de hidrogênio são eficientes para mitigar o efeito do estresse hídrico sob a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de pepino.

O emprego das substâncias atenuadoras provoca aumento da atividade das enzimas antioxidantes na cultivar Compadre, com conseqüente redução dos conteúdos de malondialdeído (peroxidação lipídica); sendo assim conseguiram contornar os níveis de estresse para essa cultivar. Enquanto para a cultivar Diplomata há resposta a atividade enzimática ocorrendo investimento em outra rota metabólica.

O peróxido e MDA são marcadores eficientes de estresse. E, quando acompanhados pela resposta sincrônica das enzimas conseguem mitigar os efeitos do estresse oxidativo.

## REFERÊNCIAS

- AKITHA DEVI, M. K.; P. GIRIDHAR. Variations in physiological response, lipid peroxidation, antioxidant enzyme activities, proline and isoflavones content in soybean varieties subjected to drought stress. **Proceedings National Academy Science**, v. 85, p. 35-44, 2015. <https://doi.org/10.1007/s40011-013-0244-0>
- ALEXIEVA, V., SERGIEV, I., MAPELLI, S., KARANOV, E. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant, Cell & Environment**, v. 24, p. 1337-1344, 2001. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2001.00778.x>
- ALMEIDA, J. P. N.; PAIVA, E. P.; TORRES, S. B.; SÁ, F. V. S.; LEITE, M. S. Germination and biochemical changes in West Indian gherkin seeds under water stress at different temperatures. **Revista Ciência Agronômica**, v. 50, n. 3, p. 411-419, 2019. <http://ccarevista.ufc.br/seer/index.php/ccarevista/article/view/5821>
- AL-SHAHEEN, M. R.; SOH, A. The effect of water deficit and gibberellin acid on growth, productivity of corn (*Zea mays* L.), **Journal of Advanced Research in Agriculture Science & Technology**, v. 1, n. 1, p. 52-56, 2018.
- ALVES, C. Z.; LOURENÇO, F. M. S.; SILVA, J. B.; SILVA, T. R. B. Efeito do estresse hídrico e salino na germinação e vigor de sementes de maxixe. **Interciência**, v. 39, n. 5, p. 333-337, 2014. <https://www.interciencia.net/wp-content/uploads/2017/11/333-c-ALVES-5.pdf>
- AMARO, A. C. E.; RAMOS, A. R. P.; MACEDO, A. C.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. Effects of the fungicides azoxystrobin, pyraclostrobin and boscalid on the physiology of Japanese cucumber. **Scientia Horticulturae**, v. 228, p. 66-75, 2018. <http://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.10.016>
- AMOOAGHAIE, R.; TABATABAIE, F. Osmopriming-induced salt tolerance during seed germination of alfalfa most likely mediates through H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> signaling and upregulation of heme oxygenase. **Protoplasma**, v. 254, n. 4, p. 1791-1803, 2017. <http://doi.org/10.1007/s00709-016-1069-5>
- ANJUM, S. A.; ASHRAF, U.; TANVEER, M., KHAN, I.; HUSSAIN, S.; SHAHZAD, B.; ZOHAIB, A.; ABBAS, F.; SALEEM, M. F.; ALI, I.; WANG, L. C. Drought induced changes in growth, osmolyte and antioxidant metabolism of three maize hybrids. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 1-12, 2017. <http://doi.org/10.3389/fpls.2017.00069>
- ARAÚJO, D. E.; MELO A. S.; ROCHA, M. S.; CARNEIRO, R. F.; ROCHA, M. M.; Germination and initial growth of cowpea cultivars under osmotic stress and salicylic acid. **Revista Caatinga**, v.31, n. 1, p. 80-89, 2018. <http://dx.doi.org/10.1590/1983-21252018v31n110rc>
- 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 leaves

and roots of wild-type and catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum**, v. 104, p. 280-292, 1998. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1998.1040217.x>

BARBOSA, M.R.; SILVA, M.M.A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T.R. Plant generation and enzymatic detoxification of reactive oxygen species. **Ciência Rural**, v. 44, n. 3, p. 453-460, 2014. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782014000300011>

BATISTA, S. C. P.; COSTA, S. C. F. C.; COSTA, F. S.; BONATTO, E. C. S. Frutas e hortaliças orgânicas comercializadas na feira da associação dos produtores orgânicos do Amazonas (APOAM) de Manaus, AM. **Revista Terceira Margem Amazônia**, v. 4, n. 12, 2019.

BRADFORD, 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. <http://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SDA/ACS. 399p, 2009. [https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/arquivos-publicacoes-insumos/2946\\_regras\\_analise\\_sementes.pdf](https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/arquivos-publicacoes-insumos/2946_regras_analise_sementes.pdf)

COSTA, H. S. L. **Efeito do estresse salino e hídrico em sementes de quinoa tratadas com GA<sub>3</sub>**. 2018.73f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Fitotecnia), Fortaleza, 2018.

COTINGUIBA, G. G.; SILVA, J. R. N.; AZEVEDO, R. R. S.; ROCHA, T. J. M.; SANTOS, A. F. Método de avaliação da defesa antioxidante: uma revisão de literatura. **Científica. Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 15, n. 3, p. 231-237, 2013. <https://doi.org/10.17921/2447-8938.2013v15n3p%25p>

DILDEY, O. D. F.; IURKIV, L.; HENKEMEIER, N. P.; FAVORITO, P.; VAZ, V. F.; RISSATO, B. B.; GUIMARÃES, V. F. Efeito da aplicação de ácido giberélico na germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de quinoa. **Journal of Agronomic Sciences**, v. 5, n. 2, p. 1-9, 2016.

DUTRA, W. F.; MELO, A. S.; SUASUNA, J. F.; DUTRA, A. F.; SILVA, D. C., MAIA, J. M. Antioxidative Responses of Cowpea Cultivars to Water Deficit and Salicylic Acid Treatment. **Agronomy Journal**, v. 109, n. 3, p. 895–905, 2017. <http://dx.doi.org/10.2134/agronj2015.0519>

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001>

GALVIZ-FAJARDO, Y. C.; BORTOLIN, G. S.; DEUNER, S.; AMARANTE, L.; REOLON, F.; MORAES, D. M. Seed priming with salicylic acid potentiates water restriction-induced effects in tomato seed germination and early seedling growth **Journal of Seed Science**, v.42, e202042031, p. 1-12 2020.

<http://dx.doi.org/10.1590/2317-1545v42n1221062>

GANESH, S. S.; NARWADE, A. V.; MALI, S. C.; NEETHU, T. M.; ZINZALA, V. N.; KUDACHE, A. N. Antioxidant Responses to Water Regimes by Sugarcane Varieties. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 6, n. 12, p. 4102-4109, 2017. <http://dx.org/10.20546/ijcmas.2017.612.471>

GOSS, J. A. **Physiology of plants and their cells**. New York: Pergamon, 1973, 457p.

GIANOPOLITIS C. N.; RIES S. K. Superoxide dismutases: I. Occurrence in Higher Plants. **Plant Physiology**, v. 59, p. 309-314, 1977. <http://dx.org/10.1104/pp.59.2.309>

GOLEC, A. D. Arabidopsis seed germination under abiotic stress as a concert of action of phytohormones. **OMICS: A Journal of Integrative Biology**, v. 15, n. 11, p. 1- 12, 2011. <http://dx.org/10.1089/omi.2011.0082>

GULER, N. S.; PEHLIVAN, N. Exogenous low-dose hydrogen peroxide enhances drought tolerance of soybean (*Glycine max* L.) through inducing antioxidant system. **Acta Biologica Hungarica**, v. 67, n. 2, p. 169-183, 2016. <http://dx.org/10.1556/018.67.2016.2.5>

GUPTA, B.; HUANG, B. Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization. **International Journal of Genomics**, v. 2014, n. 1, p. 1-18, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/701596>

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free Radicals in Biology and Medicine**. 5 edição. Oxford, United Kingdom: Oxford University Press, 2015.

HASANUZZAMAN, M.; BHUYAN, M.; ANEE, T.I.; PARVIN, K.; NAHAR, K.; MAHMUD, J.A.; FUJITA, M. Regulation of ascorbate-glutathione pathway in mitigating oxidative damage in plants under abiotic stress. **Antioxidants (Basel)**, v. 8, p. 1-50, 2019. <http://dx.org/10.3390/antiox8090384>

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. <http://dx.org/10.1104/pp.84.2.450>

HOSSAIN, M. A; WANI, S. H.; BHATTACHARJEE, S.; BURRITT, D. J.; TRAN, L. S. P. **Drought stress tolerance in plants**. Switzerland: Springer International Publishing, 2016. 526 p.

JAFARI, S. R.; ARVIN, S. M. J.; KALANTARI, K. M. Response of cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings to exogenous silicon and salicylic acid under osmotic stress. **Acta Biologica Szegediensis**, v. 59, n. 1, p. 25-33, 2015. <http://www.sci.u-szeged.hu/ABS>

JAVED, R.; YÜCESAN, B.; GUREL, E. Hydrogen peroxide-induced steviol glycosides accumulation and enhancement of antioxidant activities in leaf tissues of *Stevia rebaudiana* Bertoni. **Sugar Tech**, v. 20, n. 1, p. 100-104, 2018. <https://doi.org/10.1007/s12355-017-0521-y>

LAXA, M.; LIEBTHAL, M.; TELMAN, W.; CHIBANI, K.; DIETZ, K. J. The role of the plant antioxidant system in drought tolerance. **Antioxidants (Basel)**, v.8, n. 4, p. 1-31, 2019. <https://doi.org/10.3390/antiox8040094>

MAGUIRE, J. D. Speed of germination - aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, n. 1, 1962. <https://doi.org/10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x>

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

MASETTO, 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 crame. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, n. 3 p. 511 - 519, 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-31222011000300014>

MATIAS, J. R.; SILVA, T. C. F. S.; OLIVEIRA, G. M.; ARAGÃO, C. A.; DANTAS, B. F.; germinação de sementes de pepino cv. Caipira em condições de estresse hídrico e salino. **Revista SODEBRAS**, v. 10, n. 113, p. 33-39, 2015.

MEHLA, N.; SINDHI, V.; JOSULA, D.; BISHT, P.; WANI, S. H. **An introduction to antioxidants and their roles in plant stress tolerance. In reactive oxygen species and antioxidant systems in plants: role and regulation under abiotic stress**; Khan, M.I.R., Khan, N.A., Eds.; Springer: Singapore, 2017; p. 1–23.

METHENNI, K.; ABDALLAH, M. B.; NOUAIRI, I.; SMAOUI, A.; AMMAR, W. B.; ZARROUK, M.; YOUSSEF, N. B.; Salicylic acid and calcium pretreatments alleviate the toxic effect of salinity in the Oueslati olive variety. **Scientia Horticulturae**, v. 233, n. 1, p. 349-358, 2018. [doi: 10.1016/j.scienta.2018.01.060](https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.01.060)

MEWARD, A. R. M. A.; DESOKY, E. S. M.; RADY, M. M. Response of water deficit-stressed *Vigna unguiculata* performances to silicon, proline or methionine foliar application. **Scientia Horticulturae**, v. 228, p. 132–144, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.10.008>

MIR, M. R.; MOBIN, M.; KHAN, N. A.; BHAT, M. A.; LONE, N. A.; BHAT, K. A.; RAZVI, S. M.; WANI, S. A.; WANI, N.; AKHTER, S.; RASHID, S.; MASOODI, N. H.; PAYNE, W. A.– Crop responses to interaction between plant growth regulators and nutrients. **Journal of Phytology**, v. 2, n. 10, p. 9-19, 2010. [https://www.researchgate.net/publication/286927747\\_CROP\\_RESPONSES\\_TO\\_INTERACTION\\_BETWEEN\\_PLANT\\_GROWTH\\_REGULATORS\\_AND\\_NUTRIENTS](https://www.researchgate.net/publication/286927747_CROP_RESPONSES_TO_INTERACTION_BETWEEN_PLANT_GROWTH_REGULATORS_AND_NUTRIENTS)

MITTLER, R. ROS are good. **Trends in Plant Science**, v. 22, n. 1, p. 11–19, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2016.08.002>

NAKANO, Y.; ASADA, K.: Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplast. **Plant and Cell Physiology**, v. 22, p. 867-880, 1981. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232>

- NIU, L.; LIAO, W. Hydrogen peroxide signaling in plant development and abiotic responses: crosstalk with nitric oxide and calcium. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, article: 230, 2016. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00230>
- OLIVEIRA, F. A.; MEDEIROS, J. F.; CUNHA, R. C.; SOUZA, M. W. L.; LIMA, L. A. Uso de bioestimulante como agente amenizador do estresse salino na cultura do milho pipoca. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 47, n. 2, p. 307-315, 2016.
- OLIVEIRA, G. M. **Efeito do pré-tratamento foliar com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sobre o proteoma e enzimas antioxidantes em plantas de feijão-de-corda submetidas ao estresse salino**. 2016. 126 f. Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Fortaleza, 2016.
- PATADE, V. Y.; MAYA, K.; ZAKWAN, A. Seed priming mediated germination improvement and tolerance to subsequent exposure to cold and salt stress in capsicum. **Research Journal of Seed Science**, v. 4, n. 3, p. 125 -136, 2011. <https://doi.org/10.3923/rjss.2011.125.136>
- PEDÓ, T.; MARTINAZZO, E. G.; BACARIN, M. A.; ANTUNES, I. F.; KOCH, F.; MONTEIRO, M. A.; PIMENTEL, J. R.; TROYJACK, C.; VILLELA, F. A.; AUMONDE, T. Z. Crescimento de plantas e vigor de sementes de feijão em resposta à aplicação exógena de ácido giberélico. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 41, n. 3, p. 757-770, 2018. <https://doi.org/10.19084/RCA17169>
- QI, W.; ZHANG, L.; WANG, L.; XU, H.; JIN, Q.; JIAO, Z. Pretreatment with low-dose gamma irradiation enhances tolerance to the stress of cadmium and lead in *Arabidopsis thaliana* seedlings. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 115, n. 1, p. 243–249, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.02.026>
- ROCHA, G. T.; PRADO, A. D. L.; MELO, B. S.; RODRIGUES, F. Germinação de espécies de eucalipto sob estresse hídrico simulado. **Revista de Biotecnologia & Ciência**, v. 8, n. 2, p. 1-8, 2019.
- SANTOS JUNIOR, H. C. **Germinação e atividade de enzimas antioxidativas na caracterização da tolerância de cultivares de soja ao estresse hídrico**. 2018. 39 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2018.
- SANES, F. S.M.; CASTILHOS, R. M. V.; SCIVITTARO, W. B.; VAHL, L. C.; MORAIS, J. R. Morfologia de raízes e cinética de absorção de potássio em genótipos de arroz irrigado. **Rev. Bras. Ciência do Solo**, v. 37, n. 3, p. 688-697, 2013. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832013000300015>
- SINGH, P. K.; GAUTAM, S. Role of salicylic acid on physiological and biochemical mechanism of salinity stress tolerance in plants. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 35, n. 8, p. 2345-2353, 2013. <https://doi.org/10.1007/s11738-013-1279-9>
- SILVA, M. L. M.; ALVES, E. U.; BRUNO, R. de L. A.; MOURA, SUELI DA SILVA SANTOS NETO, A. P. dos S. Germinação de sementes de *Chorisia glaziovii* O. Kuntze submetidas ao estresse hídrico em diferentes temperaturas. **Ciência Florestal**, v. 26, n. 3, p. 999–1007, 2016. <http://dx.doi.org/10.5902/1980509824229>

SILVA, J. E. S. B.; PAIVA, E. P.; LEITE, M. S.; TORRES, S. B.; SOUZA NETA, M. L.; GUIRRA, K. S. Salicylic acid in the physiological priming of onion seeds subjected to water and salt stresses. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 23, n. 12, p. 919-924, 2019. <http://dx.doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v23n12p919-924>

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

TALBI, S. ROMERO-PUERTAS, M. C.; HERNÁNDEZ, A.; TERRÓN, L.; FERCHICHI, A.; SANDALIO, L. M. Drought tolerance in a Saharian plant oudneya africana: role of antioxidante defences. **Environmental and Experimental Botany** v.111, p. 114-126, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2014.11.004>

UZUAZOKARO, M.-M. A.; OKWESILI, F. C. N.; CHIOMA, A. A. Phytochemical and proximate composition of cucumber (*Cucumis sativus*) fruit from Nsukka, Nigeria. **African Journal of Biotechnology**, v. 17, n. 38, p.1215–1219, 2018.

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, 1991.

WAQAS, M. A.; KAYA, C.; RIAZ, A.; FAROOQ, M.; NAWAZ, I.; WILKES, A.; LI, Y. Potential Mechanisms of Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants Induced by Thiourea. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, p. 1336, 2019. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01336>

WOJTYLA, L.; LECHOWSKA, K.; KUBALA, S.; GARNCZARSKA, M. Different modes of hydrogen peroxide action during seed germination. **Frontiers in Plant Science**, v.7, n. 66, p.1-16, 2016. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00066>

YEMM, E. W.; COCCKING, E. C. The determination of amino acid with ninhydrin. **Analyst**, v. 80, n. 2, p. 209-213, 1955.

YEMM, E.W. & WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. **Biochemical Journal**, v. 57, n. 3, p. 508-514, 1954. <https://doi.org/10.1042/bj0570508>



### CAPÍTULO 3

#### POTENCIAL FISIOLÓGICO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE SEMENTES DE PEPINO (*Cucumis sativus* L.) PRÉ-TRATADAS COM ATENUADORES E SUBMETIDAS AO ESTRESSE SALINO

**RESUMO:** Pepino (*Cucumis sativus* L.) é uma hortaliça muito apreciada no mundo, sendo empregada para fins alimentício, cosmético e medicinal. Devido à importância dessa cultura, conhecer os fatores que controlam a germinação das sementes podem gerar alternativas para futuras estratégias de manejo. Com isso, objetivou-se avaliar a tolerância e a ação de atenuadores de estresse aplicados em cultivares de pepino submetidas a salinidade durante a germinação e crescimento inicial das plântulas. A pesquisa foi realizada em duas etapas, sendo a primeira em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5 x 7, sendo cinco níveis de potencial osmótico (0; -0,2; -0,4; -0,6 e -0,8 MPa simulados pelo cloreto de sódio (NaCl)) e sete cultivares de pepino (Safira, Prêmio, Compadre, Campeiro, Runner, Diplomata e Sliced Max). Na segunda etapa, o delineamento foi o inteiramente casualizado, com os tratamentos arranjados em esquema fatorial 2 x 6 (duas cultivares, uma sensível e outra tolerante, determinadas na etapa I e seis combinações do potencial osmótico e pré-tratamento de sementes: T1 = sementes não tratadas + 0,0 MPa -controle, T2 = -0,8 MPa -estresse salino + sementes não tratadas, T3 = -0,8 MPa + hidrocondicionamento, T4 = -0,8 MPa + ácido giberélico, T5 = -0,8 MPa + ácido salicílico e T6 = -0,8 MPa + peróxido de hidrogênio). Ambas as etapas tiveram quatro repetições, compostas por 50 sementes cada. Nas duas etapas foram avaliadas as seguintes variáveis: germinação, índice de velocidade de germinação, comprimento e massa seca de plântulas, açúcares solúveis totais e aminoácidos livres totais. Na segunda etapa, acrescentou-se a relação raiz/parte aérea, peroxidação lipídica (conteúdo de malondialdeído - MDA e de peróxido de hidrogênio, e ação do sistema de defesa antioxidativo mediante a atividade da superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX). A germinação das cultivares de pepino Safira, Prêmio, Compadre, Campeiro, Runner, Diplomata e Sliced Max não foi afetada até o potencial osmótico de -0,8 MPa. Potencial osmótico de -0,8 MPa é crítico para as características fisiológicas de das cultivares de pepino. As cultivares Runner e Diplomata são apontadas como sensível e tolerante ao estresse salino ao nível de -0,8 MPa, respectivamente. Os tratamentos pré-germinativos de sementes por meio de hidrocondicionamento, ácido giberélico, ácido salicílico e peróxido de hidrogênio são eficientes para mitigar o efeito do estresse salino sob a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de pepino. O emprego das substâncias atenuadoras provocou reduções no conteúdo de malondialdeído apenas na cultivar Runner. Não houve um trabalho sincrônico entre as enzimas superóxido dismutase, catalase e ascorbato peroxidase para nenhuma das cultivares, demonstrando que pode ter ocorrido direcionamento para outra rota metabólica.

**PALAVRAS-CHAVE:** Cucurbitaceae, tolerância, salinidade, pré-tratamento de sementes, mitigadores de estresse.

**PHYSIOLOGICAL POTENTIAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF  
CUCUMBER (*Cucumis sativus* L.) SEEDS PRE-TREATED WITH  
ATENUATORS AND SUBMITTED TO SALINE STRESS**

**ABSTRACT:** Cucumber (*Cucumis sativus* L.) is a very popular vegetable in the world, being used for food, cosmetic and medicinal purposes. Due to the importance of this culture, knowing the factors that control seed germination can generate alternatives for future management strategies. Thus, the objective was to evaluate the tolerance and action of stress attenuators applied to cucumber cultivars subjected to salinity during germination and initial seedling growth. The research was carried out in two stages, the first in a completely randomized design, in a 5 x 7 factorial scheme, with five levels of osmotic potential (0; -0.2; -0.4; -0.6 and -0.8 MPa simulated by sodium chloride (NaCl)) and seven cucumber cultivars (Sapphire, Premio, Compadre, Campeiro, Runner, Diplomata and Sliced Max). In the second step, the design was completely randomized, with treatments arranged in a 2 x 6 factorial scheme (two cultivars, one sensitive and the other tolerant, determined in step I and six combinations of osmotic potential and seed pre-treatment: T1 = untreated seeds + 0.0 MPa -control, T2 = -0.8 MPa - salt stress + untreated seeds, T3 = -0.8 MPa + hydroconditioning, T4 = -0.8 MPa + gibberellic acid, T5 = -0.8 MPa + salicylic acid and T6 = -0.8 MPa + hydrogen peroxide). Both stages had four repetitions, consisting of 50 seeds each. In both stages, the following variables were evaluated: germination, germination speed index, seedling length and dry mass, total soluble sugars and total free amino acids. In the second stage, the root/shoot ratio, lipid peroxidation (malondialdehyde - MDA and hydrogen peroxide content, and the action of the antioxidative defense system through the activity of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX) The germination of cucumber cultivars Safira, Premio, Compadre, Campeiro, Runner, Diplomata and Sliced Max was not affected up to the osmotic potential of -0.8 MPa. Osmotic potential of -0.8 MPa is critical for the physiological characteristics of cucumber cultivars. Runner and Diplomata cultivars are identified as sensitive and tolerant to salt stress at the level of -0.8 MPa, respectively. Pre-germinative seed treatments by hydroconditioning, gibberellic acid, salicylic acid and hydrogen peroxide are efficient to mitigate the effect of salt stress on germination and initial development of cucumber seedlings. malondialdehyde content only in the Runner cultivar. There was no synchronic work between the enzymes superoxide dismutase, catalase and ascorbate peroxidase for any of the cultivars, demonstrating that it may have been directed to another metabolic route.

**KEY WORDS:** Cucurbitaceae, tolerance, salinity, seed pretreatment, stress mitigators.

## 1 INTRODUÇÃO

O pepino (*Cucumis sativus* L.) é uma hortaliça muito apreciada em todas as regiões brasileiras e a grande versatilidade oferecida por esta cultura permite sua exploração em diferentes condições edafoclimáticas e níveis tecnológicos, garantindo sua importância econômica e social dentro do agronegócio de hortaliças no Brasil (MEDEIROS et al., 2018).

Devido à importância dessa cultura, o conhecimento dos fatores que controlam a germinação das sementes pode gerar alternativas para futuras estratégias de manejo. Sob condições de estresse salino, a toxicidade do sódio e do cloreto não apenas induzem distúrbios nutricionais, como também ocasiona a diminuição do potencial do meio de crescimento dificultando assim os processos de embebição, resultando na redução do processo germinativo (KHAN et al., 2019).

Sendo assim, o estresse osmótico e a toxicidade iônica são os primeiros sinais de estresse salino nas plantas (ALVES et al., 2020; DEHNAVI et al., 2020). O osmótico diz respeito à elevada concentração de sais na solução do solo ou qualquer outro ambiente de cultivo, acarretando déficit hídrico devido à redução do potencial osmótico, enquanto o efeito tóxico é decorrente dos elevados níveis dos íons que entram nas vias de transporte por meio da transpiração, reduzindo a absorção de elementos essenciais, causando danos morfológicos à planta (NÓBREGA et al., 2018). Os efeitos secundários são mais complexos, como o estresse oxidativo, pois causam disfunção metabólica, podendo gerar danos nos lipídios das membranas, proteínas e ácidos nucleicos (ZHU et al., 2016).

A salinidade afeta o crescimento das plantas em todos os estádios de desenvolvimento, todavia, a germinação, a emergência e o crescimento inicial são as fases mais afetadas pela salinidade, na maioria das culturas agrícolas (ARAUJO et al. 2016). Diversos estudos apontam para o efeito deletério da salinidade nas fases de germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de melão (NOBREGA et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2019) e de pepino (ROCHA et al., 2019).

O acúmulo excessivo dos sais altera o metabolismo, aumentando a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), tais como o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e os radicais livres como superóxido ( $O_2$ ) e o hidroxil (OH), que quando em altas concentrações são tóxicos para as células por causarem danos oxidativos (JAYAKANNAN et al., 2015). Para neutralizar os efeitos deletérios causados pelo estresse salino ocorre a ativação do sistema de defesa antioxidante, entre as principais

enzimas antioxidantes estão a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POX) e ascorbato peroxidase (APX) que são constantemente utilizadas no processo de neutralização de EROs presentes em excesso no nível celular (DEL RÍO et al., 2018).

Para que não ocorram perdas significativas para as culturas uma alternativa utilizada é a aplicação de técnicas que favoreçam ao máximo a capacidade da planta no enfrentamento ao estresse (SANTOS et al., 2019). O tratamento de sementes é um método potencialmente capaz de melhorar o seu desempenho, promovendo a superação dos efeitos negativos associados à condição estressante (ALVES et al., 2020). Durante o início do processo de germinação ocorrem alterações físico-químicas que modificam os caracteres protoplasmáticos, aumentando a atividade fisiológica do embrião, levando a uma maior absorção de água e elasticidade celular (SINGH et al., 2018).

Uma técnica utilizada é o hidrocondicionamento, que consiste na embebição controlada das sementes com água, podendo induzir mecanismos de proteção e reparação em sementes, promovendo uma possível aclimatação, permitindo que as sementes tolerem um estresse futuro (KUBALA et al., 2015). Outra técnica utilizada é a aplicação de ácido salicílico (AS), que é um composto fenólico que age na sinalização e ativação de genes, atuando como mecanismos de defesa da planta contra os estresses (METHENNI et al., 2018; SILVA et al., 2018).

O ácido giberélico e o peróxido de hidrogênio são outros agentes que contribuem para minimizar os impactos de fatores de estresse. A aplicação exógena do ácido giberélico estimula a síntese de enzimas que digerem as reservas armazenadas no endosperma, formando açúcares simples, aminoácidos e ácidos nucléicos, que são absorvidos e transportados para as regiões de crescimento do embrião (TAIZ; ZEIGER, 2017). Quanto ao efeito positivo da aplicação do peróxido de hidrogênio em sementes, tem sido observado que em concentrações adequadas, essa substância promove a produção de oxigênio para respiração mitocondrial e atividade metabólica, podendo auxiliar na superação de dormência tegumentar, permitindo melhor absorção de água (OLIVEIRA JUNIOR et al., 2017).

Diante do exposto, torna-se importante selecionar estratégias para lidar com as condições salinas presentes nas regiões semiáridas, onde muitas atividades agrícolas podem ter como estratégia o uso de águas com altos níveis de salinidades. Objetivou-se avaliar a tolerância e a ação de atenuadores de estresse em cultivares de pepino submetidas ao estresse salino durante a germinação e crescimento inicial de plântulas

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida em duas etapas no Laboratório de Análise de Sementes (LAS) e no Centro de Pesquisas em Ciências Vegetais do Semi-Árido (CPVSA), pertencentes ao Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, e no Laboratório de Fisiologia e Bioquímica de Plantas, da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte- UERN, Mossoró-RN.

Os experimentos foram realizados no período de março de 2019 a março de 2020. Foram utilizadas sementes de sete cultivares de pepino (Safira, Prêmio, Compadre, Campeiro, Runner, Diplomata e Sliced Max) disponibilizadas pela empresa Sakata Seed Sudamerica.

### 2.2 Etapa I - Germinação e tolerância de cultivares de pepino sob estresse salino

As sementes de sete cultivares de pepino foram semeadas em substrato em papel toalha especial para germinação, umedecido com as soluções aquosas de cloreto de sódio (NaCl) preparadas de acordo com Richards (1974), nos potenciais osmóticos de 0,0; -0,2; -0,4; -0,6; -0,8 MPa (correspondendo a 0,0; 5,5; 11,1; 16,6 e 22,2 dS m<sup>-1</sup>; respectivamente) a condutividade elétrica das soluções foi verificada com o auxílio de um condutivímetro e no nível zero foi utilizada apenas água deionizada para umedecer o substrato na proporção de 2,5 vezes a massa seca do substrato (BRASIL, 2009). Os rolos de papel foram incubados em germinador a 25°C com fotoperíodo de 8 horas (BRASIL, 2009).

As avaliações foram diárias até o oitavo dia após a semeadura (BRASIL, 2009). Como sementes germinadas foram consideradas aquelas que apresentaram protrusão radicular. A partir dessas contagens diárias foram obtidas as seguintes variáveis:

a) Germinação (G) - correspondente à porcentagem de plântulas normais até o oitavo dia, sendo consideradas como germinadas as que apresentavam a formação de plântula normal (BRASIL, 2009).

b) Índice de Velocidade de Germinação (IVG) - registro diário do número de sementes germinadas após a semeadura até o fim do teste de germinação, calculada pela equação proposta por Maguire (1962).  $IVG = G1/N1 + G2/N2 + \dots + Gn/Nn$ ; em que: IVG = índice de velocidade de germinação; G1, G2 e Gn = número de plântulas normais,

computadas na primeira, segunda e última contagem; N1, N2, Nn = número de dias de semeadura à primeira, segunda e última contagem.

c) Comprimento de plântulas - ao fim do teste de germinação, as plântulas normais foram mensuradas da raiz principal até o ápice foliar, utilizando uma régua graduada em milímetros e os resultados expressos em cm.

d) Massa seca de plântulas - após as mensurações, as plântulas foram separadas em raiz e parte aérea e acondicionadas em sacos de papel tipo kraft, sem descartar os cotilédones e postas para secar em estufa de circulação de ar forçado, a 65 °C por 72 horas. Após a secagem as amostras foram pesadas em balança de precisão e os resultados expressos em miligramas por plântula (mg plântula<sup>-1</sup>).

e) Aminoácidos livres totais (AALT) - foram colocados 0,2 g de massa fresca em tubos contendo 3 mL de álcool. Os tubos foram hermeticamente fechados e aquecidos em banho maria a 60 °C por 20 minutos. Para a quantificação dos teores de aminoácidos, realizou-se a medição da absorbância a 570 nm, com a aplicação do método da nihidrina ácida (YEMM; COCKING, 1955), tendo a glicina como substância padrão e os resultados expressos em  $\mu\text{mol GLI g}^{-1}$  de massa fresca.

f) Açúcares solúveis totais (AST) - a dosagem de açúcares solúveis totais foi determinada pelo método da antrona (YEMM; WILLIS, 1954), com os resultados expressos em mg de GLU g<sup>-1</sup> de massa fresca.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com esquema fatorial 5 x 7, com quatro repetições de 50 sementes cada. O primeiro fator foi constituído pelos cinco níveis de potencial osmótico (0,0; -0,2; -0,4; -0,6; -0,8 MPa) e o segundo, pelas sete cultivares de pepino (Safira, Prêmio, Compadre, Campeiro, Runner, Diplomata e Sliced Max).

## **2.2 Etapa II - Germinação e atividade antioxidante em cultivares de pepino sob uso de atenuadores de estresse salino**

Nesta etapa foi verificado os efeitos dos ácidos giberélico e salicílico, peróxido de hidrogênio e hidrocondicionamento como atenuadores do estresse salino em duas cultivares de pepino selecionadas na etapa I (uma sensível e outra tolerante) de acordo com a análise de agrupamento. Para isso, tomou-se por base a distância Euclidiana como medida de dissimilaridade, tendo assim a formação de três grupos: controle, tolerante

(melhor germinação, crescimento e maior acúmulo de massa seca na condição de maior estresse) e sensível (os piores desempenhos nas variáveis estudadas).

As concentrações dos atenuadores foram determinadas por meio da realização de pré-testes. Para o ácido giberélico, ácido salicílico e peróxido de hidrogênio utilizou-se respectivamente 1mM, 0,05mM e 10mM. Após o preparo das soluções, as sementes ficaram embebidas por 12 horas, tempo observado na curva de embebição sendo necessário para que houvesse um ganho de umidade bastante significativo. Após as 12 horas de embebição as sementes foram semeadas em substrato papel toalha, umedecido com soluções aquosas de cloreto de sódio (NaCl) sob concentração de -0,8 MPa (correspondendo a 22,2 dS m<sup>-1</sup>).

O teste de germinação foi conduzido seguindo as recomendações das Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Sendo consideradas sementes germinadas aquelas que apresentaram protrusão radicular. No final desse teste foram mensuradas as variáveis de germinação, índice de velocidade de germinação, comprimento e massa seca de plântulas, teor de açúcares solúveis totais e aminoácidos livres totais seguindo a mesma metodologia descritas na etapa I. Além disso, obteve-se a relação raiz/parte aérea, determinada através do acúmulo de biomassa do sistema radicular em relação à parte aérea da plântula.

A Peroxidação lipídica foi determinada de acordo com a metodologia de Health e Packer (1968), com modificações. A reação foi determinada através da produção de MDA (malondialdeído), um metabólito reativo ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBA). As amostras biológicas foram maceradas em TCA (Ácido tricloroacético) 0,1% na proporção de 0,2 g. 2mL<sup>-1</sup> de tampão, juntamente com 20% de PVPP (polivinilpolipirrolidona). Após a homogeneização, a amostra foi centrifugada a 10.000 rpm durante cinco minutos. Em seguida foi retirado o sobrenadante 0,25 mL e transferido para outro tubo juntamente com 1,0 mL de solução contendo 20% de TCA e 0,5% de TBA. A mistura foi mantida em banho-maria a 95 °C durante 30 minutos, sendo rapidamente resfriada por 10 minutos. A leitura foi feita em espectrofotômetro a 535 e 600 nm e os resultados expressos em nMol de MDA. g<sup>-1</sup> de matéria fresca.

Para quantificação do peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) – seguiu-se a metodologia proposta de Alexieva et al (2001). As amostras frescas foram maceradas com ácido tricloroacético (TCA) 0,1% na relação de 1,0 g. 10 mL<sup>-1</sup>. As amostras foram centrifugadas a 10.000 rpm por cinco minutos, a 4 °C. Depois transferiu-se 200 µL do sobrenadante para outro ependorff e foi adicionado 200 µL de tampão fosfato de potássio 100mM (pH

7,5) e 800  $\mu\text{L}$  de solução 1M de iodeto de potássio. As amostras permaneceram em gelo e no escuro durante uma hora. Após este período, foram retiradas do gelo e mantidas em temperatura ambiente para estabilização da reação, e em seguida, realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 390nm. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{Mol}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$ .  $\text{g}^{-1}$  de matéria fresca.

A extração de proteínas foi realizada seguindo método descrito por Azevedo et al. 1998, com modificações. o material vegetal macerado em  $\text{N}_2$  líquido e até formar um pó e adicionado 20% (p/v) de PVPP. Posteriormente, as amostras foram homogeneizadas na relação de 1 g/ 3  $\text{mL}^{-1}$  de solução tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5) suplementado com 1 mM de EDTA (ácido etilenodiaminotetracético), 3 mM de DTT (Detiotreitol). Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 10.000 rpm por 30 minutos a 4 °C. O sobrenadante coletado (sempre no gelo) foi transferido para um novo tubo tipo Eppendorf, dividido em alíquotas e armazenados a -35 °C até os ensaios das atividades enzimáticas.

As determinações de proteínas solúveis totais foram com base na metodologia de Bradford (1976), usando o soro albumina bovina (BSA) como padrão. Os valores foram determinados utilizando-se uma curva padrão de concentrações conhecidas de BSA por meio de regressão linear. Após determinar a curva padrão, realizou-se as leituras das amostras trabalhadas. Para isso, foram pipetados 20  $\mu\text{L}$  de cada solução em cubeta e adicionado 1 mL do reagente de Bradford, que após 5 minutos foi realizada a leitura. O teor proteico da amostra foi expresso em mg de proteína  $\text{g}^{-1}$  de matéria fresca.

A atividade da superóxido dismutase (SOD) foi quantificada de acordo com a metodologia de Gianopolitis e Ries (1977) com modificações. Alíquotas de 50  $\mu\text{L}$  de extrato foram transferidas para um meio de reação contendo tampão fosfato de sódio na concentração de 85 mM (pH 7,8), 780  $\mu\text{L}$  de metionina (13 mM), 30  $\mu\text{L}$  EDTA (0,1 mM) e 225  $\mu\text{L}$  de NBT – Nitro blue tetrazolium (75 mM). A reação foi iniciada pela adição de 150  $\mu\text{L}$  de riboflavina (5  $\mu\text{M}$ ) totalizando 3 mL. Na sequência os tubos foram transferidos para caixa de madeira iluminada por lâmpadas fluorescentes, pelo período de 15 minutos até a observação da reação. Em seguida as leituras foram realizadas no espectrofotômetro com comprimento de onda de 560 nm. Ressalte-se que uma unidade da SOD corresponde à quantidade de enzima capaz de inibir em 50% a fotorredução do NBT nas condições de ensaio. Para efeito de correção dos cálculos, considerou-se como branco da reação tubos que não continham extrato, com e sem exposição a luz. Sendo assim, realizou-se dois ensaio-branco (branco A e branco B). O branco (branco A) ficou sob luz juntamente com



as amostras e o B ficou em um tubo de ensaio envolvido por papel alumínio. O espectrofotômetro foi zerado com o branco B e a leitura com o branco A foi efetuada. Sendo assim, a absorbância a 560 nm de um meio de reação exatamente igual ao anterior, mas mantido no escuro por igual período, serviu de branco e foi subtraído da leitura da amostra que recebeu iluminação (GIANNOPOLITIS e RIES, 1977). Acrescente-se que as análises para as amostras de cada tratamento foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos em U.mg proteína<sup>-1</sup>.

Atividade da catalase (CAT) foi determinada por espectrofotometria seguindo a metodologia de Havir e Mchale (1987) com modificações de Azevedo et al., (1998). Inicialmente, adicionou-se H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> às amostras e a partir desse momento, a reação de degradação do peróxido foi monitorada durante um minuto. Utilizando cubetas de quartzo, as leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 240 nm (pico de absorção de luz pelo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), no tempo 0 e após 60 segundos, a 25 °C. Os resultados foram expressos em μmol min. mg proteína<sup>-1</sup>. As análises da atividade da catalase para cada tratamento também foram realizadas em triplicata.

Atividade da ascorbato peroxidase (APX) foi realizada tendo como base a metodologia de Nakano e Asada (1981), com algumas modificações. O meio de reação incubado (1 mL) foi composto de tampão 650 μL de fosfato de potássio 80 mM (pH 7,0), 100 μL de ascorbato (5 mM), 100 μL de EDTA, 100 μL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e 50 μL do extrato protéico. A atividade da APX foi determinada pela taxa de oxidação do ascorbato durante 60 segundos, em espectrofotômetro a 290 nm sob temperatura de 30 °C e expressas em μmol min<sup>-1</sup>mg<sup>-1</sup>de proteína.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com os tratamentos arranjados em esquema fatorial 2 x 6 com quatro repetições de 50 sementes cada. O primeiro fator foi constituído por duas cultivares (uma sensível e outra tolerante) e o segundo corresponde ao tratamento das sementes com os atenuadores e submetidas ao potencial osmótico -0,8 MPa (T1: controle (água destilada), T2: estresse salino -0,8 MPa + sementes não tratadas, T3: -0,8 MPa + hidrocondicionamento, T4: -0,8 MPa + ácido giberélico, T5: -0,8 MPa + ácido salicílico e T6: -0,8 MPa + peróxido de hidrogênio).

### **2.3 Análises estatísticas**

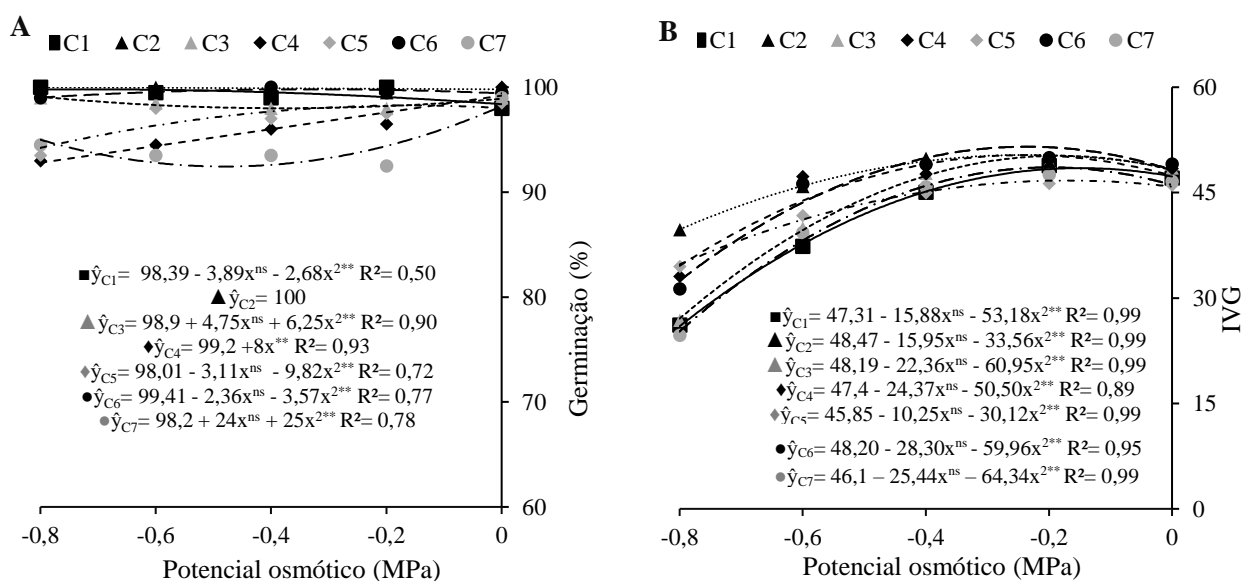
Os dados obtidos na etapa I, foram submetidos a análise de variância, teste 'F', nos casos de significância, foi aplicado o teste de agrupamento de médias Tukey para o fator

cultivares e análise de regressão para o fator potencial osmótico, ambos ao nível de 5% de significância. Já os dados obtidos na etapa II foram submetidos a análise de variância, teste 'F', e nos casos de significância, realizou-se o teste t para cultivares e o teste de medias Tukey para os atenuadores, ao nível de 5% de significância. O software estatístico foi o SISVAR<sup>®</sup> (FERREIRA, 2011).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Etapa I- Germinação e tolerância de cultivares de pepino sob estresse salino

A germinação das sementes de pepino foi reduzida para a maioria das cultivares (Safira, Compadre, Campeiro, Runner, Diplomata e Sliced Max), à medida que os potenciais osmóticos induzidos por NaCl se tornaram mais negativos, nas quais é possível observar reduções já a partir do nível -0,15 MPa para a cultivar Runner. A cultivar Campeiro teve redução linear e atingiu 93% de germinação no maior nível de estresse (-0,8 MPa), correspondendo a uma redução de 6,4% em relação a testemunha. Apesar da influência negativa do estresse salino, as cultivares apresentaram alta porcentagem de germinação (superiores a 90%), no maior nível de estresse (-0,8 MPa) (Figura 1A).



<sup>ns</sup> e <sup>\*\*</sup> = não significativo, significativo a 0,01 ( $p < 0,01$ ) de probabilidade, respectivamente. C1 - Safira; C2 - Prêmio; C3 - Compadre; C4 - Campeiro; C5 - Runner; C6 - Diplomata e C7 - Sliced Max.

**Figura 1.** Germinação (A) e índice de velocidade de germinação - IVG (B) de plântulas de cultivares de pepino (*Cucumis sativus* L.), submetidas a diferentes potenciais osmóticos induzidos por NaCl.

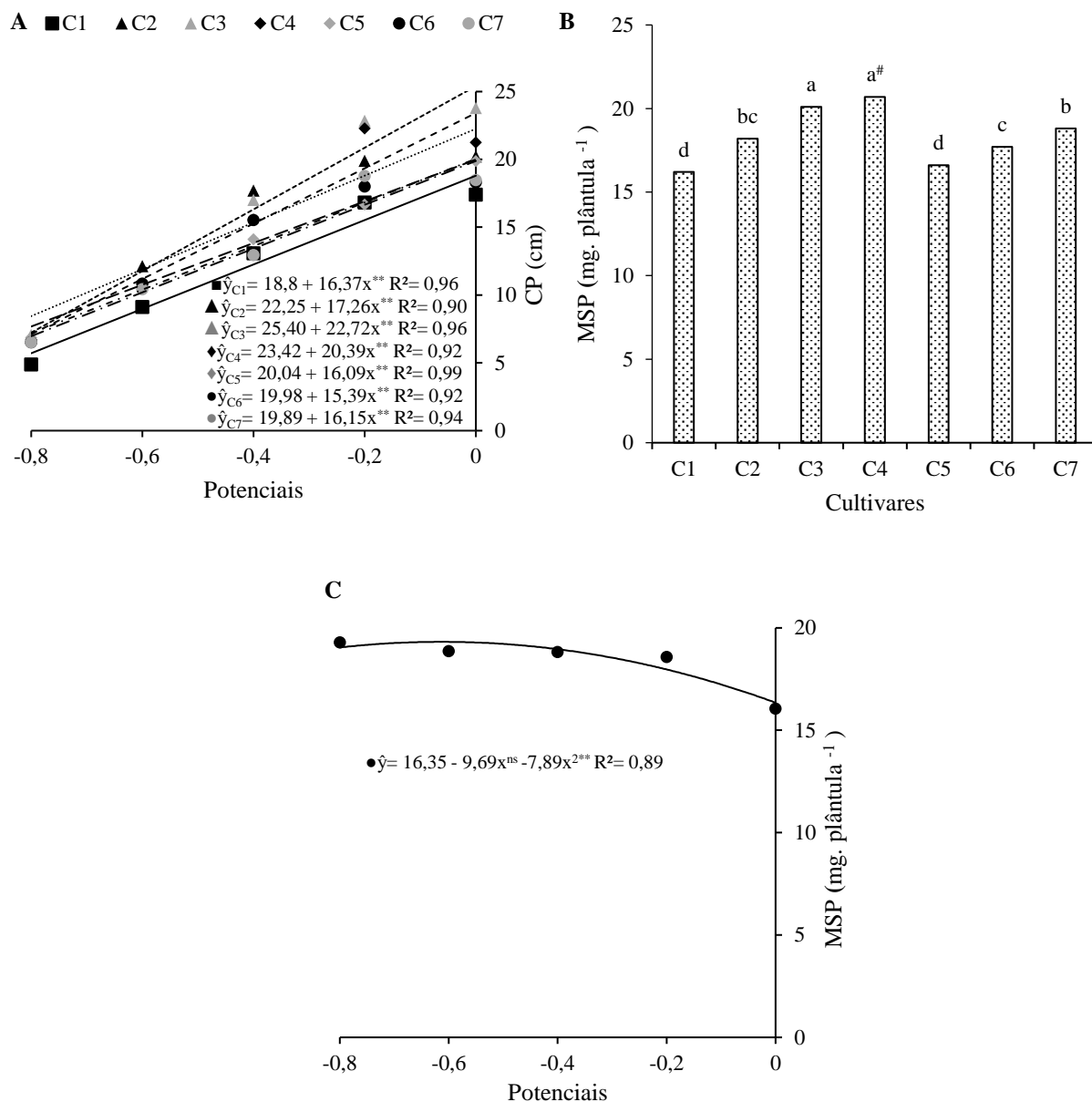
A redução dos potenciais, causada pelo aumento da concentração de NaCl, promoveu um rápido aumento no índice de velocidade de germinação entre o tratamento controle e o primeiro nível de estresse (-0,2 MPa), após esse nível todas as cultivares

apresentaram reduções. O maior índice obtido foi da cultivar Diplomata, a qual atingiu 56,2 no potencial -0,24 MPa (Figura1B). Segundo Willadino; Câmara (2010), esse aumento pode estar relacionado a condição de estresse suave e estimulante que ativa o metabolismo celular e incrementa a atividade fisiológica da planta, o que parece ser um fator positivo que impulsiona o crescimento vegetal.

Pelos resultados observa-se que a espécie mantém elevada velocidade e porcentagem de germinação sob condições de estresse salino. Esse comportamento pode estar relacionado à capacidade da espécie em promover ajuste osmótico às concentrações salinas expressando potencial de sobrevivência. Mesmo quando as condições são adversas, essa capacidade da espécie promover o ajustamento osmótico se deve a uma resposta fisiológica em função das condições às quais foram submetidas. A tolerância ao estresse salino é especialmente importante durante a germinação, na qual a alta concentração de sal pode inibir o crescimento (NEDJIMI et al., 2019; NATASHA, 2019), dependendo da concentração e principalmente da duração da exposição (SAFDAR et al., 2019; NATASHA, 2019).

Estudos apontam que os efeitos negativos do sal podem não ser evidenciados na germinação em virtude do curto período desse processo. Observações dessa natureza foram feitas por Nobrega et al. (2018) em melão pepino (*Cucumis melo* sp.), espécie crioula, onde afirmam que os meloeiros são em geral, mais tolerantes aos sais durante a germinação do que nas fases de crescimento e produção.

Para o comprimento de plântulas, verifica-se que todas as cultivares apresentaram comportamento linear decrescente, sendo obtido valores médios de 5,7; 8,4; 7,2; 7,1; 7,2; 7,7 e 7,0 cm no maior nível de estresse (-0,8 MPa), esses valores apresentaram reduções de 70, 62, 72, 70, 64, 61 e 64% para as cultivares Safira; Prêmio; Compadre; Campeiro; Runner; Diplomata e Sliced Max, respectivamente, quando comparadas ao controle (Figura 2A).



<sup>ns</sup> e <sup>\*\*</sup> = não significativo, significativo a 0,01 ( $p < 0,01$ ) de probabilidade, respectivamente.  
<sup>#</sup>Letras iguais não diferem perante o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ( $p < 0,05$ ).  
 C1 - Safira; C2 - Prêmio; C3 - Compadre; C4 - Campeiro; C5 - Runner; C6 - Diplomata e C7 - Sliced Max.

**Figura 2.** Comprimento de plântula - CP (A) e massa seca de plântulas - MSP (B e C) de cultivares de pepino (*Cucumis sativus* L.), submetidas a diferentes potenciais osmóticos induzidos por NaCl.

O efeito negativo da salinidade sobre o crescimento também foi relatado por Rocha et al. (2019) pesquisando o efeito do estresse salino na germinação de pepino, segundo esses autores, o estresse salino influenciou drasticamente o comprimento da cultivar colônião, constatando redução de aproximadamente 100% na concentração de -

0,8 MPa quando comparada ao controle (0,0 MPa). Esse comportamento se deve as altas concentrações de sais que interferem negativamente na fisiologia das plantas por promover interações iônicas, osmóticas e nutricionais que são deletérias às plantas, afetando conseqüentemente o seu crescimento e acúmulo de biomassa (TAIZ; ZEIGER, 2017). Sendo assim, o acúmulo de sódio é altamente deletério para as plantas, com efeitos que podem incluir interferência na atividade do potássio para planta, promovendo desequilíbrio na homeostase celular, estresse oxidativo, deficiência de nutrientes, crescimento retardado e até mesmo morte de células vegetais (CABOT et al., 2014).

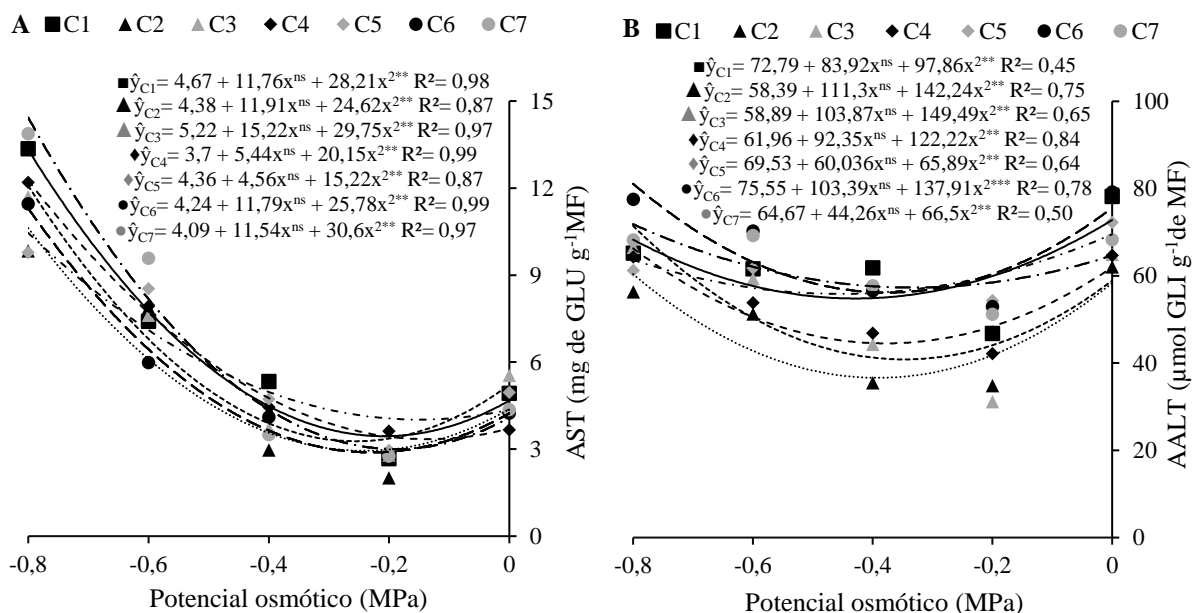
Para massa seca de plântula, ocorreu efeito isolado dos fatores estudados, considerando as cultivares verificou-se que as cvs, Compadre e Campeiro apresentaram maiores acúmulos de massas (20,1 e 20,7 mg plântula<sup>-1</sup> respectivamente). Enquanto as menores médias foram obtidas para as cultivares Safira e Runner com massa de 16,2 e 16,6 mg plântula<sup>-1</sup> respectivamente, apresentando-se assim inferiores em 20% quando comparadas as cultivares que tiveram maiores acúmulos de massa seca (Figura 2B).

Acredita-se que as variações apresentadas no acúmulo de massa seca podem estar relacionadas ao potencial de crescimento das cultivares, conforme foi verificado por Araújo et al. (2016) que avaliando o crescimento inicial e tolerância de cultivares de meloeiro, verificaram maior crescimento nos meloeiros das cultivares Gaúcho Redondo e Gaúcho Casca de Carvalho quando comparados a cultivar Halles Best Jumbo.

Quanto à massa seca de plântulas dentro dos níveis de potenciais osmótico é verificado que houve efeito quadrático com ganho de massa seca das plântulas, para qual houve acréscimos até o nível -0,61 MPa, atingindo 19,3 mg. plântula<sup>-1</sup> (Figura 2C). Esse aumento na massa seca diverge dos resultados encontrados na literatura, que é a redução na biomassa com o aumento da concentração de sais, que atuam negativamente no processo fisiológico, reduzindo a absorção de água pelas raízes, inibindo a atividade meristemática e conseqüentemente no acúmulo de fotoassimilados resultando em redução no crescimento e desenvolvimento (TAIZ et al., 2017). Provavelmente o que ocorreu foi o enrijecimento da parede de células em desenvolvimento como o mecanismo primário de ajuste frente à redução do potencial osmótico. Desse modo, a parede celular proporcionou estabilidade e proteção às plantas diante da percepção do estresse (KESTEN et al., 2017).

Para os teores de açúcares solúveis totais (AST) e aminoácidos livres totais (AALT), observou-se comportamento quadrático em função da redução do potencial osmótico induzido por NaCl em todas as cultivares estudadas (Figura 3). Os maiores

ganhos nos teores de AST foram verificados logo após o primeiro nível de estresse (-0,2 MPa) e a partir desse se tornaram crescentes até o maior nível testado, com ganhos que ultrapassaram 100% para todas as cultivares, isso quando comparados a testemunha (Figura 3A).



<sup>ns</sup> e <sup>\*\*</sup> = não significativo, significativo a 0,01 ( $p < 0,01$ ) de probabilidade, respectivamente.  
<sup>#</sup>Letras iguais não diferem perante o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ( $p < 0,05$ ).  
 C1 - Safira; C2 - Prêmio; C3 - Compadre; C4 - Campeiro; C5 - Runner; C6 - Diplomata e C7 - Sliced Max.

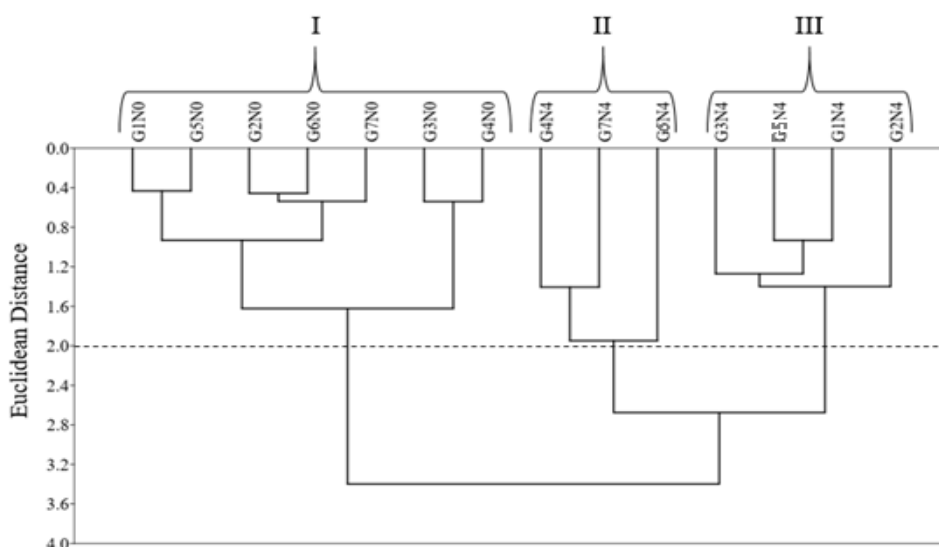
**Figura 3.** Açúcares solúveis totais- AST (A) e teores de aminoácidos livres totais- AALT (B), de plântulas de cultivares de pepino (*Cucumis sativus* L.), submetidas a diferentes potenciais osmóticos induzidos por NaCl.

Quanto ao teor de AALT, foi possível observar no maior nível (-0,8 MPa) acréscimos de 3% para a cultivar Prêmio, seguido por ganhos em torno de 7% para as cultivares: Campeiro e Diplomata, de 11% para Sliced Max e 21% para a cultivar Compadre, quando comparado a testemunha, atingindo assim 60,4; 66,2; 81,1; 71,8 e 71,46  $\mu\text{mol GLI g}^{-1}$  de MF; respectivamente. As cultivares Safira e Runner, por sua vez, apresentaram uma pequena redução (6 e 8%, respectivamente) no maior nível de estresse quando comparado com a testemunha (Figura 3B). Resultado semelhante foi citado por Ibrahim (2016), no qual afirma que o estresse salino provoca alterações fisiológicas e bioquímicas adversas na germinação de sementes.

Para superar os efeitos osmóticos induzidos pelo estresse do meio ocorre acúmulo

de substâncias inorgânicas ou síntese de solutos orgânicos, como os aminoácidos livres, para que haja ajuste osmótico e proteção de macromoléculas em resposta a diminuição do potencial de água externa (ZAVARIYAN et al., 2014; KUBALA et al., 2015).

A partir da análise de agrupamento, tomou-se por base a Distância Euclidiana como medida de dissimilaridade, com corte a uma distância 2,0 para formação de três grupos de combinações entre níveis do potencial osmótico (N) e cultivares de pepino (C). O primeiro grupo (I) foi caracterizado pelas sete cultivares na condição do menor potencial (0,0 MPa), ou seja, em condições de ausência de estresse salino. No grupo (II), conglomerados podem ser caracterizados pelas cultivares com melhor germinação, crescimento e maior acúmulo de massa seca na condição de maior estresse (-0,8 MPa), sendo em ordem das mais tolerantes: Campeiro, Sliced Max e Diplomata. No terceiro grupo III são constatadas as cultivares Compadre, Runner, Safira e Prêmio, respectivamente, que apresentaram os piores desempenhos nas variáveis estudadas, destacando-se como sensíveis ao estresse salino (Figura 4).



**Figura 4.** Dendrograma de dissimilaridade dos grupos formados pela combinação de níveis de potencial osmótico (N) e cultivares (C) de pepino C1 - Safira; C2 - Prêmio; C3 - Compadre; C4 - Campeiro; C5 - Runner; C6 - Diplomata e C7 - Sliced Max.

Entre as cultivares tolerantes do grupo II, optou-se pela cultivar Diplomata que possui características agrônômicas com considerada facilidade na comercialização e qualidade dos frutos produzidos.

No grupo III que mais se distanciou do grupo controle (sem estresse salino), e a

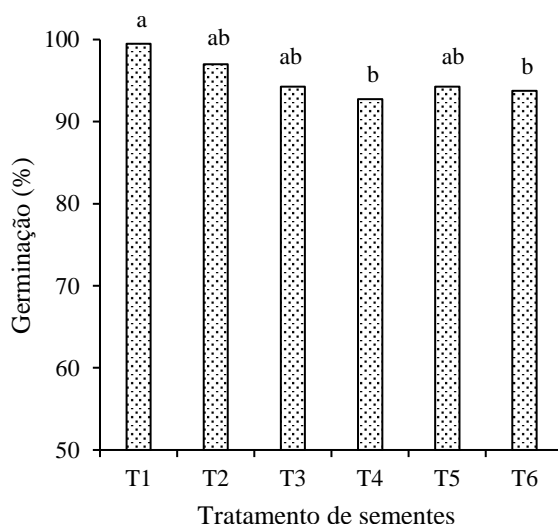


fim de dar continuidade ao estudo sobre a tolerância das cultivares, elegeu-se a cultivar Runner. Isso por conta de se tratar de um material que apresenta excelente rusticidade, uniformidade e alto rendimento, o que torna interessante na determinação do que ainda pode ser pesquisado para que este atinja essas importantes características.

O dendrograma de dissimilaridade, tomando-se por base a Distância Euclidiana pode ser usado como ferramenta importante na escolha de materiais resistente e tolerante. Trata-se de uma análise bastante criteriosa quanto aos grupos de maior sensibilidade ao estresse, uma vez que, o processo multivariado leva em consideração as múltiplas variáveis pesquisadas.

### 3.2 Etapa II- Germinação e atividade antioxidante em cultivares de pepino sob uso de atenuadores de estresse salino

A germinação das sementes de pepino apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) apenas entre os tratamentos pré-germinativos. Quando as sementes foram submetidas ao estresse salino na concentração de  $-0,8$  MPa e tratadas com o ácido salicílico e do peróxido de hidrogênio promoveram redução na germinação em 6 pontos percentuais quando comparadas ao controle, os demais tratamentos não diferiram (Figura 5).



Média seguida pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, minúscula (tratamentos pré-germinativos), pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

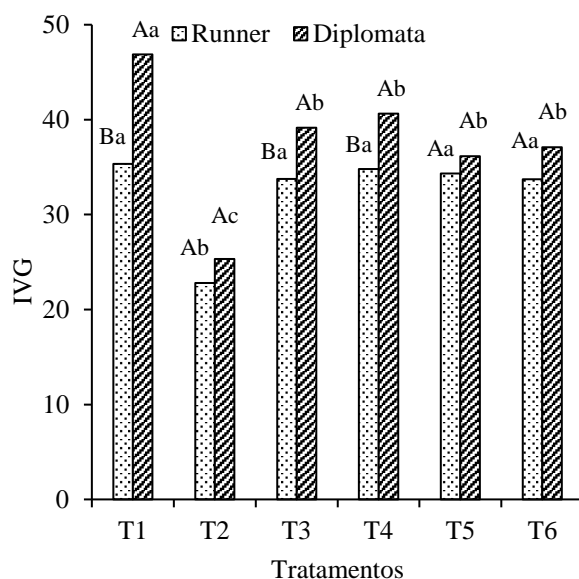
**Figura 5.** Germinação de cultivares de pepino (*Cucumis sativus* L.) submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos e estresse salino. T1: Controle ( $H_2O$ ); T2:

sementes sob estresse (-0,8 MPa) e sem atenuadores; T3: estresse salino (-0,8 MPa) + hidrocondicionamento; T4: estresse salino (-0,8 MPa) + ácido giberélico; T5: estresse salino (-0,8 MPa)+ ácido salicílico; T6: estresse salino (-0,8 MPa)+ peróxido de hidrogênio.

Pesquisa realizada por Petrovic et al., (2016) avaliando a germinação de sementes de ervilha sob condições de estresse salino, comprovou que a ervilha se mostrou tolerante ao estresse salino na concentração 100 mM, adaptando-se de forma eficiente à condição adversa imposta; para esses autores os íons de sódio diminuíram o potencial osmótico da semente e assim facilitou a absorção de água, promovendo alta germinação.

Dessa forma, pode-se inferir que mesmo com a alteração do potencial osmótico do substrato pela adição das soluções salinas, as sementes conseguiram absorver água suficiente para ativar o metabolismo e, conseqüentemente, o crescimento do embrião, possibilitando a exteriorização das estruturas que condicionam uma plântula normal. Os resultados obtidos para o teste de germinação, no presente trabalho, contrastam com os frequentemente observados na literatura, que observou-se redução acentuada da germinação das sementes de berinjela (*Solanum melongena* L.) (HANNACHI; VAN LABEKE, 2018) e nabo (*Brassica rapa* L.) (JIA et al., 2020), quando submetidas a elevadas concentrações osmóticas no substrato.

Os índices de velocidade de germinação (IVG) das sementes de pepino foram reduzidos com o estresse salino (-0,8 MPa), independentemente da cultivar analisada. Para cultivar Runner essa redução foi de 21%, enquanto na Diplomata chegou a 46% quando comparadas ao tratamento controle (Figura 6). Observa-se ainda que todos os tratamentos pré-germinativos promoveram acréscimos significativos no IVG, no caso específico da cultivar Runner, com esses tratamentos pré-germinativos o IVG não diferindo do tratamento controle.

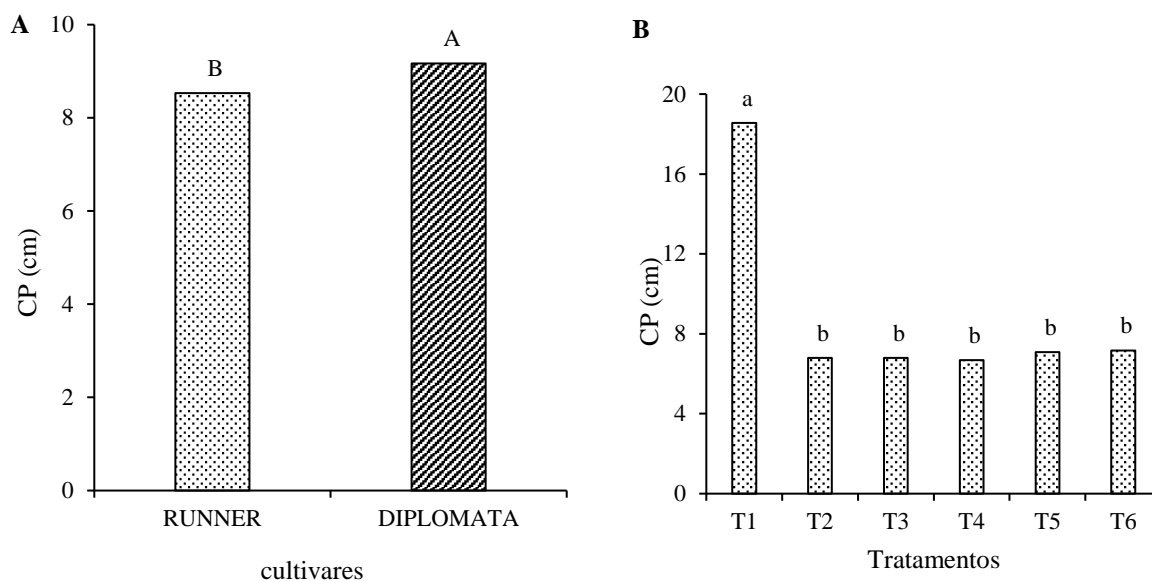


Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, maiúscula (cultivares) e minúscula (tratamentos pré-germinativos), pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Figura 6.** Índice de velocidade de germinação – (IVG) de cultivares de pepino (*Cucumis sativus* L.) submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos e estresse salino. T1: Controle (H<sub>2</sub>O); T2: sementes sob estresse (-0,8 MPa) e sem atenuadores; T3: estresse salino (-0,8 MPa) + hidrocondicionamento; T4: estresse salino (-0,8 MPa) + ácido giberélico; T5: estresse salino (-0,8 MPa)+ ácido salicílico; T6: estresse salino (-0,8 MPa)+ peróxido de hidrogênio.

A importância dos tratamentos pré-germinativos sob condições de estresse salino, está relacionado ao fato de promover maior capacidade da semente germinar em um menor espaço de tempo. Resultados semelhantes, nos quais se verifica o efeito positivo de tratamentos que mitigam o estresse salino foi observado por Oliveira et al. (2019) em sementes de melão.

No comprimento de plântulas (CP) ocorreu efeito isolado entre os fatores, cultivares e atenuadores. A Cultivar Diplomata teve maior comprimento (9,17 cm) em relação a Runner em 7,5% (Figura 7A). Quanto aos tratamentos pré-germinativos, observou-se que houve redução de 63% no comprimento de plântulas sob condições de estresse salino. Assim, constatou-se que os tratamentos pré-germinativos não alteraram a resposta das cultivares ao estresse salino para esta variável (Figura 7B).



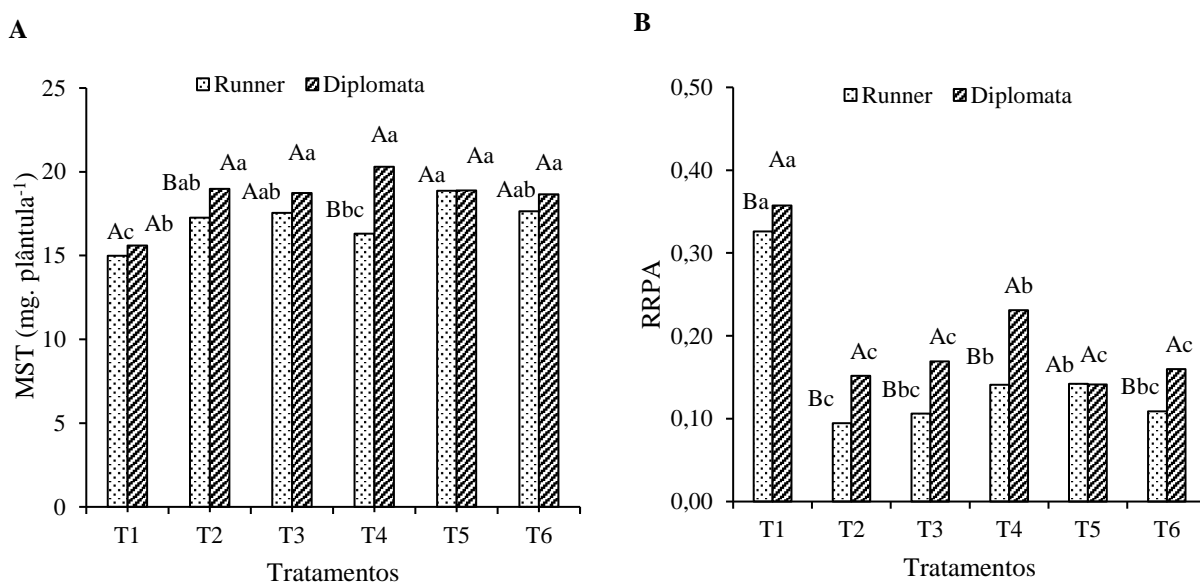
Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, maiúscula (cultivares) e minúscula (tratamentos pré-germinativos), pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Figura 7.** Comprimento de plântulas – CP (A e B) de cultivares de pepino (*Cucumis sativus* L.) submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos e estresse salino. T1: Controle (H<sub>2</sub>O); T2: sementes sob estresse (-0,8 MPa) e sem atenuadores; T3: estresse salino (-0,8 MPa) + hidrocondicionamento; T4: estresse salino (-0,8 MPa) + ácido giberélico; T5: estresse salino (-0,8 MPa)+ ácido salicílico; T6: estresse salino (-0,8 MPa)+ peróxido de hidrogênio.

A inibição do crescimento ocasionada pela salinidade se deve ao efeito osmótico, pois promove à seca fisiológica, assim como pode ocorrer o efeito tóxico, resultante da concentração de íons no protoplasma (TAIZ; ZEIGER, 2017). É verificado que durante os estágios iniciais de desenvolvimento o estresse salino influencia negativamente o processo geral de absorção de água e nutriente, e assim consequentemente provoca redução no crescimento e na produtividade das culturas (ABDELGAWAD et al., 2016).

A matéria seca de plântulas apresentou comportamento diferente do comprimento total. As plântulas submetidas a condição de estresse salino (-0,8 MPa) apresentaram maior acúmulo de massa seca total em comparação ao tratamento controle, com aumento de 15% e 22% para a cultivar Runner e Diplomata, respectivamente (Figura 8A). Provavelmente, as plântulas do tratamento controle devem ter degradado suas reservas, germinaram e se desenvolveram de forma satisfatória, enquanto as plântulas sob estresse (-0,8 MPa) tornaram-se menos desenvolvidas e com maior biomassa.

Com relação ao uso de atenuadores, verificou-se que a cultivar Runner obteve acréscimos de MST em todos os tratamentos quando comparado ao controle, além disso, a utilização do ácido salicílico promoveu o maior acúmulo de MST, diferindo dos demais e atingindo 18,9 mg (Figura 8A). Shah et al. (2021) afirmam que o uso de produtos à base de hormônios e osmoprotetores melhoram o desempenho de brassicas sob estresse salino, auxiliando no ajuste osmótico, absorção de nutrientes, trocas gasosas e produção de antioxidantes sob estresse salino. Para a cultivar Diplomata, todos os tratamentos não diferiram em relação à condição de estresse salino (Figura 8A).



Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, maiúscula (cultivares) e minúscula (tratamentos pré-germinativos), pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

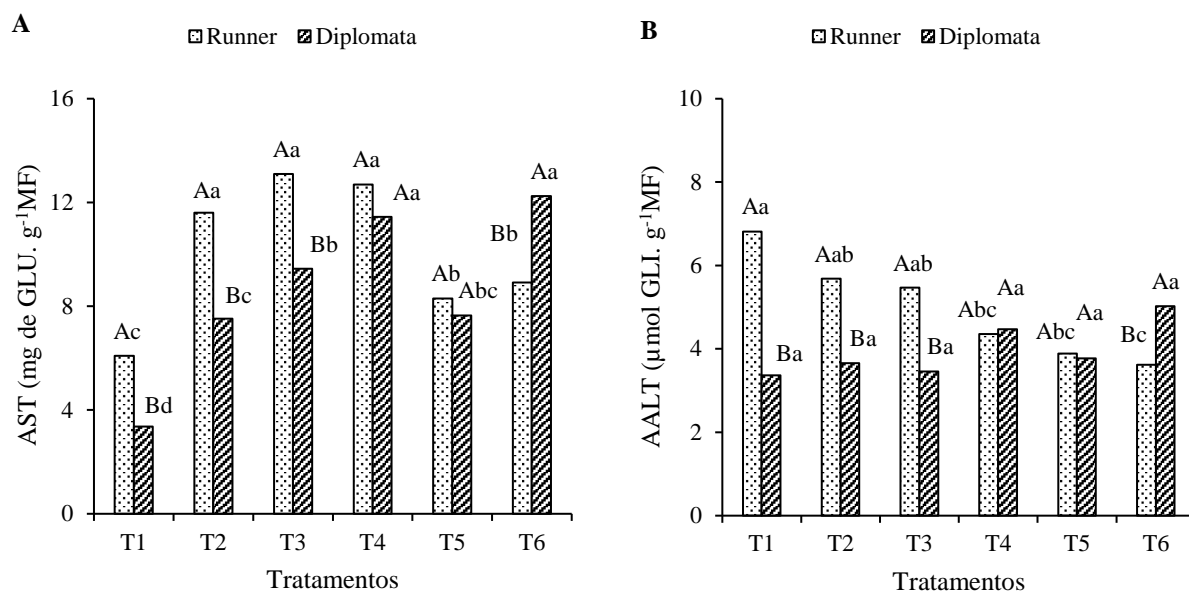
**Figura 8.** Massa seca total – MST (A) e relação raiz/parte aérea – RRPA (B) de cultivares de pepino (*Cucumis sativus* L.) submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos e estresse salino. T1: Controle (H<sub>2</sub>O); T2: sementes sob estresse (-0,8 MPa) e sem atenuadores; T3: estresse salino (-0,8 MPa) + hidrocondicionamento; T4: estresse salino (-0,8 MPa) + ácido giberélico; T5: estresse salino (-0,8 MPa) + ácido salicílico; T6: estresse salino (-0,8 MPa) + peróxido de hidrogênio.

A relação raiz/parte aérea é uma correlação de desenvolvimento, expressando o fato de que o crescimento no sistema radicular pode afetar o desenvolvimento da parte aérea e vice-versa (GOSS, 1973). Essa relação expressa um balanço funcional entre a fotossíntese e a absorção de água pelas raízes, que em condições ditas normais, apresenta

certo equilíbrio (TAIZ et al., 2017). Em plântulas de pepino foram verificadas reduções de 72 e 58% na relação raiz-parte aérea de plântulas de Runner e Diplomata, respectivamente, sob condições de estresse salino (Figura 8B). Essa diminuição da razão raiz-parte aérea com o aumento dos níveis de potenciais indica uma influência mais forte do sal na biomassa da raiz do que na biomassa da parte aérea, conforme pesquisa já realizada por Panuccio et al. (2014) e pode estar relacionada ao acúmulo de hormônios vegetais (TAIZ et al., 2017). Sendo assim, ainda é possível verificar que a cultivar tolerante apresentou menor redução na relação raiz/parte aérea sob condição de estresse.

Sob condição de estresse e com o uso de atenuadores os ácidos, salicílico (AS) e giberélico (AG) proporcionaram maior relação raiz/parte aérea, com incremento de 55% comparado à condição de estresse, nas plântulas da cultivar Runner. Para a cv. Diplomata, o ácido giberélico (AG) promoveu a maior relação raiz/parte aérea. (Figura 8B). A aplicação ou suplementação exógena de fitorreguladores como é o caso do AS e do AG modulam as respostas das plantas ao estresse e regulam seu crescimento e desenvolvimento (WAQAS et al., 2019). Tratamentos pré-germinativos podem propiciar melhor desempenho das sementes e o condicionamento fisiológico permite à hidratação controlada das sementes (MARCOS-FILHO, 2015). Conforme é constatado nesta pesquisa, o ácido salicílico melhora a tolerância ao estresse salino, aumentando o crescimento da raiz primária e promovendo incrementos significativos na biomassa, sendo um meio de aumentar o vigor das plantas (AMARO et al., 2018).

Com relação aos açúcares solúveis totais, verifica-se que ambas as cultivares apresentaram incrementos destes carboidratos para todos os tratamentos quando submetidas ao estresse salino. Nas plântulas da cv. Runner os menores teores de açúcares solúveis foram encontrados nos tratamentos com ácido salicílico e peróxido de hidrogênio, 8,3 e 8,92  $\mu\text{mol}$  de glicina/g MF, respectivamente; mesmo assim esses valores foram superiores ao controle. Para as plântulas da cv. Diplomata, os maiores teores de AST ocorreu com o uso do ácido giberélico e peróxido de hidrogênio (Figura 9A).



Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, maiúscula (cultivares) e minúscula (tratamentos pré-germinativos), pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Figura 9.** Teores de açúcares solúveis totais - AST (A) e aminoácidos livres totais - AALT (B) de cultivares de pepino (*Cucumis sativus* L.) submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos e estresse salino. T1: Controle (H<sub>2</sub>O); T2: sementes sob estresse (-0,8 MPa) e sem atenuadores; T3: estresse salino (-0,8 MPa) + hidrocondicionamento; T4: estresse salino (-0,8 MPa) + ácido giberélico; T5: estresse salino (-0,8 MPa)+ ácido salicílico; T6: estresse salino (-0,8 MPa)+ peróxido de hidrogênio.

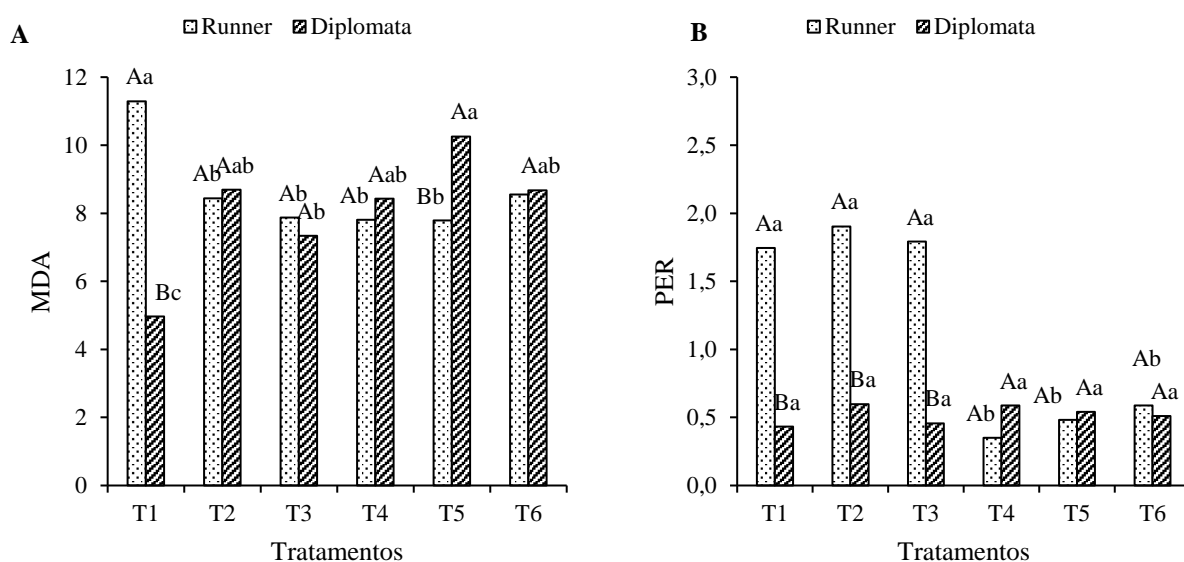
O aumento no conteúdo de açúcares em condição de estresse salino é visto como um sinal diante da situação deletéria e está relacionado ao ajuste osmótico. Isso porque, a salinidade afeta negativamente, e a adaptação osmótica é crítica para sustentar o turgor celular, necessário para manter o crescimento, a produtividade e o rendimento (ARIF et al., 2020). Os açúcares atuam como um forte osmólito estabilizador da integridade da membrana que protege a proteína da agregação e desnaturação, além disso, mitigam o estresse, promovendo o crescimento, extinguindo EROS (ZHANG; DAI, 2019). Quanto ao uso dos atenuadores é verificado a mesma resposta positiva, o aumento de AST, alterando a composição bioquímica do material, promovendo menos danos as plântulas em meio ao estresse.

O conteúdo de aminoácidos livres totais não diferiu na presença do estresse salino, independente da cultivar estudada. No entanto, os tratamentos pré-germinativos

apresentaram respostas diferentes. Na cultivar Runner, verificou-se que os ácidos giberélico e salicílico além do peróxido de hidrogênio promoveram reduções nos teores de AALT, quando comparados ao controle. Para a Diplomata nenhum tratamento diferiu (Figura 9B). Assim, os conteúdos de aminoácidos nos tratamentos com o ácido giberélico, o salicílico e o peróxido de hidrogênio atuaram como moléculas de sinalização, protegendo as plântulas do estresse salino e contribuíram para o aumento dos mecanismos de defesa (NOMAN et al., 2020; POVEDA et al., 2020).

As plântulas também desenvolveram outros mecanismos para aliviar o estresse causado pela redução do potencial osmótico e assim melhorar suas respostas fisiológicas e bioquímicas, controlando os danos oxidativos e desintoxicação para lidar com o estresse salino (BHATTARAI et al., 2020; KAMRAN et al., 2020). O aumento de espécies reativas de oxigênio, que são produtos do estresse oxidativo, incluindo peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) e radicais hidroxila (OH). Essas moléculas são tóxicas quando sua concentração é elevada nas células vegetais sob altos níveis de estresse, prejudicando as organelas celulares, DNA e lipídeos (LI et al., 2015).

O estresse salino contribuiu ativamente para a peroxidação lipídica de membrana como indicado pelo aumento no nível de MDA (malondialdeído) e peróxido de hidrogênio verificados em ambas as cultivares (Figura 10). A análise de MDA é amplamente utilizada como marcador de dano oxidativo (BEN MRID et al., 2018).



Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, maiúscula (cultivares) e minúscula (tratamentos pré-germinativos), pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Figura 10.** Peroxidação lipídica expressa pelo teor de malondialdeído MDA (A) e



Peróxido de hidrogênio (B) de cultivares de pepino (*Cucumis sativus* L.) submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos e estresse salino. T1: Controle (H<sub>2</sub>O); T2: sementes sob estresse (-0,8 MPa) e sem atenuadores; T3: estresse salino (-0,8 MPa) + hidrocondicionamento; T4: estresse salino (-0,8 MPa) + ácido giberélico; T5: estresse salino (-0,8 MPa)+ ácido salicílico; T6: estresse salino (-0,8 MPa)+ peróxido de hidrogênio.

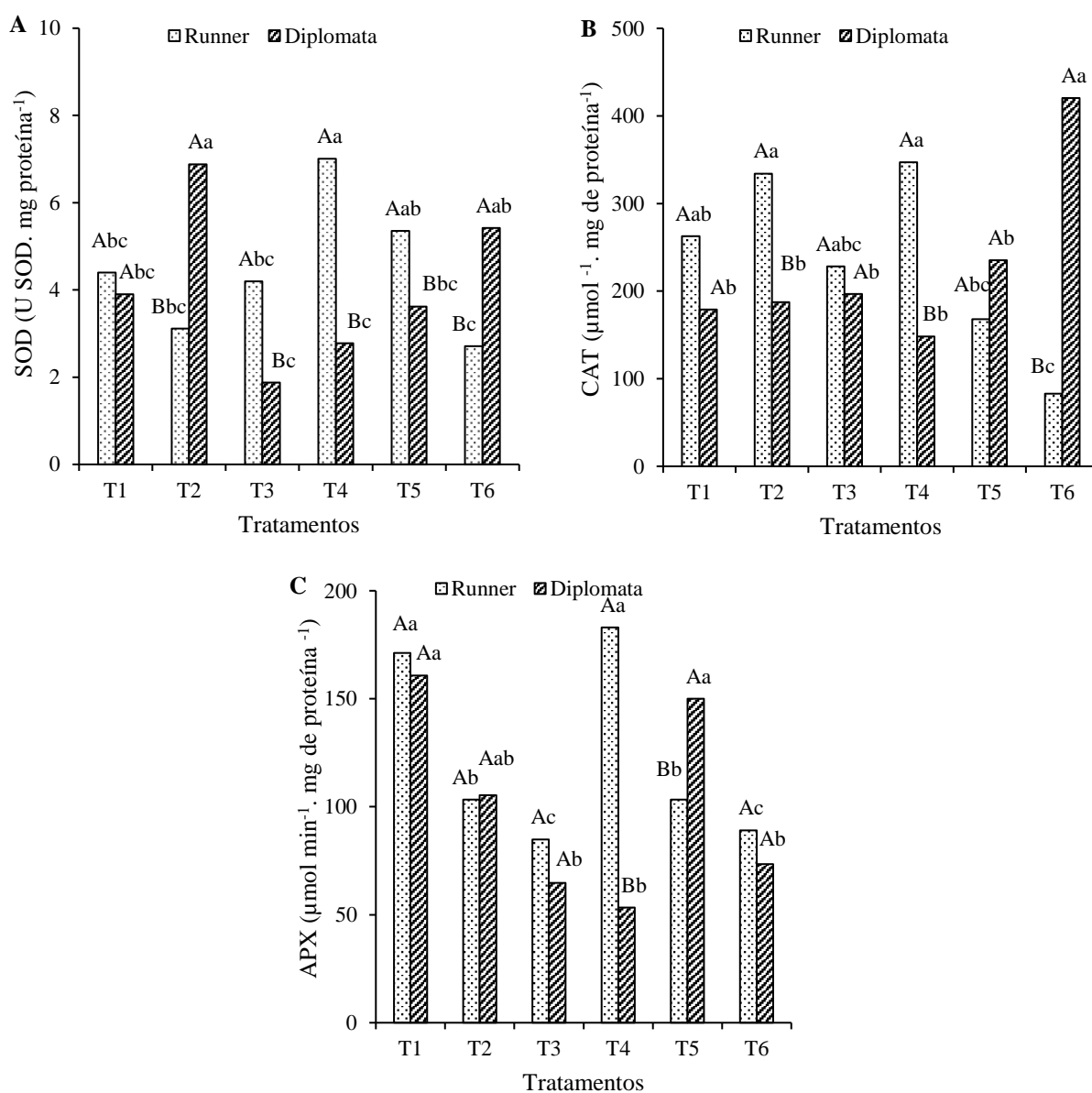
Para a cultivar Runner, todos os tratamentos pré-germinativos sob condições de estresse promoveram reduções no conteúdo de MDA (Figura 10A), enquanto para o peróxido de hidrogênio só foi observado com a utilização dos ácidos giberélico, salicílico e peróxido de hidrogênio (Figura 10 B). Esse fato demonstra inicialmente um efeito positivo com o uso desses atenuadores para essa cultivar, evitando assim a formação de EROs. Vale salientar que é necessário estudo conjunto com a atividade de enzimas a fim de verificar se a utilização de tais substâncias mitigadoras promovem realmente o equilíbrio redox.

Os tratamentos pré-germinativos não promoveram reduções no conteúdo de peroxidação lipídica para a cultivar Diplomata; no conteúdo de MDA não houve diferença entre a condição de estresse e os atenuadores (Figura 10A), enquanto no conteúdo de peróxido de hidrogênio nenhum tratamento diferiu (Figura 10B). O que se observa é que os tratamentos pré-germinativos não foram eficientes para reduzir o produto da peroxidação lipídica do material tolerante, muito embora, essa cultivar tenha tido menor conteúdo de MDA quando comparado à condição de estresse, resposta também observada por AKRAMI e ARZENI (2018).

Para mitigar a alta produção de EROs, as plantas possuem um sistema de defesa antioxidante enzimático e outro não enzimático operando em nível celular. A extensão do estresse numa célula é determinada pela quantidade de ânion superóxido, peróxido de hidrogênio e dos radicais hidroxila, assim o equilíbrio de atividade das enzimas SOD, CAT e APX são importantes para suprir os níveis tóxicos das EROs em uma célula sob condições de estresse (KAPOOR et al., 2019).

Com relação a atividade enzimática – SOD, CAT e APX, para a cultivar Runner verifica-se que o estresse salino não promoveu acréscimos no conteúdo de SOD e CAT, enquanto na atividade da ascorbato peroxidase (APX) houve redução de 39,7% nas plântulas sob estresse. Quanto aos tratamentos pré-germinativos, os maiores valores obtidos para a atividade dessas enzimas foram obtidos com o ácido giberélico em 7,01

unidade de SOD.  $\text{mg de proteína}^{-1}$ ;  $347,1 \mu\text{mol min}^{-1} \cdot \text{mg de proteína}^{-1}$  na atividade da catalase e de  $183,1 \mu\text{mol min}^{-1} \cdot \text{mg de proteína}^{-1}$  para APX (Figura 11).



Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, maiúscula (cultivares) e minúscula (tratamentos pré-germinativos), pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Figura 11.** Atividade da enzima superóxido dismutase - SOD (A), Catalase - CAT (B) e ascorbato peroxidase - APX (C) de cultivares de pepino (*Cucumis sativus* L.) submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos e estresse salino. T1: Controle ( $\text{H}_2\text{O}$ ); T2: sementes sob estresse ( $-0,8 \text{ MPa}$ ) e sem atenuadores; T3: estresse salino ( $-0,8 \text{ MPa}$ ) + hidrocondicionamento; T4: estresse salino ( $-0,8 \text{ MPa}$ ) + ácido giberélico; T5: estresse salino ( $-0,8 \text{ MPa}$ ) + ácido salicílico; T6: estresse salino ( $-0,8 \text{ MPa}$ ) + peróxido de hidrogênio.

Para a cultivar Diplomata, o estresse salino promoveu acréscimo apenas na atividade de SOD. Ainda foi verificado que os tratamentos pré-germinativos do hidrocondicionamento, e os ácidos giberélico e salicílico apresentaram reduções na atividade de SOD. Ocorreu incremento da catalase apenas sob estresse e com uso do peróxido de hidrogênio. Enquanto para a APX, só foi observada diferença entre os tratamentos sob estresse salino entre o ácido salicílico que diferiu do giberélico e do peróxido de hidrogênio (Figura 11C).

A literatura evidencia trabalhos com meloeiro cujo o aparato antioxidante apresentou aumento da SOD e APX em função do aumento da salinidade (PINHEIRO et al., 2016; KUSVURAN et al., 2016; SARABI et al., 2017). Nesse caso, a atividade coordenada de SOD com a APX foi fundamental para a manutenção do equilíbrio redox, por garantir a efetiva eliminação de moléculas oxidativas impedindo a indução de alterações oxidativas em várias moléculas biológicas (SHI et al., 2015).

Divergindo desse resultado, ao realizar uma análise da atividade dessas enzimas na presente pesquisa, verifica-se que não houve uma resposta em conjunto entre SOD, CAT e APX, determinando que outros mecanismos de tolerância possam estar envolvidos, protegendo as células vegetais da peroxidação lipídica.

## 4 CONCLUSÕES

A germinação das cultivares de pepino Safira, Prêmio, Compadre, Campeiro, Runner, Diplomata e Sliced Max não foi afetada até o potencial osmótico de -0,8 MPa.

Potencial osmótico de -0,8 MPa é crítico para as características fisiológicas de das cultivares de pepino.

As cultivares Runner e Diplomata são apontadas como sensível e tolerante ao estresse salino ao nível de -0,8 MPa, respectivamente.

Os tratamentos pré-germinativos de sementes por meio de hidrocondicionamento, ácido giberélico, ácido salicílico e peróxido de hidrogênio são eficientes para mitigar o efeito do estresse salino sob a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de pepino.

O emprego das substâncias atenuadoras provocou reduções no conteúdo de malondialdeído apenas na cultivar Runner.

Não houve um trabalho sincrônico entre as enzimas superóxido dismutase, catalase e ascorbato peroxidase para nenhuma das cultivares, demonstrando que pode ter ocorrido direcionamento para outra rota metabólica.

## REFERÊNCIAS

- ABDELGAWAD, H.; ZINTA, G.; HEGAB, M. M.; PANDEY, R.; ASARAD, H.; ABUELSOUD, W. High Salinity Induces Different Oxidative Stress and Antioxidant Responses in Maize Seedlings Organs. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. 1, p. 1-11, 2016. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00276>
- AKRAMI, M.; ARZANI, A. Physiological alterations due to field salinity stress in melon (*Cucumis melo* L.). **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 40, n. 91, p. 1-14, 2018. <https://doi.org/10.1007/s11738-018-2657-0>
- ALEXIEVA, V.; SERGIEV, I.; MAPELLI, S.; KARANOV, E. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant, Cell & Environment**, v. 24, p. 1337-1344, 2001. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2001.00778.x>
- ALVES, R. C.; NICOLAU, M. C. M.; CHECCHIO, M. V.; SOUSA JUNIOR, G. S.; OLIVEIRA, F. A.; PRADO, R. M.; GRATÃO, P. L. Salt stress alleviation by seed priming with silicon in lettuce seedlings: an approach based on enhancing antioxidant responses. **Bragantia**, v. 79, n. 1, p.19-29, 2020. <https://doi.org/10.1590/1678-4499.20190360>
- AMARO, A. C. E.; RAMOS, A. R. P.; MACEDO, A. C.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. Effects of the fungicides azoxystrobin, pyraclostrobin and boscalid on the physiology of Japanese cucumber. **Scientia Horticulturae**, v. 228, p. 66-75, 2018. <http://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.10.016>
- ARAUJO, E. B. G.; SÁ, F. V. S.; OLIVEIRA, F. A.; SOUTO, L. S.; PAIVA, E. P.; SILVA, M. K. N.; MESQUITA, E. F.; BRITO, M. E. B. Crescimento inicial e tolerância de cultivares de meloeiro à salinidade da água. **Ambiente & Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, v. 11, n. 2, p.462-471, 2016. <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.1726>
- ARIF, Y.; SINGH, P.; SIDDIQUI, H.; BAJGUZ, A.; HAYAT, S. Salinity induced physiological and biochemical changes in plants: An omic approach towards salt stress tolerance. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 156, n. 2 p. 64-77, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.08.042>
- 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 leaves and roots of wild-type and catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum**, v. 104, p. 280-292, 1998. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1998.1040217.x>
- BEN MRID, R.; EL OMARI, R.; EL MOURABIT, N.; BOUARGALNE, Y.; NHIRI, M. Changes in the antioxidant and glyoxalase enzyme activities in leaves of two *Moroccan sorghum* ecotypes with differential tolerance to nitrogen stress. **Australian Journal of Crop Science**, v. 2, n. 8, 2018. <https://doi.org/10.21475/ajcs.18.12.08.PNE1008>

- BRADFORD, 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. <http://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SDA/ACS. 399p, 2009. [https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/arquivos-publicacoes-insumos/2946\\_regras\\_analise\\_sementes.pdf](https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/arquivos-publicacoes-insumos/2946_regras_analise_sementes.pdf)
- CABOT, C.; SIBOLE, J. V.; BARCELÓ, J.; POSCHENRIEDER, C. Lessons from crop plants struggling with salinity. **Plant Science**, v. 226, n. 2, p. 2–13, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.04.013>
- DEL RÍO, L. A.; CORPAS, F. J.; LÓPEZ-HUERTAS, E.; PALMA, J. M. Plant superoxide dismutases: function under abiotic stress conditions. In: GUPTA, D.; PALMA, J.; CORPAS, F. (Eds). **Antioxidants and Antioxidant Enzymes in Higher Plants**, 2018, p.1-26, Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-75088-0\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-75088-0_1)
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001>
- GIANOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases: I. Occurrence in Higher Plants. **Plant Physiology**, v. 59, p. 309-314, 1977. <http://dx.org/10.1104/pp.59.2.309>
- GOSS, J. A. **Physiology of plants and their cells**. New York: Pergamon, 1973, 457p.
- HANNACHI, S.; VAN LABEKE, M. C. Salt stress affects germination, seedling growth and physiological responses differentially in eggplant cultivars (*Solanum melongena* L.). **Scientia Horticulturae**, v. 228, n. x, p. 56-65, 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2017.10.002>
- 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. <http://dx.org/10.1104/pp.84.2.450>
- JAYAKANNAN, M.; BOSE, J.; BABOURINA, O.; SHABALA, S.; MASSART, A.; POSCHENRIEDER, C.; RENGEL, Z. The NPR1-dependent salicylic acid signalling pathway is pivotal for enhanced salt and oxidative stress tolerance in Arabidopsis. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, n. 7, p. 1865-1875, 2015.
- JIA, K.; YAN, C.; YAN, H.; GAO, J. Physiological responses of turnip (*Brassica rapa* L. subsp. *rapa*) seedlings to salt stress. **Hortscience**, v. 55, n. 10, p.1567-1574. 2020. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI15187-20>
- KAPOOR, D.; SINGH, S.; KUMAR, V.; ROMERO, R.; PRASAD, R.; SINGH, J. Antioxidant enzymes regulation in plants in reference to reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS). **Plant Gene**, v.19, e. 100182, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.plgene.2019.100182>

KESTEN, A.; MENNA, C.; SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ, Regulação da síntese de celulose em resposta ao estresse. *Current Opinion in Plant Biology*, v. 40, n. 1, p. 106-113, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2017.08.010>

KUBALA, S.; WOJTYLA, Ł.; QUINET, M.; LECHOWSKA, K.; LUTTS, S.; GARNCZARSKA, M. Enhanced expression of the proline synthesis gene P5CSA in relation to seed osmopriming improvement of *Brassica napus* germination under salinity stress. *Journal of Plant Physiology*, v.183, n.1, p. 1-12, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2015.04.009>

KUŞVURAN, Ş.; ELLIALTIOĞLU, S. S.; TALHOUNI, M.; SONMEZ, K.; KIRAN, S. Effects of salt and drought stresses on physiological and biochemical changes in callus tissues of melon cultivars. *Acta Horticulturae*, v. 1142, p. 239-246, 2016.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination - aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, v. 2, n. 1, 1962. <https://doi.org/10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x>

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

MATIAS, J. R.; SILVA, T. C. F. S.; OLIVEIRA, G. M.; ARAGÃO, C. A.; DANTAS, B. F.; germinação de sementes de pepino cv. Caipira em condições de estresse hídrico e salino. *Revista SODEBRAS*, v. 10, n. 113, p. 33-39, 2015. <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1015071>

MEDEIROS, M. B. C. L.; JESUS, H. I.; SANTOS, N. F. A.; MELO, M. R. S.; SOUZA, V. Q.; BORGES, L. S.; GUERREIRO, A. C.; FREITAS, L. S. Índice de qualidade de dickson e característica morfológica de mudas de pepino, produzidas em diferentes substratos alternativos. *Agroecossistemas*, v. 10, n. 1, p. 159 – 173, 2018. <http://dx.doi.org/10.18542/ragros.v10i1.5124>

METHENNI, K.; ABDALLAH, M. B.; NOUAIRI, I.; SMAOUI, A.; ZARROUK, M.; YOUSSEF, N.B. Salicylic acid and calcium pretreatments alleviate the toxic effect of salinity in the Oueslati olive variety. *Scientia Horticulturae*, v. 233, p. 349-358, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.01.060>

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplast. *Plant and Cell Physiology*, v. 22, p. 867-880, 1981. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232>

NATASHA, K. Efeito do cloreto de sódio, cloreto de potássio na germinação e crescimento do milheto Foxtail (*Setaria itálica* L.) *Pure and Applied Biology*, v. 8, n.1.p. 1398-1407, 2019. <https://doi.org/10.19045 / bspab.2019.80080>

NEDJIMI B., ZEMMIRI, H. Salinity effects on germination of *Artemisia herba – alba* asso: importante pastoral shrub from North African rangelands. *Rangeland Ecology Management*, v. 72, n. 1, p. 189-194, 2019. <https://doi.org/10.1016 / j.rama.2018.07.002>

NÓBREGA, J. S.; FIGUEIREDO, F. R. A.; NASCIMENTO, R. G. S.; BRUNO, R. L. A.; ALVES, E. U.; CAVALCANTE, L. F. Qualidade fisiológica de sementes de melão pepino sob salinidade crescente da água de irrigação. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 41, n.4, p. 1011-1018, 2018. <https://doi.org/10.19084/RCA18146>

NOMAN, A.; AQEEL, M.; QASIM, M.; HAIDER, I.; LOU, Y. Plant-insect-microbe interaction: a love triangle between enemies in ecosystem. **Science of the Total Environment**, v. 699, e. 134181. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134181>

OLIVEIRA, C. E. S.; STEINER, F.; ZUFFO, A. M.; ZOZ, T.; ALVES, C. Z.; AGUIAR, V. C. B. Seed priming improves the germination and growth rate of melon seedlings under saline stress. **Ciência Rural**, v. 49, n. 7, p. 1-11, 2019. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20180588>

OLIVEIRA JUNIOR, L C. **Tratamento pré-germinativo de sementes florestais com peróxido de hidrogênio**. (Dissertação Mestrado). Universidade Federal da Lavras, Lavras. 2017, 173p.

PANUCCIO, M. R.; JACOBSEN, S. E.; AKHTAR, S. S.; MUSCOLO, A. Effect of saline water on seed germination and early seedling growth of the halophyte quinoa. **AoB Plantas**, v. 6, n. 1, p. 1-18, 2014. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plu047>

PETROVIĆ, G.; JOVIČIĆ, D.; NIKOLIĆ, Z.; TAMINDŽIĆ, G.; IGNJATOV, M.; MILOŠEVIĆ, D.; MILOŠEVIĆ, B. Comparative study of drought and salt stress effects on germination and seedling growth of pea. **Genetika**, v. 48, n. 1, p. 373 -381, 2016. [https://www.researchgate.net/publication/303470974\\_comparative\\_study\\_of\\_drought\\_t\\_and\\_salt\\_stress\\_effects\\_on\\_germination\\_and\\_seedling\\_growth\\_of\\_pea](https://www.researchgate.net/publication/303470974_comparative_study_of_drought_t_and_salt_stress_effects_on_germination_and_seedling_growth_of_pea)

POVEDA, J.; EUGUI, D.; VELASCO, P. Natural control of plant pathogens through glucosinolates: an effective strategy against fungi and oomycetes. **Phytochemistry Reviews**, v. 19, n. 4, p. 1045-1059, 2020. <https://doi.org/10.1007/s11101-020-09699-0>

RICHARDS, L. A. **Diagnostico y rehabilitacion de suelos salinos y sódicos**. DAEUA. México. Editorial Limusa, 1974. 172 p.

ROCHA, G. T.; ROCHA, G. T.; ROCHA, G. T. Efeito da salinidade na germinação de pepino. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 9, n. 3, p. 41-46, 2019. <https://doi.org/10.21206/rbas.v9i3.8168>

SAFDAR, H.; AMIN, A.; SHAFIQ, Y.; ALI, A.; YASIN, R. Uma revisão: Impact of salinity on plant growth. **Nature and Science**, v.17, n. 1, p. 34–40, 2019. <https://doi.org/10.7537/marsnsj170119.06>

SANTOS, M. R. R.; ZÁRATE-SALAZAR, J. R.; CAMARA, T. R.; WILLADINO, L. Indução de tolerância ao estresse salino em cana-de-açúcar mediante priming com ácido salicílico. **Agrarian Academy**, v. 6, n. 11; p. 186-196, 2019. [https://doi.org/10.18677/Agrarian\\_Academy\\_2019a18](https://doi.org/10.18677/Agrarian_Academy_2019a18)

SARABI, B.; BOLANDNAZAR, S.; GHADERI, N.; GHASHGHAIE, J. Genotypic



differences in physiological and biochemical responses to salinity stress in melon (*Cucumis melo* L.) plants: Prospects for selection of salt tolerant landraces. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 119, p. 294-311, 2017.

<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.09.006>

SHAH, A. N.; TANVEER, M.; ABBAS, A.; FAHAD, S.; BALOCH, M. S.; AHMAD, M. I.; SAUD, S.; SONG, Y. Targeting salt stress coping mechanisms for stress tolerance in Brassica: A research perspective. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 158, n. 1, p. 53-64, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.11.044>

SHI, K.; LI, X.; ZHANG, H.; ZHANG, G.; LIU, Y.; ZHOU, Y.; XIA, X.; ZHIXIANG, C.; YU, J. Guard cell hydrogen peroxide and nitric oxide mediate elevated CO<sub>2</sub>-induced stomatal movement in tomato. **New Phytologist**, v. 208, n. 2, p. 342- 353, 2015. <https://doi.org/10.1111/nph.13621>

SILVA, T. I.; NÓBREGA, J. S.; FIGUEIREDO, F. R. A.; SOUSA, L. V.; RIBEIRO, J. E. S.; BRUNO, R. L. A.; DIAS, T. J.; ALBUQUERQUE, M. B. *Ocimum basilicum* L. seeds quality as submitted to saline stress and salicylic acid. **Journal of Agricultural Science**, v. 10, n. 5, p. 159-166, 2018. <https://doi.org/10.5539/jas.v10n5p159>

SINGH, M.; SINGH, A. K.; NEHAL, N.; SHARMA, N. Effect of proline on germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.) under salt stress. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 7, n. 1, p. 2449-2452, 2018.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia e Desenvolvimento vegetal**. Artmed, 2017. 854p.

WAQAS, M. A.; KAYA, C.; RIAZ, A.; FAROOQ, M.; NAWAZ, I.; WILKES, A.; LI, Y. Potential Mechanisms of Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants Induced by Thiourea. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, p. 1336, 2019.

<https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01336>

WILLADINO, L.; CAMARA, T. R. Tolerância das plantas à salinidade: aspectos fisiológicos e bioquímicos. **Enciclopédia biosfera**, v. 6, n. 11, p. 1-23, 2010.

<https://www.conhecer.org.br/enciclop/2010c/tolerancia%20das%20plantas.pdf>

YEMM, E. W.; COCKING, E. C. The determination of amino acid with ninhydrin. **Analyst**, v. 80, n. 2, p. 209-213, 1955. <https://doi.org/10.1039/AN9558000209>

YEMM, E. W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. **Biochemical Journal**, v. 57, n. 3, p. 508-514, 1954.

<https://doi.org/10.1042/bj0570508>

ZHANG, Q.; DAI, W. **Plant response to salinity stress**. In: DAI, W. (Ed). Stress physiology of wood plants. CRC Press, p. 155-173, 2019.

ZHU, J-K. Abiotic stress signaling and responses in plants. **Cell**, v.167, n. 2, p. 313-324, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.08.029>

## ANEXOS

### Capítulo 2

**Tabela 1.** Resumo da análise de variância para as variáveis germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento (CP), massa seca (MSP), açúcares solúveis totais (AST) e de aminoácidos livres totais (AALT) de plântulas de pepineiro, germinadas sob diferentes níveis de potenciais osmóticos induzidos por PEG 6000.

Fontes de Variação	GL	Quadrados médios					
		G	IVG	CP	MSP	AST	AALT
Cultivar (C)	6	54,16**	42,12**	14,16**	65,72**	18,19**	160,12**
Nível (N)	4	285,89**	3592,95**	478,86**	125,22**	1444,95**	659,42**
C X N	24	29,09**	19,74**	18,18**	1,45 <sup>ns</sup>	16,91**	43,36**
Resíduo	105	14,55	3,64	12,56	1,62	3,67	10,12
Médias		96,32	35,79	16,68	17,58	14,58	42,71
CV (%)		3,96	5,33	10,49	8,72	13,13	7,45

<sup>ns</sup>, \*, \*\*, não significativos e significativos a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

**Tabela 2.** Resumo da análise de variância para as variáveis germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento (CP), massa seca total (MST), relação raiz-parte aérea (RRPA), açúcares solúveis totais (AST) e de aminoácidos livres totais (AALT), peroxidação lipídica expressa pelo teor de malondialdeído (MDA) e Peróxido de hidrogênio (PER), atividade da enzima superóxido dismutase (SOD), Catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) de cultivares de pepino (*Cucumis sativus* L.) submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos e estresse hídrico.

Fontes de Variação	GL	Quadrados médios						
		G	IVG	CP	MST	RRPA	AST	AALT
Cultivar (C)	1	85,33**	698,45**	1,34 <sup>ns</sup>	109,23**	0,013**	45,41**	40,17**

Tratamentos (T)	5	9,13 <sup>ns</sup>	275,89**	249,33**	12,20**	0,045**	101,89**	5,30**
C X A	5	7,93 <sup>ns</sup>	11,19 <sup>ns</sup>	3,46*	3,66*	0,012**	14,73**	1,60*
Resíduo	36	4,11	14,46	1,07	1,08	0,00	1,25	0,53
Médias		96,83	32,48	11,10	19,7	0,22	10,66	5,61
CV (%)		2,09	11,71	9,30	5,27	12,13	10,47	12,99

Fontes de Variação	GL	Quadrados médios				
		MDA	PER	SOD	CAT	APX
Cultivar (C)	1	15,76*	1,42	1320,9**	1364587,7**	475514,5**
Tratamentos (T)	5	48,70**	65,87**	135,8**	28551,8**	30749,8**
C X T	5	38,89**	39,15**	189,2**	47762,8**	33958,5**
Resíduo	36	2,39	3,69	13,14	3999,6	1836,4
Médias		10,13	5,39	8,70	280,2	139,6
CV (%)		15,25	32,61	41,68	22,57	30,70

<sup>ns</sup>, \*, \*\*, não significativos e significativos a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

### Capítulo 3

**Tabela 3.** Resumo da análise de variância para as variáveis germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento (CP), massa seca (MSP), açúcares solúveis totais (AST) e de aminoácidos livres totais (AALT) de plântulas de pepineiro, germinadas sob diferentes níveis de potenciais osmóticos induzidos por NaCl.

Fontes de Variação	GL	Quadrados médios					
		G	IVG	CP	MSP	AST	AALT
Cultivar (C)	6	81,09**	104,82**	39,36**	55,90**	4,10**	229,83**
Nível (N)	4	17,61**	1527,16**	923,45**	46,72**	324,35**	748,25**
C X N	24	9,38**	24,94**	5,74**	0,97 <sup>ns</sup>	4,05**	19,01**
Resíduo	105	2,68	4,50	1,45	0,99	0,90	5,93
Médias		97,8	43,4	14,29	7,21	7,21	29,41
CV (%)		3,67	4,89	8,43	5,42	13,18	8,28

<sup>ns</sup>, \*, \*\*, não significativos e significativos a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

**Tabela 4.** Resumo da análise de variância para as variáveis germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento (CP), massa seca total (MST), relação raiz-parte aérea (RRPA), açúcares solúveis totais (AST) e de aminoácidos livres totais (AALT), peroxidação lipídica expressa pelo teor de malondialdeído (MDA) e Peróxido de hidrogênio (PER), atividade da enzima superóxido dismutase (SOD), Catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) de cultivares de pepino (*Cucumis sativus* L.) submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos e estresse salino.

Fontes de Variação	GL	Quadrados médios						
		G	IVG	CP	MST	RRPA	AST	AALT
Cultivar (C)	1	3,00 <sup>ns</sup>	310,85**	4,87**	24,32**	0,026**	27,30**	12,30**
Tratamentos (T)	5	50,6**	266,77**	181,34**	12,87**	0,057**	57,40**	1,38 <sup>ns</sup>

C X T	5	10,2 <sup>ns</sup>	24,9**	0,11 <sup>ns</sup>	3,86**	0,002**	14,76**	6,36**
Resíduo	36	14,06	5,57	0,38	0,98	0,0003	0,78	0,72
Médias		95,25	35,00	8,84	17,81	0,18	9,36	4,46
CV (%)		3,94	6,75	6,98	5,57	10,44	9,41	19,07

Fontes de Variação	GL	Quadrados médios				
		MDA	PER	SOD	CAT	APX
Cultivar (C)	1	3,77 <sup>ns</sup>	4,66**	1,77 <sup>ns</sup>	1030,3 <sup>ns</sup>	53,92,6*
Tratamentos (T)	5	1,96 <sup>ns</sup>	1,02**	4,07*	4620,6 <sup>ns</sup>	8895,3**
C X T	5	17,89**	1,18**	18,89**	7483,9**	6838,1**
Resíduo	36	1,21	0,027	1,34	4978,9	976,85
Médias		8,34	0,83	4,27	232,5	111,86
CV (%)		13,19	19,96	27,11	30,35	27,94

<sup>ns</sup>, \*, \*\*, não significativos e significativos a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.