



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

CIBELLEY VANÚCIA SANTANA DANTAS BARROS

**RESPOSTA ANTIOXIDATIVA E AJUSTAMENTO OSMÓTICO DE *Helianthus*  
*annuus* L. SUBMETIDO AO DÉFICIT HÍDRICO E SALINIDADE**

MOSSORÓ

2017

CIBELLEY VANÚCIA SANTANA DANTAS BARROS

**RESPOSTA ANTIOXIDATIVA E AJUSTAMENTO OSMÓTICO DE *Helianthus annuus* L. SUBMETIDO AO DÉFICIT HÍDRICO E SALINIDADE**

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: Práticas Culturais

Orientador:  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cristiane Elizabeth Costa de Macedo

Coorientador: Prof. Dr. Yuri Lima Melo

MOSSORÓ

2017

©Todos os direitos estão reservados à 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 nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tornar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata, exceto as pesquisas que estejam vinculadas ao processo de patenteamento. Esta investigação será base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) seja devidamente citado e mencionado os seus créditos bibliográficos.

B277r BARROS, CIBELLEY VANÚCIA SANTANA DANTAS.  
RESPOSTA ANTIOXIDATIVA E AJUSTAMENTO OSMÓTICO  
DE *Helianthus annuus* L. SUBMETIDO AO DÉFICIT  
HÍDRICO E SALINIDADE / CIBELLEY VANÚCIA SANTANA  
DANTAS BARROS. - 2017.  
96 f. : il.

Orientadora: CRISTIANE ELIZABETH COSTA DE  
MACEDO.

Coorientadora: YURI LIMA MELO.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural  
do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em  
Fitotecnia, 2017.

1. Girassol. 2. indicadores de crescimento. 3.  
status hídrico. 4. osmorreguladores. 5. enzimas  
antioxidantes. I. MACEDO, CRISTIANE ELIZABETH  
COSTA DE, orient. II. MELO, YURI LIMA, co-  
orient. III. Título.

O serviço de Geração automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemática e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

CIBELLEY VANÚCIA SANTANA DANTAS BARROS


**RESPOSTA ANTIOXIDATIVA E AJUSTAMENTO OSMÓTICO DE *Helianthus annuus* L. SUBMETIDO AO DÉFICIT HÍDRICO E SALINIDADE**

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

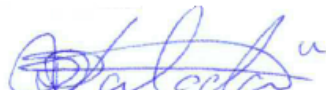
Linha de Pesquisa: Práticas Culturais


Defendida em: 04 de dezembro de 2017.

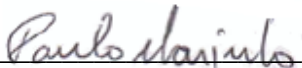
**BANCA EXAMINADORA**

  
Prof.<sup>ª</sup>. Dra. Cristiane Elizabeth Costa de Macêdo (UFRN/UFERSA)  
Orientadora

  
Prof. Dr. Yuri Lima Melo (UEPB)  
Coorientador

  
Prof. Dr. Daniel Valadão Silva (UFERSA)  
Membro Examinador

  
Prof. Dr. Salvador Barros Torres (EMPARN/UFERSA)  
Membro Examinador

  
Prof. Dr. Paulo Sergio Marinho Lucio (UFRN)  
Membro Examinador

*A minha mãe Hilda Vitoria (In Memoriam).  
Por ter me ensinado a buscar sempre o melhor  
de mim.*

*Ao meu Pai Manoel Maurício, por todo apoio, cuidado e amor.  
A Meus irmãos pelas orações e carinho.  
Ao meu esposo pela compreensão e incentivo.  
**Dedico***

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, único digno de honra e glória, por estar comigo sempre, e me amparar nos momentos mais difíceis, iluminando minha vida e meu caminho.

À minha orientadora Prof<sup>a</sup> Dra. Cristiane Elizabeth Costa de Macêdo, pela dedicação, apoio e incentivo. Obrigada pelos ensinamentos, por aceitar me orientar durante todo meu trajeto acadêmico, e por me acolher durante todos esses anos, com seus ensinamentos e principalmente com paciência. A senhora, serei eternamente grata.

Ao meu coorientador e amigo Yuri Lima Melo, pelo apoio, dedicação, paciência e por me ajudar no acadêmico e pessoal. Por sua ajuda principalmente na orientação deste doutorado.

À Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) pela qualidade de ensino e pesquisa; ao curso de Pós-graduação em Fitotecnia pela oportunidade; ao coordenador do curso Prof. Dr. Daniel Valadão Silva pelo apoio; e a todos os professores e funcionários do Programa;

À Universidade federal do Rio Grande do Norte (UFRN) e ao Laboratório de Estudos em Biotecnologia Vegetal (LaBioTec), pelo acolhimento ao desenvolver essa pesquisa; E ao secretário do Departamento de biologia molecular e genética (DBG) Francisco de Assis Maia pela disponibilidade de sempre ajudar.

Ao Prof. Dr. Paulo Sérgio Marinho Lúcio por contribuir com seus ensinamentos e em parte desta pesquisa, e por ceder seu laboratório para realizar parte da pesquisa. E por aceitar o convite para participar como membro desta banca. Obrigada pelo incentivo, apoio e positividade.

Aos Professores, especialmente Salvador Barros Torres, por aceitarem o convite para fazerem parte da banca de defesa dessa tese, que irão contribuir com um pouco do muito que sabem.

À banca examinadora (prof. Dr. Sc. Paulo Sérgio Marinho Lúcio, prof. Dr. Sc. Salvador Barros Torres e prof. Dr. Sc. Daniel Valadão Silva), pela disponibilidade e contribuir com o nosso trabalho.

Ao Prof. Dr. Josemir Moura Maia por seus ensinamentos, acessibilidade, disponibilidade e contribuição na minha vida acadêmica.

À equipe de pesquisa do LaBioTec, Yuri, Lisiane e Monique, não tenho como descrever a ajuda de vocês na minha vida acadêmica. Obrigada pela amizade, companheirismo, dedicação e carinho. E aos demais integrantes do laboratório, Ana Paula,

Danilo, Hudson, Adna, Saniele, Fernanda, obrigada pela ajuda na pesquisa e pelos momentos de descontração.

À Universidad de La Habana - Cuba, através do Programa CAPES-Brasil/MES-Cuba, pela oportunidade de intercâmbio científico. Aos professores Eduardo Ortega, Rosa Rodés, Patrícia Ortega e Loiret García, pela paciência e valiosos ensinamentos que transpassaram o limite acadêmico, engrandecendo meu caráter cultural. Aos colegas e amigos cubanos, especialmente Leya, Ingrid e seus adoráveis familiares que me acolheram em minha estadia em cuba. Aos integrantes do Laboratório de Fisiologia Vegetal.

Aos meus pais, Manoel Maurício Dantas e Hilda Vitoria de Santana Dantas (*In Memoriam*), a quem devo a vida, pelo amor e apoio incondicional, educação e formação moral. Por nunca me deixarem faltar o essencial da vida o amor e o abraço em todos os momentos. Aos meus irmãos Shinayde, Sidérley e Daniel, e Minha Cunhada Ayla, e meu sobrinho Nicolas, pelo companheirismo, carinho, amizade e auxílio durante o desenvolvimento deste trabalho. Amo vocês!

À Francisca Pereira Onofre Dantas, pelo carinho e cuidado.

Ao meu esposo, Gilberto Gustavo Pinheiro Barros, pelo amor, paciência, compreensão, dedicação e incentivo. Por me ajudar e ser esse porto seguro ao me apoiar e me entender. Te amo!

Aos meus sogros Gilberto e Osmarine, pelo carinho e compreensão.

Aos meus avós maternos e paternos, pelo amor, carinho, atenção e pelo exemplo de força e humildade. Aos meus tios e primos que fazem parte da minha jornada e pela força e orações.

Muito obrigada!

**“A sabedoria é resplandecente e sempre viçosa. Ela é facilmente contemplada por aqueles que a amam, e é encontrada por aqueles que a procuram. Ela até se antecipa, dando-se a conhecer aos que a desejam. Quem por ela madruga não se cansará.”**

**Sab 6,12-14<sup>a</sup>.**



## RESPOSTA ANTIOXIDATIVA E AJUSTAMENTO OSMÓTICO DE *Helianthus annuus* L. SUBMETIDO AO DÉFICIT HÍDRICO E SALINIDADE

### RESUMO

**Resumo:** O girassol (*Helianthus annuus* L.) é uma espécie considerada moderadamente tolerante à salinidade e a seca e tem se destacado como oleaginosa promissora para produção de biodiesel. Seu cultivo pode ser realizado em regiões áridas e semiáridas onde a produtividade agrícola pode ser afetada pela seca e por elevadas concentrações de sais solúveis no solo. O conhecimento dos mecanismos fisiológicos, bioquímicos e moleculares implicados na tolerância e/ou susceptibilidade aos estresses, salino e déficit hídrico pode contribuir para o desenvolvimento de programas de melhoramento genético para essa espécie. Esta pesquisa foi realizada para avaliar os efeitos do estresse salino e déficit hídrico nos indicadores de crescimento, status hídrico e integridade de membranas, bem como a possível contribuição de solutos orgânicos e inorgânicos envolvidos no ajustamento osmótico e a o dano oxidativo e o sistema de defesa enzimático e não enzimático antioxidativo em três órgãos de genótipos de girassol submetidos aos agentes estressores cloreto de sódio (NaCl) e polietilenoglicol (PEG 6000) simulando, respectivamente, a salinidade e a seca. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições. Os tratamentos foram arrançados em fatorial 2x3, com o primeiro fator correspondente aos dois genótipos de girassol (Catissol 01 e Helio 253) e o segundo aos três tratamentos (controle; 100 mM de NaCl e -0,50 MPa de PEG 6000). Os resultados mostraram que o NaCl e o PEG 6000 provocaram alterações negativas nos indicadores de crescimento, no status hídrico e na integridade de membranas dos dois genótipos, sendo Catissol 01 o mais sensível. Independente do genótipo e órgão analisado, o NaCl provocou aumento de  $\text{Na}^+$  e diminuição de  $\text{K}^+$ , aumentando a relação  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  acima de 1 e gerando a toxidez iônica. O NaCl e o PEG 6000 induziram alterações no metabolismo dos carboidratos e dos compostos nitrogenados evidenciando a participação de aminoácidos e prolina na osmorregulação de plantas girassol. Observou-se que ambos os genótipos, tanto submetidos à seca quanto a salinidade, apresentaram danos oxidativos representados pelo aumento da peroxidação lipídica e aumento da carbonilação das proteínas, e diminuição na concentração de proteínas em alguns órgãos, principalmente quando submetidos a seca. Nas plantas submetidas à salinidade, o mecanismo de defesa antioxidativa enzimático parece ter sido eficiente na remoção de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e contribuiu para o aumento de pigmentos fotossintetizantes, sendo caracterizado pelo aumento da

atividade das enzimas superóxido dismutase, peroxidase de ascorbato e peroxidase de fenóis. Tais respostas variaram entre os genótipos, os tratamentos e os órgãos.

**Palavras-chave:** Girassol, indicadores de crescimento, status hídrico, danos de membranas, osmorreguladores, enzimas antioxidantes, espécies reativas de oxigênio (EROs).

### **ANTIOXIDATIVE RESPONSE AND OSMOTIC ADJUSTMENT OF *Helianthus annuus* L. SUBMITTED TO WATER DEFICIT AND SALINITY**

**Abstract:** Sunflower is moderately tolerant to salinity and drought. Cultivation can be carried out in arid and semi-arid regions where agricultural productivity is affected by drought and by high concentrations of soluble salts in the soil. In addition, sunflower is promising species for biodiesel production. Knowledge of the physiological, biochemical and molecular mechanisms involved in tolerance and / or susceptibility to stress, saline and water deficit are not yet clearly understood for sunflower, this study aimed to evaluate the effects of saline stress and water deficit on growth indicators, water status and membrane integrity, the possible contribution of organic and inorganic solutes involved in the osmotic adjustment and oxidative damage and the enzymatic and non-enzymatic antioxidative defense system in three organs of sunflower genotypes submitted to stressors sodium chloride (NaCl) and polyethylene glycol (PEG 6000) simulating salinity and drought respectively. The experimental design was completely randomized, with a 2x3 factorial, with two sunflower genotypes (Catissol 01 and Helio 253) and three treatments (control, 100 mM NaCl and -0.50 MPa PEG 6000), with 5 replicates for each treatment and each genotype. The results showed that NaCl and PEG 6000 cause negative changes in growth indicators in the water status and in the membrane integrity of the two genotypes, with Catissol 01 being the most sensitive. Considering the inorganic solutes, regardless of genotype and organ analyzed, NaCl caused an increase in  $\text{Na}^+$  and decrease of  $\text{K}^+$ , increasing  $\text{Na}^+ / \text{K}^+$  ratio above 1 and generating ionic toxicity. Regarding organic solutes, NaCl and PEG 6000 induced alterations in the metabolism of carbohydrates and nitrogen compounds evidencing the participation of amino acids and proline in the osmoregulation of sunflower plants. It was observed that both genotypes, submitted to drought and salinity, presented oxidative damages represented by increased lipid peroxidation and increased carbonylation of proteins, and decreased protein concentration in some organs, especially when submitted to drought. In plants submitted to

salinity, the enzymatic antioxidative defense mechanism seems to have been efficient in the removal of  $H^2O^2$  and contributing to the increase of photosynthetic pigments, being characterized by the increase of the enzymes superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and phenol peroxidase. Such responses varied between genotypes, treatments and organs.

**Key-words:** Sunflower, growth indicators, water status, membrane damage, osmoregulators, antioxidant enzymes, reactive oxygen species (ROS).

## LISTA DE FIGURAS

### CAPITULO I

- Figura 1-** Aspectos morfológicos do capítulo de girassol (*Helianthus annuus* L.). 24
- Figura 2 -** Representação esquemática da duração das principais fases de desenvolvimento do girassol, com as respectivas exigências térmicas e hídricas. (Adaptado da apresentação de Sergio Gonçalves da Embrapa soja). 26

### CAPITULO II

- Figura 1 -** Comprimento da raiz (CR) de plantas de dois genótipos de girassol (Catissol 01 e Helio 253), cultivadas durante 48 horas nos tratamentos: controle (CTRL), 100 mM NaCl (Sal) e 212 g.L<sup>-1</sup> PEG 6000 (PEG), sendo isosmóticas a -0,50 MPa. Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). \*Letras minúsculas comparam diferenças entre os genótipos e letras maiúsculas comparam diferenças entre os tratamentos. 54
- Figura 2 -** Massa fresca total (MFT), (A –folha, B – caule, C –raiz), de plantas de dois genótipos de girassol (Catissol 01 e Helio 253), cultivadas durante 48 horas nos tratamentos: controle (CTRL), 100 mM NaCl (Sal) e 212 g.L<sup>-1</sup> PEG 6000 (PEG), sendo isosmóticas a -0,50 MPa. Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). \*Letras minúsculas comparam diferenças entre os genótipos e letras maiúsculas comparam diferenças entre os tratamentos. 55
- Figura 3 -** Razão da Área Foliar (A-RAF) e Área Foliar Específica (B-AFE) de três órgãos (folha, caule e raiz) de plantas de dois genótipos de girassol (Catissol 01 e Helio 253), cultivadas durante 48 horas nos tratamentos: controle (CTRL), 100 mM NaCl (Sal) e 212 g.L<sup>-1</sup> PEG 6000 (PEG), sendo isosmóticas a -0,50 MPa. Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). \*Letras minúsculas comparam diferenças entre os genótipos e letras maiúsculas 56

- comparam diferenças entre os tratamentos.
- Figura 4 -** Folhas escaneadas de plantas de dois genótipos de girassol (Catissol 01 e Helio 253), cultivadas durante 48 horas nos tratamentos: controle (CTRL), 100 mM NaCl (Sal) e 212 g.L<sup>-1</sup> PEG 6000 (PEG), sendo isosmóticas em -0,50 MPa. 57
- Figura 5 -** Relação Raiz/Parte Aérea (RR/PA) de plantas de dois genótipos de girassol (Catissol 01 e Helio 253), cultivadas durante 48 horas nos tratamentos: controle (CTRL), 100 mM NaCl (Sal) e 212 g.L<sup>-1</sup> PEG 6000 (PEG), sendo isosmóticas em -0,50 MPa. Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p≤0,05). \*Letras minúsculas comparam diferenças entre os genótipos e letras maiúsculas comparam diferenças entre os tratamentos. 58
- Figura 6-** Percentual de umidade (%U) (A, C e E), vazamento de eletrólitos (%VE) (B, D e F), (folha, caule e raiz), das plantas de dois genótipos de girassol (Catissol 01 e Helio 253), cultivadas durante 48 horas nos tratamentos: controle (CTRL), 100 mM NaCl (Sal) e 212 g.L<sup>-1</sup> PEG 6000 (PEG), sendo isosmóticas em -0,50 MPa. Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p≤0,05). \*Letras minúsculas comparam diferenças entre os genótipos e letras maiúsculas comparam diferenças entre os tratamentos. 59
- Figura 7-** 7: Concentrações de sódio (Na<sup>+</sup>) (A, D e G), potássio (K<sup>+</sup>) (B, E e H); e relação Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> (C, F e I) em folhas, caules e raízes dos genótipos de girassol Catissol 01 e Helio 253, submetidos aos tratamentos: controle, 100 mM NaCl (Sal) e 212 g.L<sup>-1</sup> PEG 6000 (PEG), sendo isosmóticas em -0,50 MPa. Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p≤0,05). \*Letras minúsculas comparam diferenças entre os genótipos e letras maiúsculas comparam diferenças entre os tratamentos. 62
- Figura 8 -** Concentrações de AST (folhas-A, caules-B e raízes-C) dos genótipos de girassol Catissol 01 e Helio 253, submetidos aos tratamentos: controle, 100 mM NaCl (Sal) e 212 g.L<sup>-1</sup> PEG 6000 (PEG), sendo isosmóticas em -0,50 MPa. Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p≤0,05). \*Letras minúsculas comparam diferenças entre os genótipos e letras maiúsculas comparam diferenças entre os tratamentos. 64
- Figura 9 -** Concentrações de proteínas solúveis totais (A, D e G), aminoácidos livres totais (B, E e H) e prolina (C, F e I) em folhas, caules e raízes dos genótipos de girassol Catissol 01 e Helio 253, submetidos aos tratamentos: controle, 100 mM NaCl (Sal) e 212 g.L<sup>-1</sup> PEG 6000 (PEG), sendo isosmóticas em -0,50 MPa. Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p≤0,05). \*Letras minúsculas comparam diferenças entre os genótipos e letras maiúsculas comparam diferenças entre os tratamentos. 66

### CAPITULO III

- Figura 1-** Teores de clorofila A (A), clorofila B (B) e carotenoides (C), em plantas de dois genótipos de girassol (Catissol 01 e Helio 253), cultivadas durante 48 horas nos tratamentos: controle (CTRL), 100 mM NaCl (Sal) e 212 g.L<sup>-1</sup> PEG 6000 (PEG), sendo isosmóticas em -0,50 MPa. Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p≤0,05). \*Letras minúsculas comparam os genótipos. \*Letras maiúsculas comparam os tratamentos. 83

<b>Figura 2 -</b>	Teores de malodeído (peroxidação lipídica) e peróxido de hidrogênio (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ), em Folha (A e B), caule (C e D) e raiz (E e F), de dois genótipos de girassol (Catissol 01 e Helio 253), cultivadas durante 48 horas nos tratamentos: controle (CTRL), 100 mM NaCl (SAL) e 212 g.L <sup>-1</sup> PEG 6000 (PEG), sendo isosmóticas em -0,50 MPa. Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p≤0,05). *Letras minúsculas comparam os genótipos. *Letras maiúsculas comparam os tratamentos.	84
<b>Figura 3 -</b>	Teores de carbonilação de proteínas e conteúdo de proteínas solúveis totais (PST), em Folha (A e B), caule (C e D) e raiz (E e F), dois genótipos de girassol (Catissol 01 e Helio 253), cultivadas durante 48 horas nos tratamentos: controle (CTRL), 100 mM NaCl (SAL) e 212 g.L <sup>-1</sup> PEG 6000 (PEG), sendo isosmóticas em -0,50 MPa. Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p≤0,05). *Letras minúsculas comparam os genótipos. *Letras maiúsculas comparam os tratamentos.	86
<b>Figura 4 -</b>	Atividade das enzimas antioxidativas, superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT), quantificados em Folha (A e B), caule (C e D) e raiz (E e F), em plantas de dois genótipos de girassol (Catissol 01 e Helio 253), cultivadas durante 48 horas nos tratamentos: controle (CTRL), 100 mM NaCl (SAL) e 212 g.L <sup>-1</sup> PEG 6000 (PEG), sendo isosmóticas em -0,50 MPa. Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p≤0,05). *Letras minúsculas comparam os genótipos. *Letras maiúsculas comparam os tratamentos.	88
<b>Figura 5 -</b>	Atividade das enzimas antioxidativa, peroxidase de ascorbato (APX) e peroxidase de fenóis (POX), quantificados em Folha (A e B), caule (C e D) e raiz (E e F), em plantas de dois genótipos de girassol (Catissol 01 e Helio 253), cultivadas durante 48 horas nos tratamentos: controle (CTRL), 100 mM NaCl (SAL) e 212 g.L <sup>-1</sup> PEG 6000 (PEG), sendo isosmóticas em -0,50 MPa. Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p≤0,05). *Letras minúsculas comparam os genótipos. *Letras maiúsculas comparam os tratamentos.	89

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1-</b>	Composições de ácidos graxos em sementes de girassol.....	25
<b>Tabela 2 -</b>	Preços (R\$) recebidos por produtor para cada saca de 60 kg de grãos de girassol.....	28
<b>Tabela 3 -</b>	Girassol no Nordeste e Centro-oeste nas safras de 2012/2013 e 2013/2014.....	29

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>Sigla</b>	<b>Significado</b>
$^1\text{O}_2$	Oxigênio singleto
AALT	Aminoácidos livres totais
$\text{AgNO}_3$	Nitrato de prata
APX	Peróxidase de ascorbato
AsA	Ácido ascórbico
AST	Açúcares solúveis totais
CAT	Catalase
CE	Condutividade elétrica
$\text{Cl}^-$	Cloreto
CONAB	Campanha Nacional de Abastecimento - Agrícola
CRA	Conteúdo relativo de água
CTE	Cadeia transportadora de elétrons
CTRL	Controle
Cu/Zn	Cobre/zinco
DDT	Ditiotreitol
DFI	Data de floração inicial
DHA	Dehidroascorbato redutase
DIC	Delineamento inteiramente casualizado
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EMPARN	Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Norte

EROs	Espécies reativas de oxigênio
Fe	Ferro
FeCl <sub>3</sub>	Cloreto de ferro
GSH	Glutathiona
GSSG	Glutathiona oxidada
H <sub>2</sub> O	Molécula de água
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	Acido fosfórico
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
K <sup>+</sup>	Potássio
L1 / L2	Primeira ou segunda leitura
MDA	Monodehidroascorbato redutase
MF	Massa fresca
Mili-Q	Água mili-Q
Mn	Manganês
MS	Massa seca
N	Nitrogênio
Na <sup>+</sup>	Sódio
NaCl	Cloreto de sódio
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzido
O <sub>2</sub>	Oxigênio
O <sub>2</sub> • <sup>-</sup>	Radical superóxido

OH•	Radical hidroxila
PEG	Polietilenoglicol
POX	Peroxidase de fenol
PRO	Prolina
PST	Proteínas solúveis totais
SOD	Dismutases de superóxido
TCA	Ácido tricloracetico
U%	Percentual de umidade
USDA	United states department of agriculture
UV	Radiação UV
VE	Vazamento de eletrólitos
$\Psi_w$	Potencial hídrico



## SUMÁRIO

<b>CAPITULO I - INTRODUÇÃO GERAL E REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>20</b>
<b>1. INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>20</b>
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>23</b>
<b>2.1 Aspectos gerais da cultura do girassol.....</b>	<b>23</b>
<b>2.1.1 Importância econômica do girassol.....</b>	<b>27</b>
<b>2.2 A seca e a salinização dos solos do nordeste brasileiro.....</b>	<b>31</b>
<b>2.3 Efeitos do déficit hídrico e estresse salino nas plantas.....</b>	<b>32</b>
<b>2.4 O ajustamento osmótico nas plantas.....</b>	<b>33</b>
<b>2.5 Danos oxidativos e a resposta antioxidativa.....</b>	<b>34</b>
<b>2.6 Enzimas antioxidantes.....</b>	<b>36</b>
<b>3. REFERÊNCIA.....</b>	<b>37</b>
<b>CAPITULO II - Alterações em indicadores fisiológicos e bioquímicos em genótipos de girassol submetidos à seca e salinidade.....</b>	<b>47</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>47</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>47</b>
<b>1-INTRODUÇÃO.....</b>	<b>48</b>
<b>2-MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>50</b>
<b>2.1 Condução do Experimento.....</b>	<b>50</b>
<b>2.2 Determinação dos Indicadores de Crescimento.....</b>	<b>51</b>

2.3 Determinação dos indicadores <i>status</i> hídrico e integridade de membranas.....	52
2.4 Determinação dos solutos Inorgânicos.....	52
2.5 Determinação dos solutos orgânicos.....	53
2.6 Delineamento experimental e análise Estatística.....	53
<b>3.RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>53</b>
3.1 Indicadores de crescimento .....	53
3.2 Indicadores <i>status</i> hídrico e integridade de membranas.....	58
3.3 Conteúdo de solutos inorgânicos (Na <sup>+</sup> e K <sup>+</sup> ) e Relação Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> .....	60
3.4 Conteúdo de Solutos Orgânicos.....	63
<b>4 .CONCLUSÕES.....</b>	<b>69</b>
<b>5. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>69</b>
<b>CAPITULO III- Defesa e dano oxidativo em girassol, submetido a estresse salino e déficit hídrico.....</b>	<b>75</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>75</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>76</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>76</b>
<b>2.MATERIAS E MÉTODOS.....</b>	<b>78</b>
2.1 Condução do Experimento.....	78
2.2 Extração das amostras.....	79
2.3 Dano oxidativo.....	80
2.3.1 Determinação da peroxidação lipídica.....	80
2.3.2 Determinação da concentração de peróxido de hidrogênio (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) .....	80

<b>2.3.3 Carbonilação de proteínas (Espectrofotometria).....</b>	<b>80</b>
<b>2.3.4 Conteúdo dos pigmentos fotossintéticos.....</b>	<b>80</b>
<b>2.3.5 Determinação das concentrações de proteínas solúveis.....</b>	<b>81</b>
<b>2.4 Mecanismos de defesa antioxidante.....</b>	<b>81</b>
<b>2.4.1 Atividade da superóxido dismutase (SOD).....</b>	<b>81</b>
<b>2.4.2 Atividade de peroxidases de ascorbato (APX).....</b>	<b>81</b>
<b>2.4.3 Atividade de peroxidase de fenóis (POX).....</b>	<b>81</b>
<b>2.4.4 Atividade de catalase (CAT).....</b>	<b>81</b>
<b>2.5 Delineamento experimental e análise estatística.....</b>	<b>81</b>
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>83</b>
<b>4. CONCLUSÃO.....</b>	<b>90</b>
<b>5. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>91</b>
<b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>96</b>

## CAPITULO I

### 1- INTRODUÇÃO GERAL

A salinidade e o déficit hídrico são uns dos principais fatores abióticos limitantes da produção agrícola no semiárido (MAIA et al., 2013). O efeito em comum de ambos os estresses nas plantas é a perda da homeostase hídrica, caracterizada pelo componente osmótico. Tal efeito afeta os processos de absorção, acúmulo e manutenção do conteúdo de água e de íons nos tecidos, o que desencadeia danos celulares levando a desidratação e à perda de turgor nas células induzidas por solutos externos (FLOWERS et al, 2014; MELO et al., 2016).

O semiárido corresponde a quase 70% da região Nordeste. Este clima caracteriza-se pelas frequentes secas, devido a baixas precipitações e irregularidades pluviométricas da região (PARAHYBA et al., 2009). Estas características, somadas às más condições de drenagem, à presença de camadas impermeáveis do solo e às elevadas taxas de evapotranspiração, contribuem para o aumento da concentração de sais solúveis na solução do solo (RIBEIRO, 2010), o que caracteriza o estresse salino.

A concentração excessiva de íons salinos (principalmente  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ ) pode causar perda da homeostase hídrica, toxicidade iônica, gerando danos metabólicos, fisiológicos, e estresse oxidativo (CARVALHO et al.,2015). As consequências lesivas da elevada salinidade podem ser notadas na planta inteira, resultando na inibição do crescimento, diminuição da produtividade e em casos mais severos, a morte (MELO et al., 2017).

A redução no potencial hídrico dos tecidos causada pelo excesso de sais e/ou pelo déficit hídrico provoca restrição no crescimento uma vez que as taxas de alongação e de divisão celular dependem diretamente do processo de extensibilidade da parede celular. Dessa forma, o equilíbrio osmótico é essencial para o crescimento dos vegetais em meio salino e qualquer falha resultará em injúrias semelhantes aos da seca, como a perda de turgescência, desidratação e finalmente a morte das células (MAIA et al., 2013; FLOWERS et al., 2014).

Uma estratégia para garantir a manutenção da homeostase hídrica é o ajustamento osmótico, que consiste na síntese e acumulação de solutos orgânicos compatíveis no citosol (ADEM et al., 2014) e na absorção de íons inorgânicos que são compartimentalizados nos vacúolos, fazendo assim com que haja um aumento na concentração de solutos na célula. Desta forma, esse mecanismo permite a redução no

potencial osmótico e aumento no potencial de turgescência da célula, garantindo a absorção de água e a manutenção do crescimento celular (SILVEIRA et al., 2010; JOSEPH et al., 2015).

Solutos orgânicos, mais especificamente os osmólitos compatíveis, ou osmoprotetores são sintetizados em condições de estresse hídrico e salino, auxiliando no ajustamento osmótico, na proteção subcelular e na redução de danos oxidativos (BUCHANAN et al., 2002).

Os osmoprotetores mais comumente estudados e que contribuem na osmoregulação em diferentes espécies são os açúcares redutores e não redutores, os compostos quaternários de amônio como a glicina betaína, as proteínas, aminoácidos e a prolina (OLIVEIRA et al., 2014). Dentre os solutos inorgânicos, e em algumas espécies, foi evidenciado que o acúmulo de íons, tais como  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  e  $\text{Cl}^-$ , também favorecem o ajustamento osmótico (KHOLLOVA et al., 2010).

Adicionalmente o estresse salino possui um segundo componente, o iônico, que envolve a interferência dos íons salinos na absorção, distribuição e utilização dos nutrientes minerais, acarretando distúrbios na homeostase iônica celular (SHABALA, et al., 2012). Estas alterações afetam a atividade de enzimas que atuam em processos metabólicos fundamentais como a síntese de proteínas, a respiração e a fotossíntese (ELLOUZI et al., 2011; SHABALA et al., 2012).

Estrategicamente e em relação ao componente osmótico, as plantas tem desenvolvido mecanismos complexos para suportar o estresse salino (MELO et al., 2016) que incluem: acumulação dos íons nos diferentes tecidos da planta para assegurar a absorção de água (ajustamento osmótico); capacidade para evitar translocação de íons desde a raiz a parte aérea; compartimentação de íons tóxicos em vacúolos das células e IV mecanismo de exclusão de  $\text{Na}^+$  através da membrana plasmática (TAIZ & ZEIGER, 2017).

Em geral, as plantas submetidas a estresse hídrico e salino apresentam respostas negativas, como a geração de espécies Reativas de Oxigênio (EROS) (MILLER et al., 2010). Estas EROs, em pequenas concentrações podem ser úteis como moléculas sinalizadoras na rota de tradução de sinais redox em plantas. No entanto, a subprodução de EROs em células vegetais diante o estresse é destrutivo para o tecido vegetal porque oxidam as membranas celulares, as quais, as conduzem a um dano celular irreversível nos lipídios das membranas, proteínas e ácidos nucleicos (POTTER et al., 2010; MAIA et al., 2013).

As plantas desenvolveram mecanismos de defesa enzimáticos e não enzimáticos capazes de neutralizar a citotoxicidade das EROs. O sistema celular de defesa antioxidante enzimático envolve as enzimas superóxido dismutase (SOD), peroxidase de ascorbato (APX), peroxidase de fenóis (POX) e catalase (CAT), capazes de eliminar as espécies reativas de oxigênio, como são o caso dos: radical superóxido ( $O_2^-$ ), oxigênio singleto ( $^1O_2$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), radical hidroxila ( $OH^-$ ). Já o sistema não enzimático envolve componentes tais como: o ascorbato (AsA), a glutathiona (GSH) e o  $\beta$ -caroteno. Tais antioxidantes podem evitar a formação de radicais livres, sequestrá-los ou promover sua degradação, prevenindo a ocorrência de danos às células das plantas (SERKEDJIEVA, 2011). Contudo, o equilíbrio entre a produção e a neutralização pode ser alterado, aumentando significativamente os níveis intracelulares de EROS, ocasionando o estresse oxidativo. (CERQUEIRA et al., 2015; NUNES JUNIOR et al., 2017; FREITAS, 2017).

Neste contexto, é importante considerar que ao se explorar comercialmente qualquer cultura, os conhecimentos dos efeitos dos sais e da seca sobre a mesma são extremamente importantes, pois isto pode levar a um manejo adequado do cultivo, a fim de aumentar o rendimento da cultura. Diante disso, estudos de mecanismos de tolerância à salinidade e à seca, e a identificação de espécies resistentes a tais fatores ambientais são de fundamental importância, pois são formas econômicas e mais viáveis de aumentar a produtividade agrícola em regiões áridas e semiáridas.

O girassol (*Helianthus annuus* L.) é uma espécie caracterizada por ampla aclimação, alto teor e qualidade do óleo de suas sementes, sendo uma das culturas de maior potencial para a produção de biocombustível, o que a insere no programa nacional de produção e de uso de biodiesel (SCHWERZ et al., 2016). Além da qualidade do óleo e do farelo, o girassol apresenta ampla adaptabilidade às condições edafoclimáticas do Brasil e é mais tolerante à seca, a salinidade ao frio e ao calor do que a maioria de outros cultivos agrícolas no país (DALCHIAVON et al., 2016; SOARES et al., 2016).

O sucesso do estabelecimento da cultura do girassol no sistema produtivo brasileiro depende, entre outros fatores, da utilização de genótipos adaptados e com características mais adequadas às regiões de cultivo, que facilitam as práticas culturais, diminuem o risco de perdas de produção e aumentam a rentabilidade do produtor. (DALCHIAVON et al., 2016).

Portanto o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da salinidade e da seca sobre o crescimento, status hídrico, integridade as membranas celulares bem como a contribuição de solutos orgânicos e inorgânicos na contribuição ao ajustamento osmótico e a resposta do dano oxidativo e do sistema antioxidante enzimático e não enzimático em plantas de girassol (*Helianthus annuus*).

## **2. REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Aspectos gerais da cultura do girassol.**

O girassol (*Helianthus annuus* L.) é uma dicotiledônea anual da família Asteraceae, originária do continente americano, tendo como centro de origem o México. A espécie adapta-se a diferentes condições ambientais, podendo ser cultivada do Norte ao Sul do Brasil (SANTOS et al., 2016; SIMÕES et al., 2018).

A planta do girassol apresenta grande diversidade de características fenotípicas. Possui caule robusto e ereto, com ou sem pelos, geralmente sem ramificações, com diâmetro variando entre 15 e 90 mm e altura entre 0,5 a 4,0 m (MELO, 2012). Suas folhas podem apresentar diversos formatos e tamanhos, são pecioladas, alternadas, com comprimento e quantidades variadas. O sistema radicular é do tipo pivotante que, quando deixado após a colheita, promove uma considerável reciclagem de nutrientes e aumento da matéria orgânica do solo (CASTRO et al., 1996a).

O cultivo do girassol é uma opção viável para os sistemas de rotação e sucessão de culturas por apresentar características agronômicas desejáveis, como ciclo curto, ampla adaptabilidade às diferentes condições edafoclimáticas, alta capacidade de adaptação a variações de latitude, longitude e fotoperíodo. Além disso, é uma cultura resistente ao frio e ao calor, ao ataque de pragas e doenças e potencializam cultivos subsequentes devido seu sistema radicular promover melhoria nas condições químicas, físicas e biológicas do solo (CARVALHO et al., 2015).

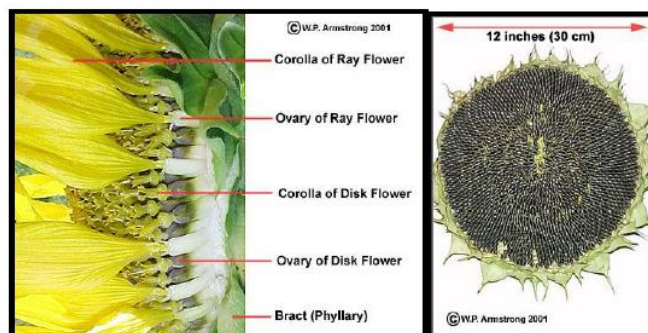
O girassol apresenta óleo de alta qualidade para consumo humano e produção de biocombustíveis. A partir da extração do óleo são gerados sub-produtos (tortas e farelos) que podem ser utilizados na ração animal (SANTOS et al., 2015).

A inflorescência desta espécie é do tipo capítulo com formação plana, convexa ou côncava com diâmetros de 6 a 50 cm, com número de flores variando de 100 a 8000

por capítulo (CASTRO et al., 1996b). As flores do disco produzem os frutos, denominados aquênios (grãos). As flores do raio, que são estéreis, servem para atrair insetos polinizadores, particularmente abelhas que propiciam a fecundação cruzada (CASTRO et al., 1996a).

Os aquênios têm formas oblongas, geralmente achatada, composto de pericarpo, mesocarpo e endocarpo de tamanho, cor e teor de óleo variável conforme as características de cada cultivar. As amêndoas contêm baixo teor de fibras, entretanto são ricas em óleo e proteínas. Já a casca contém uma baixa percentagem de óleo (0,4 a 1,7%) e proteína bruta 1,7 a 4,5% com cerca de 50% de fibra crua (BORTOLINI et al., 2012) (Figura 1).

A maturação das sementes de girassol é bastante complexa, pois em uma mesma época podem ocorrer diferenças no grau de maturação entre capítulos de diferentes plantas. Para Anderson (1975), a antese no girassol ocorre de forma desigual no capítulo, da margem para o centro, de modo que as sementes de uma mesma planta se encontram em diferentes estádios de desenvolvimento, o que dificulta a realização da colheita no ponto de maturidade fisiológica, comprometendo assim a qualidade das sementes, pois para que um lote contenha boa qualidade é imprescindível que a colheita ocorra o mais próximo da maturidade fisiológica das sementes (CASTRO et al., 1996b; NEVES et al., 2005).



**Figura 1:** Aspectos morfológicos do capítulo de girassol (*Helianthus annuus* L.).

Devido suas características morfofisiológicas o girassol é indicado para a produção de ração animal e uso humano (alimentício ou farmacêutico). Dos grãos pode ser extraído cerca de 400 kg de óleo, 250 kg de casca e 350 kg de torta para os animais, com 45 a 50% de proteína bruta por tonelada (SIMOLIRA et al., 2011).

Na composição das sementes de girassol, os lipídios absorvem menor quantidade de água do que sementes com baixo conteúdo de óleo (BALESEVIC-TUBIC et al.,



2005). Dentre os óleos vegetais, o óleo de girassol destaca-se por suas excelentes características físico-químicas e nutricionais. Possui alta relação de ácidos graxos poliinsaturados (69%) e saturados (11%), sendo que o teor de poliinsaturado é constituído, em grande parte, pelo ácido linoléico (69%) (Tabela 1). Por essas características, é um dos óleos vegetais de melhor qualidade nutricional e organoléptica do mundo (DALCHIAVON et al., 2016). Adicionalmente, esse óleo vem sendo também utilizado para a produção de biodiesel devido às suas qualidades excepcionais (NUNES JUNIOR et al., 2017).

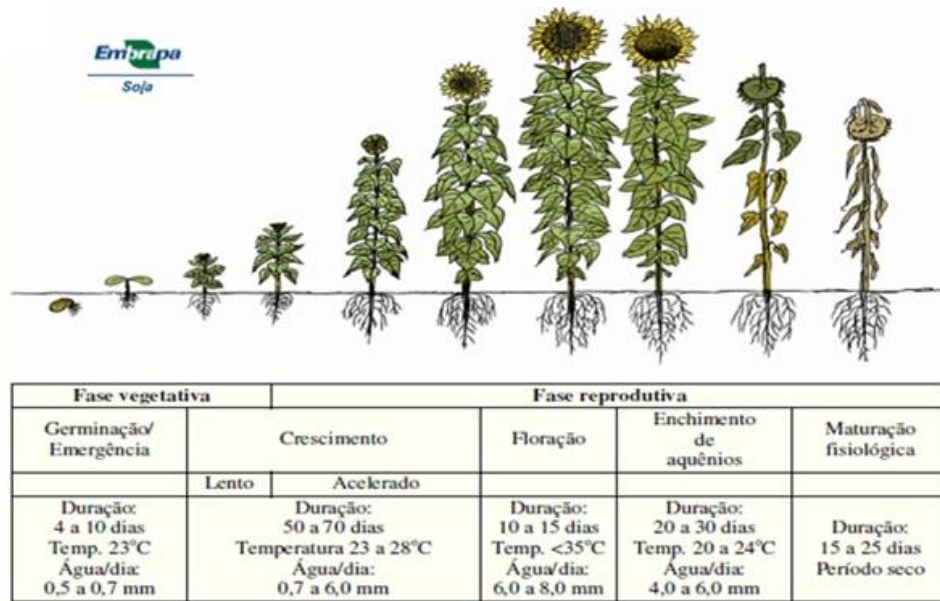
**Tabela 1:** Composições de ácidos graxos em sementes de girassol.

Óleo	Monoinsaturado	Polinsaturado	Saturado
Alto oleico	82%	9%	9%
Médio Oleico	65%	26%	9%
Girassol linoleico	20%	69%	11%
Canola	62%	32%	6%
Oliva	77%	9%	14%

Fonte: Embrapa Soja, 2007.

O girassol possui ciclo vegetativo relativamente curto variando entre 90 a 130 dias. Em média, o florescimento ocorre 60 dias após a semeadura, possibilitando a fecundação cruzada. Em lavouras comerciais, durante a floração, as abelhas propiciam aumento da produção pela polinização, ou seja, associada à produção de aquênios, a produção de mel pode ser outra fonte de renda, visto que chega a produzir de 30 a 40 kg de mel por hectare (MELO, 2012).

A cultura do girassol é pouco influenciada pela latitude, longitude e pelo fotoperíodo. As faixas de temperatura toleradas pelo girassol giram em torno de 10 a 34 °C. As necessidades hídricas variam de 200 mm até 900 mm por ciclo, sendo que 200 mm bem distribuídos até os 70 dias após a semeadura, são suficientes para obter uma boa produtividade (Figura 2). O período de maior necessidade de água é entre os 10 e o 15 dias, anterior ao início do florescimento e de 10 a 15 dias após o final da floração (INMET, 2015; DALCHIAVON et al., 2016).



**Figura 2:** Representação esquemática da duração das principais fases de desenvolvimento do girassol (*Helianthus annuus* L.), com as respectivas exigências térmicas e hídricas. (Adaptado da apresentação de Sergio Gonçalves da Embrapa Soja).

Toda a área agrícola do Brasil é adequada para o cultivo do girassol devido a condições climáticas satisfatórias e características agronômicas desta cultura, como tolerância ao déficit hídrico, baixa incidência de pragas e doenças e rendimento não afetado por latitudes, altitudes e fotoperíodo (EMBRAPA, 2013). No entanto, para o plantio do girassol são indicados os solos de textura média, profunda com boa drenagem, razoável fertilidade e pH variável de ácido a neutro (superior a pH 5,2) (LIRA et al., 2011).

A alta eficiência em explorar a água disponível no solo para seu desenvolvimento e sua tolerância à ampla faixa de temperatura, faz com que o girassol seja capaz de produzir grande quantidade de matéria seca sob condições de estresse hídrico, sem redução significativa da produção (CASTRO & FARIA, 2005).

## 2.2 Importância econômica do girassol

O girassol é uma espécie produtora de grãos e forragem de fácil adaptação aos diversos ambientes, apesar de não ter a mesma tradição de cultivo no país como o algodão, o milho e a soja, dentre outras culturas. Produz um óleo com excelente

qualidade industrial e nutricional, sendo sua principal utilização como óleo comestível. Além disso, a torta produzida como subproduto da extração do óleo é uma excelente ração animal; associações do cultivo de girassol com a apicultura aumentam tanto a produção de mel como o próprio óleo, pela ação polinizadora e; o óleo vem ganhado espaço no mercado do biocombustível por sua excelente qualidade físico-químico (LIRA et al., 2011).

Caracterizada como uma glicófita da família Asteraceae, o girassol é economicamente importante e possui ciclo fenológico anual. No Brasil, o interesse pelo plantio de girassol vem crescendo devido à busca por novas opções de cultivo para a agricultura familiar e diversificação de culturas, além do aumento da demanda das indústrias por óleo de melhor qualidade para produção de biocombustíveis (CONAB, 2010; SCHWERZ et al., 2016).

O girassol destaca-se entre as oleaginosas devido ao elevado teor de óleo em suas sementes com quantidades superiores a 50%. O óleo apresenta um conteúdo de ácido linoleico, acima de 68%, ideal para a produção de biodiesel (WU et al., 2015; SCHWERZ et al., 2016). Somando-se a estes fatores, o alto potencial desta espécie para o cultivo em larga escala, inclusive nas regiões áridas e semiáridas, está ligado a sua resistência à falta de água e a baixas temperaturas. Ainda, com base em indicadores de estresse hídrico, é considerada uma espécie de tolerância moderada a seca e salinidade (OLIVEIRA et al., 2014; NUNES JUNIOR et al., 2017)

A implantação do Programa de Biodiesel no Brasil, que determina a adição crescente de óleos de origem vegetal ao diesel, serviu como incentivo à produção de várias culturas, particularmente as oleaginosas (SILVA & FREITAS, 2008). As espécies mais cultivadas para produção de biodiesel no país são: algodão, amendoim, canola, crambe, girassol, soja, dendê, mamona e pinhão manso (TRZECIAK et al., 2008).

A produtividade média nacional de girassol, prevista para a safra 2016/17 deverá ser da ordem de 1.419 kg/ha, significando aumento de 14,9%, em relação à safra 2015/16 (CONAB, 2017). A cotação média da saca de 60 kg nos principais estados produtores teve registro de baixa em reais, devido à maior oferta do produto no mês de março/17, ficando abaixo da média anual de 2016, em 3,5%. Por sua vez, a cotação média do dólar no período de 05/03/2017 a 04/04/2017 foi de R\$ 3,13 (BACEN, 2017) (Tabela 2).

**Tabela 2:** Preços(R\$) recebidos por produtor para cada saca de 60 kg de grãos de girassol.

Período	GO	MT	RS	Média mensal
01/2016	64,50	60,00	75,51	66,67
02/2016	68,75	60,00	74,67	67,81
03/2016	66,50	60,00	69,06	65,19
04/2016	66,80	60,00	68,00	64,93
05/2016	59,96	60,00	72,19	64,05
06/2016	61,2	60,00	79,30	66,83
07/2016	56,63	60,00	73,94	63,52
08/2016	59,87	60,00	68,88	62,92
09/2016	62,13	60,00	68,47	63,53
10/2016	63,25	60,00	66,63	63,29
11/2016	66,00	60,00	66,78	64,26
12/2016	68,92	60,00	68,50	65,81
Média anual	63,71	60,00	70,99	64,90
01/2017	65,58	62,00	66,44	61,67
02/2017	57,83	62,00	65,68	61,84
03/2017	55,10	66,80	62,50	61,47
Média anual	59,50	63,60	64,87	62,66

Fonte: Conab/Geint (2017)

Em relação à produtividade de girassol, enquanto a media mundial é de cerca de 1300 kg/ha, no Brasil a produtividade média está em torno de 1500 kg/ha. Mesmo com a expansão desordenada da cultura, falta de zoneamento agroclimático e fitossanitário, além da assistência técnica ser pouco capacitada, em condições de campo e em regiões com mais tradição de cultivo as produtividades médias alcançam 2000 kg/ha.

Considerando que o girassol é uma cultura de segunda safra (ou safrinha) no Brasil, baseando nas produtividades alcançadas, estima-se que o país poderá vir a ser um dos protagonistas na cultura, não só em produtividade, como também em área cultivada (EMBRAPA SOJA, 2017).

O cultivo do girassol vem-se consolidando como cultura alternativa em sucessão ao milho e à soja, pela tolerância ao déficit hídrico. Sua elevada capacidade de ciclagem de nutrientes proporcionada pela absorção em maiores profundidades e sua reduzida taxa de exportação de nutrientes, têm favorecido o interesse dos produtores pela cultura (AQUINO et al., 2013).

O Nordeste brasileiro é outra região que vem testando o girassol, com grandes possibilidades de sucesso. Nessa região, o girassol consiste numa cultura de interesse

para a pequena propriedade, já que, pelo alto teor de óleo no grão, permite a extração mecânica do óleo, que pode ser centralizada nas comunidades e associações rurais, utilizando prensas simples. Esse aspecto proporciona a agregação de valor ao produto, contribuindo para a sustentabilidade da agricultura familiar, que além de fornecer óleo comestível de excelente qualidade, fornece como coproduto, torta de girassol para o arraçãoamento da pecuária local (EMBRAPA SOJA, 2017).

Segundo o Conab (Campanha Nacional de Abastecimento – Agrícola, 2014), o Nordeste brasileiro contribuiu com 2% do total produzido no país, destacando-se apenas os estados do Rio Grande do Norte e Ceará (Tabela 3). A introdução do girassol, em áreas desmatadas e degradadas do semiárido, para produção do biodiesel representa um grande ganho ambiental para esta região.

**Tabela 3:** Girassol no Nordeste e Centro-oeste nas safras de 2012/2013 e 2013/2014.

Discriminação	Safra 2012/2013	Safra 2013/2014
NORDESTE	NORDESTE	NORDESTE
Área (mil ha)	0,5	0,2
Produção (mil t)	0,2	--
Produtividade (kg/há)	422 kg/ha	428 kg/ha
CENTRO-OESTE	CENTRO-OESTE	CENTRO-OESTE
Área (mil ha)	55,2	122,7
Produção (mil t)	91,9	250,3
Produtividade (kg/há)	1.666	2.040

Fonte: Conab, 2014

A rotação com culturas alimentícias também favorece a preservação do meio ambiente, pois a partir da utilização destas áreas, que outrora não estavam sendo aproveitadas, não haverá a necessidade de desmatamentos de novas áreas para o suprimento alimentar/industrial da população (EMBRAPA SOJA, 2011). A má distribuição e a não ocupação das terras abandonadas, parecem contribuir para que a produção, o processamento e o consumo da oleaginosa, bem como dos seus principais derivados sejam cotados para o cultivo e o aproveitamento destas regiões (LEITE et al., 2005).

Desde o ano de 2005, os dados da exploração de girassol no Nordeste têm sido levantados pelo IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). Estudos

realizados pela Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Norte (EMPARN) tem mostrado que o girassol possui ampla adaptabilidade a diversos ambientes, podendo inclusive ser cultivado em regiões semiáridas e tropicais de praticamente todo o Estado. Ensaio realizados nos municípios Norte-Riograndenses de Apodi, Ipanguaçu e Canguaretama, em duas redes experimentais nos anos agrícolas de 2006 e 2007, registraram médias de produção que variaram de 1300 a 2700 kg ha<sup>-1</sup>, superiores à média nacional de 1500 kg ha<sup>-1</sup>, o que evidencia as condições edafoclimáticas propícias ao desenvolvimento de cultura do girassol no Rio Grande do Norte (LIRA et al., 2011).

O girassol pode ter todas as suas partes vegetais aproveitadas, com funções diversas e o seu cultivo tem despertado interesse em todo o mundo, devido a sua reconhecida importância socioeconômica; especialmente pelo uso como planta forrageira para alimentação animal, como planta melífera, ornamental, na produção de óleo para alimentação humana e produção de biocombustíveis (ANDRADE et al., 2014)

Além dos inúmeros produtos finais que a cultura do girassol disponibiliza para os produtores que a cultiva, desde 2006 no Brasil os produtores obtiveram um estímulo com a busca por energias renováveis. Assim, o girassol começa a competir com outras culturas e com os interesses dos seus produtos finais, por exemplo, a produção do seu óleo destinado a fins comestíveis ou ainda para produção de biocombustível. O girassol apresenta-se como uma cultura promissora para a reparação de solos degradados e como uma cultura de segunda safra, aumentando o lucro final, sobretudo, para o pequeno produtor (SOARES et al., 2016)

No entanto, como qualquer outra cultura o girassol e apesar dessa cultura se adaptar fácil a ambientes hostis (com déficit hídrico elevado e solos salinizados), ela ainda precisa de estudos para suprir as suas exigências nutricionais.

### **2.3 A seca e a salinização dos solos do Nordeste brasileiro.**

A agricultura, em várias partes do mundo, porém mais intensamente em regiões áridas e semiáridas, está enfrentando problemas com a falta de recursos hídricos adequados. No entanto, a irrigação foi adotada nestas regiões como a melhor prática para garantir a produção agrícola mediante a seca. Contudo, a gestão inadequada da irrigação, através do uso de água contendo altas concentrações de sais, associada à evaporação elevada e chuvas insuficientes para lixiviar os sais do solo, contribuem para a acumulação de sais e a salinização de áreas irrigadas, acarretando problemas

ambientais como a contaminação de lençóis freáticos. (CARVALHO et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2014).

De acordo com Travassos et al. (2012), na região Nordeste do Brasil são explorados milhares de poços cujas águas são utilizadas para a irrigação, representando um importante insumo na cadeia produtiva. Contudo, quando salobra ( $CE > 2,2 \text{ dSm}^{-1}$ ), a água pode salinizar as áreas, agravando os problemas de salinidade e desertificação do solo (LACERDA et al., 2011).

O uso de águas salinas na irrigação para produção vegetal é um desafio que vem sendo superado com o sucesso em diversas partes do mundo, com a adoção de práticas de manejo da cultura, do solo e da água de irrigação (RIBEIRO et al., 2010). Dentre as práticas de manejo recomendadas para se produzir satisfatoriamente, em condições de solo ou de água com altos riscos de salinização, destaca-se o uso de plantas tolerantes à salinidade, o que torna importante os estudos que visem avaliar a sensibilidade das espécies ao estresse salino ou déficit hídrico (TRAVASSOS et al., 2012).

Apesar de o Brasil apresentar um grande potencial para a produção de espécies que podem ser utilizadas na agricultura familiar ou na produção do biodiesel, como é o caso das oleaginosas, o país vem perdendo constantemente áreas consideradas agricultáveis (DANTAS et al., 2006). Na região Nordeste do Brasil, por exemplo, de aproximadamente  $1.600.000 \text{ km}^2$  de terras, cerca de 90% são caracterizados como insuficientes em água, constituindo o chamado “polígono das secas”, onde 88,6% do território do Rio Grande do Norte está inserido (DANTAS et al., 2002).

Na região Nordeste do Brasil, onde a viabilidade de diversificação de cultivo agrícola é escassa, o mercado emergente de biodiesel pode auxiliar no desenvolvimento do setor agrícola local. Esta região do país possui imensa diversidade de plantas oleaginosas que na sua maioria ainda precisam ser estudadas, exploradas e, em alguns casos, domesticadas e preservadas (BELTRÃO & OLIVEIRA, 2007). Apesar disto, devido à aridez da região, a agricultura irrigada, pela escassez de chuva, vem se expandindo e com ela, a salinidade dos solos vem crescendo e ocupando áreas cada vez mais extensas (RIBEIRO, 2010).

#### **2.4 Efeitos do déficit hídrico e estresse salino nas plantas.**

A seca é provavelmente um dos mais importantes fatores que limita a produtividade agrícola nas grandes regiões do mundo, principalmente nas regiões

semiáridas (ZANETTI et al., 2016). Tal condição afeta a absorção de água e nutrientes, a germinação da semente, o fechamento e abertura dos estômatos, a atividade fotossintética, a transpiração, a atividade enzimática e vários outros processos fisiológicos e metabólicos (CASTRO & FARIAS, 2005). O efeito desse estresse na planta é caracterizado pelo componente osmótico, sendo a perda de turgor um dos primeiros sintomas da falta de água nos tecidos vegetais, com consequente redução do crescimento celular, na taxa de expansão foliar e em menor grau, na taxa de aparecimento das folhas (GHOBADI et al., 2013).

O estresse salino, assim como o déficit hídrico, apresenta o componente osmótico, causado por uma diminuição no potencial hídrico do solo, e pode levar as plantas a uma condição de seca fisiológica, onde a água está presente no ambiente, mas não está disponível, devido à hiperosmolaridade da solução do solo (SMITH et al., 2010). Adicionalmente, a salinidade possui ainda o componente iônico, gerado pela absorção e acumulação de íons como  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  nos diferentes órgãos da planta (GUEDES FILHO, et al., 2015). O excesso de  $\text{Na}^+$  e principalmente o excesso de  $\text{Cl}^-$  no protoplasma, ocasionam distúrbios em relação ao balanço iônico, bem como o efeito específico dos íons sobre as enzimas e membranas (LARCHER, 2004). Para Koyro (2006), o estresse osmótico gerado pela seca e salinidade representam os mais comuns estresses ambientais, que limitam o crescimento vegetal e a produtividade das culturas.

Em condições de déficit hídrico e salinidade determinados processos como a síntese de proteínas, metabolismo de lipídios e fotossíntese são afetados. Uma das respostas iniciais das plantas aos estresses é a redução da expansão da superfície foliar, que acompanha a intensificação do estresse, promovendo redução nas concentrações de carboidratos tornando-os indispensáveis para o desenvolvimento celular (GUEDES FILHO, et al., 2015). Contudo, as plantas desenvolvem mecanismos para manter o status hídrico, denominado ajustamento osmóticos (CARVALHO et al., 2015).

## **2.5 O ajustamento osmótico nas plantas**

Uma estratégia para garantir a manutenção da homeostase hídrica é o ajustamento osmótico, ou osmorregulação, que consiste na síntese e acumulação de solutos orgânicos compatíveis no citosol (BUCHANAN et al., 2009) e na absorção de íons inorgânicos, tais como  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  e  $\text{Cl}^-$ , que são compartimentalizados principalmente



nos vacúolos. Como consequência dessas ações, o potencial osmótico é reduzido e o potencial de turgescência da célula é aumentando, garantindo a absorção de água e a manutenção do crescimento celular (SILVEIRA et al., 2010), além de mudanças na rota fotossintética, indução de enzimas antioxidantes, aumento no crescimento da raiz, dentre outros (MELO, 2012).

Solutos orgânicos, mais especificamente os osmólitos compatíveis, são sintetizados em condições de estresse hídrico e salino, auxiliando no ajustamento osmótico, na proteção subcelular e na redução de danos oxidativos (BUCHANAN et al., 2002). Os osmoprotetores mais comumente estudados e que contribuem na osmorregulação em diferentes espécies são os açúcares, as proteínas, a prolina e aminoácidos livres totais (KÖSKEROSGLU & TUNA, 2010; OLIVEIRA et al., 2014). Esses osmólitos têm sido estudado intensamente em plantas sob condições de estresse salino e déficit hídrico (MELO et al., 2016), pois plantas com altas concentrações de prolina, manitol ou outros produtos provenientes do metabolismo de açúcares, comumente estão associados à possível tolerância aos efeitos causados pelo déficit hídrico ou toxicidade por íons salinos (TAJI et al., 2004).

Esses osmorreguladores são importantes para o balanço osmótico e ao mesmo tempo, compatíveis com o metabolismo celular e podem se concentrar distintamente em diferentes partes da planta e cada um deles pode apresentar um efeito fisiológico diferente, ou seja, enquanto alguns podem proteger enzimas e estruturas órgão-específicas, outros podem contribuir para o balanço osmótico parcial da planta, evitando o acúmulo de solutos inorgânicos (ALBUQUERQUE et al., 2013).

Os osmólitos intracelulares incluem os íons inorgânicos, que são absorvidos principalmente do meio em que as plantas se encontram, sendo esses sequestrados no vacúolo, transportados para balancear o baixo potencial osmótico nos vacúolos (SHABALA et al., 2011; 2012). Em algumas espécies, a acumulação dos íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  também favorece o ajustamento osmótico e a redução do potencial hídrico da planta. Porém, a exposição ao excesso de sais por um longo período pode causar na planta danos por toxicidade, quando não exportados, secretados ou compartimentados adequadamente (FRICKE et al., 2006).

## **2.6 Danos oxidativos e a resposta antioxidativa**

Dentre todas as atividades que dependem do turgor celular a fotossíntese é uma das variáveis que apresentam maior sensibilidade à seca (LAWLOR; TEZARA, 2009). Assim, os teores de pigmentos fotossintéticos são frequentemente utilizados para estimar a capacidade fotossintética das plantas na ocorrência de diversos estresses ambientais (LEPEDUŠ et al., 2017). Neste caso, fatores ligados à eficiência fotossintética e conseqüentemente ao crescimento e adaptabilidade a diversos ambientes estão diretamente relacionados aos teores das clorofilas a e b, além dos carotenóides, (SANTOS et al., 2011).

Uma conseqüência direta dos efeitos primários do estresse salino e/ou do déficit hídrico é o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs), que são prejudiciais às células vegetais em concentrações elevadas, mas que, em níveis relativamente baixos, podem atuar como moléculas sinalizadoras de mecanismos que minimizam o estresse abiótico (PANG & WANG, 2008). Essas EROs, produzidas durante o estresse salino, podem causar danos nas membranas celulares, nos pigmentos fotossintéticos, nas proteínas e nos lipídios e nos ácidos nucleicos (OLIVEIRA, 2012). Contudo, a peroxidação lipídica e a carbonilação de proteínas, induzidas por radicais livres, são os danos moleculares mais expressivos deste processo metabólico degenerativo molecular (REN et al., 2016; NUNES JUNIOR et al., 2016)

Existem muitas fontes das EROs na planta, algumas delas estão envolvidas em reações normais do metabolismo, como na fotossíntese e a respiração. Nesses processos, o oxigênio molecular pode seguir duas rotas, a das oxidases, a qual consiste na formação de água pela transferência de quatro elétrons para o oxigênio na cadeia respiratória (redução tetravalente), acoplada à fosforilação oxidativa que forma ATP; e a rota das oxigenases, culminando na formação das EROs, na forma de oxigênio singleto ( $^1O_2$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), radical hidroxila ( $OH\bullet$ ) e ânion superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), através da transferência de um elétron de cada vez para o oxigênio (redução univalente) (MITTLER, 2002; BARBOSA et al., 2014).

Essas moléculas tóxicas são formadas durante funções metabólicas normais nos peroxissomos ou induzidas por estímulos ambientais aos quais as plantas estão constantemente expostas (SHARMA et al., 2012; NUNES JUNIOR et al., 2016). As EROs são, sobretudo, subprodutos do metabolismo celular regular, mas podem ser geradas com a destruição do sistema de transporte de elétrons durante condições de estresse. O principal ponto de produção de EROs na célula durante o estresse são as

organelas com alta atividade de oxidação metabólica ou com fluxos de elétrons sustentados: cloroplastos e mitocôndrias (ARAUJO et al., 2017).

Nos cloroplastos, a formação de EROs esta relacionadas com eventos da fotossíntese e nas mitocôndrias a produção de EROs esta relacionadas ao fenômeno de fotorrespiração e outra forma de produção de  $H_2O_2$ . A produção de EROs em mitocôndrias de plantas recebeu pouca atenção no passado, mas dados recentes sugerem que tais organelas podem ser fontes de EROs sobre condições de estresse específica (VITAL, 2014).

Ainda, não está totalmente elucidado o papel da produção e controle das concentrações de EROs durante o estresse hídrico em plantas. De maneira geral, os estresses abióticos estão associados à produção de EROs, sendo, em baixas concentrações, necessários como sinalizadores do processo de aclimação das plantas (REN et al., 2016). No entanto, quando há um desequilíbrio entre produção e eliminação, desencadeiam-se danos às proteínas e aos ácidos nucleicos, além da peroxidação de lipídios de membrana, podendo levar as células do organismo à morte (MILLER et al., 2010). Todavia, as plantas apresentam mecanismos de defesa contra as EROs representadas por enzimas antioxidantes que incluem a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT), a ascorbato peroxidase (APX), peroxidase de fenóis (POX), dentre outros (MUNNÉ-BOSCH et al., 2013; ARAUJO et al., 2017).

## **2.7 Enzimas antioxidantes**

As superóxido dismutases (SOD) desempenham papel chave no sistema de defesa antioxidante por serem enzimas catalisadoras da dismutação do superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) a peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e oxigênio ( $O_2$ ) (CATANEO, et al., 2010). As SOD's são metaloenzimas que ocorrem em três diferentes formas moleculares, podendo estar ligadas a um grupo metálico (Cu/Zn, Mn e Fe). As plantas normalmente têm Cu/Zn-SOD no citosol, Cu/Zn e/ou Fe-SOD no cloroplasto e Mn-SOD na mitocôndria. As SOD's são consideradas importantes agentes antioxidantes, porém, em elevadas concentrações nas células animais e bacterianas, podem induzir disfunções e morte celular (BAKER & ORLANDI, 1995; CATANEO, et al., 2010).

Já a Catalase é uma heme proteína (uma enzima que contém um grupamento heme em sua estrutura) citoplasmática que catalisa a redução do  $H_2O_2$  em água e  $O_2$ , sem utilizar antioxidante não enzimático (MAIA, 2008). Essa enzima é encontrada em todos os eucariotos aeróbios e é muito importante na remoção do peróxido de hidrogênio produzido nos peroxissomas e glioxissomas pelas oxidases, envolvidas na  $\beta$ -oxidação de ácidos graxos, nas reações do glioxilato (fotorrespiração) e no catabolismo das purinas (CARVALHO, 2011).

As peroxidases são, provavelmente, as enzimas mais amplamente distribuídas na célula, sendo aparentemente, as mais estáveis das enzimas associadas com a oxidação em tecidos de plantas (MAIA, 2004). As peroxidases de plantas são glicoproteínas que contêm um grupamento heme em sua estrutura e possuem a função básica de catalisar a oxidação do peróxido de hidrogênio a partir de numerosas espécies de substratos orgânicos e inorgânicos, tais como citocromo C, nitrito, ascorbato e outros (ZAMOCKY et al., 2001; CAVALCANTE, 2007).

No grande grupo das peroxidases as ascorbato peroxidases (APX) são heme-peroxidases cujo grupo prostético é uma protoporfirina. As APXs apresentam alta especificidade por ascorbato, o qual funciona como substrato redutor. Em geral, são inibidas por cianeto e azida e, em conjunto com as CATs, catalisam a redução de  $H_2O_2$  para água no meio intracelular (MAIA, 2004). Adicionalmente, as peroxidases de fenóis (POX) são ativas principalmente na lignificação da parede celular. A oxidação dos alcoóis hidroxicinâmico, precursores imediatos da lignina, é catalisada por POXs, resultando na produção de radicais fenoxi-mesoméricos que reagem espontaneamente durante a deposição de lignina na parede celular (DATTA & MUTHUKRISHNAN, 1999).

O conhecimento sobre as diversas estratégias utilizadas pelas plantas para sobreviver mediante os estresses abiótico, déficit hídrico e estresse salino, permite o melhor manuseio das culturas, principalmente para a expansão agrícola no nordeste Brasileiro. E levando em consideração a importância da expansão agrícola utilizando a cultura do girassol, como planta promissora para o cultivo nas regiões áridas e semiáridas do nordeste.

### 3. REFERÊNCIAS

ADEM, G. D.; ROY, S. J.; ZHOU M.; BOWMAN, J. P.; SHABALA, S. B. M. C. Evaluating contribution of ionic, osmotic and oxidative stress components towards salinity tolerance in barley. **Plant Biology**, v.14, n.1, p.113, 2014.

ALBUQUERQUE, M.P.F. de; MORAES, F.K.C.; SANTOS, R.I.N.; CASTRO, G. L. S. de; RAMOS, E.M.L.S; PINHEIRO, H.A. Ecofisiologia de plantas jovens de mogno-africano submetidas a déficit hídrico e reidratação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.48, n.1, p.9-16, 2013.

ANDERSON, W. K. Maturation of sunflower. **Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry**, v. 15, p. 833-838, 1975.

ANDRADE, L.O. de.; GHEYI, H. R.; DIAS, N. da S.; NOBRE, R.G.; SOARES, F.A.L.;NASCIMENTO, E.C.S. Qualidade de flores de girassol ornamental irrigada com água residuária e doses de esterco. **Revista Caatinga**, v. 27, n. 3, p. 142 – 149, 2014.

AQUINO, L.A. de; SILVA, F.D.B. da; BERGER, P.G. Características agronômicas e o estado nutricional de cultivares de girassol irrigado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v.17, n.5, p.551–557, 2013.

ARAÚJO, E.D.de; MELO, A.S.; ROCHA, M. do S.; CARNEIRO, R.F.; ROCHA, M.de M. Genotypic variation on the antioxidative response of cowpea cultivars exposed to osmotic stress. **Revista Caatinga**, v.30, n.4, p.928 – 937, 2017.

BAKER, C. J. e ORLANDI, E. W. Active oxygen in plant pathogenesis. **Annual Review of Phytopathology**. v.33, p. 299-321. 1995.

BALEŠEVIĆ-TUBIĆ, S.; MALENČIĆ, Đ.; TATIĆ, M.; MILADINOVIĆ, J. Influence of aging process on biochemical changes in sunflower seed. **Helia**. V. 28, n.42, p. 107-114. 2005.

BANCO CENTRAL DO BRASIL- BACEN. Resolução nº 4.583, de junho de 2017.

BANU, M.N.A.; HOQUE, A.; WATANABE-SUGIMOTO, M.; MATSUOKA, K.; NAKAMURA, Y.; SHIMOISHI, Y.; MURATA, Y. Proline and glycinebetaine induce antioxidant N defense gene expression and suppress cell death in cultured tobacco cells under salt stress. **Journal of Plant Physiology**, v. 166, n. 02, p. 146-156, 2009.

BARBOSA, M.R.; SILVA, M.M.de A.WILLANDINO, L.;ULISSES, C.; CAMARA, T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciências Rural**, v.44, n. 3, p.453-460, 2014.

BORTOLINI, E.; PAIAO, G. D.; D'ANDRÉA, M.S.C. **A cultura do girassol**. In: Estudos da planta de girassol. Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura Luiz Queiroz. 2012, p. 13-20.

BRAGA, C. de L.; FERNANDES, D.M.; SIRTOLI, L.F.; LUDWIG, F. Análise de crescimento de girassol ornamental de vaso e aplicação de nitrogênio. **Scientia Agraria Paranaenses**. v.9, n 2, p. 52-59, 2010.

BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W. JONES, R.L. Biochemistry e Molecular Biology of Plants. Rockville. **American Society of Plant Physiologists**, 2009, 1407p.

BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. Biochemistry e Molecular Biology of Plants. **American Society of Plant Physiologists**, 1 ed., 2002.

CARVALHO, C.G.P.de; OZAWA, E.K.M.; AMABILE, R.F.; GODINHO, V.DE P.C.; GONÇALVES, S.L.; RIBEIRO, J.L.; SEIFERT, A.L. Adaptabilidade e estabilidade de genótipos de girassol resistentes a imidazolinonas em cultivos de segunda safra. **Agrária - Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. v.10, n.1, p.1-7, 2015.

CARVALHO, F.E.L.; LOBO A. K.M.; BONIFACIO, A.; MARTINS, M. O.; LIMA NETO, M.C.; SILVEIRA, J.A.G. Aclimação ao estresse salino em plantas de arroz induzida pelo pré-tratamento com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. **Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.15, n 14, p. 416-423, 2011.

CASADEBAIG, P.; DEBAEKE, P.; LECOEUR, J. Thresholds for leaf expansion and transpiration responses to soil water deficit in a range of sunflower genotypes. **European Journal of Agronomy**, v.28, n.4, p.646-654, 2008.

CASTIGLIONI, V.B.R.; BALLA, A.; CASTRO, C.; SILVEIRA, J.M. D. **Fases do desenvolvimento da planta de girassol**. Londrina: EMBRAPA-CNPSO, p.24 1997. (Documento 58)

CASTRO, C. e FARIA, J.R.B. Ecofisiologia do girassol. In. -: LEITE, E.M.V.B. de C. BRIGHENTI, A.M.; CASTRO, C. de (Ed). **Girassol no Brasil**. Londrina: Embrapa Soja, p. 163-218. 2005.

CASTRO, C.; CASTIGLIONI, V.B.R.; BALLA, A. **A cultura do girassol**. Circular Técnica, EMBRAPA-CNPSO, n. 13, 38p. ,1996b.

CASTRO, C.; CASTIGLIONI, V.B.R.; BALLA, A. **A cultura do girassol: tecnologia de produção**. Documentos, EMBRAPA-CNPSO, Londrina n. 67, 20p., 1996a.

CATANEO, A.C.; FERREIRA, L.C.; CARVALHO, J.C.; ANDRÉO-SOUZA, Y.; CORNIANI, N.; MISCHAN, M.M.; NUNES, J.C. Improved germination of soybean

seed treated with thiamethoxam under drought conditions. **Seed Science and Technology**, Madison, v. 38, n. 1, p. 248- 251, 2010.

CAVALCANTE, F.R.; LIMA, J.P.M.S.; FERREIRA-SILVA, S.L.; VIEGAS, R.A.; SILVEIRA, J.G. Roots and leaves display contrasting oxidative response during salt stress and recovery in cowpea. **Journal of Plant Physiology**, v. 164, p. 591-600, 2007.

CERQUEIRA, R.C.; COSTA, J.M.; CHAVES, M.M.; RODRIGUES, J.D. Fisiologia e metabolismo foliar em duas variedades de videira sujeitas a um ciclo de déficit hídrico e reidratação. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 10, p. 211-217, 2015.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos - safra 2009/2010**. Brasília: Conab, 2010. 42 p. (Nono Levantamento).

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos - safra 2016/2017**. Brasília: Conab, 2017.

DALCHIAVON, F.C.; CARVALHO, C.G.P.de; AMABILE, R.F.; GODINHO, V.de P. C.; RAMOS, N.P.; ANSELMO, J.L. Características agronômicas e suas correlações em híbridos de girassol adaptados à segunda safra. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.51, n. 11, p. 1806-1812, 2016.

DANTAS, J.A.; BEZERRA NETO, E.; BARRETO, L.P.; SANTOS, M.V.F. dos. Efeito da salinidade sobre o crescimento e composição mineral de seis clones de *Pennisetum*. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 37, n. 01, p. 97-101, 2006.

DANTAS, J.P.; MARINHO, F.J.L.; FERREIRA, M.M.M.; AMORIM, M. do S.N.; ANDRADE, S.I. de O.; SALES, A.L. Avaliação de genótipos de feijão-de-corda sob salinidade. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 6, n. 3, p. 425-430, 584. 2002.

DATTA, S.K.; MUTHUKRISHNAN, S. **Pathogenesis-Related Proteins in Plants**. London: Ed Boca Raton, 1999, p.29.

ELLOUZI, H.; HAMED, K.B.; CELA, J.; MUNNÉ-BOSCH, S.; ABDELLY, C. Early effects of salt stress on the physiological and oxidative status of *Cakile maritima* (halophyte) and *Arabidopsis thaliana* (glycophyte). **Physiologia Plantarum**, v.142, p.128–143, 2011.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. (Soja). **Recomendações técnicas para o cultivo de girassol**. <[http:// www.cnpso.embrapa.br](http://www.cnpso.embrapa.br)>. 20 Ago. 2017.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Recomendações técnicas para o cultivo de girassol**. <[http:// www.cnpso.embrapa.br](http://www.cnpso.embrapa.br)>. 10 Fev. 2013.

FLOWERS, T.J.; MUNN, R.; COLMER, T.D. Sodium chloride toxicity and the cellular basis of salt tolerance in halophytes. **Annals of Botany**, London, v.115, n.3, p.419-31, 2014.

FRANCHINI, J.C.; COSTA, J.M. da; DEBIASI, H.; TORRES, E. **Importância da rotação de culturas para a produção agrícola sustentável no Paraná**. EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Soja). Documento 327. 2011.p 51.

FREITAS, K.; TEIXEIRA, W.; FAGAN, E.; SOARES, J. Adaptação de *Tibouchina granulosa* Submetida à Aplicação de Alumínio. **Floresta e Ambiente**, 24. 2017.

FRICKE, W.; AKHIYAROVA, G.; WEI, W.; ALEXANDERSSON, E.; MILLER, A.; KJELLBOM, P.O.; RICHARDSON, A.; WOJCIECHOWSKI, T.; SCHREIBER, L.; VESELOV, D.; KUDOYAROVA, G.; VOLKOV, V. The short-term growth response to salt of the developing barley leaf. **Journal of Experimental Botany**, 57:1079-1095, 2006.

GHOBADI, M.; TAHERABADI, S.; GHOBADI, M.; MOHAMMADI, G.; JALALI-HONARMAND, S. Antioxidant capacity, photosynthetic characteristics and water relations of sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivars in response to drought stress. **Industrial Crops and Products**, v. 50, p. 29-38, 2013.

GUEDES FILHO, D.H.; SANTOS, J.B.dos; GHEYI, H.R.; CAVALCANTE, L. F.; SANTOS JUNIOR. Componentes de produção e rendimento do girassol sob irrigação com águas salinas e adubação nitrogenada. **Irriga**, v. 20, n. 3, p. 514-527, 2015.

INMET- INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. **BDMEP - Banco de dados meteorológicos para ensino e pesquisa**. Disponível em: <http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=bdmep/bdmep>>. Acesso em: 27 mar. 2015.

JOSEPH, E.A.; RADHAKRISHNAN, V.V.; MOHANAN, K.V. A Study on the Accumulation of Proline - An Osmoprotectant Amino Acid under Salt Stress in Some Native Rice Cultivars of North Kerala, India. **Universal Journal of Agricultural Research**, Alhambra, v.3, n.1, p.15-22, 2015.

KHOLOVA, J.; SAIRAM, R.K.; MEENA, R.C. Osmolytes and metal ions accumulation, oxidative stress and antioxidant enzymes activity as determinants of salinity stress tolerance in maize genotypes. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.32, p.477-486, 2010.

KÖSKEROSGLU, S.; TUNA, A.L. The investigation on accumulation levels of proline and stress parameters of the maize (*Zea mays* L.) plants under salt and water stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 32, p.541-549, 2010.



KOTCHONI, S. O.; GACHOMO, E. W. The reactive oxygen species network pathways: an essential prerequisite for perception of pathogen attack and the acquired disease resistance in plants. **Journal of Bioscience**, v. 31, p. 389-404, 2006.

KOYRO, H.W. Effect of salinity on growth, photosynthesis, water relations and solute composition of the potential cash crop halophyte *Plantago coronopus* (L.). **Environmental and Experimental Botany**, v.56, n.2, p.136-146, 2006.

LACERDA C.F.; SOUSA G.G.; SILVA F.L.B.; GUIMARÃES, F.V.A.; SILVA, G.L.; CAVALCANTE, L.F. Soil salinization and maize and cowpea yield in the crop rotation system using saline waters. **Engenharia Agrícola**. v.31, n.4, p.15-28. 2011.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima Artes e Textos, 531p, 2004.

LAWLOR, D.W. e TEZARA, W. Causes of decreased photosynthetic rate and metabolic capacity in water-deficient leaf cells: a critical evaluation of mechanisms and integration of processes. **Annals of Botany**. v. 103, p. 561–579, 2009.

LEITE, R.M.V.B.C.; CASTRO, C.; BRIGHENTI, A.M.; et al. **Indicações para o cultivo de girassol nos Estados do Rio Grande do Sul, Paraná, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Goiás e Roraima**. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 4 p. (Comunicado Técnico, 78).

LEPEDUS, H.; JAKOPEC, M.; DUNIC, J.A.; KRIZMANIC, G.; OSMANOVIC, S.; CESAR, V. Temperature-dependent chlorophyll accumulation and photosystem II assembly during etioplast to chloroplast transition in sunflower cotyledons. **Acta Botânica Croatica**. v.76, n.1, 2017.

LIRA, M.A.; CARVALHO, H.W.L. de; CHAGAS, M.C.M. das; BRISTOT, G.; DANTAS, J.A.;LIMA, J.M.P. de. **Avaliação das potencialidades da cultura do girassol como alternativa de cultivo no semiárido nordestino**. Natal: EMPARN, 2011. Documentos, n 40, 43p.

MAIA, J.M. **Efeito aditivo e interativo de tratamentos de seca e NaCl na resposta antioxidativa de raízes de feijão-de-corda [Vigna unguiculata L.(Waip.)]**. (Dissertação de Mestrado). Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal do Ceara, Fortaleza, CE, 2004, 126p.

MAIA, J.M. **Restrição de crescimento induzida por estresse salino como uma estratégia de defesa oxidativa em raízes de feijão-caupi**. (Tese de Doutorado), Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal do Ceara, Fortaleza, CE, p. 158. 2008.

MAIA, J.M.; VOIGT, E.L.; FERREIRA-SILVA, S.L.; FONTENELE, A.de V.; MACÊDO, C.E.C.; SILVEIRA, J.A.G. Differences in cowpea root growth triggered by salinity and dehydration are associated with oxidative modulation involving types I and III peroxidases and apoplastic ascorbate. **Journal of Plant Growth Regulation** – Springer. v. 32, p. 376-387. 2013.

MELO, Y.L. de. **Caracterização e desempenho agrônômico de genótipos de girassol (*Helianthus annuus* L.) quanto a marcadores fenológicos, fisiológicos e bioquímicos em diferentes microrregiões edafoclimáticas do Rio Grande do Norte.** (Dissertação de Mestrado) Departamento de Fitotecnia. Universidade Federal Rural do Semiárido. 2012.

MELO, Y.L. **Suplementação de potássio e cálcio contribui na proteção osmótica e iônica em *Jatropha curcas* L. exposta à salinidade.** 2016. 144 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró - RN, 2016.

MELO, Y.L.; DANTA, C.V.S.; LIMA-MELO, Y.; MAIA, J.M.; MACEDO, C.E.C de. Changes in osmotic and ionic indicators in *Ananas comosus* (L.) MD gold pre-treated with phytohormones and submitted to saline medium. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.39, n 2(e-155). 2017.

MILLER, G.; SUZUKI, N.; CIFTCI-YILMAZ, S.; MITTLER, R. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. **Plant, Cell and Environment**, v. 33, p. 453-467, 2010.

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

MUNNÉ-BOSCH S.; QUEVAL G.; FOYER C.H. The impact of global change factors on redox signaling underpinning stress tolerance. **Plant Physiology**, v.161, p. 5–19, 2013.

NEVES, M. B. **Desenvolvimento de plantas de girassol ornamental (*Helianthus annuus* L.) em vasos em dois substratos, com solução nutritiva e em solo.** Ilha Solteira (2005). Dissertação de Mestrado em Sistema de Produção - Faculdade de Engenharia da Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista. 2005.

NOBRE, R.G.; SOUSA, W.B. da; LIMA, G.S.de; GHEYIS, H.R.; DIAS, A.S.; PINHEIRO, F.W.A. Sources and doses of nitrogen in the production of sunflower plants irrigated with saline water. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v.18, (Suplemento), p.S59–S65, 2014.

NUNES JUNIOR, F.H.; FREITAS, V.S.; MESQUITA, R.O.; BRAGA, B.B.; BARBOSA, R.M.; MARTINS, K.; GONDIM, F.A. Effects of supplement with sanitary landfill leachate in gas exchange of sunflower (*Helianthus annuus* L.) seedlings under drought stress. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 30, p. 24002-24010, 2017.

NUNES JUNIOR, F.H.; GONDIM, F.A.; FREITAS, V.S.; BRAGA, B.B.; BRITO, P.O.B. de; MARTINS, K.; Crescimento foliar e atividades das enzimas antioxidativas em plântulas de girassol suplementadas com percolado de aterro sanitário e submetidas a estresse hídrico. **Revista Ambiente e Água. An Interdisciplinary Journal of Applied Science**. v. 12, n.1, 2016.

OLIVEIRA, M.D.M. **Indicadores de estresse salino em faveleira [*Cnidoscolus phyllacanthus* (M. Arg.) Pax et K. Hoffm.], espécie promissora para produção do biodiesel**. Tese (Doutorado). Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró, 121p., 2012.

OLIVEIRA, M.D.M.; BEZERRA, L.L.; DANTAS, C.V.S.; VOIGT, E.L.; MAIA, J.M.; MACÊDO, C.E.C.M. The role of xylopodium in Na<sup>+</sup> exclusion and osmolyte accumulation in faveleira [*Cnidoscolus phyllacanthus* (d. arg.) Pax et K. Hoffm] under salt stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.36, p.2871-2882, 2014.

PANG, C.A.; WANG, B. Oxidative Stress and Salt Tolerance in Plants. **Progress in Botany**, v. 69, p. 231-246, 2008.

PARAHYBA, R.E.R.; CAVALCANTI, V.M.M.; PERLATTI, F. Mineração no semiárido brasileiro. **Departamento Nacional de Produção Mineral**, Brasília, 2009.

POTTER, J.E.; SCHMERTMANN, C.P.; ASSUNÇÃO, R.M.; CAVENAGHI, S.M. Mapping the Timing, Pace, and Scale of the Fertility Transition in Brazil. **Population and development review**. v.36 (2), p. 238-307. 2010.

REN, J.; SUN, L.N.; ZHANG, Q.Y.; SONG, X.S. Drought tolerance is correlated with the activity of antioxidante enzymes in *Cerasus humilis* seedlings. **BioMed Research International**, v. 2016, p. 1-9, 2016.

RIBEIRO, M.R. **Origem e classificação dos solos afetados por sais**. In: GHEYI, H.R.; DIAS, N.S.; LACERDA, C.F. Manejo da salinidade na agricultura: estudos básicos e aplicados. Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Salinidade, Fortaleza, 2010. p.12–19.

RIBEIRO, M.S.; LIMA, L.A.; FARIA, F.H. de S.; SANTOS, S.R. dos S.; KOBAYASHI, M. K. Classificação da água de poços tubulares do norte do estado de

Minas Gerais para uso na irrigação. **Engenharia na Agricultura (Reveng)**, Viçosa, v. 18, n. 3, p. 208-218, 2010.

SANTOS, A.M.P.B.dos; PEIXOTO, C.P.; ALMEIDA, A.T.; SANTOS, J. M. da S.dos; MACHADO, G.da S. Tamanho ótimo de parcela para a cultura de girassol em três arranjos espaciais de plantas. **Revista Caatinga**, v. 28, n.4, p.265-273, 2015.

SANTOS, E.R.dos; BORGES,P.R.S.; SIEBENEICHLER, S.C.; CERQUEIRA, A.P.de; PEREIRA, P. R. Crescimento e teores de pigmentos foliares em feijão-caupi cultivado sob dois ambientes de luminosidade. **Revista Caatinga**, v. 24, n. 4, p. 14-19, 2011.

SANTOS, J. B. dos; GUEDES FILHO, D.H.;GHEYI, H. R.; LIMA, G.S. de; CAVALCANTE, L.F. Irrigation with saline water and nitrogen in production components and yield of sunflower. **Revista Caatinga**, v. 29, n.4, p.935-944, 2016.

SCHWERZ, F.; CARON, B.O.; ELLI, E.F.; OLIVEIRA, D.M.de.; MONTEIRO, G.C.; SOUZA, V.Q. de. Avaliação do efeito de doses e fontes de nitrogênio sobre variáveis morfológicas, interceptação de radiação e produtividade do girassol. **Revista Ceres**, v. 63, n.3, p. 380-386, 2016.

SERKEDJIEVA, J. **Antioxidant effects of plant polyphenols: a case study of a polyphenol-rich extract from *Geranium sanguineum L.*** In: GUPTA, S.D. Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants. Enfield: Science Publishers, 2011. Chap.13, p.275-293.

SHABALA, L.; MACKAY, A.; TIAN, Y.; JACOBSEN, S.; ZHOU, D.; SHABALA, S. Oxidative stress protection and stomatal patterning as components of salinity tolerance mechanism in quinoa (*Chenopodium quinoa*). **Physiologia Plantarum**, n.1, p.1-13, 2012.

SHABALA, S.; MUNNS, R. **Salinity stress: physiological constraints and adaptive mechanisms**. London: CAB, 2012. 291 p.

SHARMA, P.; JHA, A.B.; DABEY, R.S.; PESSARAKLI, M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany**, v.20, p.1-26, 2012.

SILVA, P.R.F.; FREITAS, T.F.S. Biodiesel: o ônus e o bônus de produzir combustível. **Ciência Rural**, v.38, n.3, p.843-851, 2008.

SILVEIRA, J.A.G.; SILVA, S.L.F.; SILVA, E.N.; VIÉGAS, R.A. Mecanismos biomoleculares envolvidos com a resistência ao estresse salino. In: GHEYI, H.R.; DIAS, N.S.; LACERDA, C.F. **Manejo da salinidade na agricultura: estudos básicos**

**e aplicados.** Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Salinidade, 2010. p.161–180.

SMITH, T.B. **Culturally congruent practices in counseling and psychotherapy: A review of research.** In J.G. Ponterotto, J.M. Casas, L.A. Suzuki, e C.M. Alexander (Eds.), Handbook of multicultural counseling Thousand Oaks, CA: Sage. 2010. 3 ed., p. 439–450.

SOARES, L.E.; EMERENCIANO NETO, V.; SILVA, G.G.C.da. Crescimento e produtividade do girassol sob doses de nitrogênio e fosforo. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável (RBAS)**. v.6, n.2, p.19-25. 2016.

SOUSA, A.E.C.; GHEYI, H.R.; CORREIA, K.G.; SOARES, F.A.L.; NOBRE, R.G. Crescimento e consumo hídrico de pinhão manso sob estresse salino e doses de fósforo. **Revista Ciência Agrônômica**, v.42, n.2, p.310-318, 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia do desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre, RS: Artmed. 2017.

TAJI, T.; SEKI, M.; SATOU, M.; SAKURAI, T.; KOBAYASHI, M.; ISHIYAMA, K.; NARUSAKA, Y.; NARUSAKA, M.; ZHU, J-K.; SHINOZAKI, K. Comparative genomics in salt tolerance between Arabidopsis and Arabidopsis-related halophyte salt cress using Arabidopsis microarrays. **Plant Physiology**, v. 135, p. 1697- 1709, 2004.

TRAVASSOS, K.D.; GHEYI, H.R.; SOARES, F.A.L.; BARROS, H.M.M.; DIAS, N. da S.; UYEDA, C.A.; SILVA, F.V. da. Crescimento e desenvolvimento de variedades de girassol irrigado com água salina. **Revista Irriga**, v. 1, n. 1, p. 324-339, 2012. Edição especial.

TRZECIAK, M.B.; NEVES, M.B.das; VINHOLES, P.daP.; VILLELA, F.A. Utilização de sementes de espécies oleaginosas para produção de biodiesel. Informativo Abrates- **Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes**, v.18, n.1,2,3, p.30-38, 2008.

VITAL, C.E. **Estudo dos mecanismos fisiológicos e moleculares em cultivares de cana-de-açúcar contrastantes quanto à resposta ao déficit hídrico.** 2014. 120p. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Federal de Viçosa – Viçosa- MG, 2014.

WU, G.-Q.; JIAO, Q.; SHUI, Q.-Z. Effect of salinity on seed germination, seedling growth, and inorganic and organic solutes accumulation in sunflower (*Helianthus annuus* L.). **Plant Soil Environ**. v. 61, n. 5, p. 220–226, 2015.

ZAMOCKY, M.; REGELSBERGER, G.; JAKOPITSCH, C.; OBINGER, C. The molecular peculiarities of catalase-peroxidase. **FEBS Letters**, v. 492, p. 177-182, 2001.

ZANETTI, L.V.; MILANEZ, C.R.D.; GAMA, V. N.; AGUILAR, M.A.G.; SOUZA, C.A.S.; CAMPOSTRINI, E.; FERRAZ, T.M.; FIGUEIREDO, A.M.M. de A. Leaf application of silicon in young cacao plants subjected to water déficit. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.51, n.3, p.215-223, 2016.

## CAPITULO II

### ALTERAÇÕES EM INDICADORES FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS EM GENÓTIPOS DE GIRASSOL SUBMETIDOS À SECA E SALINIDADE

**Resumo** – Este trabalho avaliou efeitos da salinidade e da seca nos indicadores de crescimento, status hídrico e integridade de membranas e a possível contribuição de solutos orgânicos e inorgânicos envolvidos no ajustamento osmótico da cultura do girassol. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 5 repetições. Os tratamentos foram arrançados em esquema fatorial 2x3, com o primeiro fator correspondente aos dois genótipos de girassol avaliados (Catissol 01 e Helio 253) e o segundo aos agentes estressores [cloreto de sódio (NaCl), polietilenoglicol (PEG 6000) e controle], simulando a salinidade e a seca. Os resultados mostraram que o NaCl e o PEG 6000 provocam alterações negativas nos indicadores de crescimento, status hídrico e integridade de membranas dos dois genótipos, sendo Catissol 01 o mais sensível. Independente do genótipo e órgão, o NaCl provocou o aumento de  $\text{Na}^+$  e diminuição de  $\text{K}^+$ , aumentando a relação  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  acima de 1 e gerando a toxidez iônica. O NaCl e o PEG 6000 induziram alterações no metabolismo dos carboidratos e dos compostos nitrogenados. Tais respostas variaram entre os genótipos, tratamentos e órgãos evidenciando a participação de aminoácidos e prolina na osmorregulação de plântulas de girassol.

**Palavras-chave:** *Helianthus annuus* L. indicadores de crescimento. status hídrico. danos de membranas. osmorreguladores.

### CHANGES IN PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL INDICATORS IN SUNFLOWER GENOTYPES SUBMITTED TO DROUGHT AND SALINITY

**Abstract:** This work evaluated the effects of salinity and drought in growth indicators, water status and membrane integrity as well as the possible contribution of organic and inorganic solutes involved in the osmotic adjustment of two sunflower genotypes submitted to stress agents sodium chloride (NaCl) and polyethylene glycol (PEG 6000)

simulating respectively salinity and drought. The experimental design was completely randomized, with a 2x3 factorial, with two sunflower genotypes (Catissol 01 and Helio 253) and three treatments (Control, 100mM NaCl and -0.50 MPa PEG 6000), with 5 replicates for each treatment and each genotype. The results showed that NaCl and PEG 6000 cause negative changes in growth indicators, water status and membrane integrity of the two genotypes, with Catissol 01 being the most sensitive. Considering the inorganic solutes, regardless of genotype and organ analyzed, NaCl caused an increase in  $\text{Na}^+$  and decrease of  $\text{K}^+$ , increasing  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ratio above 1 and generating ionic toxicity. Regarding organic solutes, NaCl and PEG 6000 induced changes in the metabolism of carbohydrates and nitrogen compounds. Such responses varied between genotypes, treatments and among the organs evidencing the participation of amino acids and proline in the osmoregulation of sunflower plants.

**Keywords:** *Helianthus annuus* L. growth indicators. water status. membrane damage. osmoregulators.

## 1. INTRODUÇÃO

A salinidade e o déficit hídrico são fatores abióticos limitantes da produção agrícola no semiárido, causando graves perdas no rendimento agrícola de inúmeras espécies (HA et al., 2014). O efeito em comum de ambos os estresses nas plantas é a perda da homeostase hídrica, afetando os processos de absorção, acúmulo e manutenção do conteúdo de água e de íons nos tecidos. A limitada disponibilidade de água nos tecidos desencadeia danos celulares levando a desidratação, perda de turgor nas células e restrição no crescimento, uma vez que as taxas de alongação e de divisão celular dependem diretamente do processo de extensibilidade da parede celular (D' SOUZA e DEVERAJ, 2010; GHOBADI et al., 2013).

As concentrações excessivas de íons salinos (principalmente  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ ), além de causar a perda da homeostase hídrica, pode provoca uma toxicidade iônica gerando, danos metabólicos, fisiológicos, estresse oxidativo, e desbalanço nutricionais causado pela interferência na absorção de nutrientes essenciais (RAHDARI & HOSEINI, 2012; MONTEIRO, et al., 2014).

Os íons salinos ( $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ ) afetam a absorção de nutrientes através da interação competitiva com o cálcio e o potássio que ocorre na rizosfera e interfere diretamente nas relações  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ , induzindo a deficiência de  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{K}^+$ , importantes para a



manutenção do metabolismo vegetal (NING et al., 2015; SILVA et al., 2015). As plantas têm desenvolvido mecanismos complexos para suportar o estresse salino que incluem: I) acumulação dos íons nos diferentes tecidos da planta para assegurar a absorção de água (ajustamento osmótico), II) capacidade para evitar translocação de íons desde a raiz a parte aérea. III) compartimentalização de íons tóxicos em vacúolos das células e IV) mecanismos de exclusão de  $\text{Na}^+$  através da membrana plasmática. (RODRIGUES et al., 2013; ROY; NEGRÃO & TESTER, 2014)

Uma estratégia para garantir a manutenção da homeostase hídrica é o ajustamento osmótico, ou osmorregulação, que consiste na síntese e acúmulo de solutos orgânicos compatíveis no citosol e na absorção de íons inorgânicos, tais como  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  e  $\text{Cl}^-$ , que são compartimentalizados nos vacúolos, reduzindo o potencial osmótico e aumentando o potencial de turgescência celular (MELO et al., 2017).

Nas células, os compostos inorgânicos e orgânicos agem como osmólitos citoplasmáticos, diminuindo o potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ), o que aumenta a capacidade de absorção de água das plantas e atenua os efeitos do déficit hídrico no conteúdo relativo de água da planta, pois facilita a absorção e retém água nos tecidos e ainda, protege e estabiliza macromoléculas (ex. proteínas) e estruturas celulares como membranas e cloroplastos (ZRIG et al., 2015).

Os osmoprotetores mais comumente estudados e que contribuem na osmorregulação em diferentes espécies são os açúcares (D'SOUZA & DEVARAJ, 2010), as proteínas (OLIVEIRA et al., 2014), a prolina (SANTOS et al., 2014) e aminoácidos livres totais. Dessa forma, a homeostase osmótica e iônica é essencial para o crescimento dos vegetais em condições de seca e salinidade.

No Brasil, as áreas salinizadas estão localizadas principalmente na região semiárida do Nordeste (SÁNCHEZ et al., 2015). O girassol é uma oleaginosa de grande importância no contexto energético brasileiro. Contudo, apesar da variabilidade na exploração desta espécie em regiões semiáridas, a falta de água e a salinidade do solo podem inibir o seu crescimento e rendimento resultando em perdas de qualidade de aquênios e óleo (CENTENO et al., 2014; DANTAS et al., 2017).

Informações sobre os efeitos da salinidade e déficit hídrico sobre o girassol pode contribuir para a elaboração de estratégias para mitigar seus efeitos negativos, como por exemplo, o manejo mais adequado da irrigação. Neste sentido, este trabalho foi realizado para investigar: 1) Os efeitos da salinidade e da seca nos indicadores de crescimento, status hídrico e integridade de membranas do girassol; 2) Analisar a

possível contribuição de solutos orgânicos e inorgânicos envolvidos no ajustamento osmótico da cultura.

## **2.MATERIAIS E MÉTODOS**

### **Condução do experimento**

O experimento foi conduzido na casa de vegetação do Laboratório de Estudos em Biotecnologia Vegetal, no Centro de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, Natal-RN (5°47' de latitude ao sul; 35°12' de longitude a oeste e altitude de 30,9 m) durante o primeiro semestre de 2016.

Para isso, utilizou-se sementes de girassol dos genótipos Catissol 01 de genótipo aberto e Hélio 253 de genótipo fechado, fornecidas pela Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Norte – EMPARN e HELIAGRO, respectivamente. As sementes foram selecionadas e desinfestadas para posterior germinação em sistema de rolo em papel toalha do tipo Germitest<sup>®</sup> (VIEIRA & CARVALHO, 1994).

Após a germinação, as plântulas com sete dias e com aproximadamente 15 cm foram fixadas em placas de isopor e colocadas dentro de frascos plásticos individuais flutuando sobre 0,85 L de solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) com ¼ de força e pH 6,0. Diariamente, o volume da solução nutritiva foi completado para compensar a perda por evapotranspiração. Os frascos contendo as plântulas foram mantidos durante 22 dias em casa de vegetação sob a temperatura de 30±5°C e umidade relativa do ar de 40±10%. A cada sete dias a solução hidropônica foi renovada.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com cinco repetições. Os tratamentos foram arranjos em esquema fatorial 2x3, em que o primeiro fator correspondeu aos dois genótipos avaliados (Catissol 01 e Helio 253) e, o segundo, agentes estressores [cloreto de sódio (NaCl), polietilenoglicol (PEG 6000) e controle].

### **Determinação dos indicadores de crescimento**

Após 22 dias de aclimação, as plântulas de girassol dos dois genótipos foram selecionadas e padronizadas para desenvolvimento deste experimento. Dentre as 100 plantas cultivadas, de cada genótipo, 11 foram coletadas no tempo zero (T0). A coleta destes dados permitiu a determinação de indicadores de crescimento (SILVA et al., 2000).

Logo após a primeira coleta, as plantas foram submetidas aos três agentes estressores, que foram distribuídos em soluções nutritivas de Hoagland e Arnon (1950) com modificações e constituídos de: controle – solução nutritiva; sal – solução nutritiva + 100 mM de NaCl; e PEG – solução nutritiva + 212 g.L<sup>-1</sup> de PEG 6000 (correspondente a -0,50 MPa), sendo as soluções de PEG 6000 isosmótica da salina calculadas de acordo com Vilella et al, 1991. As plantas foram então mantidas em casa de vegetação, nas mesmas condições descritas anteriormente, durante 48 horas.

Ao final das 48 horas de cultivo nos tratamentos, determinado pela tolerância das plantas ao PEG, as plantas foram coletadas no tempo final (T1) e feito o mesmo processo da coleta do tempo 0 (T0). Nos dois períodos avaliados (T0 e T1) foram avaliados o comprimento radicular, a área foliar e as massas frescas e secas iniciais e finais dos diferentes órgãos das plantas. Para a determinação da área foliar (AF), as folhas foram dispostas em uma superfície contrastante de coloração branca juntamente com uma referência de escala de 1cm e escaneadas. Para a medida direta da área foliar as imagens digitais foram manuseadas utilizando o Software ImageJ<sup>®</sup> (Powerful Image Analysis) de domínio público. Este software captura a imagem da folha completa e através de procedimentos de contraste de cores calcula a área total real da folha.

Após a coleta destes dados foram determinados os seguintes indicadores de crescimento (BENINCASA, 2003).

Razão de área foliar (RAF) foi obtida através da fórmula  $RAF = (A_2 - A_1) / (W_2 - W_1) \cdot (\ln W_2 - \ln W_1) / (\ln A_2 - \ln A_1)$ ; onde  $A_2$  e  $A_1$  são as áreas foliares final e inicial da planta, respectivamente,  $W_2$  e  $W_1$  são as massas seca final e inicial das plantas, respectivamente. E  $\ln W_2$ ,  $\ln W_1$  e  $\ln A_2$  e  $\ln A_1$  são os logaritmos neperianos das massas e áreas finais e iniciais das plantas, respectivamente; Relação sistema radicular/parte aérea/sistema radicular (RR/PA) foi obtida através da relação  $MSr/MSf+MSc$ ; onde  $MSr$  é a massa seca da raiz,  $MSf$  é a massa seca das folhas e  $MSc$  é massa seca do caule.

#### **Determinação dos indicadores *status* hídrico e integridade de membranas.**

Para aferir o estado hídrico dos diferentes órgãos da planta, foi realizada a determinação do percentual de umidade (%U) segundo Slavick (1974), com modificações. O cálculo do percentual de umidade foi determinado utilizando-se a relação  $\%U = [(MF - MS) / MF] \times 100$ . Onde os tecidos vegetais de cada plântula foram pesados para obtenção da massa fresca (MF) e, em seguida, a massa seca (MS) foi obtida pela desidratação da MF por 72 h a 75 °C.

A integridade das membranas foi determinada através do vazamento de eletrólitos (VE), estimado de acordo com Blum e Ebercon (1981), utilizando a equação  $VE = (L1 / L2) \times 100$ , onde: L1 corresponde à primeira leitura da condutividade elétrica (CE) da solução do frasco, realizada após 6 horas e L2 representa a segunda leitura da CE realizada após o aquecimento dos tecidos em banho-maria a 100 °C.

### **Determinação dos solutos inorgânicos**

#### *- Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> e Relação Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>*

Os solutos inorgânicos foram obtidos a partir da massa seca de folhas, caules e raízes das plantas de girassol. A extração foi feita utilizando 25 mg do tecido vegetal (folhas, caule e raízes) para 5 mL de água deionizada em banho-maria a 100 °C por 1 hora. O extrato obtido foi centrifugado e seu sobrenadante foi analisado em fotômetro de chama (Micronal B462) para determinação dos conteúdos de Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup>. A relação Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> também foi determinada (SILVA et al., 2009a).

### **Determinação dos solutos orgânicos**

#### *- Açúcares solúveis totais (AST)*

A aferição da concentração de açúcares solúveis totais (AST) foi realizada pelo método “fenol-sulfúrico” descrito por Dubois et al. (1956), onde os AST foram determinados com base na curva padrão de D-Glicose, com seus resultados expressos em mg. g-1 de massa fresca. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 490 nm de absorvância.

#### *- Proteínas solúveis totais (PST)*

A concentração de proteínas solúveis totais (PST) foi determinada segundo método descrito por Bradford (1976), com base em curva padrão obtida a partir de albumina bovina (BSA) e os resultados expressos em mg. g<sup>-1</sup> de massa fresca.

*- Aminoácidos livres totais (AALT)*

A concentração de aminoácidos livres totais (AALT) foi determinada segundo o método descrito por Peoples et al. (1989), onde os AALT foram determinados com base em uma curva padrão de L-Glutamina, sendo os resultados expressos em  $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$  de massa seca. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 570 nm de absorbância.

*-Prolina ( PRO)*

A concentração de prolina (PRO) foi determinada segundo metodologia descrita por Bates (1973), onde a PRO foi determinada com base em curva padrão de L-Prolina, com seus resultados expressos em  $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$  de massa seca e a leitura realizada em espectrofotômetro a 520 nm de absorbância.

### **Delineamento experimental e análise estatística**

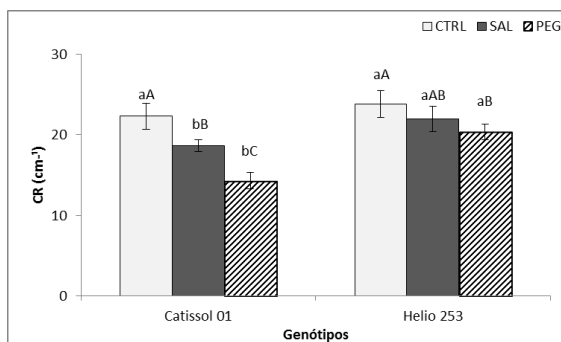
Os dados foram submetidos à análise de variância e o teste de Tukey. Em todas as análises foi utilizado o nível nominal  $\alpha = 0,05$  de probabilidade, utilizando o Software ASSISTAT versão 7.7 beta.

## **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Indicadores de crescimento**

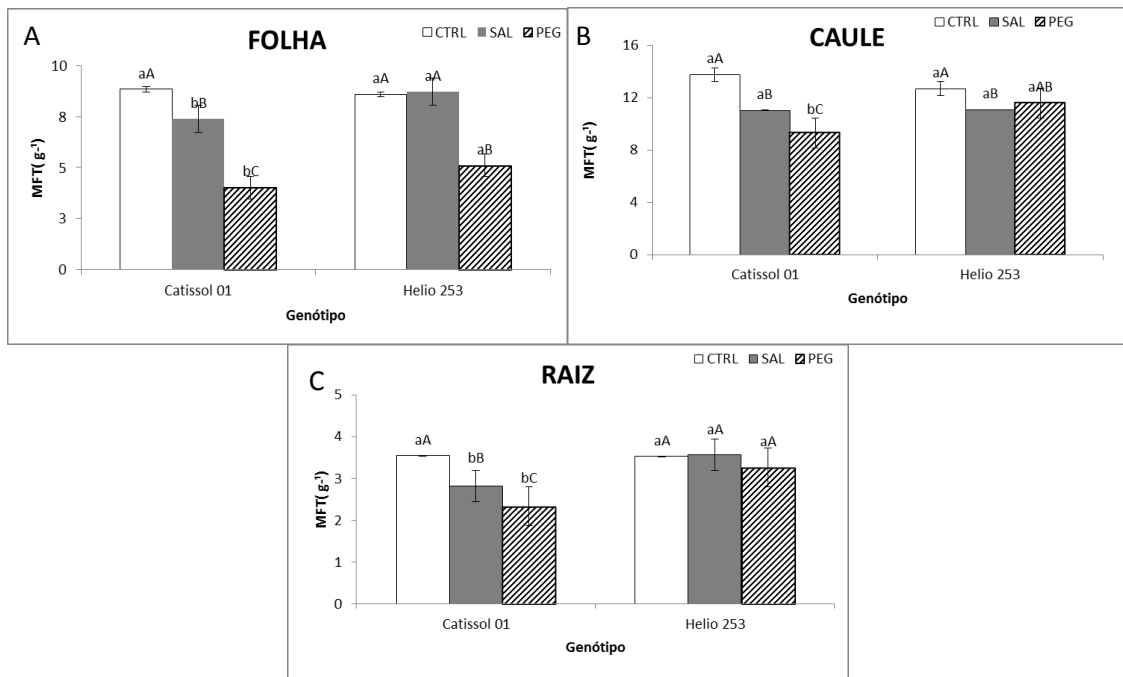
Os estresses salino e déficit hídrico afetaram negativamente o comprimento de raiz (CR), massa fresca total (MFT), razão da área foliar (RAF), área foliar específica (AFE) e relação raiz/parte aérea (RR/PA) dos dois genótipos de girassol (Catissol 01 e Helio 253) (Figura 1, 2 e 3). Os processos de crescimento são particularmente sensíveis ao efeito dos sais e do déficit hídrico, tornando análises de crescimento como altura média, área foliar, biomassa, e outros, bons critérios para a avaliação da severidade do estresse e da capacidade da planta de superá-lo (SANTOS JÚNIOR et al., 2015).

A redução do comprimento radicular foi de 13% para o Catissol em presença de NaCl e de 35% e 14% para Catissol e Helio 253, respectivamente, em solução com PEG (Figura 1). O déficit hídrico, pelo efeito osmótico isolado, afetou mais negativamente que o estresse salino que contornou a seca fisiológica induzida previamente com o excesso de sais, permitindo que uma regulação momentânea no potencial osmótico das plantas permitindo que as mesmas absolvessem água. Já o PEG 6000, teve um efeito mais forte por ser uma dosagem de estresse severa. Apesar de ser uma isosmótica para o sal, no entanto o sal possui um componente iônico que o permite uma pequena regulação no potencial osmótico, fazendo com que essa dosagem de NaCl seja menos severa que sua isosmótica no PEG 6000.



**Figura 1:** Comprimento da raiz (CR) de plantas de dois genótipos de girassol (Catissol 01 e Helio 253), cultivadas durante 48 horas nos tratamentos: controle (CTRL), 100 mM NaCl (Sal) e 212 g.L<sup>-1</sup> PEG 6000 (PEG), sendo isosmóticas a -0,50 MPa. Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). \* Letras minúsculas comparam diferenças entre os genótipos e letras maiúsculas comparam diferenças entre os tratamentos.

O NaCl e o PEG reduziram a massa fresca de forma diferenciada entre os genótipos. No genótipo Catissol 01, todos os órgãos foram afetados negativamente (Figura 2). Contudo o efeito foi mais pronunciado quando as plantas foram tratadas com PEG. Nas folhas, caule e raízes das plantas submetidas ao PEG houve uma redução de 54; 32 e 34%, respectivamente. Enquanto nas plantas tratadas com NaCl esta redução foi de 16% nas folhas; 19% no caule e 20% nas raízes. No genótipo Helio 253, o PEG reduziu a MF das folhas (40%) e do caule (8%), contudo o NaCl somente alterou a MF com 12% de redução (Figura 2).



**Figura 2:** Massa fresca total (MFT), (A –folha, B – caule, C –raiz), de plantas de dois genótipos de girassol (Catissol 01 e Helio 253), cultivadas durante 48 horas nos tratamentos: controle (CTRL), 100 mM NaCl (Sal) e 212 g.L<sup>-1</sup> PEG 6000 (PEG), sendo isosmóticas a -0,50 MPa. Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p≤0,05). \* Letras minúsculas comparam diferenças entre os genótipos e letras maiúsculas comparam diferenças entre os tratamentos.

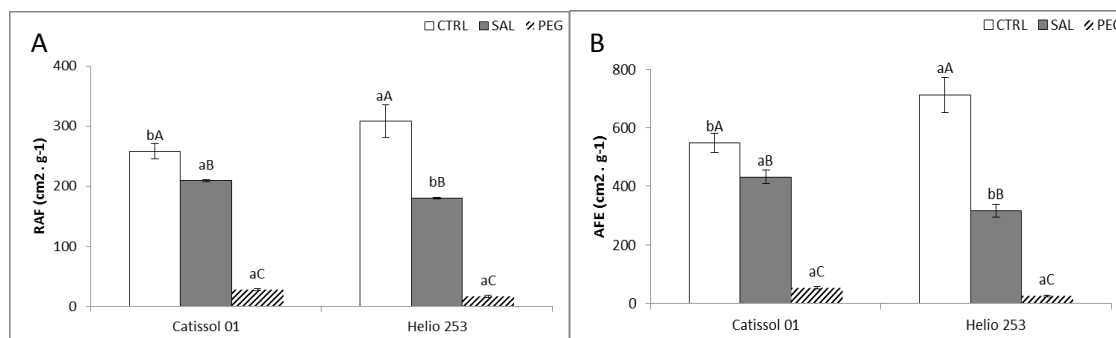
A redução da massa fresca provavelmente se deve ao efeito osmótico, pois ambos os estresses possuem em comum o componente osmótico que induz a perda da homeostase hídrica provocando como consequência a diminuição de crescimento, de vigor e do ganho de massa na maioria das espécies vegetais. Dentre outros motivos, isto ocorre devido ao suprimento de água se dar em quantidades inferiores às requeridas, baixando o componente de potencial de pressão do protoplasto sobre a parede da célula, resultando em diminuição de turgor, e, por fim, afetando a alongação e a divisão celular (TAIZ & ZEIGER, 2017). A redução e/ou inibição do crescimento causadas pela salinidade e pela seca tem sido bem documentada em diferentes espécies como *Jatropha curcas* (DÍAZ-LÓPEZ et al., 2012), *Glycine Max*, (L.) (GAVA et al., 2016) e *Gossypium hirsutum* L. (ZONTA, et al., 2017).

Resultados semelhantes foram obtidos por Travassos et al. (2012) avaliando o crescimento em quatro variedades de girassol em relação a irrigação com água salina, onde tais autores concluíram que a solução salina reduz a fitomassa fresca das plantas. Segundo Ribeiro et al. (2015), os mesmos observaram que o crescimento das plantas de

girassol, ao longo do ciclo de cultivo, foi afetado significativamente pelo nível de salinidade da água de irrigação.

A razão da área foliar (RAF e a área foliar específica (AFE) foram reduzidas quando submetidas ao estresse salino e ao déficit hídrico (Figura 3 A e B). A diminuição da RAF e da AFE foi maior nas plantas submetidas ao déficit hídrico.

A RAF observada nas plantas de Catissol 01 tiveram uma redução de 89 e 19% para os tratamentos com PEG e NaCl, respectivamente. Enquanto que, no genótipo Helio 253, a redução no déficit hídrico foi de 94% e no estresse salino de 41% (Figura 3 A). A mesma tendência de resposta biológica foi observada para a área foliar específica (AFE). Independente do genótipo, observou-se que a diminuição da AFE foi maior nas plantas submetidas ao déficit hídrico que nas tratadas com NaCl. A AFE nas plantas de Catissol 01 tiveram uma redução de 90 e 21% para os tratamentos com PEG e NaCl respectivamente, em relação ao controle. Enquanto que no genótipo Helio 253, a redução no déficit hídrico foi 96% e no estresse salino foi de 55% em relação ao controle (Figura 3 B). Na figura 4 observa-se claramente a redução da área foliar. Em ambos os genótipos e o efeito preponderante do PEG sobre o estresse salino induzido pelo NaCl.

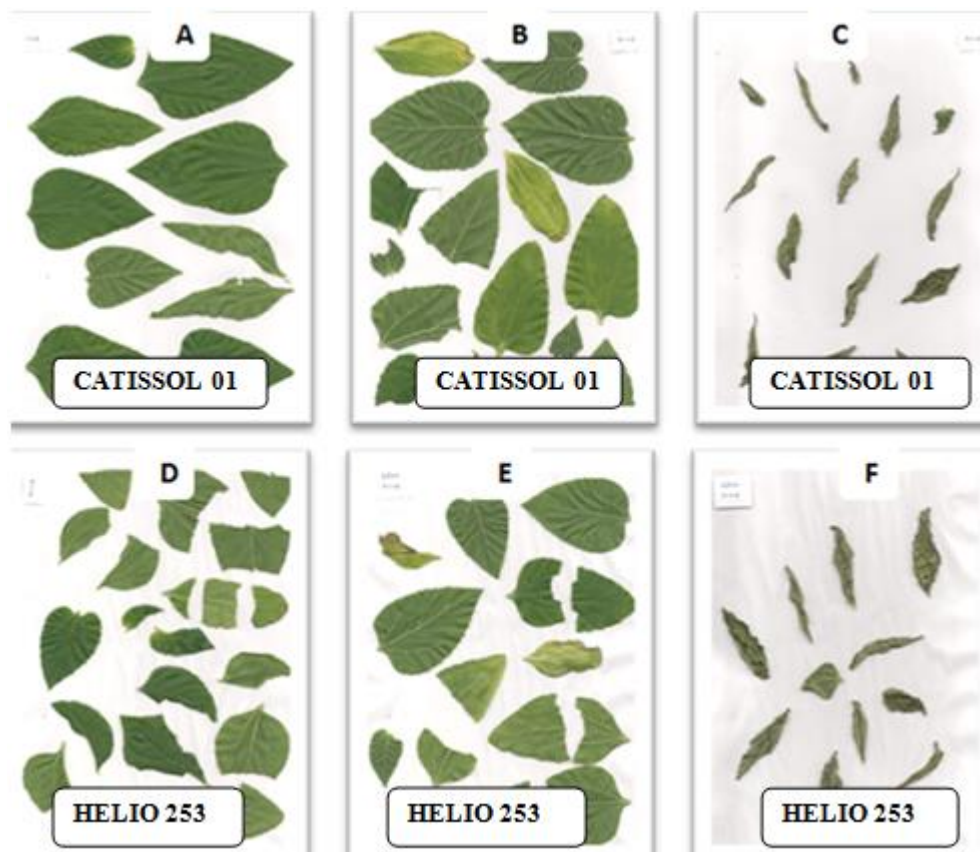


**Figura 3:** Razão da Área Foliar (A-RAF) e Área Foliar Específica (B-AFE) de três órgãos (folha, caule e raiz) de plantas de dois genótipos de girassol (Catissol 01 e Helio 253), cultivadas durante 48 horas nos tratamentos: controle (CTRL), 100 mM NaCl (Sal) e 212 g.L<sup>-1</sup> PEG 6000 (PEG), sendo isomóticas a -0,50 MPa. Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). \*Letras minúsculas comparam diferenças entre os genótipos e letras maiúsculas comparam diferenças entre os tratamentos.

A redução observada nas RAF e AFE provavelmente foi devido à perda de turgor da célula vegetal que provoca desidratação e, conseqüentemente, inibe a expansão celular. A figura 4 mostra a redução da área foliar devido há desidratação dos tecidos em presença do PEG e os resultados referentes à umidade (Figura 6) também



reforçam tal hipótese. Adicionalmente, uma das alternativas para explicar o motivo do sal ter reduzido menos em relação ao PEG (indutor do estresse hídrico) é que provavelmente os íons salinos absorvidos tenham diminuído o potencial osmótico da planta para manter o turgor celular, minimizando assim os efeitos do estresse osmótico pela salinidade.



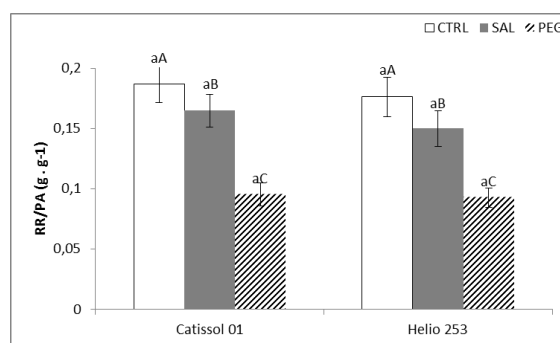
**Figura 4:** Folhas escaneadas de plantas de dois genótipos de girassol (Catissol 01 e Helio 253), cultivadas durante 48 horas nos tratamentos: controle (CTRL), 100 mM NaCl (Sal) e 212 g.L<sup>-1</sup> PEG 6000 (PEG), sendo isomólicas em -0,50 MPa.

Plantas submetidas ao estresse hídrico sofrem prejuízos nos processos de absorção, acúmulo e manutenção do conteúdo de água e de íons nos tecidos, desencadeando modificações no potencial hídrico, na nutrição mineral, no balanço de íons e na eficiência fotossintética (IMADA et al., 2009).

Resultados semelhantes foram observados em outros genótipos de girassol por Silva et al. (2011), Guedes Filho et al. (2015) e Ribeiro, et al. (2015), onde verificaram que o aumento da salinidade contribuiu para a redução da área foliar das plantas. Adicionalmente, Nobre et al. (2014) também observaram diferenças significativas na área foliar do girassol irrigado com água salina. Embora fique claro o efeito “negativo”

do componente osmótico da seca e/ou da salinidade sobre a área foliar, tal evento celular pode estar relacionado a um dos mecanismos de adaptação da planta, que reduz a superfície transpirante para diminuir a perda de água por transpiração (NOBRE et al., 2014).

Os estresses salino e déficit hídrico reduziram a relação raiz e parte aérea (RR/PA) em ambos genótipos. Contudo o efeito foi mais pronunciado em presença de PEG do que em NaCl. Independente do genótipo, houve uma redução entre 47 a 49% no PEG e no NaCl tal redução situou-se entre 12 e 14% (Figura 5). A diminuição da razão RR/PA em relação ao controle em plantas de girassol indica que o efeito da salinidade e da seca foi mais evidente no sistema radicular que na parte aérea. Resultados semelhantes foram obtidos por Centeno et al. (2014) onde observaram que a salinidade reduziu mais a fitomassa do sistema radicular que a parte aérea em plantas de girassol.

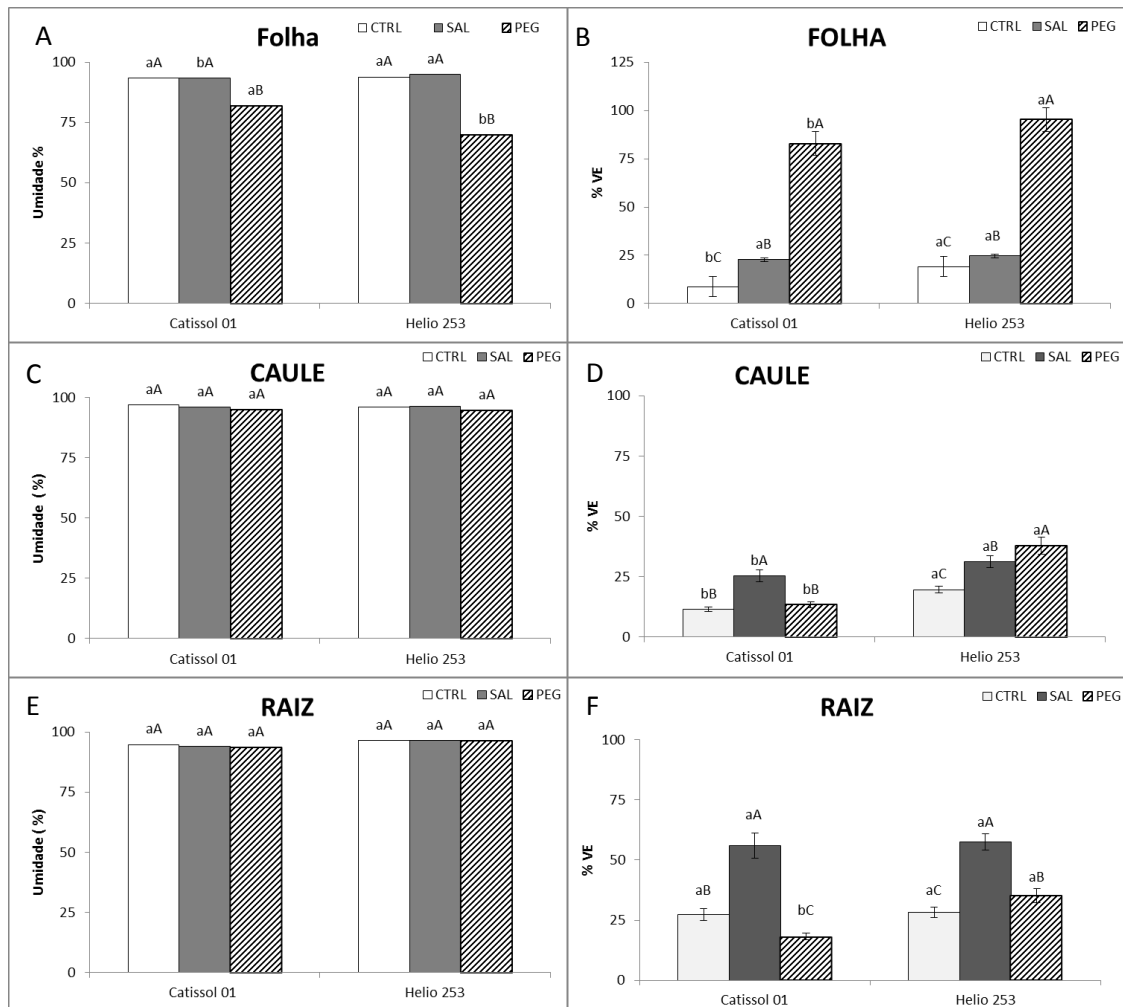


**Figura 5:** Relação Raiz/Parte Aérea (RR/PA) de plantas de dois genótipos de girassol (Catissol 01 e Helio 253), cultivadas durante 48 horas nos tratamentos: controle (CTRL), 100 mM NaCl (Sal) e 212 g.L<sup>-1</sup> PEG 6000 (PEG), sendo isosmóticas em -0,50 MPa. Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). \* Letras minúsculas comparam diferenças entre os genótipos e letras maiúsculas comparam diferenças entre os tratamentos.

### Indicadores *status* hídrico e integridade de membranas

O percentual de umidade (%U) diz respeito ao percentual bruto de água presente na planta, podendo ser considerado um bom indicador indireto de *status* hídrico no vegetal.

O déficit hídrico, simulado pelo PEG 6000, afetou o *status* hídrico das plantas de girassol expresso pelo percentual de umidade apenas em folhas dos dois genótipos, contudo o genótipo Helio 253 sofreu uma redução (25%) maior que o Catissol 01 (12%) quando comparados aos seus respectivos controles (Figura 6).



**Figura 6:** Percentual de umidade (%U) (A, C e E), vazamento de eletrólitos (%VE) (B, D e F), (folha, caule e raiz), das plantas de dois genótipos de girassol (Catissol 01 e Helio 253), cultivadas durante 48 horas nos tratamentos: controle (CTRL), 100 mM NaCl (Sal) e 212 g.L<sup>-1</sup> PEG 6000 (PEG), sendo isosmóticas em -0,50 MPa. Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). \* Letras minúsculas comparam diferenças entre os genótipos e letras maiúsculas comparam diferenças entre os tratamentos.

As membranas celulares são uma das primeiras estruturas afetadas pelos estresses salino e hídrico em condições típicas de ambiente semiárido. A condutividade elétrica mede o vazamento de eletrólitos (VE) para a solução, sendo utilizada como medida indireta para avaliar os danos às membranas celulares causadas pelos estresses salino e déficit hídrico.

O vazamento de eletrólitos (VE) em ambos os genótipos, foi maior nas folhas tratadas com PEG, sendo superior a 400% em relação aos seus respectivos controles (Figura 6 B, D e F). Contudo tal efeito foi mais pronunciado em Catissol. Com relação aos demais órgãos, caule e raízes, o vazamento de eletrólitos foi mais

evidente nas plantas tratadas com NaCl, sendo mais pronunciado nas raízes (100%) de ambos genótipos.

O estresse salino e o déficit hídrico aumentaram o vazamento de eletrólitos, nas folhas, caule e raízes de ambos os genótipos de girassol em comparação ao controle, tal efeito foi mais marcante nas folhas e em presença do PEG, evidenciando, portanto um efeito osmótico. Com a diminuição do conteúdo de água do solo, há, proporcionalmente, uma diminuição da pressão hidrostática, podendo fazer com que os valores desta pressão sejam negativos e que as plantas percam a força de sucção suficiente para absorver a água do solo.

Como consequência do decréscimo do conteúdo de água da planta, as células se contraem, havendo uma diminuição da pressão de turgescência contra as paredes celulares e um aumento da concentração de solutos nessas células (TAIZ & ZEIGER, 2017). Curiosamente, nas raízes o efeito predominante foi o iônico, provavelmente esse aumento no VE em presença do NaCl ocorreu devido a um contato direto deste órgão com a solução salina e/ou possivelmente a uma maior retenção dos sais nas partes baixas evitando sua translocação para as partes mais altas da planta.

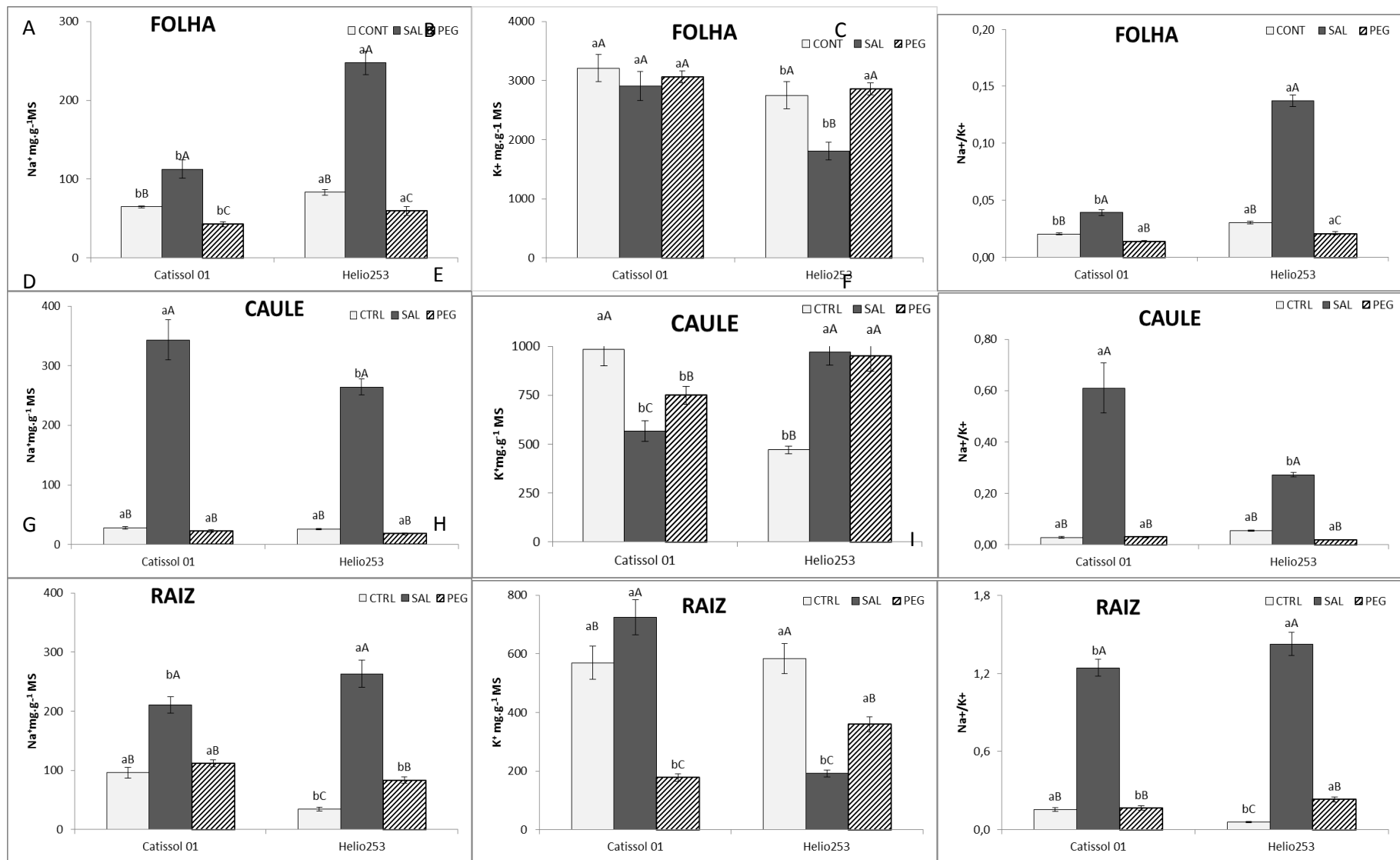
### **Conteúdo de solutos inorgânicos ( $\text{Na}^+$ e $\text{K}^+$ ) e Relação $\text{Na}^+/\text{K}^+$**

O estresse salino e o déficit hídrico afetaram significativamente o conteúdo de sódio ( $\text{Na}^+$ ), potássio ( $\text{K}^+$ ) e a relação sódio/potássio ( $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ) nas folhas, caules e raízes de ambos os genótipos de girassol.

Nas plantas submetidas ao tratamento salino, o conteúdo de  $\text{Na}^+$  aumentou significativamente em todos os órgãos de ambos os genótipos. Nas folhas e raízes do genótipo Catissol 01, o aumento nos níveis de  $\text{Na}^+$  foram de 73% e 121%, respectivamente. No caule do mesmo genótipo, e em presença de NaCl, observou-se um aumento de 12 vezes nos níveis de  $\text{Na}^+$ , comparado às plantas do grupo controle. Ainda, evidenciou-se que o caule foi o órgão que mais acumulou  $\text{Na}^+$  ( $343 \text{ mg Na}^+ \cdot \text{g MS}^{-1}$ ), seguido das raízes e posteriormente as folhas (Figura 7 A, D e G).

O genótipo Helio 253 também apresentou aumentos nos níveis de  $\text{Na}^+$  nas plantas submetidas ao tratamento salino. Nesse grupo de plantas, os níveis de  $\text{Na}^+$  aumentaram em 12, 10 e 7 vezes em folhas, caule e raízes, respectivamente, comparados aos seus grupos controle. Nesse genótipo, os três órgãos acumularam  $\text{Na}^+$  de forma semelhante, com valores próximos a  $260 \text{ mg Na}^+ \cdot \text{g MS}^{-1}$  (Figura 7 A, D e G).

Os níveis de  $K^+$  reduziram em 42% no caule e aumentaram em 27% nas raízes do genótipo Catissol 01, quando submetido ao tratamento salino. Em condições de déficit hídrico, Catissol 01 reduziu os níveis de  $K^+$  em caule (24%) e raízes (68%), comparados aos seus respectivos grupos controles. O genótipo Helio 253, submetido ao tratamento salino, apresentou redução nos níveis de  $K^+$  de 34% em folhas, quando comparados ao controle. No caule, tanto o tratamento salino quanto o déficit hídrico aumentaram os níveis de  $K^+$  em 106% e 102%, respectivamente, comparados ao controle. Já em raízes, tanto a salinidade quanto o déficit hídrico reduziram os níveis de  $K^+$  em 67% e 38%, respectivamente, comparados ao grupo controle (Figura 7 B, E e H).



**Figura 7:** Concentrações de sódio (Na<sup>+</sup>) (A, D e G), potássio (K<sup>+</sup>) (B, E e H); e relação Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> (C, F e I) em folhas, caules e raízes dos genótipos de girassol Catissol 01 e Helio 253, submetidos aos tratamentos: controle, 100 mM NaCl (Sal) e 212 g.L<sup>-1</sup> PEG 6000 (PEG), sendo isosmóticas em -0,50 MPa. Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05). \*Letras minúsculas comparam diferenças entre os genótipos e letras maiúsculas comparam diferenças entre os tratamentos.

Ao avaliar a relação  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  nos dois genótipos expostos ao tratamento salino, observou-se apenas nas raízes o efeito tóxico do NaCl, onde valores da relação superaram 0,6 (Figura 7 I).

Neste trabalho, o tratamento salino provocou o acúmulo de  $\text{Na}^+$  em níveis superiores aos observados no grupo controle de ambos os genótipos. Contudo, as plantas de Catissol 01 acumularam  $\text{Na}^+$  em maior quantidade no caule e nas suas raízes, enquanto que o genótipo Helio 253 apresentou uma partição uniforme de  $\text{Na}^+$  entre os diferentes órgãos, evidenciando uma resposta genótipo dependente.

Em Catissol 01, provavelmente a estratégia utilizada pode estar relacionada a um controle da translocação do  $\text{Na}^+$  para as folhas, garantindo assim um maior aporte de  $\text{K}^+$  para as mesmas. Fato este evidenciado pelo conteúdo de  $\text{K}^+$  e a relação  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  inferior a 0,6 (Figura 7), o que garante a manutenção da eficiência do metabolismo em plantas não-halófitas (GREENWAY & MUNNS, 1980).

Já em Helio 253, apesar de ter apresentado uma distribuição uniforme dos íons  $\text{Na}^+$  entre seus órgãos, o conteúdo de  $\text{K}^+$  diminuiu nas folhas e raízes das plantas submetidas à salinidade, gerando assim um aumento na relação  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  acima de 0,6. A redução dos níveis de  $\text{K}^+$  em Helio 253 pode ter ocorrido em detrimento ao aumento dos níveis de  $\text{Na}^+$  no mesmo órgão. Segundo Shabala et al. (2012) a indução do efluxo de  $\text{K}^+$  citosólico em condições salinas, prejudica a relação  $\text{K}^+/\text{Na}^+$ , que reduz drasticamente. A redução nos níveis de  $\text{K}^+$  é resultado da despolarização da membrana induzida pelo NaCl, conduzindo à ativação de canais inespecíficos de  $\text{K}^+$  que acabam por incorporar  $\text{Na}^+$  ao ambiente intercelular (Silveira et al., 2010; Willadino & Camara, 2010).

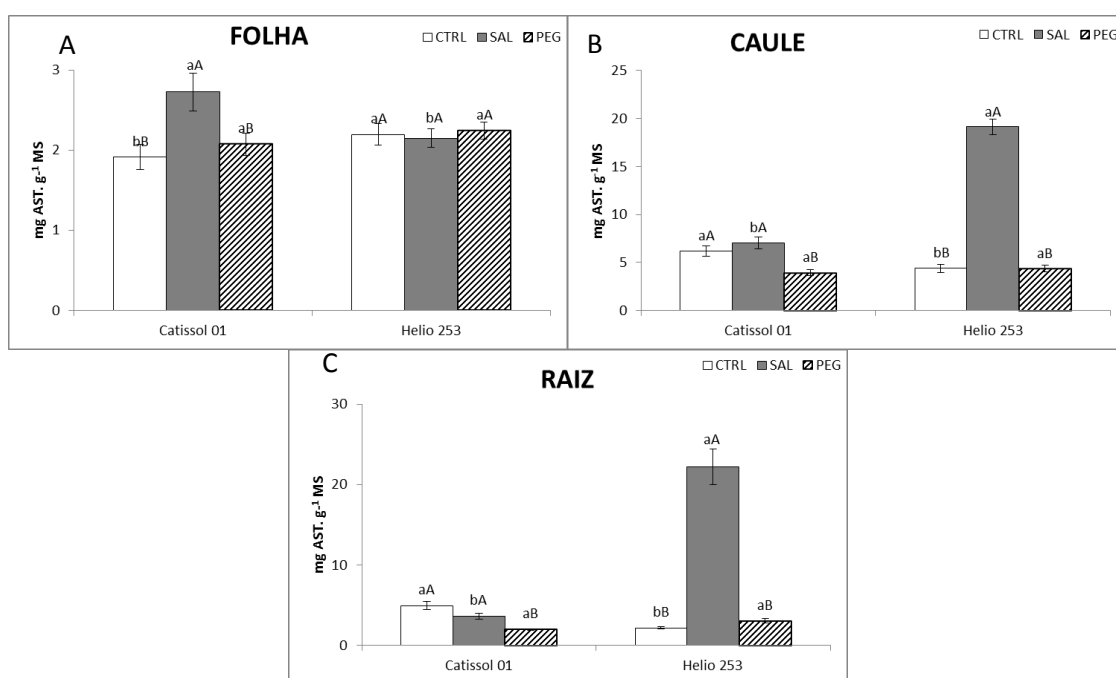
### **Conteúdo de solutos orgânicos**

Em plantas de girassol, os efeitos do estresse salino e do déficit hídrico influenciaram significativamente o conteúdo de açúcares solúveis totais (AST), de proteína solúveis totais (PST), de aminoácidos livres totais (AALT) e da prolina (PRO), tanto em folhas quanto em caule e raízes, em ambos os genótipos.

Em condições de salinidade, os níveis de AST em Catissol 01 aumentaram em folhas (42%) e caule (13%); e reduziram em raízes (26%), comparados aos seus respectivos grupos controle (Figura 9). Nesse mesmo genótipo, submetido ao déficit hídrico, observou-se reduções nos níveis de AST em caule (36%) e raízes (60%),

comparados aos seus respectivos controles (Figura 8 B e C). Tanto em condições de estresse salino quanto de déficit hídrico, o caule foi o órgão que mais acumulou AST.

Em Helio 253, o aumento nos níveis de AST foi mais evidente no caule (4 vezes) e nas raízes (11 vezes), apenas nas plantas submetidas ao tratamento salino, atingindo valores próximos a 20 mg AST . g<sup>-1</sup> MS, comparados aos seus respectivos controles (Figura 8 B). Em condições de salinidade, a raiz foi o órgão que mais acumulou AST em plantas de girassol (22,2 mg AST . g<sup>-1</sup> MS). O déficit hídrico diminuiu a concentração de açúcares solúveis totais em caule e raiz das plantas de Catissol 01, em respectivamente, 36% e 60% em relação aos seus respectivos controles (Figura 8 B e C).



**Figura 8:** Concentrações de AST (folhas-A, caules-B e raízes-C) dos genótipos de girassol Catissol 01 e Helio 253, submetidos aos tratamentos: controle, 100 mM NaCl (Sal) e 212 g.L<sup>-1</sup> PEG 6000 (PEG), sendo isomóticas em -0,50 MPa. Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). \*Letras minúsculas comparam diferenças entre os genótipos e letras maiúsculas comparam diferenças entre os tratamentos.

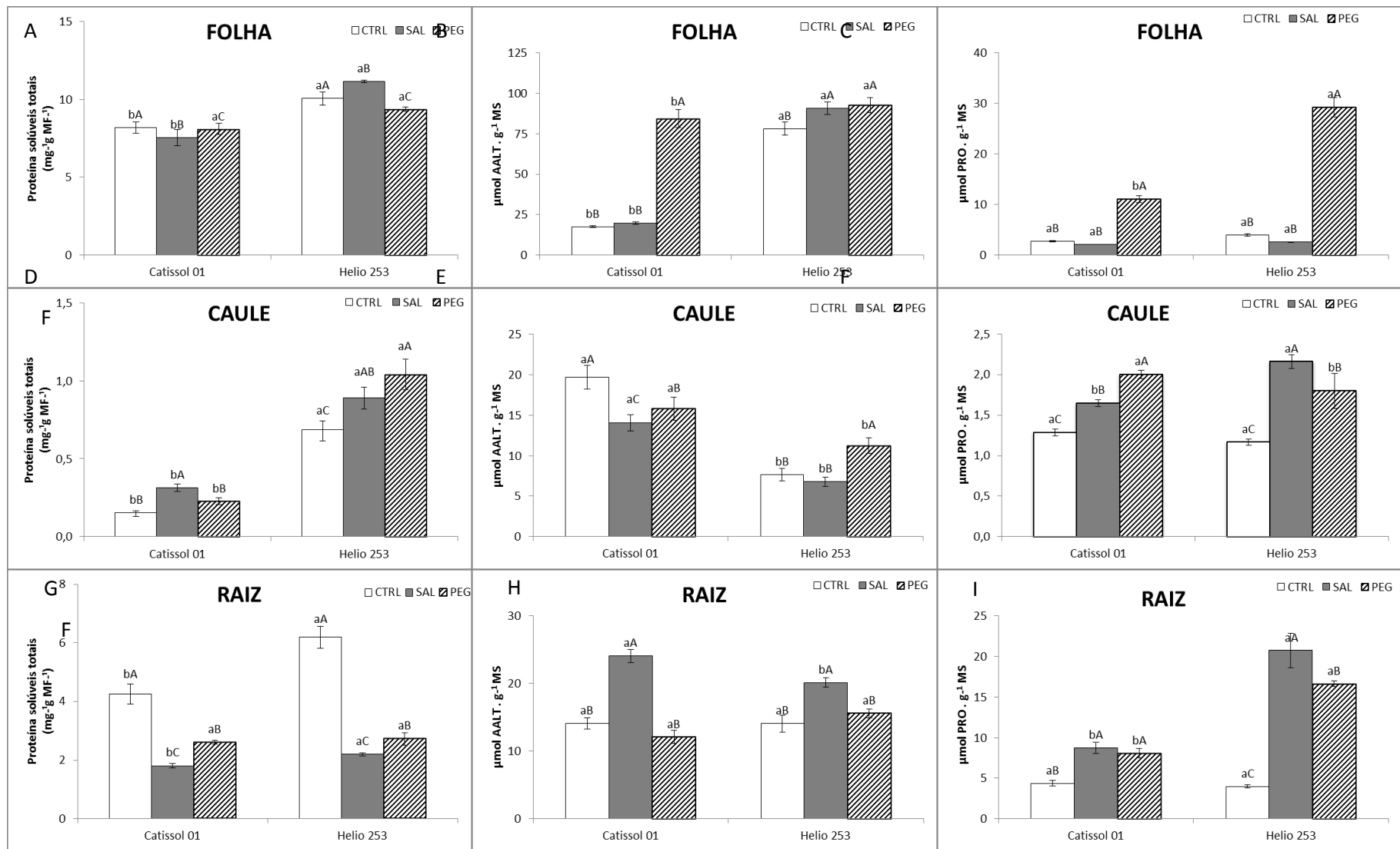
Os açúcares contribuem em cerca de 50% ou mais para o potencial osmótico total sob estresses abióticos, além de prevenir contra a desidratação e serem fonte de energia para células ativas sob condições de estresse (SANTOS et al., 2014). Contudo, altas concentrações de NaCl podem causar desbalanço no perfil de carboidratos, podendo aumentar ou reduzir os níveis deste soluto orgânico em todo o vegetal (SILVA et al., 2010).



No presente estudo, o tratamento salino provocou um acúmulo de açúcares solúveis totais (AST) em ambos os genótipos. Em Helio 253, o acúmulo foi maior no caule e nas raízes e em Catissol 01 nas folhas e caule (Figura 8).

Novamente, a resposta em relação ao metabolismo dos carboidratos é genótipo dependente. Aparentemente o genótipo Helio 253 investe os AST na translocação para as partes mais basais, seja devido a uma menor utilização desses carboidratos nas folhas ou ainda devido há uma maior necessidade de energia para manter a homeostase nas regiões basais da planta. Já Catissol 01, provavelmente utiliza os AST como fonte energética para manter o crescimento de suas raízes e respostas metabólicas relacionadas ao combate do estresse salino, o que em parte explica a redução dos AST em raízes. Adicionalmente, no caule e nas raízes de plantas de Catissol 01 submetidas ao déficit hídrico, observou-se uma redução do AST, reforçando a ideia de que provavelmente os AST podem ficar retidos na parte aérea foliar ou ainda existir um maior consumo de energia para manter a homeostase no caule e raízes.

Ao avaliar as concentrações de proteínas (PST), observou-se reduções nas raízes expostas a ambos os tratamentos estudados, tanto no genótipo Catissol 01 (salinidade – 57% e déficit hídrico – 38%) quanto no Helio 253 (salinidade – 64% e déficit hídrico – 56%), comparados aos seus respectivos grupos controle (Figura 9 G). Em Helio 253, observou-se ainda um aumento nos níveis de PST em folhas submetidas ao tratamento salino (11%) e redução nesse mesmo órgão submetido ao déficit hídrico (7%), comparados aos grupos controle (Figura 9D). Em ambos os genótipos, as folhas foram o órgão que mais acumulou proteínas, comparada aos demais órgãos estudados, independente do tratamento aos quais foram submetidos.



**Figura 9:** Concentrações de proteínas solúveis totais-PST (A, D e G), aminoácidos livres totais-AALT (B, E e H) e prolina- PRO (C, F e I) em folhas, caules e raízes dos genótipos de girassol Catissol 01 e Helio 253, submetidos aos tratamentos: controle, 100 mM NaCl (Sal) e 212 g.L<sup>-1</sup> PEG 6000 (PEG), sendo isosmóticas em -0,50 MPa. Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p≤0,05). \*Letras minúsculas comparam diferenças entre os genótipos e letras maiúsculas comparam diferenças entre os tratamentos.

O acúmulo de compostos nitrogenados em plantas é comumente relacionado à tolerância à salinidade. A seca e a salinidade induzem um aumento na concentração de proteínas e de alguns aminoácidos, dentre eles a prolina, que é um soluto osmoticamente compatível e possui funções destinadas ao ajustamento osmótico, estabilização de membranas e proteínas, proteção contra temperaturas extremas, sais e danos oxidativos (SANTOS et al., 2014).

Neste trabalho, o conteúdo de proteínas foi reduzido nas raízes das plantas dos dois genótipos quando submetidas a ambos os estresses (salino e seca) provavelmente a diminuição no teor de proteínas solúveis totais nas plantas submetidas à salinidade seja uma consequência da diminuição da síntese proteica e/ou aumento da proteólise (PARIDA E DAS, 2005). Contrariamente, o genótipo Helio 253 apresentou nas suas folhas o conteúdo de proteína aumentado, em presença de NaCl. Sabe-se que salinidade e a seca podem também estimular a síntese de proteínas solúveis que participam do ajustamento osmótico, da manutenção da estrutura de outras proteínas e ainda atuar na estabilização das membranas celulares e na sinalização de resposta ao estresse salino e déficit hídrico (SANTOS et al., 2014).

Os níveis de AALT aumentaram em mais de 4 vezes nas folhas do genótipo Catissol 01 submetido ao déficit hídrico, comparado ao grupo controle, atingindo a concentração de 84  $\mu\text{mol AALT} \cdot \text{g MS}^{-1}$  (Figura 9 B). Em Helio 253, observou-se aumentos de 23 e 26% em folhas das plantas submetidas aos tratamentos salino e de déficit hídrico, respectivamente, comparados ao grupo controle (Figura 9 B). Em ambos os genótipos, as maiores concentrações de AALT foram observadas em folhas, independente do tratamento estudado.

Considerando-se que, tanto em Catissol 01 como em Helio 253 (exceto em PEG), os conteúdos de suas proteínas nas folhas não foram alterados, possivelmente o aumento de AALT pode estar relacionado com um mecanismo de síntese “de novo” no ambiente intracelular (SILVA et al., 2009b) e conseqüentemente com um provável ajustamento osmótico. O acúmulo de aminoácidos solúveis foi também observado em *J. curcas* submetidas ao déficit hídrico, sendo tal resposta parte do mecanismo de ajustamento osmótico que impede a perda de água pela planta (DÍAZ-LÓPEZ et al., 2012).

Em relação a prolina (PRO) e em ambos os genótipos submetidos ao déficit hídrico, observou-se aumentos nos níveis de PRO em folhas de Catissol 01 (quase 3 vezes) e em Helio 253 (pouco mais de 5 vezes) (Figura 9 C). Também foram observados aumentos nos níveis de PRO em raízes das plantas tanto do genótipo Catissol 01 (71%) quanto de Helio 253 (291%),

submetidos ao tratamento salino e ao déficit hídrico (Catissol 01 – 60% e Helio 253 – 220%), comparados aos seus grupos controle (Figura 9 I). Em ambos os genótipos, a PRO acumulou preferencialmente em folhas submetidas ao déficit hídrico e em raízes submetidas ao estresse salino.

Nesse trabalho, o aumento dos teores de prolina foi observado nas folhas nos dois genótipos, quando as plantas foram submetidas ao agente estressor PEG 6000, simulando o déficit hídrico. Nesta situação, é possível que a prolina (PRO) esteja atuando como um osmorregulador em ambos os genótipos. Entretanto, o aumento de prolina, nas raízes das plantas de Catissol 01 e Helio 253 podem estar relacionados há uma alteração no metabolismo dos compostos nitrogenados relacionados, sobretudo, a uma proteólise visto que o teor de proteínas nas raízes de ambos os genótipos diminuiu em relação aos seus respectivos controles (Figura 9). Resultados semelhantes foram obtidos por Santos et al., 2014 em plantas de girassol submetidos ao déficit hídrico. Tais autores observaram acumulação de prolina nas partes aérea e nas raízes sugerindo que o aumento na síntese de novo e/ ou inibição da degradação de aminoácidos foram os mecanismos que propiciaram o acúmulo de aminoácidos, incluindo a prolina.

Vários mecanismos de proteção são ativados nas plantas em resposta a condições adversas de crescimento (MONTEIRO et al., 2014). O ajustamento osmótico constitui-se um dos mecanismos fisiológicos mais eficazes para manutenção da turgescência celular, sob condições de baixo potencial hídrico no solo (MARIJUAN & BOSCH, 2013). Esse mecanismo se estabelece mediante o acúmulo, no vacúolo ou no citosol, de solutos compatíveis (prolina, glicina betaína, sacarose, manitol, entre outros) que contribuem para a manutenção de equilíbrio hídrico e a preservação da integridade de proteínas, enzimas e membranas celulares (ASHRAF et al., 2011; MARIJUAN & BOSCH, 2013).

Neste trabalho o acúmulo de solutos orgânicos como açúcares solúveis, proteína, e principalmente aminoácidos e prolina, em ambos os genótipos quando submetidos ao déficit hídrico e estresse salino sugerem, portanto, tanto uma desordem no metabolismo dos carboidratos como dos compostos nitrogenados assim como e dependendo do genótipo, tratamento e/ou órgão estudado a participação de alguns desses solutos orgânicos no ajustamento osmótico de girassol.

#### 4. CONCLUSÕES

1. Plantas de girassol respondem de forma diferenciada ao estresse salino e déficit hídrico, induzidos por soluções de cloreto de sódio (NaCl) e polietilenoglicol (PEG 6000), respectivamente.

2. Os tratamentos com NaCl e PEG 6000 são capazes de induzir alterações negativas nos indicadores de estresse associados ao crescimento, status hídrico e as membranas celulares das plantas de ambos genótipos de girassol.

3. Plantas de girassol de ambos os genótipos são mais sensíveis ao déficit hídrico isolado devido ao efeito osmótico, que no caso da salinidade, é minimizado devido à presença dos íons salinos.

4. Os solutos inorgânicos ( $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$ ) foram acumulados e/ou reduzidos em todos os órgãos estudados (folha, caule e raiz) e nos dois genótipos (Catissol 01 e Helio 253) de forma diferenciada. O Catissol 01 acumulou  $\text{Na}^+$  sobretudo no caule e raízes evitando a translocação para as folhas e garantindo assim um maior aporte de  $\text{K}^+$  para as mesmas.

5. A salinidade e a seca provocaram alterações no metabolismo dos carboidratos e dos compostos nitrogenados dos dois genótipos de girassol. Tais respostas variaram entre os órgãos, os tratamentos e genótipo, dependendo do genótipo e órgão estudados os aminoácidos livres totais e a prolina participam do ajustamento osmótico em girassol.

6. A salinidade e a seca afetaram negativamente o crescimento, o status hídrico, a integridade das membranas e os solutos orgânicos e inorgânicos das plantas de girassol, e a resposta das plantas é tratamento, genótipo e órgão dependente.

#### 5. REFERÊNCIAS

ASHRAF, M.; AFZAL, M.; AHMAD, R.; ALI, S. Growth and yield components of wheat genotypes as influenced by potassium and farm yard manure on a saline sodic soil. **Soil and Environment**, 30, 115-121, 2011.

BATES, L.S.; WALDREN, R.P.; TEARE, I.D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, v.39, p.205-207, 1973.

BENINCASA, M.M.P. **Análise de crescimento de plantas: noções básicas**. Jaboticabal: Fundação de apoio a pesquisa, ensino e extensão-FUNEP, 2003, p.42.

BLUM, A.; EBERCON, A. Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. **Crop Science**. vol. 21, n.1, p. 43-47. 1981.

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

CENTENO, C.R.M.; SANTOS, J.B. DOS; XAVIER, D.A.; AZEVEDO, C.A.V. de; GHEYI, H.R. Componentes de produção do girassol Embrapa 122-V2000 sob salinidade da água e adubação nitrogenada. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v.18, (Suplemento), p.S39–S45, 2014.

D'SOUZA, M. R. D.; DEVARAJ, V. R. Biochemical responses of Hyacinth bean (*Lablab purpureus*) to salinity stress. **Acta Physiology Plant**, v.32, p.341-353, 2010.

DANTAS, C. V. S.; SILVA, I. B.; PEREIRA, G. M.; MAIA, J. M.; LIMA, J. P. M. S.; MACEDO, C. E. C. Influência da sanidade e déficit hídrico na germinação de sementes de *Carthamus tinctorius* L. **Revista Brasileira de Sementes**, v.33, n.3 p. 574 - 582, 2011.

DANTAS, M.S.M.; ROLIM, M.M.; PEDROSA, E.M.R.; SILVA, M.M.da; DANTAS, D.da C. Growth and seed yield of sunflower on soil fertilized with cassava wastewater. **Revista Caatinga**, v. 30, n. 4, p. 963 – 970, 2017.

DÍAZ-LÓPEZ, L.; GIMENO, V.; LIDÓN, V.; SIMÓN, I.; MARTÍNEZ, V.; GARCÍA-SÁNCHEZ, F. The tolerance of *Jatropha curcas* seedlings to NaCl: An ecophysiological analysis. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 54, p. 34–42, 2012.

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

GAVA, R.; FRIZZONE, J.A.; SNYDER, R.L.; DE ALMEIDA, B.M.; DE FREITAS, P.S.L.; REZENDE, R. Estratégias de manejo de déficit hídrico na irrigação da cultura da soja. **Brazilian Journal of Biosystems Engineering**, Tupã, v.10, n.3, p. 305-315, 2016.

GHOBADI, M.; TAHERABADI, S.; GHOBADI, M.; MOHAMMADI, G.; JALALI-HONARMAND, S. Antioxidant capacity, photosynthetic characteristics and water relations of sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivars in response to drought stress. **Industrial Crops and Products**, v. 50, p. 29-38, 2013.

GREENWAY, H.; MUNNS, R. Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. **Annual Review of Plant Physiology**, v.31, p.149–190, 1980.

GUEDES FILHO, D. H.; CHAVES, L.H.G.; CAMPOS, V.B; SANTOS JUNIOR, J.A.; OLIVEIRA, J.T.L.de. Production of sunflower and biomass depending on available soil water and nitrogen levels. **Iranica Journal of Energy e Environment, Tehran**, v. 2, n. 4, p. 313-319, 2011.

HA, C. V.; LEYVA-GONZÁLEZC, M. A.; OSAKABED, Y.; TRANA, U. T.; NISHIYAMAA, R.; WATANABEA, Y.; TANAKAE, M.; SEKIE, M.; YAMAGUCHIF, S.; DONGB, N. V.; YAMAGUCHI-SHINOZAKIG, K.; SHINOZAKID, K.; HERRERA-ESTRELLAC, L.; TRAN, L. S. P. Positive regulatory role of strigolactone in plant responses to drought and salt stress. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 111, n. 2, p. 851–856, 2014.

HOAGLAND, D. R. E ARNON, D. I. **The water culture method for growing plants without soils**. Berkeley: California Agricultural Experimental Station, 1950. 347p

IMADA, S.; YAMANAKA, N.; TAMAI, S. Effects of salinity on the growth, Na partitioning, and Na dynamics of a salt-tolerant tree, *Populus alba* L. **Journal of Arid Environments**, v.73, p.245-251, 2009.

MARIJUAN, M.P.; BOSCH, S.M. Ecophysiology of invasive plants: osmotic adjustment and antioxidants. **Trends in Plant Science**, v.18, p.660-666, 2013.

MELO, Y.L.; DANTA, C.V.S.; LIMA-MELO, Y.; MAIA, J.M.; MACEDO, C.E.C de. Changes in osmotic and ionic indicators in *Ananas comosus* (L.) MD gold pre-treated with phytohormones and submitted to saline medium. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.39, n2 (e-155). 2017.

MONTEIRO, J. G.; CRUZ, F.J.R.; NARDIN, M.B.; SANTOS, D.M.M dos. Crescimento e conteúdo de prolina em plântulas de guandu submetidas a estresse osmótico e à putrescina exógena. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**. Brasília, v.49, n.1, p.18-25, 2014.

NING, J. F.; CUI, L. F.; YANG, S. H.; AI, S. Y.; LI, M. J.; SUN, L. L.; CHEN, Y.; WANG, R. H.; ZENG, Z. B. Basil ionic responses to seawater stress and the identification of gland salt secretion. **Journal of Animal and Plant Sciences**, v. 25, n. 1, p. 131-138, 2015.

NOBRE, R.G.; GHEYI, H.R.; SOARES, F.A.L.; CARDOSO, J.A.F. Produção de girassol sob estresse salino e adubação nitrogenada. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 35, p.929-937, 2011.

OLIVEIRA, M.D. de M., BEZERRA, L.L., DANTAS, C.V.S., VOIGT, E.L. MAIA, J.M., MACÊDO, C.E.C. de. The role of xylopodium in Na<sup>+</sup> exclusion and osmolyte accumulation

in faveleira [*Cnidocolus phyllacanthus* (d. arg.) Pax et K. Hoffm] under salt stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.36, p.2871–2882, 2014.

PARIDA, A.K.; DAS, A.B. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.60. p.324-349, 2005.

PEOPLES, M.B.; FAIZAH, A.W.; REAKASEM, B.; HERRIDGE, D.F. **Methods for evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field**. Canberra: Australian Center for International Agricultural Research, 1989. 76p.

RAHDARI, P.; HOSEINI, S.M. Drought Stress: A Review. **International journal of Agronomy and Plant Production**, v. 3, n.10, p. 443-446, 2012.

RIBEIRO, P.H.P.; SILVA, S.; DANTAS NETO, J; OLIVEIRA, C. S.; CHAVES, L. H. G. Crescimento e componentes de produção do girassol em função da irrigação com água salina e adubação nitrogenada. **Engenharia na agricultura**, Viçosa - MG, v.23 n.1, p. 48-56. 2015.

RODRIGUES, C.R.F.; SILVA, E.N.; FERREIRA-SILVA, S.L. VOIGT, E.L.; VIÉGAS, R.A.; SILVEIRA, J.A.G. High K<sup>+</sup> supply avoids Na<sup>+</sup> toxicity and improves photosynthesis by allowing favorable K<sup>+</sup> : Na<sup>+</sup> ratios through the inhibition of Na<sup>+</sup> uptake and transport to the shoots of *Jatropha curcas* plants. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 176, p. 157–164, 2013.

ROY, S.J.; NEGRÃO, S.; TESTER, M. Salt resistant crop plants. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 26, p. 115–124, 2014.

SÁNCHEZ, A.S.; NOGUEIRA, I.B.R.; KALID, R.A. Uses of the reject brine from inland desalination for fish farming, Spirulina cultivation, and irrigation of forage shrub and crops. **Journal on the Science and Technology of Desalting and Water Purification - Desalination**, v.364, n.1, p.96-107, 2015.

SANTOS JÚNIOR, J.A.; GHEYI, H.R; DIAS, N.da S.; GUEDES FILHO, D.H. Crescimento do girassol em sistema semi-hidropônico sob estresse salino e densidades de plantio. **Brazilian Journal of Irrigation and Drainage**, v. 20, n. 2, p. 233-247, 2015.

SANTOS, J.F.; SACRAMENTO. B.L.; MOTA, K.N.A.B.; SOUZA, J.T.; AZEVEDO NETO, A.D. de. Crescimento de girassol em função da inoculação de sementes com bactérias endofíticas. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 44, n. 2, p. 142-150, 2014.

SHABALA, S.; MUNNS. R. **Plant Stress Physiology**. In: Salinity stress: Physiological Constraints and Adaptive Mechanisms. UK: CAB; 2012. 291p.



- SILVA, E.N.; RIBEIRO, R.V.; FERREIRA-SILVA, S.L.; VIÉGAS, R.A.; SILVEIRA, J.A.G. Comparative effects of salinity and water stress on photosynthesis, water relations and growth of *Jatropha curcas* plants. **Journal of Arid Environments**, v.74, p.1130-1137, 2010.
- SILVA, E.N.; SILVEIRA, J.A.G.; RODRIGUES, C.R.F.; LIMA, C.S.; VIÉGAS, R.A. Contribuição de solutos orgânicos e inorgânicos no ajustamento osmótico de pinhão-mansão submetido à salinidade. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 5, p. 437–445, 2009a.
- SILVA, E.N.; SILVEIRA, J.A.G.; RODRIGUES, C.R.F.; VIÉGAS, R.A. Physiological adjustment to salt stress in *Jatropha curcas* is associated with accumulation of salt ions, transport and selectivity of K<sup>+</sup>, osmotic adjustment and K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> homeostasis. **Plant Biology**, v. 17, p. 1023–1029, 2015.
- SILVA, F.A.M.; MELLONI, R.; MIRANDA, J.R.P.; CARVALHO, J.G. Efeito do estresse salino sobre a nutrição mineral e o crescimento de mudas de aroeira (*Myracrodruon urundeuva*) cultivadas em solução nutritiva. **Revista Cerne**, v. 6, n. 1, p. 52-59, 2000.
- SILVA, L.C.; BELTERÃO, N.E.M.; AMORIM NETO, M.S. **Análise do Crescimento de Comunidades Vegetais**. Campina Grande: EMBRAPA Algodão, 2000. 18 p. (EMBRAPA Algodão. Circular técnica, 34).
- SILVA, M.A.; JIFON, J.L.; SHARMA, V.; SILVA, J.A.G.da; CAPUTO, M.M.; DAMAJ, M.B.; GUIMARÃES, E.R.; FERRO, M.I.T. Use of physiological parameters in screening drought tolerance in sugarcane genotypes. **Sugar Tech**, v.13, n.3, p.191-197, 2011.
- SILVA, T.G.F.; ZOLNIER, S.; GROSSI, J.A.S.; BARBOSA, J.G.; MOURA, C. R.W.; MUNIZ, M.A. Crescimento do girassol ornamental cultivado em ambiente protegido sob diferentes níveis de condutividade elétrica de fertirrigação. **Revista Ceres**, v. 56, n.5, p.602-610, 2009b.
- SILVEIRA, J.A.G.; SILVA, S.L.F.; SILVA, E.N.; VIÉGAS, R.A. Mecanismos biomoleculares envolvidos com a resistência ao estresse salino. In: GHEYI, H.R.; DIAS, N.S.; LACERDA, C.F. **Manejo da salinidade na agricultura: estudos básicos e aplicados**. Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Salinidade, p.161–180, 2010.
- SLAVICK, B. **Methods of studying plant water relations**. New York: Springer Verlag, 1974, p.449.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre, Artmed, 2017. 888 p.
- TRAVASSOS, K.D.; GHEYI, H.R.; SOARES, F.A.L.; BARROS, H.M.M.; DIAS, N. da S.; UYEDA, C.A.; SILVA, F.V. da. Crescimento e desenvolvimento de variedades de girassol

Irigado com água salina. **Brazilian journal of irrigation and drainage**, edição especial, p. 324 - 339, 2012.

VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. Testes de vigor de sementes. Jaboticabal: **Fundação de apoio a pesquisa, ensino e extensão-FUNEP**, 164p, 1994.

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

WILLADINO, L.; CAMARA, T.R. Tolerância das plantas à salinidade: aspectos fisiológicos e bioquímicos. **Enciclopédia biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.6, n.11, p. 2, 2010.

ZRIG, A.; MOHAMED, H.B.; TOUNEKTI, T.; AHMED, S.O.; KHEMIRA, H.L Differential response of antioxidant enzymes in salt-stressed almond tree grown under sun and shade conditions. **Journal of Plant Sciences and Research**, v. 2, p.117–119. 2015.

ZONTA, J.H.; BRANDÃO, Z.N.; RODRIGUES, J.I.da S.; SOFIATTI, V. Cotton response to water deficits at diferent growth stages. **Revista Caatinga**, v.30, n. 4, p. 980-990, 2017.

### CAPITULO III

#### DEFESA E DANO OXIDATIVO EM GIRASSOL SUBMETIDO A ESTRESSE SALINO E DÉFICIT HÍDRICO

**Resumo:** Neste trabalho foi avaliado o dano oxidativo e o sistema de defesa enzimático e não enzimático antioxidativo do girassol submetidos à salinidade e seca. O experimento foi realizado no delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições. Os tratamentos foram arranjos em esquema fatorial 2x3, com o primeiro fator correspondente aos dois genótipos avaliados (Catissol 01 e Helio 253) e, o segundo, aos agentes estressores (controle; salinidade: NaCl; e seca: Polietilenoglicol 6000). Observou-se que ambos os genótipos, tanto submetidos à seca quanto a salinidade, apresentaram danos oxidativos representados pelo aumento da peroxidação lipídica e aumento da carbonilação das proteínas, e diminuição na concentração de proteínas em alguns órgãos, principalmente quando submetidos a seca. Nas plantas submetidas à salinidade, o mecanismo de defesa antioxidativa enzimático parece ter sido eficiente na remoção de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e contribuindo para o aumento de pigmentos fotossintetizantes, sendo caracterizado pelo aumento da atividade das enzimas superóxido dismutase, peroxidase de ascorbato e peroxidase de fenóis. A raiz foi o órgão mais responsivo às EROs. Assim, conclui-se que o mecanismo antioxidativo enzimático atua de forma diferenciada dependendo do genótipo estudado, tipo de estresse e órgão avaliado de plantas de girassol.

**Palavras-chave:** *Helianthus annuus* L., salinidade, seca, enzimas antioxidantes, espécies reativas de oxigênio (EROs)

#### DEFENSE AND OXIDATIVE DAMAGE IN SUNFLOWER SUBJECT TO SALINE STRESS AND WATER DEFICIT

**Abstract:** In this work, the oxidative damage and enzymatic and non - enzymatic antioxidative defense system of sunflower submitted to salinity and dry matter were evaluated. The experiment was carried out in a completely randomized design, with five replications. The treatments were arranged in a 2x3 factorial scheme, with the first factor corresponding to the two evaluated genotypes (Catissol 01 and Helio 253) and the second one

to stressors (control: salinity: NaCl and dry: Polyethylene glycol 6000). It was observed that both genotypes, both submitted to drought and salinity, presented oxidative damages represented by increased lipid peroxidation and increased carbonylation of proteins, and decreased protein concentration in some organs, especially when submitted to drought. In plants submitted to salinity, the enzymatic antioxidative defense mechanism seems to have been efficient in the removal of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and contributing to the increase of photosynthetic pigments, being characterized by the increase of the enzymes superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and phenol peroxidase. The root was the most responsive organ to ROS. Thus, it is concluded that the enzymatic antioxidative mechanism acts differently depending on the studied genotype, type of stress and organ evaluated from sunflower plants.

**Keywords:** *Helianthus annuus* L., salinity, drought, antioxidant enzymes, reactive oxygen species (ROS).

## 1. INTRODUÇÃO

A seca e a salinidade são alguns dos principais fatores limitantes da produção agrícola nas regiões áridas e semiáridas (MAIA et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2014). Nesses ambientes, as plantas podem enfrentar situações de déficit hídrico devido à limitada disponibilidade de água no ambiente radicular, causados pela falta de água ou pelo aumento da taxa de evapotranspiração da planta, ou pelo excesso de sais no solo. (GHOBADI et al., 2013).

O déficit hídrico pode afetar o metabolismo da planta, levando a alterações morfofisiológicas e bioquímicas que compreendem desde a redução da área foliar, crescimento do sistema radicular e aumento da atividade enzimática, até o fechamento estomático (SHARIF et al., 2017). Já o estresse salino, além do fator osmótico, também envolve a interferência de íons salinos na absorção, distribuição e utilização de nutrientes minerais, causando distúrbios na homeostase iônica da célula (OLIVEIRA et al., 2014).

Alterações metabólicas, sejam causadas pelo estresse salino ou déficit hídrico, provocam, secundariamente, o estresse oxidativo, que consiste no aumento da produção desordenada de espécies reativas de oxigênio (EROs), tais como o radical superóxido (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>), radical hidroxila (OH<sup>•</sup>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e oxigênio singlete (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>) (OLIVEIRA et al., 2014). O aumento nos níveis de EROs culmina em diversos processos degenerativos

que incluem a peroxidação dos lipídios de membrana, carbonilação de proteínas e a morte celular programada (ELLOUZI et al., 2011; SHABALA et al., 2012).

Na tentativa de contornar os problemas causados pelo estresse oxidativo, os vegetais desenvolveram vias metabólicas específicas para eliminação de moléculas oxidantes (GILL E TUTEJA, 2010). Uma dessas vias são os sistemas enzimáticos antioxidantes que constituem uma importante defesa primária contra os radicais livres gerados sob condições de estresse, como a as enzimas superóxido dismutase (SOD), que catalisa a dismutação do radical superóxido em  $H_2O_2$  e  $O_2$ , a catalase (CAT), a ascorbato peroxidase (APX) e peroxidase de fenóis (POX), que podem quebrar o  $H_2O_2$  em  $H_2O$  e  $O_2$  (CARNEIRO et al., 2011; LISAR et al., 2012).

Pigmentos fotossintéticos como as clorofilas (a e b), carotenóides e antocianinas também podem atuar como antioxidantes não enzimáticos (AMARANTE et al., 2007). Esses pigmentos, especialmente os carotenoides, são fitocromos que, sob estresse oxidativo, podem evitar danos aos fotossistemas ao absorverem o excedente de fótons prevenindo assim, a fotoinibição (SIMÃO, 2010).

Grande parte da região Nordeste Brasileira está concentrada em ambiente semiárido e caracterizado por regimes pluviométricos irregulares e alta concentração de sais nos solos, o que se faz necessário identificar espécies mais adaptadas às condições do semiárido e que possuam rentabilidade econômica para o pequeno agricultor. Neste sentido, o girassol (*Helianthus annuus* L.) é uma oleaginosa que se destaca por apresentar características importantes de resistência à seca e calor, com fácil adaptação a diferentes condições de solo e clima, podendo ser cultivada durante todo o ano (GAZZOLA et al., 2012). Ainda, a cultura é considerada uma das quatro principais produtoras de biodiesel no Brasil (CENTENO et al., 2014), o que expande gradualmente a sua área plantada e gera novas oportunidades de renda e trabalho para a agricultura familiar.

Assim, devido à escassez de estudos relacionados ao efeito da seca e da salinidade na referida espécie, principalmente relacionados às respostas oxidativas, evidencia-se a necessidade de melhor compreender os diferentes mecanismos de resistência e estratégias metabólicas antioxidativas adotadas pelas plantas frente às condições estressantes. Tais estudos poderão auxiliar, também, o desenvolvimento de tecnologias destinadas ao melhoramento vegetal desta espécie.

Neste sentido, o presente estudo teve como objetivo principal avaliar o envolvimento de componentes enzimáticos e não enzimáticos no metabolismo de defesa antioxidante em combate ao estresse oxidativo da cultura do girassol.

## 2. MATERIAS E MÉTODOS

### Condução do experimento

O experimento foi conduzido na casa de vegetação do Laboratório de Estudos em Biotecnologia Vegetal, no Centro de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, Natal-RN (5°47'S e 35°12'W), durante o primeiro semestre de 2016.

Para o desenvolvimento deste trabalho foram utilizadas sementes de girassol dos genótipos Catissol 01 de genótipo aberto e Hélio 253 de genótipo fechado, fornecidas pela Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Norte – EMPARN e HELIAGRO, respectivamente. As sementes foram selecionadas e desinfestadas para posterior germinação em sistema de rolo em papel toalha do tipo Germitest<sup>®</sup> (VIEIRA & CARVALHO, 1994).

Após a germinação, as plântulas foram transferidas para sistema hidropônico na casa de vegetação, fixadas em vasos plásticos contendo solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) e mantidas em condições controladas de temperatura (30±5 °C) e umidade relativa do ar (40±10%), por um período de aclimatização de 22 dias.

Após 22 dias de aclimação, as plantas de girassol dos dois genótipos foram selecionadas e padronizadas para desenvolvimento deste experimento. Dentre as 100 plantas cultivadas, de cada genótipo, as plantas foram submetidas aos três tratamentos, que foram distribuídos em soluções nutritivas de Hoagland e Arnon (1950) com modificações e constituídos de: controle – solução nutritiva; sal – solução nutritiva + 100 mM de NaCl; e PEG – solução nutritiva + 212 gL<sup>-1</sup> de PEG 6000 (correspondente a -0,50 MPa), sendo as soluções de PEG 6000 isosmótica da salina calculadas de acordo com Villela et al. (1991). As plantas foram então mantidas em casa de vegetação, nas mesmas condições descritas anteriormente, durante 48 horas.

Ao final das 48 horas de cultivo nos tratamentos, tempo e dose limite de PEG 6000 para as plantas de girassol, foram coletadas cinco plantas de cada tratamento, para cada genótipo, e foram separadas em três órgãos, folha, caule e raiz.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com cinco repetições. Os tratamentos foram arranjos em esquema fatorial 2x3, em que o primeiro fator

correspondeu aos dois genótipos avaliados (Catissol 01 e Helio 253) e, o segundo, agentes estressores [cloreto de sódio (NaCl), polietilenoglicol (PEG 6000) e controle].

### **Extração das amostras**

O processo de extração foi adaptado a partir do protocolo de Peixoto (1999). Foram maceradas 500 mg do material vegetal em almofariz de porcelana, na presença de nitrogênio líquido, até obtenção de farinha homogênea. Em seguida, foram adicionados 1,5 mL de tampão fosfato de potássio 50 mM pH 7,0, contendo 1 mM de ácido L-ascórbico, 0,1 mM de EDTA. O macerado foi transferido para microtubos de 2 mL e centrifugados a 10.000 G, por 20 minutos, à temperatura de 4 °C, para posterior análise dos compostos orgânicos pretendidos.

### **Dano oxidativo**

#### Determinação da peroxidação lipídica

A extensão da peroxidação lipídica foi estimada pela determinação da concentração de malondialdeído (MDA) produzido pelo ácido tiobarbitúrico (TBA) seguindo o método de Heath e Packer (1968) e Osawa et al. (2005). O material vegetal (200 mg) foi homogeneizado em 2 mL de ácido tricloroacético (TCA) 0,1 % (m/v). O homogenato foi centrifugado a 10.000 x g por 10 min e 500 µL do sobrenadante obtido foi adicionado em 2 mL de 0,5 % de TBA (m/v) em 20 % de TCA (m/v). A mistura foi incubada a 95 °C por 1 h e a reação foi interrompida em banho de gelo. As absorbâncias foram lidas a 532 e 660 nm. A concentração de MDA foi calculada a partir do coeficiente de extinção molar de 155 mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> (Heath e Packer, 1968) e expressa como nmol MDA-TBA g<sup>-1</sup> MS.

#### Determinação da concentração de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

A concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi determinada pelo método de FOX, descrito por Gay et al. (1999) e Gay e Gebicki (2000). Neste ensaio, o peróxido de hidrogênio reage com o Fe<sup>+2</sup> a pH baixo, na presença do corante alaranjado de xilenol (XO), formando o Fe<sup>+3</sup>. A extração do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de tecidos foliares foi realizada de acordo com a recomendação de Zhou et al. (2006).

## Carbonilação de proteínas (Espectrofotometria)

O grau de oxidação de proteínas foi realizado conforme método descrito por Levine et al. (1990). Neste método, 200 mg de massa fresca foi macerado em almofariz a 0 °C na presença de 1 mL de tampão fosfato de potássio  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 25 mM, pH 7,0. Em seguida o homogeneizado foi centrifugado a 10000 G durante 5 min e alíquotas de 750  $\mu\text{L}$  do extrato foram acrescidos de 250  $\mu\text{L}$  de uma solução 8 mM de 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH) em 2 M de HCl. Após uma hora mantida no escuro sob agitação, a cada 10 min, foi adicionado 500 $\mu\text{L}$  de ácido tricloacético (TAC) a 30% em volume para precipitação das proteínas. Em seguida, os tubos foram agitados e centrifugados a 10.000 G por 5 min. O sobrenadante foi descartado e o precipitado lavado três vezes com solução de metanol e acetato de etila (proporção 1:1).

Após lavagem, 500 $\mu\text{L}$  de Guanidina 6 M em 20 mM de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , pH 2,3, foram adicionados, as proteínas resuspendidas por agitação em vortex a 37 °C e a mistura centrifugada novamente a 10.000 G, por 5 min. Em seguida foi medida a absorbância do sobrenadante na faixa entre 380 nm.

## Conteúdo dos pigmentos fotossintéticos

Os conteúdos de clorofilas, carotenóides e antocianinas foram obtidos pelos métodos de Lichtenthaler (1987) e Sims e Gamon (2002). Amostras de 200 mg de tecido foram homogeneizadas em acetona 85% (v/v) e 15% (v/v) de Tris 1% (pH 8). As amostras foram centrifugadas a 10.000 G, por 10 min, a 4 °C. O sobrenadante foi coletado e, em seguida, ajustado para o volume inicial de 5 mL. As leituras foram aferidas em absorbâncias de 663 nm, 647 nm, 470 nm e 537 nm. O resultado de clorofila total foi expresso em  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  MS, enquanto que os demais foram expressos em  $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$  MS.

## Determinação das concentrações de proteínas solúveis

A determinação do conteúdo de proteínas solúveis totais foi realizada pelo método descrito por Bradford (1976). Alíquotas de 66  $\mu\text{L}$  do extrato proteico (sobrenadante) diluído



foram transferidas para tubos de ensaio e então adicionado 2 mL do reagente de Bradford (105,26 mg de Coomassie Brilliant Blue G-250).

Após leve agitação, os tubos foram incubados a 25 °C por 15 minutos e então foi realizada leitura da reação a 595 nm em espectrofotômetro. A concentração de proteínas solúveis totais foi obtida pela comparação com curva padrão de Albumina Sérica Bovina (BSA) e expressas em mg . g<sup>-1</sup> MS.

## **Mecanismos de defesa antioxidante**

### Atividade da superóxido dismutase (SOD)

A atividade enzimática foi determinada segundo metodologia adaptada de Peixoto (1999) a partir de Del Longo et al (1993) e Gianopolitis e Ries (1977).

Alíquotas de 100 µL do extrato proteico foram transferidas para tubos de ensaio protegidos da luz, contendo tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7,8, 0,1 mM de EDTA, 13 mM de L-metionina e 75 µM de NBT.

A reação foi iniciada pela adição de 2 µM de riboflavina e a concomitante transferência dos tubos para uma câmara iluminada por uma lâmpada fluorescente circular de 30 Watts, por período de 15 minutos. Em seguida, leituras de absorbância a 560 nm foram tomadas em espectrofotômetro. Para efeito de correção nos cálculos, foram considerados como branco da reação, tubos que não continham extrato, expostos e não expostos à luz. A atividade foi determinada pelo cálculo da quantidade de extrato que inibiu 50% da redução de NBT (BEAUCHAMP & FRIDOVICH, 1971) e expressa em UA g<sup>-1</sup> MS min<sup>-1</sup>.

### Atividade de peroxidases de ascorbato (APX)

A atividade de APX foi determinada de acordo com o método de Nakano e Asada (1981), modificado por Koshiba (1993). Para tanto, 100 µL do extrato proteico foram transferidos para tubos de ensaio e ao meio de reação foram adicionados 2,7 mL de tampão fosfato de potássio (50 mM), pH 6,0, contendo 0,8 mM de ácido L-ascórbico P.A.

A reação foi iniciada pela adição de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ao meio, observando o decréscimo da leitura no intervalo de 60 segundos, à absorbância de 290 nm em espectrofotômetro. Adicionalmente, leituras de tubos controle, com e sem a amostra, na ausência de peróxido de

hidrogênio, foram realizadas. A atividade de APX foi expressa em  $\mu\text{mol ascorbato g}^{-1} \text{MS min}^{-1}$ .

#### Atividade de peroxidase de fenóis (POX)

A atividade da POX nos tecidos foi determinada pelo método de Kar e Mishra (1976). Alíquotas de 20  $\mu\text{L}$  do extrato proteico foram transferidas para tubos de ensaio e a estes, adicionados 4,9 mL de tampão fosfato de potássio 25 mM, pH 6,8, contendo 20 mM de pirogalol (ácido pirogálico) e 20 mM de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . A mistura foi incubada a 25 °C, por período de 60 segundos, e posterior interrupção da reação, pela adição de 0,5 mL da solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,5% (v/v). As leituras foram realizadas à absorvância de 420 nm, contra o branco preparado com 5 mL do tampão de ensaio e 0,5 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  a 0,5 % (v/v). A atividade de POX foi expressa em  $\mu\text{mol purpurogalina . g}^{-1}\text{MS min}^{-1}$ .

#### Atividade de catalase (CAT)

A atividade de catalase (CAT) foi determinada pelo método definido por Havir e McHale (1987).

Alíquotas de 0,05 mL de extrato proteico foram adicionadas a 2,95 mL de tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,0), contendo  $\text{H}_2\text{O}_2$  (20 mM). A reação ocorreu a 30 °C e foi acompanhada pelo decaimento da absorvância a 240 nm durante 300 seg., com leituras sucessivas a cada 30 seg. A atividade da enzima foi calculada com base no coeficiente de extinção molar de  $36 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  para  $\text{H}_2\text{O}_2$ , em 240 nm, expressa em  $\eta\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ g}^{-1} \text{MS min}^{-1}$  (HAVIR & MCHALE, 1987).

#### **Delineamento experimental e análise estatística**

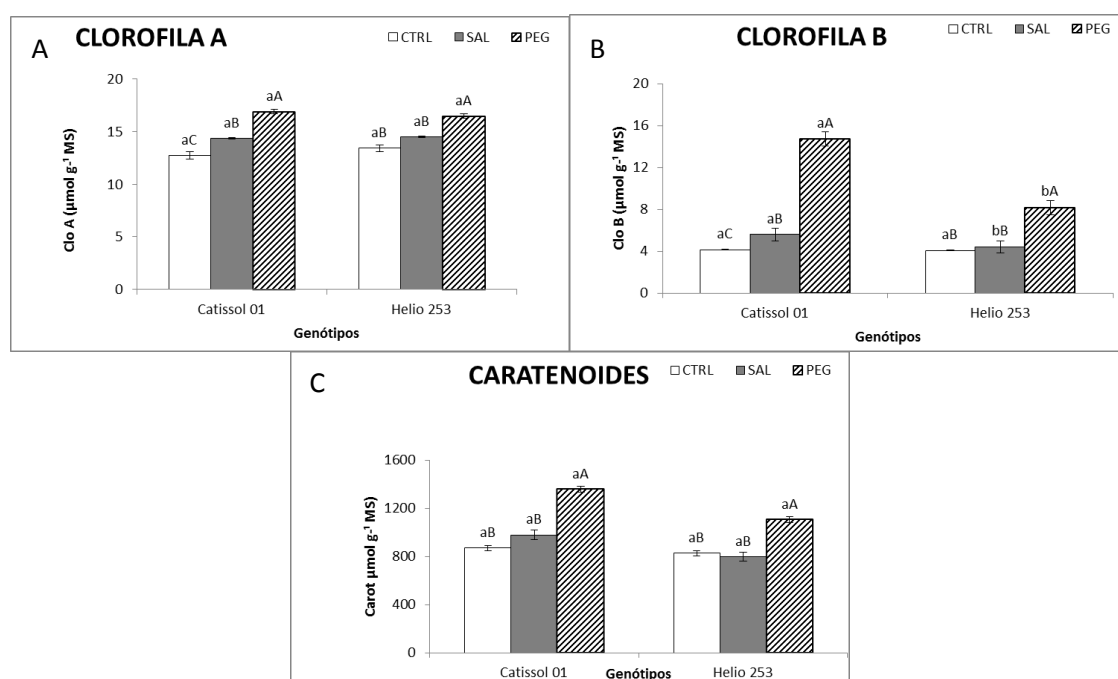
Os dados foram submetidos à análise de variância e o teste de Tukey. Em todas as análises foi utilizado o nível nominal  $\alpha = 0,05$  de probabilidade, utilizando o Software ASSISTAT versão 7.7 beta.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Plantas submetidas ao déficit hídrico tiveram um aumento na produção de clorofila a (32% e 22%), clorofila b (255% e 100%) e carotenoides (55% e 33%), em ambos os genótipos estudados (Figura 1). Estes resultados comparados aos seus respectivos controles.

O aumento nos níveis de pigmentos do girassol pode estar relacionado à sua função sinalizadora em plantas submetidas ao estresse (SILVA et al., 2014; 2015) e sua ação na mitigação dos danos aos fotossistemas, pois tais pigmentos absorvem o excedente de fótons prevenindo assim, a fotoinibição (SIMÃO, 2010).

O componente osmótico, tanto do déficit hídrico quanto da salinidade, interfere diretamente nos processos fotossintéticos, uma vez que a falta de água para a célula vegetal prejudica o processo de fotólise da água, fundamental para a estabilização das clorofilas no processo fotoquímico da fotossíntese (ZANETI et al., 2016).

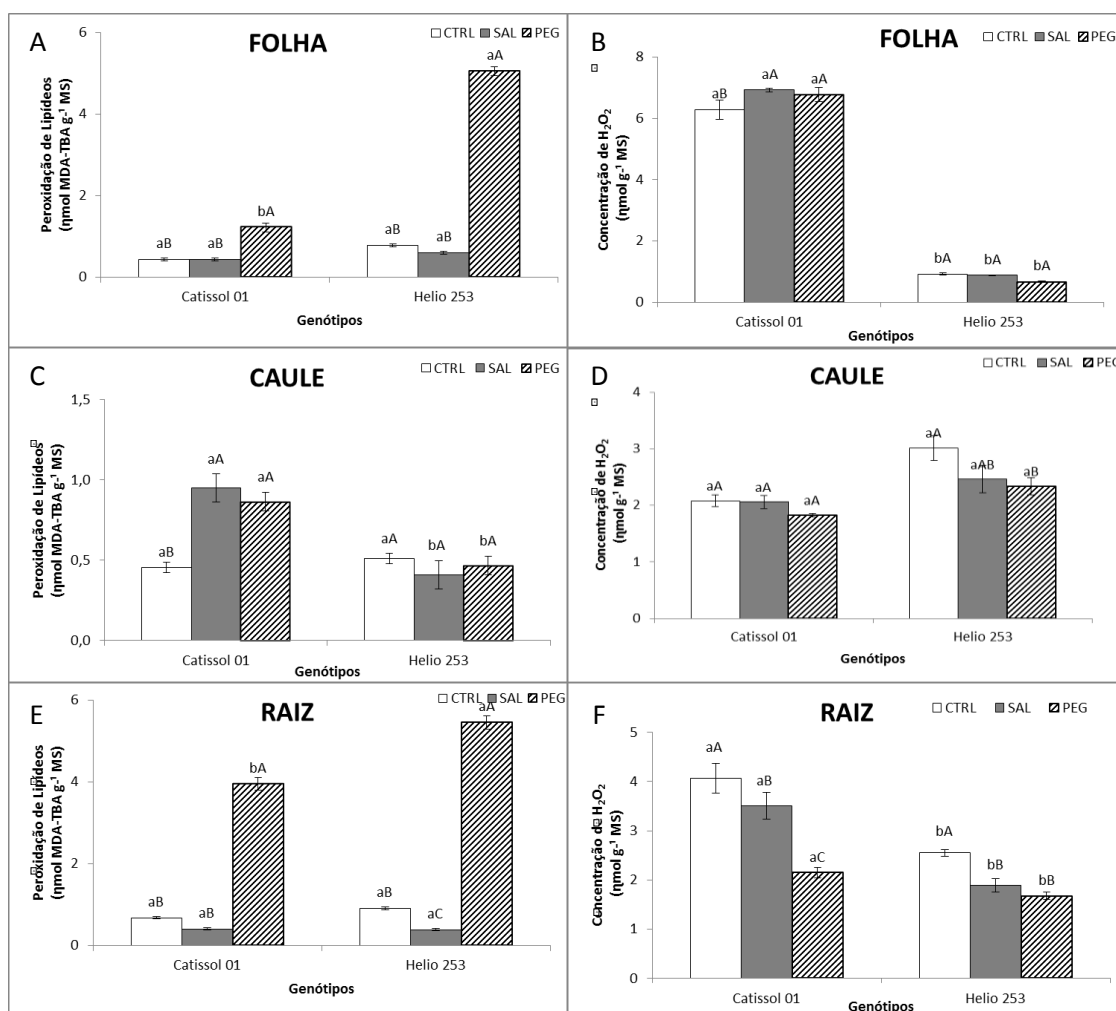


**Figura 1:** Teores de clorofila A (A), clorofila B (B) e carotenoides (C), em plantas de dois genótipos de girassol (Catissol 01 e Helio 253), cultivadas durante 48 horas nos tratamentos: controle (CTRL), 100 mM NaCl (Sal) e 212  $\text{g.L}^{-1}$  PEG 6000 (PEG), sendo isosmóticas em  $-0,50$  MPa. Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). \*Letras minúsculas comparam os genótipos e letras maiúsculas comparam os tratamentos.

Os agentes estressores, mas de forma mais pronunciada o PEG 6000, causaram danos ao metabolismo tanto de Catissol 01 quanto no Helio 253, pelo aumento da

peroxidação lipídica, dos níveis de  $H_2O_2$ , intensificação na carbonilação de proteínas e redução nos níveis proteicos, para todos os órgãos das plantas avaliados (Figura 2 e 3).

Os danos causados pelo sal e pelo déficit hídrico às membranas celulares devido à peroxidação dos lipídios estão representados pelo aumento dos níveis de malondialdeído (MDA) (Figura 2). Observou-se que ambos os genótipos de girassol tiveram aumento significativo na peroxidação de lipídios quando foram submetidos ao déficit hídrico, em todos os órgãos avaliados, com exceção do caule em Helio 253. Os aumentos na peroxidação lipídica, tanto para o Catissol 01 quanto para o Helio 253, foram de 178% e 543% em folhas; e 479% e 499% em raízes, respectivamente, comparados aos seus respectivos grupos controle (Figura 2 A e E). Apenas nos caules de Catissol 01 o aumento da peroxidação lipídica foi de aproximadamente 89%, comparado ao grupo controle (Figura 2C).



**Figura 2:** Teores de malodeído (peroxidação lipídica) e peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), em Folha (A e B), caule (C e D) e raiz (E e F), de dois genótipos de girassol (Catissol 01 e Helio 253), cultivadas durante 48 horas nos tratamentos: controle (CTRL), 100 mM NaCl (SAL) e 212 g.L<sup>-1</sup> PEG 6000 (PEG), sendo isosmóticas em -0,50 MPa. Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). \*Letras minúsculas comparam os genótipos e letras maiúsculas comparam os tratamentos.

O aumento dos níveis na peroxidação de lipídios pode estar associado ao excesso na produção e acumulação de EROs, que causam sobretudo danos oxidativos ao compartimento apoplástico e membranas celulares, agravando a desestabilização da homeostase iônica (GOLLACK et al., 2014). Resultados semelhantes relacionados ao aumento da peroxidação lipídica em raízes, caules e folhas de *Vigna radiata* sob estresse salino foram observados por Panda e Khan (2009).

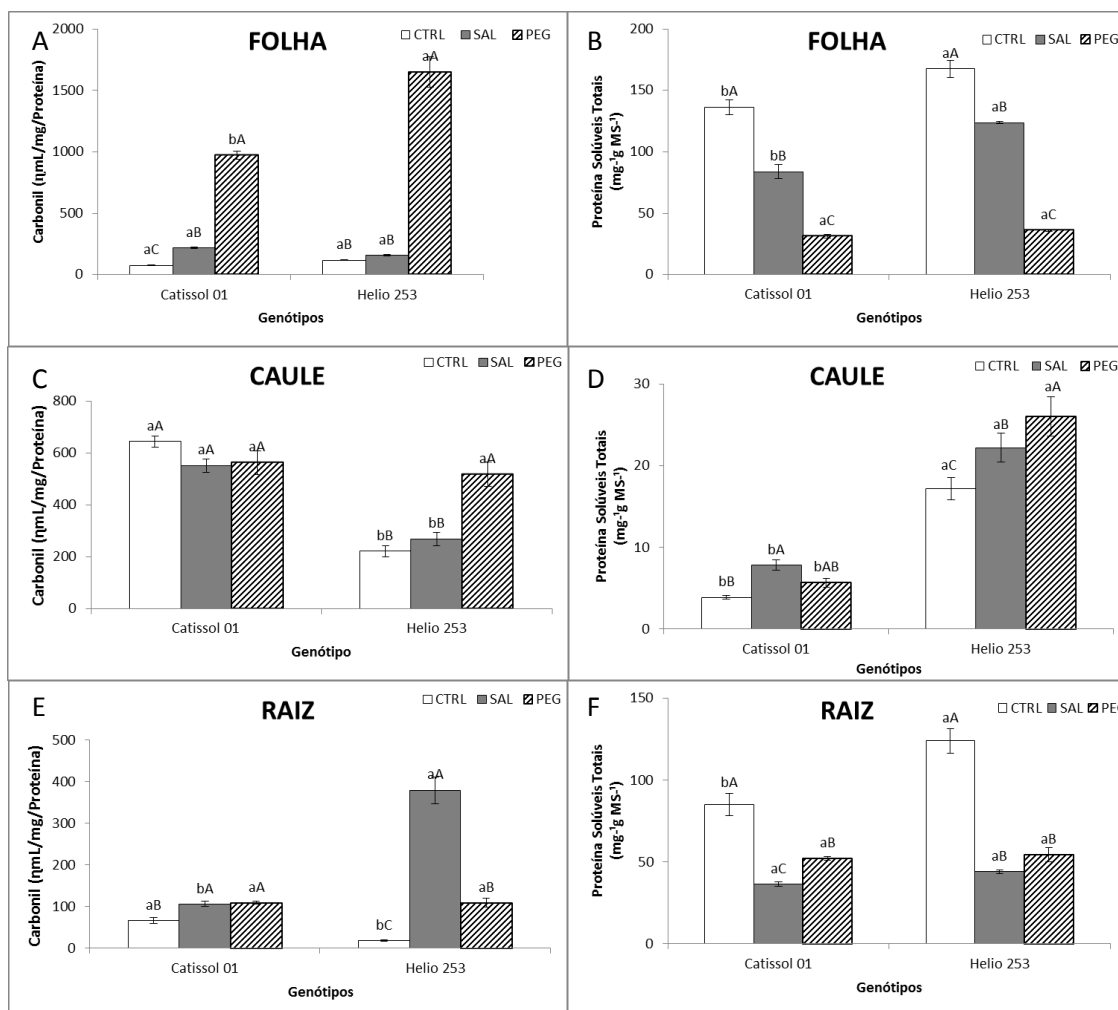
O estresse oxidativo é definido como um desequilíbrio na relação entre compostos antioxidantes versus compostos pró-oxidantes, levando ao aumento do nível de espécies reativas de oxigênio (EROs), dentre elas o peróxido de hidrogênio (CHOUDHURY et al., 2017). No presente estudo, observou-se aumento nos níveis de peróxido de hidrogênio apenas nas folhas do genótipo Catissol 01, tanto após submissão ao estresse salino (10%) quanto ao déficit hídrico (7%), comparados ao grupo controle (Figura 2B). Contudo, em folhas do genótipo Helio 253 e caules de ambos os genótipos, não foram observadas alterações nos níveis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, em nenhum dos tratamentos avaliados (Figura 2B e D). Ainda, observou-se reduções nos níveis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em raízes tanto de Catissol 01 (estresse salino - 13% e déficit hídrico - 47%) quanto de Helio 253 (estresse salino - 25% e déficit hídrico - 34%), comparados aos seus respectivos grupos controles (Figura 2 F).

O leve aumento nos níveis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, observado apenas em folhas do genótipo Catissol 01, em ambos os estresses, sugerem a ação deste composto na sinalização molecular envolvida na aclimação ao estresse imposto, iniciando um processo de tolerância aos estresses estudados (BHATTACHARJEE, 2012). Contudo, nos demais órgãos de Catissol 01 e em todos os órgãos de Helio 253, o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> parece não ser o principal causador da peroxidação lipídica, observada no presente estudo, principalmente nas plantas submetidas ao déficit hídrico. O não aumento e a redução nos níveis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> mesmo em condições de estresse, observados nos demais órgãos dos diferentes genótipos, sugerem a eficiente remoção desta classe de EROs por enzimas antioxidantes, como a SOD, CAT, APX e POX (CHOUDHURY et al., 2017).

O dano oxidativo em proteínas, mensurados pela determinação de grupamento carbonil (carbonilação), aumentou em todos os órgãos de ambos os genótipos expostos ao déficit hídrico, com exceção do caule de Catissol 01 (Figura 3). Durante o déficit hídrico, observaram-se aumentos de 11 e 13 vezes no valor de carbonil do grupo controle, para os genótipos Catissol 01 e Helio 253, respectivamente. No caule e nas raízes de Helio 253 o

aumento nos níveis deste grupamento foi de 133% e 491%, respectivamente, enquanto que nas raízes de Catissol 01 o aumento nos níveis de carbonil foi de 63% (Figura 3).

O estresse salino aumentou os níveis de carbonil apenas em folhas (187%) e raízes (58%) do genótipo Catissol 01 e apenas em raízes do genótipo Helio 253 (19 vezes o valor observado no grupo controle) (Figura 3 A e E). Já o déficit hídrico aumentou os níveis de carbonil em folhas tanto em Catissol 01 (11 vezes o valor do grupo controle) quanto em Helio 253 (13 vezes o valor do grupo controle), em caules apenas do genótipo Helio 253 (133%) e em raízes tanto de Catissol 01 (63%) quanto de Helio 253 (491%) (Figura 3 A, C e E).



**Figura 3:** Teores de carbonilação de proteínas e conteúdo de proteínas solúveis totais (PST), em Folha (A e B), caule (C e D) e raiz (E e F), dois genótipos de girassol (Catissol 01 e Helio 253), cultivadas durante 48 horas nos tratamentos: controle (CTRL), 100 mM NaCl (SAL) e 212 g.L<sup>-1</sup> PEG 6000 (PEG), sendo isomóticadas em -0,50 MPa. Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). \*Letras minúsculas comparam os genótipos e letras maiúsculas comparam os tratamentos.

Contrariamente os níveis de proteínas reduziram principalmente em folhas e raízes em ambos os genótipos submetidos tanto à salinidade quanto ao déficit hídrico (Figura 3B e F).

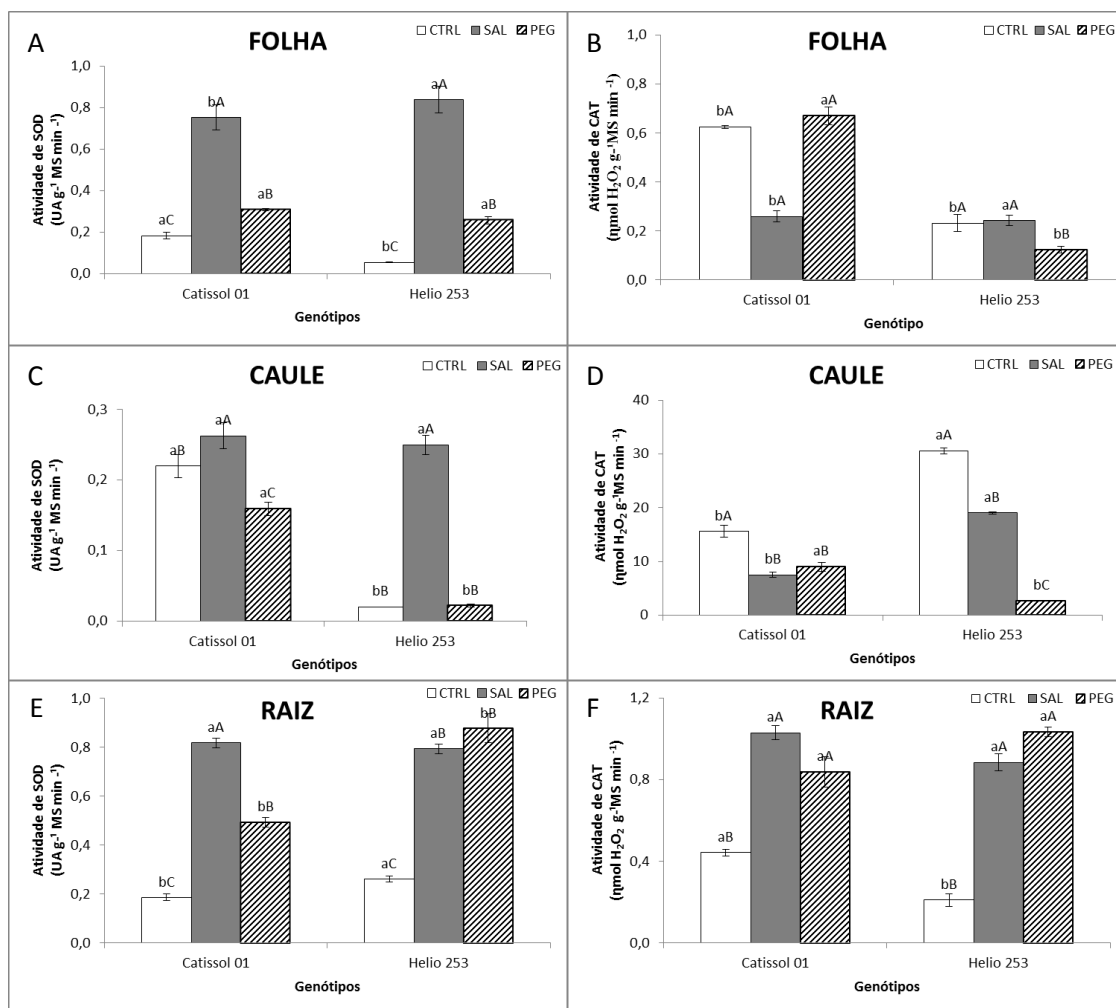
Em condições de estresse salino, observou-se reduções de 38% e 26% nos níveis de proteínas em folhas e de 57% e 64% em raízes, tanto de Catissol 01 quanto de Helio 253, respectivamente. Nos caules, tanto em Catissol 01 quanto em Helio 253, observou-se aumento nos níveis de proteínas totais de aproximadamente 103% e 29%, respectivamente, comparados aos seus respectivos grupos controles. Em condições de déficit hídrico, observou-se reduções de 77% e 78%, em folhas, e 38% e 56%, em raízes, tanto de Catissol 01 quanto de Helio 253, respectivamente, comparados aos seus respectivos grupos controle. Em caules dos genótipos submetidos ao déficit hídrico, observou-se aumentos de aproximadamente 46% e 51% nos níveis de proteínas totais tanto de Catissol 01 quanto de Helio 253, respectivamente (Figura 3B, D e F).

A carbonilação de proteínas é um tipo de oxidação de proteínas decorrente do estresse oxidativo, ocorrendo pela oxidação direta de resíduos proteicos de Lys, Arg, Pro ou Thr (MOLASSIOTIS et al., 2016). O aumento na intensidade da carbonilação de proteínas, observados em ambos os estresses, independente do genótipo avaliado, pode ter inibido atividades enzimáticas e aumentado à suscetibilidade protéica em relação ao ataque proteolítico, reduzindo os níveis de proteínas solúveis totais nos diferentes órgãos do presente estudo (MOLASSIOTIS et al., 2016).

Ainda, o aumento da carbonilação de proteínas pode ser consequência do aumento na peroxidação lipídica de genótipos de girassol, pois a carbonilação de proteínas também pode ser mediada por reações indiretas de produtos da peroxidação de lipídios com resíduos Cys e His (MADIAN & REGNIER, 2010).

Como resposta de defesa aos estresses, as plantas aumentaram a atividade de enzimas antioxidativas. Em condições de salinidade, tanto para Catissol 01 quanto para Helio 253, observaram-se em folhas, aumento na atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD) (0,57 e 0,78 UA g<sup>-1</sup> MS min<sup>-1</sup>) e Ascorbato Peroxidase (APX) (6 e 1,9 μmol de Ascorbato . g<sup>-1</sup>MS . min<sup>-1</sup>), respectivamente (Figura 4 e 5). Apenas em folhas de Catissol 01 observou-se aumento na atividade de Peroxidase de Fenóis (POX) (160 μmol purpurogalina . g<sup>-1</sup>MS . min<sup>-1</sup>). Em caules de Catissol 01 e Helio 253, submetidos ao estresse salino, observou-se aumento apenas na atividade de SOD (0,04 e 0,2 UA g<sup>-1</sup> MS min<sup>-1</sup>). Já em raízes, tanto de Catissol 01 quanto de Helio 253, em condições salinas, observaram-se aumento na atividade de SOD (0,063 e 0,53 UA g<sup>-1</sup> MS min<sup>-1</sup>), Catalase (CAT) (0,58 e 0,67 ηmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> MS min<sup>-1</sup>), APX (8,83 e 7,7 μmol de Ascorbato . g<sup>-1</sup>MS . min<sup>-1</sup>) e POX (760 e 619 μmol purpurogalina . g<sup>-1</sup>MS . min<sup>-1</sup>), respectivamente, comparados aos seus respectivos grupos controles (Figura 4 e 5).

Contudo, observou-se que em condições de salinidade, caules de Catissol 01 e Helio 253 apresentaram reduções na atividade de CAT (51% e 37%, respectivamente) e APX (60% e 43%, respectivamente), além da redução da atividade da POX no caule apenas de Helio 253 (29%), comparados aos seus respectivos grupos controles. Ainda, em condições salinas, observou-se redução na atividade de CAT em folhas apenas de Catissol 01 (58%), comparado ao controle.



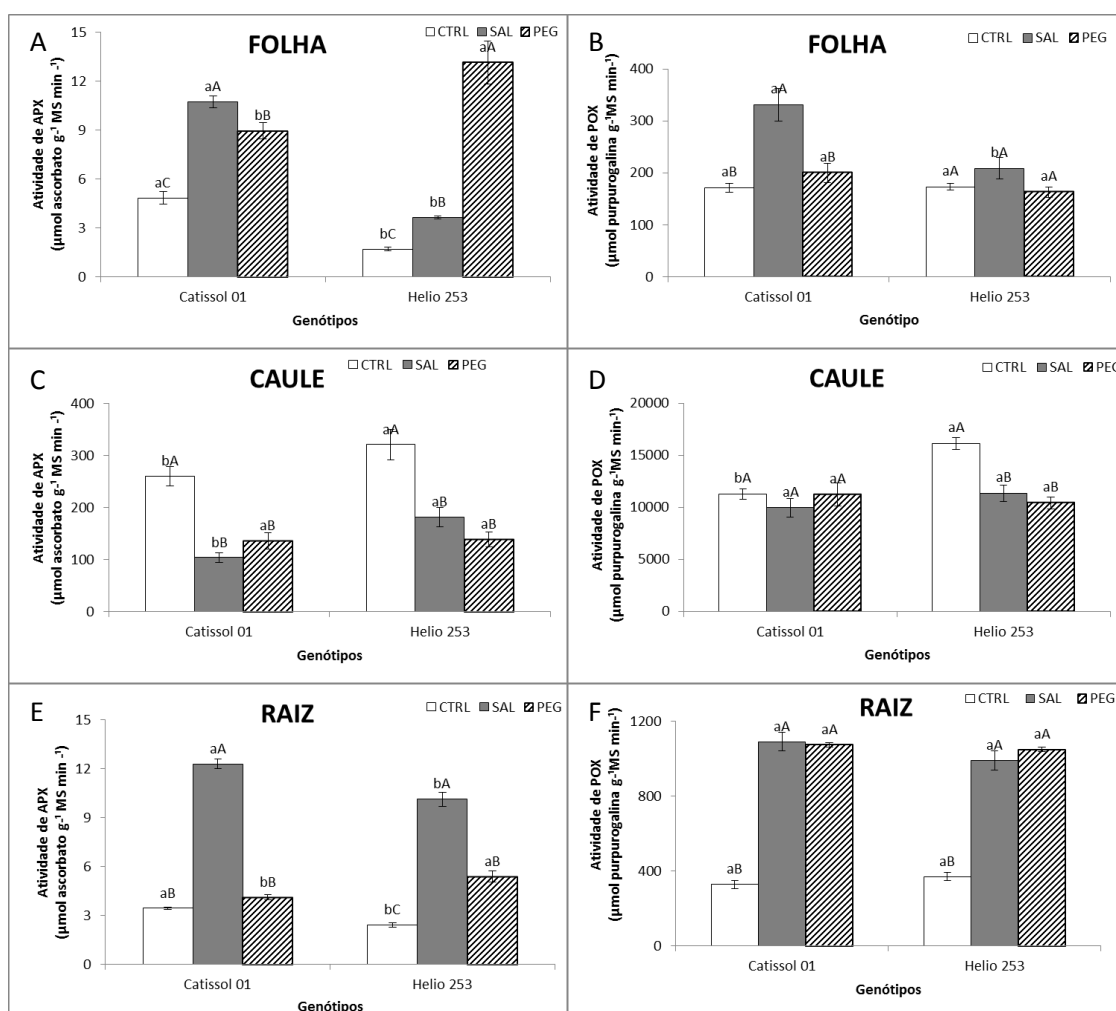
**Figura 4:** Atividade das enzimas antioxidativas, superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT), quantificados em Folha (A e B), caule (C e D) e raiz (E e F), em plantas de dois genótipos de girassol (Catissol 01 e Helio 253), cultivadas durante 48 horas nos tratamentos: controle (CTRL), 100 mM NaCl (SAL) e 212 g.L<sup>-1</sup> PEG 6000 (PEG), sendo isomóticis em -0,50 MPa. Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). \*Letras minúsculas comparam os genótipos. \*Letras maiúsculas comparam os tratamentos.

Tanto em folhas de Catissol 01 quanto de Helio 253, o déficit hídrico aumentou a atividade da SOD (0,13 e 0,2 UA g<sup>-1</sup> MS min<sup>-1</sup>) e da APX (4 e 11,4 μmol de Ascorbato g<sup>-1</sup>MS . min<sup>-1</sup>), respectivamente, comparados aos controles. Já em raízes, tanto de Catissol 01 quanto de Helio 253, observaram-se aumento da atividade da enzima SOD (0,3 e 0,6 UA g<sup>-1</sup> MS min<sup>-1</sup>



<sup>1</sup>), CAT (0,5 e 0,8  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ g}^{-1} \text{MS min}^{-1}$ ) e POX (745 e 678  $\mu\text{mol purpurogalina} \cdot \text{g}^{-1}\text{MS} \cdot \text{min}^{-1}$ ), respectivamente, comparados aos seus grupos controles. O aumento na atividade da APX foi observado apenas em raízes de Helio 253 (5,4  $\mu\text{mol de Ascorbato} \cdot \text{g}^{-1}\text{MS} \cdot \text{min}^{-1}$ ), comparado ao grupo controle (Figura 4 e 5).

Entretanto, em condições de déficit hídrico, caules de Catissol 01 e Helio 253 apresentaram reduções na atividade de CAT (42% e 91%, respectivamente) e APX (47% e 56%, respectivamente), além da redução de SOD no caule apenas de Catissol 01 (27%) e de POX no caule apenas de Helio 253 (35%), comparados aos seus grupos controles. Ainda, em folhas apenas de Helio 253, submetidas ao déficit hídrico, observou-se reduções na atividade da CAT (46%).



**Figura 5:** Atividade das enzimas antioxidativa, peroxidase de ascorbato (APX) e peroxidase de fenóis (POX), quantificados em Folha (A e B), caule (C e D) e raiz (E e F), em plantas de dois genótipos de girassol (Catissol 01 e Helio 253), cultivadas durante 48 horas nos tratamentos: controle (CTRL), 100 mM NaCl (SAL) e 212  $\text{g.L}^{-1}$  PEG 6000 (PEG), sendo isosmóticas em -0,50 MPa. Valores seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). \*Letras minúsculas comparam os genótipos e letras maiúsculas comparam os tratamentos.

Um dos principais mecanismos adotados pelas plantas, para garantir a sua sobrevivência quando submetidas a condições de estresse abiótico é a indução do sistema de defesa antioxidante (HOSSAIN et al., 2015). O aumento na atividade das enzimas antioxidantes, aferidos nos diferentes órgãos de ambos os genótipos do presente estudo, podem estar relacionados à manutenção ou redução na concentração de  $H_2O_2$  nos diferentes órgãos avaliados, em ambos os genótipos submetidos à salinidade (ACHARD et al., 2009) e ao déficit hídrico (MOLASSIOTIS et al., 2016).

O aumento da atividade das enzimas antioxidantes, principalmente SOD e APX em folhas e raízes, além da CAT e POX apenas em raízes de plantas de girassol submetidas ao estresse salino, minimizaram os efeitos do estresse sobre a peroxidação de lipídios nos referidos órgãos. O aumento na atividade de SOD, APX e POX em folhas podem ainda ter contribuído para o aumento nos teores de pigmentos fotossintetizantes no presente estudo, sugerindo a eficiência das enzimas antioxidantes na remoção de  $H_2O_2$ , evitando a degradação das clorofilas e carotenoides (LIU et al., 2011). As reduções na atividade da CAT, em folhas de Catissol 01 submetidas à salinidade e em Helio 253, na condição de déficit hídrico, podem estar relacionadas ao aumento na carbonilação de proteínas, que inibe a atividade enzimática e aumenta a susceptibilidade protéica à proteólise (MOLASSIOTIS et al., 2016; CHOUDHURY et al., 2017).

#### 4. CONCLUSÕES

A salinidade e o déficit hídrico afetaram de forma diferenciada os genótipos de girassol Catissol 01 e Helio 253. Ainda, os órgãos das plantas avaliados apresentaram respostas diferentes, de acordo com o estresse aos quais foram submetidos.

Principalmente o déficit hídrico promoveu o aumento da peroxidação lipídica e da carbonilação de proteínas, porém a degradação dos lipídios não se dá por meio do  $H_2O_2$  e a proteólise não interferiu na atividade das enzimas antioxidantes, em ambos os genótipos de girassol.

O aumento das atividades enzimáticas de SOD, APX e POX minimizaram os efeitos do estresse oxidativo, através da remoção de  $H_2O_2$ , e contribuíram para a manutenção dos pigmentos fotossintéticos.

Os danos promovidos pelos agentes estressores foram mais pronunciados nas raízes de ambos os genótipos, porém este mesmo órgão apresentou as melhores ações antioxidativas na prevenção aos danos oxidativos.

## 5.REFERÊNCIAS

- ACHARD, P.; GUSTI, A.; CHEMINANT, S.; ALIOUA, M.; DHONDT, S.; COPPENS, F.; BEEMSTER, G.T.; GENSHIK, P. Gibberellin signaling controls cell proliferation rate in *Arabidopsis*. **Current Biology**, v.19, p.1188–1193, 2009.
- AMARANTE, L. do; OLIVEIRA, C. D. S.; ZENZEN, M. L.; BERNARDI, E. Teores de clorofilas em soja associada simbioticamente com diferentes estirpes de bradyrhizobium sob alagamento. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, p. 906-908, 2007.
- BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Anal Biochemistry**, v. 44, p. 276-287, 1971.
- BHATTACHARJEE, S. The language of reactive oxygen species signaling in plants. **Journal of Botany**, v.2012, p.1-22, 2012.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976.
- CARNEIRO, M.M.L.C.; DEUNER, S.; OLIVEIRA, P.V. de; TEXEIRA, S.B.; SOUSA, C.P.; BACARIN, M.A.; MORAES, D.M. Atividade antioxidante e viabilidade de sementes de girassol após estresse hídrico e salino. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, nº 4, p. 752 - 761, 2011.
- CENTENO, C.R.M.; SANTOS, J.B.dos; XAVIER, D.A.; AZEVEDO, C.A.V.de; GHEYI, H.R. Componentes de produção do girassol Embrapa 122-V2000 sob salinidade da água e adubação nitrogenada **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. Campina Grande, PB, ISSN 1807-1929. v.18, (Suplemento), p.S39–S45, 2014.
- CHOUDHURY, F.K.; RIVERO, R.M.; BLUMWALD, E.; MITTLER, R. Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. **The Plant Journal**, v. 90, p. 856-867, 2017.
- DANTAS, C. V. S.; SILVA, I. B.; PEREIRA, G. M.; MAIA, J. M.; LIMA, J. P. M. S.; MACEDO, C. E. C. Influência da sanidade e déficit hídrico na germinação de sementes de *Carthamus tinctorius* L. **Revista Brasileira de Sementes**, v.33, n.3 p. 574 - 582, 2011.
- DEL LONGO, O.T.; GONZÁLES, C.A.; PASTORI, G.M.; TRIPPI, V.S. Antioxidant defenses under hyperoxygenic and hyperosmotic conditions in leaves of two lines of maize with differential sensitivity to drought. **Plant Cell Physiology**, v.34, p.1023-1028, 1993.

ELLOUZI, H.; HAMED, K.B.; CELA, J.; MUNNÉ-BOSCH, S.; ABDELLY, C. Early effects of salt stress on the physiological and oxidative status of *Cakile maritima* (halophyte) and *Arabidopsis thaliana* (glycophyte). **Physiologia Plantarum**, v.142, p.128–143, 2011.

GAY, C.; COLLINS, J.; GEBICKI, J. M. Hydroperoxide assay with the ferric-xylenol orange complex. **Analytical Biochemistry**, v.273, p.143–148, 1999.

GAY, C.; GEBICKI, J.M. A Critical Evaluation of the Effect of Sorbitol on the Ferric-Xylenol Orange Hydroperoxide Assay. **Analytical Biochemistry**. v.284, p. 217–220, 2000.

GAZZOLA, A.; FERREIRA JUNIOR, C.T.G.; CUNHA, D.A.; BORTOLINI, E.; PAIAO, G.D.; PRIMIANO, I.V.; PESTANA, J.; D'ANDRÉA, M.S.C.; OLIVEIRA, M.S. A cultura do girassol. **In: PESTANA, J, CUNHA, D.A.; PRIMIANO, I.V** Introdução ao agronegócio do girassol. Piracicaba – SP, 2012, 8p.

GHOBADI, M.; TAHERABADI, S.; GHOBADI, M.; MOHAMMADI, G.; JALALI-HONARMAND, S. Antioxidant capacity, photosynthetic characteristics and water relations of sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivars in response to drought stress. **Industrial Crops and Products**, v. 50, p. 29-38, 2013.

GIANOPOLITIS, C. N.; REIS, S.K. Superoxide dismutase. **Plant Physiology**, v. 59, p. 309-314, 1977.

GILL, S.S.; TUTEJA, N. Polyamines and abiotic stress tolerance in plants. **Plant Signal behav.** v.5, n.1,p.26-33, 2010.

GOLLDACK, D.; LI, C.; MOHAN, H.; PROBST, N. Tolerance to drought and salt stress in plants: unraveling the signaling networks. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, n. 151, p. 1-10, 2014.

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.

HEATH, R.L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. 2. Role of Electron Transfer. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 125, p. 850-e, 1968.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. **The water-culture method for growing plants without soil**. California Agricultural Experimental Station, Berkeley. 347p. 1950.

HOSSAIN, M. A., BHATTACHARJEE, S., ARMIN, S. M., QIAN, P., XIN, W., LI, H. Y., BURRITT, D. J., FUJITA, M. AND TRAN, L. S. Hydrogen peroxide priming modulates abiotic oxidative stress tolerance: insights from ROS detoxification and scavenging. **Frontiers in Plant Science**, v.6, n.420, p.1-19, 2015.

KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, peroxidase and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence, **Plant Physiology**, v. 57, n.2, p. 315-319, 1976.

KOSHIBA, T. Cytosolic ascorbate peroxidase in seedlings and leaves of maize (*Zea mays*), **Plant and Cell Physiology**, v. 34, p.713-721, 1993.

LEVINE R.L.; GARLAND D.; OLIVER CN; AMICI A; CLIMENT I, LENZ AG; AHN, BW; STADTMAN ER. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. **Methods in Enzymology**. 186:464-478. 1990.

LICHTENTHALER, H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In: **Methods in Enzymology** (eds S.P. Colowick, e N.O. Kaplan), v. 48, p. 350-382. Academic press, San Diego, 1987.

LISAR, S. Y. S.; MOTAFAKKERAZAD, R.; HOSSAIN, M. M.; RAHMAN, I. M. M. Water Stress in Plants: Causes, Effects and Responses. In: RAHMAN, I. MD. M.; HASEGAWA, H. (Ed.) **Water stress, Intech**, 2012. p. 1-14.

LIU, C.; LIU, Y.; GUOA, K.; FANA, D.; LI, G.; ZHENG, Y.; YUC, L.; YANG, R. Effect of drought on pigments, osmotic adjustment and antioxidant enzymes in six woody plant species in karst habitats of southwestern China. **Environmental and Experimental Botany**, v.71, p.174–183, 2011.

MADIAN, A.G.; REGNIER, F.E. Proteomic identification of carbonylated proteins and their oxidation sites. **Journal of Proteome Research**, v. 9, p. 3766–3780, 2010.

MAIA, J.M.; VOIGT, E.L.; FERREIRA-SILVA, S.L.; FONTENELE, A.de V.; MACÊDO, C.E.C.; SILVEIRA, J.A.G. Differences in cowpea root growth triggered by salinity and dehydration are associated with oxidative modulation involving types I and III peroxidases and apoplastic ascorbate. **Journal of Plant Growth Regulation** – Springer. v. 32, p. 376-387, 2013.

MOLASSIOTIS, A.; JOB, D.; ZIOGAS, V.; TANOU, G. Citrus Plants: A Model System for Unlocking the Secrets of NO and ROS-Inspired Priming Against Salinity and Drought. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. 229, p. 1-7, 2016.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts, **Plant Cell Physiology**, v. 22, p. 1068-1072, 1981.

OLIVEIRA, M.D.M.; BEZERRA, L.L.; DANTAS, C.V.S.; VOIGT, E.L.; MAIA, J.M.; MACÊDO, C.E.C.M. The role of xylipodium in Na<sup>+</sup> exclusion and osmolyte accumulation in faveleira [*Cnidioscolus phyllacanthus* (d. arg.) Pax et K. Hoffm] under salt stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.36, p.2871-2882, 2014.

OSAWA, C.C.; DE FELÍCIO, P.E.; GONÇALVES, L.A.G. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados métodos tradicionais, modificados e alternativos. **Química Nova**, v. 28, n. 4, p. 655-663, 2005.

PANDA, S.K.; KHAN, M.H. Growth, oxidative damage and antioxidant responses in greengram (*Vigna radiata* L.) under short-term salinity stress and its recovery. **Journal of Agronomy e Crop Science**, v.195, p.442-454, 2009.

PEIXOTO, P.H.P.; CAMBRAIA, J.; SANT'ANNA, R.; MOSQUIN, P.R.; MOREIRA, M.A. Aluminium effects on lipid peroxidation and on the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.11, n.3, p.137-143, 1999.

SHABALA, L.; MACKAY, A.; TIAN, Y.; JACOBSEN, S.; ZHOU, D.; SHABALA, S. Oxidative stress protection and stomatal patterning as components of salinity tolerance mechanism in quinoa (*Chenopodium quinoa*). **Physiologia Plantarum**, n.1, p.1-13, 2012.

SHARIF, P.; SEYEDSALEHI, M.; PALADINO, O.; VAN DAMME, P.; SILLANPÄÄ, M.; SHARIFI, A. A. Effect of drought and salinity stresses on morphological and physiological characteristics of canola. **International Journal of Environmental Science and Technology**. v.15, 2017.

SILVA, E. N.; SILVEIRA, J. A. G.; RODRIGUES, C. R. F.; VIÉGAS, R. A. Physiological adjustment to salt stress in *Jatropha curcas* is associated with accumulation of salt ions, transport and selectivity of K<sup>+</sup>, osmotic adjustment and K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> homeostasis. **Plant Biology**, v. 17, p. 1023–1029, 2015.

SIMÃO, A.A. **Antioxidantes, clorofila e perfil de ácidos graxos em folhas de mandioca**. 2010. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Lavras, Lavras (MG), 2010.

SIMS, D.A.; GAMON J.A. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. **Remote Sensing of environment**, v. 81, p. 337-354, 2002.

VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. Testes de vigor de sementes. Jaboticabal: **Fundação de apoio a pesquisa, ensino e extensão-FUNEP**, 164p, 1994.

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

ZANETTI, L.V.; MILANEZ, C.R.D.; GAMA, V.N.; AGUILAR, M.A.G.; SOUZA, C.A.S.; CAMPOSTRINI, E.; FERRAZ, T.M.; FIGUEIREDO, A.M.M. de A. Leaf application of silicon in young cacao plants subjected to water déficit. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.51, n.3, p.215-223, 2016.

ZHOU, B.Y.; WANG, J.H.; GOU, Z. F.; TAN, H.Q.; ZHU, X.C.A. Simple colorimetric method for determination of hydrogen in plant tissues. *Plant Growth regulation*, v.49, p. 113-118, 2006.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Plantas de girassol respondem de forma diferenciada ao estresse salino e déficit hídrico, induzidos por soluções de cloreto de sódio (NaCl) e polietilenoglicol (PEG 6000), respectivamente.

Os tratamentos com NaCl e PEG 6000 são capazes de induzir alterações significativas provocando reduções nos indicadores de estresse associados ao crescimento (CR, RAF, AFE,) ao status hídrico (%U) e as membranas celulares (VE) das plantas de ambos genótipos de girassol.

Plantas de girassol de ambos os genótipos são mais sensíveis ao déficit hídrico isolado devido ao efeito osmótico, que no caso da salinidade, é minimizado devido à presença dos íons salinos.

Os solutos inorgânicos ( $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$ ) foram acumulados e/ou reduzidos em todos os órgãos estudados (folha, caule e raiz) e nos dois genótipos (Catissol 01 e Helio 253) de forma diferenciada. O Catissol 01 acumulou  $\text{Na}^+$  sobretudo no caule e raízes evitando a translocação para as folhas e garantindo assim um maior aporte de  $\text{K}^+$  para as mesmas.

A salinidade e a seca provocaram alterações no metabolismo dos carboidratos e dos compostos nitrogenados dos dois genótipos de girassol. Dependendo do genótipo e órgão estudados os aminoácidos livres totais e a prolina participam do ajustamento osmótico em girassol.

O déficit hídrico promoveu o aumento da peroxidação lipídica e da carbonilação de proteínas, porém a degradação dos lipídios não se dá por meio do  $\text{H}_2\text{O}_2$  e a proteólise não interferiu na atividade das enzimas antioxidantes, em ambos os genótipos de girassol.

O aumento das atividades enzimáticas de superóxido dismutase, peroxidase de ascorbato e peroxidase de fenóis, minimizaram os efeitos do estresse oxidativo, através da remoção de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , e contribuíram para a manutenção dos pigmentos fotossintéticos.

Os danos promovidos pelos agentes estressores foram mais pronunciados nas raízes de ambos os genótipos, porém este mesmo órgão apresentou as melhores ações antioxidativas na prevenção aos danos oxidativos.

A salinidade e a seca afetaram o crescimento, o status hídrico, a integridade das membranas, os solutos orgânicos e inorgânicos, provocando danos oxidativos e ao mesmo tempo acionando o sistema de defesa antioxidante enzimático e não enzimático das plantas de girassol, e a resposta das plantas é tratamento, genótipo e órgão dependente.