



ARTIGO

## Metabolismo antioxidativo para separação de lotes de sementes de diferentes graus de homogeneidade

Isabel Cristina Gouvêa de Borba<sup>1</sup>, Juliana de Magalhães Bandeira<sup>2\*</sup>, Patrícia Marini<sup>2</sup>,  
Andréa Bicca Noguez Martins<sup>2</sup> e Dario Munt de Moraes<sup>2</sup>

Recebido: 24 de setembro de 2013      Recebido após revisão: 24 de novembro de 2013      Aceito: 11 de fevereiro de 2014  
Available online at <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/2784>

**RESUMO:** (Metabolismo antioxidativo para separação de lotes de sementes de diferentes graus de homogeneidade). A deterioração de sementes geralmente ocorre em lotes que tiveram maturação precoce ou que são oriundos de armazenamento inadequado, nestes casos, pode ocorrer produção excessiva de espécies reativas de oxigênio, entretanto, as alterações deste processo nem sempre são detectáveis pelos testes padrão de qualidade fisiológica de sementes. Desta forma, objetivou-se separar lotes heterogêneos de sementes de feijão e homogêneos de milho por meio dos testes padrão de qualidade fisiológica de sementes, assim como relacionar estas respostas com a atividade das enzimas antioxidantes para verificar se estas enzimas detectam diferenças no vigor. Três lotes de sementes de feijão e milho foram submetidos às análises de viabilidade, vigor e atividade de enzimas antioxidantes (superóxido dismutase, ascorbato peroxidase e catalase). Os testes padrão de qualidade fisiológica permitiram a classificação dos lotes de sementes de feijão em diferentes níveis de vigor confirmando sua heterogeneidade, porém, a análise das enzimas antioxidantes não apresentou diferenças significativas entre os lotes. Já para as sementes de milho, os testes padrão não permitiram separar os lotes em diferentes níveis de vigor demonstrando sua homogeneidade, contudo, a atividade das enzimas antioxidantes possibilitou diferenciá-los. A análise da atividade das enzimas do sistema antioxidante não é eficiente para diferenciar lotes heterogêneos de sementes de feijão, porém, é eficiente para detectar diferenças tênues entre lotes homogêneos de sementes de milho quanto ao vigor.

**Palavras-chave:** *Zea mays* L., *Phaseolus vulgaris* L., enzimas antioxidantes, vigor.

**ABSTRACT:** (Antioxidative metabolism to separate seed lots with different homogeneity degrees). The seeds deterioration process usually occurs in lots that had matured too early or where improper stored, in such cases an excessive production of reactive oxygen species can occur, however, changes caused by these radicals production are not always detectable by seeds quality standard tests. Thus, the aim was to separate heterogeneous bean seeds lots and homogeneous maize seeds lots through physiological seed quality standard tests, and relate them to the activity of antioxidant enzymes activity to detect differences in seeds vigor. Three lots of bean and maize seeds were subjected to analysis of viability, vigor and activity of antioxidant enzymes (superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and catalase). The physiological standard test allowed classifying the lots of beans seeds at different levels of vigor confirming their heterogeneity, however, the analysis of antioxidant enzymes showed no significant differences among the lots. As for maize seeds, standard tests did not allow to separate the lots at different levels of vigor demonstrating their homogeneity, however, the activity of antioxidant enzymes allowed to differentiate them. The analysis of enzyme activity of the antioxidative system is not efficient to differentiate heterogeneous lots of bean seeds, however, it is efficient to detect subtle differences between homogeneous maize seeds lots according vigor.

**Key words:** *Zea mays* L., *Phaseolus vulgaris* L., antioxidant enzymes, vigor.

### INTRODUÇÃO

A semente é um insumo agrícola muito importante por conter a potencialidade produtiva do vegetal, além de gerar uma das principais fontes de alimento para a população mundial, podendo ser consumida “in natura” ou na forma de produtos industrializados (Fuck *et al.* 2009).

Diante disso, para alcançar resultados econômicos satisfatórios e manter a demanda de abastecimento se fazem necessários investimentos em sistemas de produção que visem o máximo do controle de qualidade das sementes, onde análises pontuais no que concerne à viabilidade e o vigor sejam consideradas com o intuito de garantir a comercialização de sementes de alta qualidade (Bento *et al.* 2010, Catão *et al.* 2010).

As variações das condições ambientais nas quais as

sementes estão sujeitas durante os processos de maturação e armazenamento, podem interferir diretamente na qualidade fisiológica causando alterações metabólicas degenerativas, como atraso no processo germinativo, redução no crescimento das plântulas, lixiviação de solutos, mudanças na atividade enzimática e perda da compartimentalização celular, fatores estes que caracterizam a deterioração das sementes e, por consequência, acarretam problemas na produtividade das culturas (Silva *et al.* 2011).

Os eventos que compreendem o processo de deterioração das sementes podem propiciar a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (ERO), como o radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), o radical hidroxila ( $OH^{\bullet-}$ ), o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e o oxigênio singlete ( $^1O_2$ ), sendo

1. Programa de Pós-Graduação em Botânica, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Av. Bento Gonçalves, 9500, Campus do Vale, Bairro Agronomia, prédio 43.433, CEP 91501-970, Porto Alegre, RS, Brasil.

2. Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Caixa Postal 354, CEP 96001-970, Pelotas, RS, Brasil.

\*Autor para contato. E-mail: [bandeira\\_jm@hotmail.com](mailto:bandeira_jm@hotmail.com)

que o excesso de produção desses grupos funcionais é limitante para o crescimento e desenvolvimento vegetal (Carvalho *et al.* 2009, Forman *et al.* 2010).

Contudo, os parâmetros relacionados à deterioração de sementes nem sempre são detectados por testes padrão de viabilidade e vigor, sendo necessárias análises mais sensíveis que classifiquem tanto sementes oriundas de lotes homogêneos como também de lotes heterogêneos, quanto ao vigor.

Como as plantas contam com um sistema enzimático antioxidante de defesa primária capaz de eliminar as ERO, a exemplo das enzimas superóxido dismutase (SOD) que catalisa a dismutação do  $O_2^{\bullet-}$  em  $H_2O_2$  e  $O_2$ , ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT) que podem degradar a molécula de  $H_2O_2$  em  $H_2O$  e  $O_2$  (Gill & Tuteja 2010), parte-se do princípio de que o equilíbrio entre a produção excessiva de ERO e a capacidade de acionar o sistema de defesa antioxidante, refletirão na capacidade dessas plântulas em superar os danos causados pela eventual maturação precoce ou pelo mal armazenamento das sementes. Sendo assim, acredita-se que as sementes que se encontram no início do processo de deterioração resultariam em plântulas com a atividade do sistema antioxidante acentuada, evidenciando que estas sementes teriam maior produção de ERO e, conseqüentemente, menor qualidade (El-Shabrawi *et al.* 2010, Deuner *et al.* 2011).

Tendo em vista que as alterações iniciais em nível de membranas dificilmente são detectadas pelos testes padrão de viabilidade e vigor e que a demanda por sementes de alta qualidade é crescente, as empresas de tecnologia de sementes têm investido em técnicas que visem associar estes testes com as respostas reais das sementes em campo (Pegô *et al.* 2011). Desta forma, a avaliação da atividade de enzimas antioxidantes durante o processo inicial de desenvolvimento de plântulas oriundas de lotes de sementes homogêneos e heterogêneos se torna uma alternativa enriquecedora, a fim de aprimorar os testes padrão de qualidade fisiológica, por demonstrar com maior sensibilidade o início de possíveis transformações degenerativas nas sementes através da desestabilização das membranas celulares, o que resulta em prejuízos irreversíveis para a cultura, podendo ser utilizadas para classificação de lotes de sementes quanto ao vigor.

Contudo, até o momento não foram encontrados trabalhos na literatura que explorem a relação entre a qualidade fisiológica das sementes e a atividade de enzimas antioxidantes, uma vez que os esforços tem sido apenas envidados à atividade de enzimas do sistema de defesa antioxidante para avaliar estresses bióticos e abióticos em diversas espécies como sementes e plântulas de alfafa (*Medicago sativa* L.) (Cakmak *et al.* 2010), cevada (*Hordeum vulgare* L.) (Mei & Song 2010), pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) (Cai *et al.* 2011), milho (*Zea mays* L.) (Marini *et al.*, 2013) e feijão (*Vigna unguiculata* L.) (Deuner *et al.* 2011).

Portanto, objetivou-se separar lotes heterogêneos de sementes de feijão e homogêneos de milho por meio

dos testes padrão de qualidade fisiológica de sementes, assim como relacionar estas respostas com a atividade das enzimas antioxidantes para verificar se estas enzimas detectam diferenças no vigor.

## MATERIAL E MÉTODOS

Três lotes de sementes heterogêneas de feijão e homogêneas de milho foram submetidos ao teste padrão de germinação (G%) de acordo com as Regras de Análises de Sementes (Brasil 2009), o qual foi conduzido com 200 sementes, sendo quatro repetições compostas de quatro subamostras de 50 sementes, para cada lote de cada uma das culturas. Foi utilizado rolo de papel especial para germinação (germitest<sup>®</sup>) como substrato, umedecido 2,5 vezes a sua massa inicial com água destilada e mantidos em germinador a 25 °C, sendo os resultados expressos em porcentagem de germinação. A primeira contagem de germinação (PCG%) foi conduzida juntamente com o teste de germinação, sendo a primeira contagem para o feijão, realizada aos cinco dias após a semeadura (DAS) e para o milho, quatro DAS e os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais emitidas para cada lote. O índice de velocidade de germinação (IVG) foi realizado, conjuntamente com o teste de germinação, e as contagens diárias, realizadas a partir da protrusão da radícula pelo tegumento da semente, até que o número de plântulas emersas permanecesse constante. O último dia de contagem para este teste foi o mesmo prescrito para o teste de germinação (nove e sete dias para o feijão e milho, respectivamente) e o cálculo do IVG foi efetuado de acordo com Maguire (1962).

O comprimento da parte aérea (CPA) e das raízes (CR) das plântulas foi obtido pela média de 40 plântulas por repetição, ao final do teste de germinação, sendo os resultados expressos em mm plântula<sup>-1</sup>. Estas mesmas plântulas foram utilizadas para determinação da massa seca de parte aérea (MSPA) e das raízes (MSR), as quais foram secas em estufa a 70 ± 2 °C, até a obtenção de massa constante e os resultados expressos em mg plântula<sup>-1</sup>.

Para a emergência de plântulas (E%) em casa de vegetação as sementes foram semeadas em bandejas plásticas perfuradas, utilizando como substrato, areia lavada. Foram realizadas quatro repetições de 200 sementes subdivididas em quatro subamostras de 50 sementes, para cada cultura e os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas emergidas 21 DAS (Brasil 2009).

A condutividade elétrica (CE) foi realizada com quatro subamostras de 25 sementes para cada repetição, sendo quatro repetições para cada lote de sementes de feijão e de milho, as leituras foram realizadas após três, seis e 24h de incubação em condutivímetro de bancada Schott LF613T, sendo os resultados expressos em  $\mu S\ cm^{-1}\ g^{-1}$  de sementes (Krzyzanowski 1991).

Para as análises das atividades enzimáticas antioxidantes, quatrocentos miligramas de parte aérea e raízes foram coletados após o teste de germinação, macerados em nitrogênio líquido com 10% de polivinilpirroloni-

dona (PVPP) e homogeneizados em 1,5 mL do tampão de extração, constituído de fosfato de potássio (100 mM, pH 7,8), EDTA (0,1 mM) e ácido ascórbico (20 mM), logo após foi centrifugado a 12.000 rpm por 20 minutos a 4 °C e o sobrenadante foi coletado para a quantificação das proteínas pelo método de Bradford (1976) e determinação da atividade específica das enzimas antioxidantes, descrita a seguir.

A atividade da SOD (EC 1.15.1.1) foi avaliada pela capacidade da enzima em inibir a fotoredução do azul de nitrotetrazólio (NBT) (Giannopolitis & Ries 1977) em meio de reação com volume final de 2 mL, o qual foi constituído de fosfato de potássio (50 mM, pH 7,8), metionina (14 mM), EDTA (0,1 µM), NBT (75 µM) e riboflavina (2 µM), acrescido de 50 µL do extrato enzimático. As leituras foram realizadas a 560 nm levando em consideração que uma unidade da SOD corresponde à quantidade de enzima capaz de inibir em 50% a fotoredução do NBT nas condições de ensaio.

A atividade da APX (EC 1.11.1.11) foi realizada segundo Nakano & Asada (1981), com modificações, por meio da avaliação da taxa de oxidação do ascorbato (ASA). O meio de reação, com volume final de 2 mL, composto de tampão fosfato de potássio (100 mM, pH 7,0) e ácido ascórbico (0,5 mM), foi incubado a 30 °C por 10 minutos e, antes de efetuar a leitura em espectrofotômetro a 290

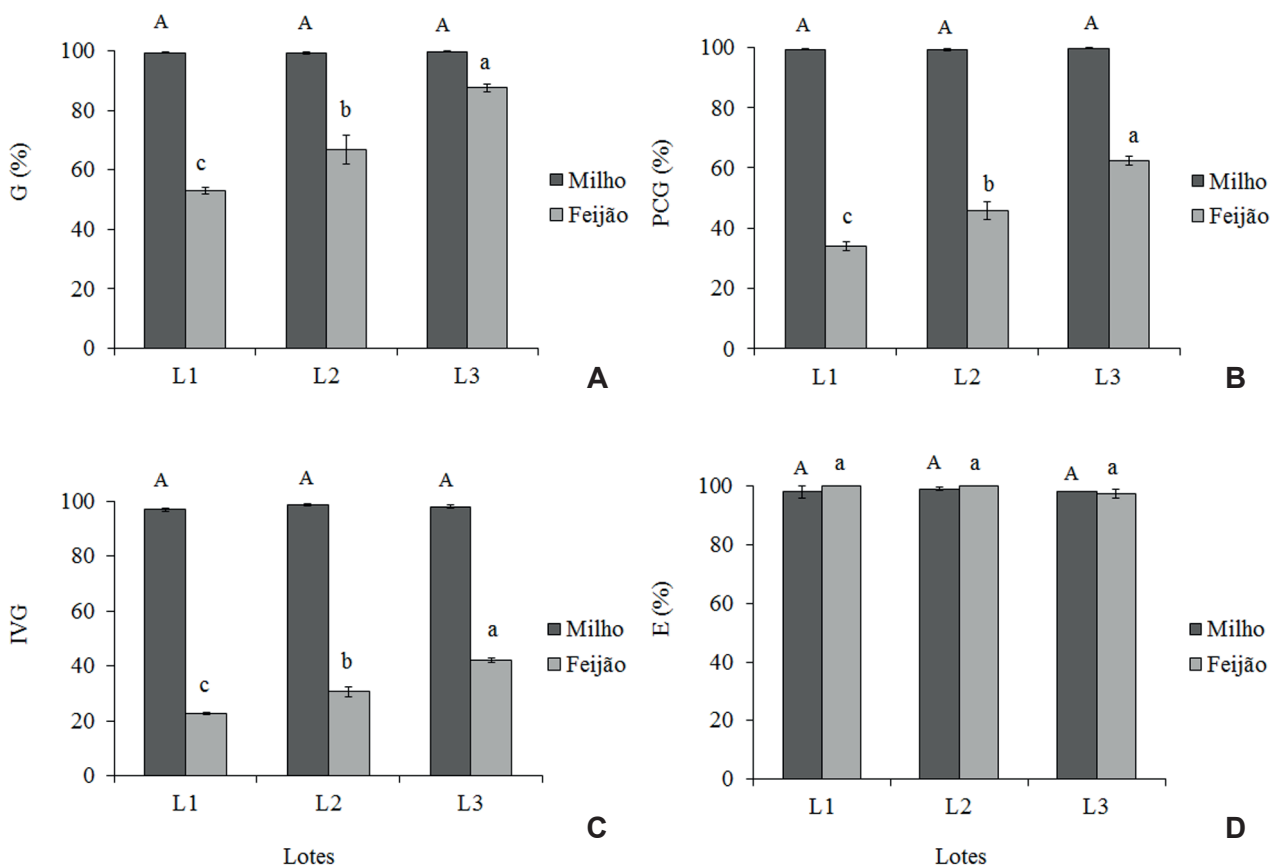
nm, foi adicionado H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0,1 mM) e 15 µL do extrato enzimático.

A atividade da CAT (EC 1.11.1.6) foi realizada conforme Azevedo *et al.* (1998), com modificações. O meio de reação com volume final de 2 mL, continha tampão fosfato de potássio (100 mM, pH 7,0), o qual foi incubado a 30 °C por 10 minutos e, antes de efetuar a leitura em espectrofotômetro a 240 nm, foi adicionado H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (12,5 mM) e 15 µL do extrato enzimático.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os dados foram testados quanto a sua normalidade (Shapiro-Wilk) e, posteriormente, submetidos à análise de variância ( $p \leq 0,05$ ), em caso de significância os resultados foram comparados pelo teste de média (Tukey), com 5% de probabilidade de erro, pelo software WinStat Versão 2.0 (Machado & Conceição 2007).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através do teste de germinação foi confirmada a heterogeneidade dos lotes de sementes de feijão, assim como a homogeneidade dos lotes de sementes de milho (Fig. 1A). Dentre os lotes de sementes de feijão, o lote três (L3) apresentou maior porcentagem de germinação (87,5%), diferindo dos lotes um (L1) e dois (L2) (52,8% e 73,1%,



**Figura 1.** (A) Germinação (G%), (B) primeira contagem de germinação (PCG%), (C) índice de velocidade de germinação (IVG) e (D) emergência de plântulas em casa de vegetação (E%) de três lotes de sementes de milho e de feijão. Letras distintas maiúsculas diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) para os lotes de sementes de milho e minúsculas para os de feijão.

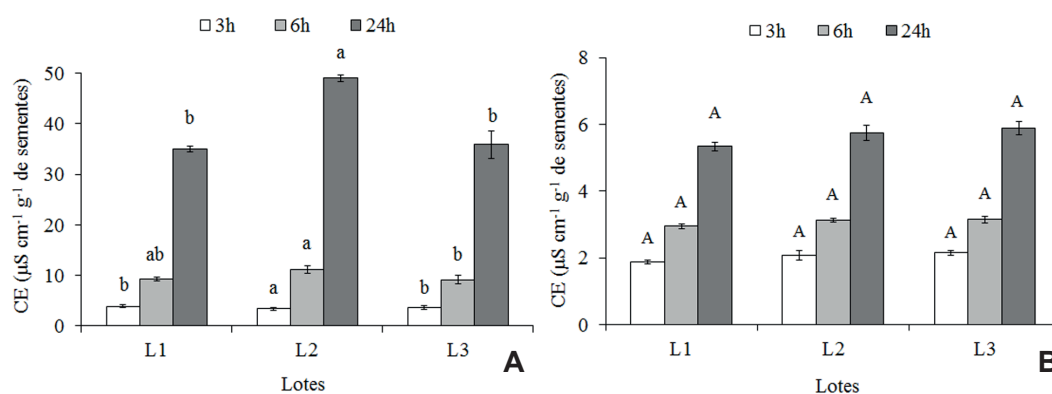
respectivamente), enquanto que os lotes de sementes de milho não apresentaram diferença significativa, apresentando em média 99,46% de germinação.

O vigor, caracterizado pelos testes de primeira contagem e índice de velocidade de germinação permitiram diferenciar os lotes de sementes de feijão, destacando o L3 como o mais vigoroso, apresentando 62,38% de sementes germinadas ao cinco DAS e IVG de 42,07, e o L1 como o de menor vigor, com PCG de 34% e IVG de 22,58, contudo, estes testes não permitiram diferenciar os lotes de sementes de milho, os quais apresentaram em média 99,46% de sementes germinadas aos quatro DAS e IVG de 97,97 (Figs. 1B e 1C).

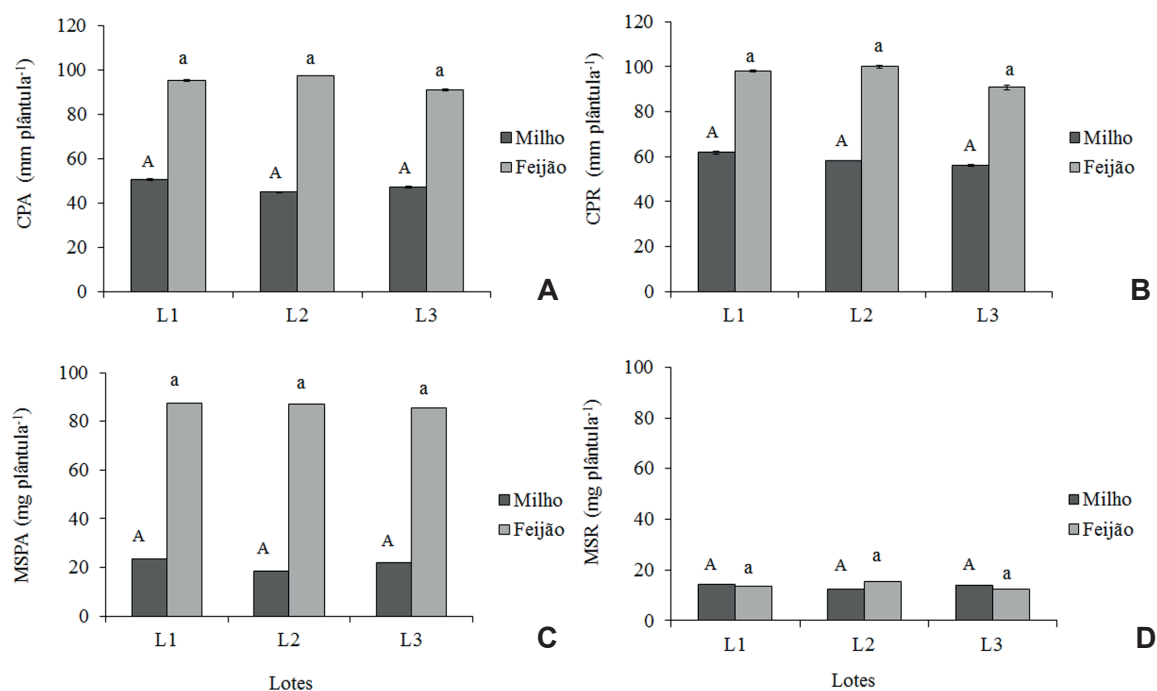
Em relação à emergência de plântulas em casa de vegetação não houve diferença significativa entre os lotes de sementes de feijão e milho, apresentando em média 99,16% e 98,33%, respectivamente (Fig. 1D), sendo que este teste é considerado o teste de vigor que mais se

aproxima das condições a campo (Guedes *et al.* 2009), desta forma, o alto potencial germinativo das sementes confirmam boa qualidade fisiológica das sementes de feijão e milho.

Já o teste de condutividade elétrica permitiu classificar os lotes de sementes de feijão em dois níveis de vigor, sendo o L2 o de menor vigor e os lotes L1 e L3 classificados como os de maior vigor durante os três períodos de embebição (Fig. 2A) evidenciando que as sementes oriundas destes lotes apresentaram maior integridade do sistema de membranas, devido a menor perda de eletrólitos durante os períodos de embebição (Pereira & Martins Filho 2012), resultados estes que corroboram com os resultados de vigor descritos anteriormente (Figs. 1B e 1C), ao contrário do encontrado para os lotes de sementes de milho que não apresentaram diferenças significativas (Fig. 2B) demonstrando mais uma vez a homogeneidade entre os lotes.



**Figura 2.** Condutividade elétrica (CE) de três lotes de sementes de feijão (A) e de milho (B) em três, seis e 24h de embebição. Letras distintas maiúsculas diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) para os lotes de sementes de milho e minúsculas para os de feijão, em cada período de embebição.



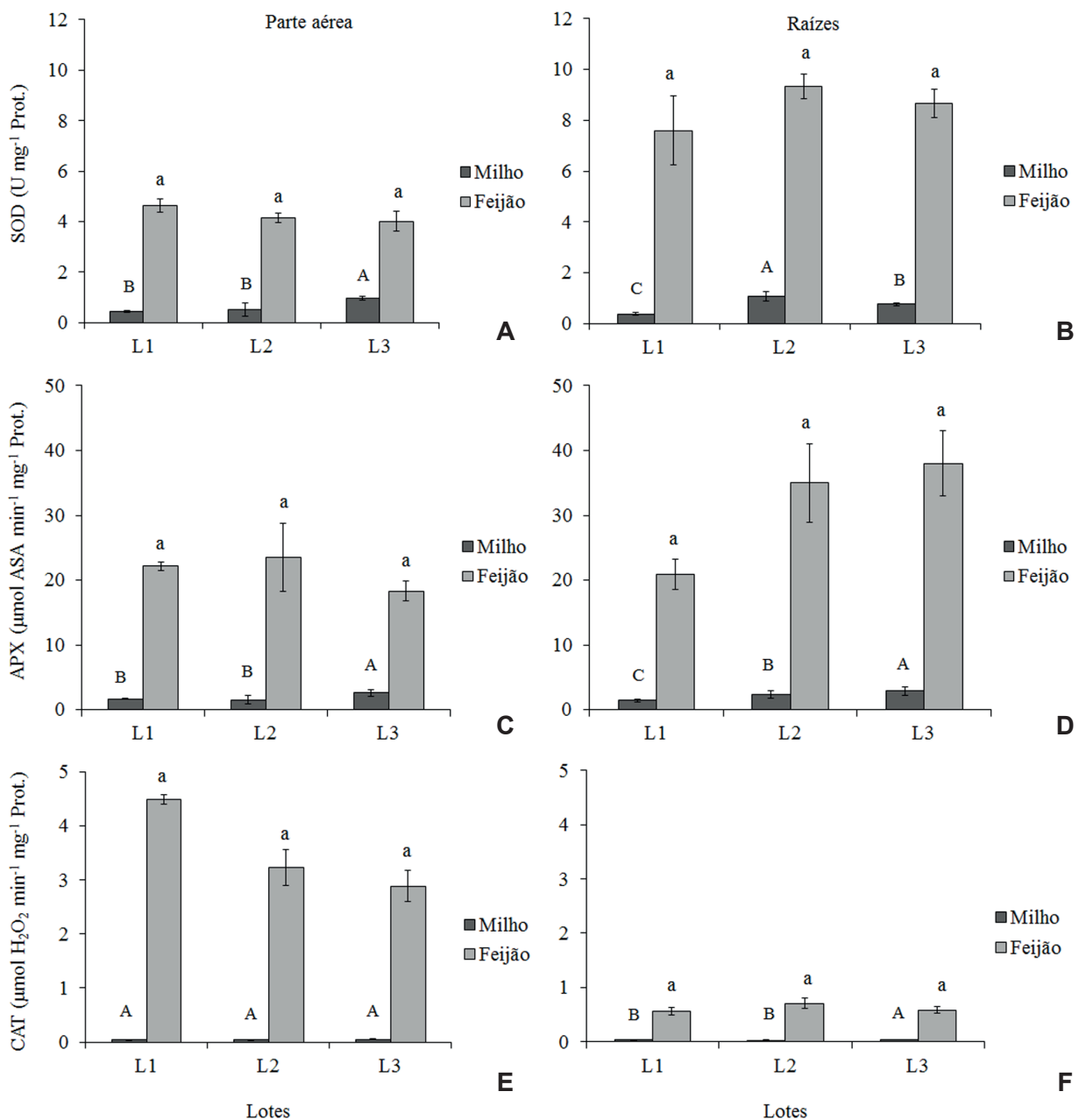
**Figura 3.** (A) Comprimento e (C) massa seca de parte aérea (CPA e MSPA, respectivamente) e (B e D) de raízes (CR e MSR, respectivamente) de três lotes de sementes de milho e de feijão. Letras distintas maiúsculas diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) para os lotes de sementes de milho e minúsculas para os de feijão.

As variáveis relacionadas aos testes de comprimento e massa seca de parte aérea e raízes não apresentaram diferenças significativas entre os lotes de sementes de ambas as culturas (Fig. 3). Embora tenham sido detectadas diferenças significativas entre os lotes de sementes de feijão através dos testes de G, PCG, IVG (Fig. 1) e CE (Fig. 2), os resultados de crescimento e acúmulo de biomassa não evidenciaram diferenças significativas para as plântulas oriundas dos lotes dessas sementes, o que pode ser explicado devido, a essas variáveis levarem em consideração medidas de grandezas físicas, o que é justificado pelo fato de que nem sempre lotes de sementes com elevada porcentagem de germinação resultam em plântulas de maior crescimento, visto que estas caracte-

rísticas dependem do tamanho das sementes, do estágio inicial de divisão celular e da constituição dos tecidos de reserva das sementes (Vanzolini *et al.* 2007, Guedes *et al.* 2009, Socolowski *et al.* 2011).

Diante dos resultados dos testes padrão de qualidade fisiológica, os lotes de sementes de feijão apresentaram alta heterogeneidade sendo possível a sua classificação quanto ao vigor, classificando o L3 como de maior viabilidade e vigor e o L1 como de menor, enquanto que os lotes de sementes de milho, de forma geral, apresentaram elevada homogeneidade, não permitindo sua classificação.

Entretanto, a atividade das enzimas SOD, APX e CAT na parte aérea e raízes das plântulas oriundas dos lotes



**Figura 4.** Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT) de parte aérea (A, C e E, respectivamente) e raízes (B, D e F, respectivamente) de três lotes de sementes de milho e feijão. Letras distintas maiúsculas diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) para os lotes de sementes de milho e minúsculas para os de feijão.

heterogêneos de sementes de feijão não apresentaram diferenças significativas (Fig. 4), demonstrando que não houve eficiência destas análises para separar estes lotes quanto ao vigor. Porém, de forma contrária, as análises enzimáticas possibilitaram identificar com maior sensibilidade diferenças no potencial fisiológico das plântulas oriundas dos lotes homogêneos de sementes de milho (Fig. 4).

Dentre as enzimas envolvidas na remoção de ERO a SOD é considerada a primeira linha de defesa contra os efeitos tóxicos em níveis elevados (Gill & Tuteja 2010). Em relação à atividade desta enzima houve diferença significativa entre as plântulas oriundas dos lotes de sementes de milho, apresentando menor atividade na parte aérea das plântulas dos L1 e L2 e nas raízes do L1 (Figs. 4A e 4B, respectivamente).

A atividade da enzima APX apresentou diferença significativa na parte aérea e nas raízes das plântulas de milho, evidenciando maior atividade para o L3 (Figs. 4C e 4D, respectivamente). Pelo fato da enzima APX possuir alta afinidade pelo  $H_2O_2$  ela é capaz de eliminar de maneira mais eficaz esse radical durante o estresse oxidativo (Hasanuzzaman *et al.* 2012), por isso, é possível inferir que a maior atividade desta enzima pode ter representado plântulas que foram oriundas de sementes que se encontravam no início do processo de deterioração, possivelmente devido a maior produção de  $H_2O_2$ , o que caracterizaria a menor qualidade das sementes oriundas do L3.

De maneira contrária, foi possível observar menor atividade desta enzima nos L1 e L2 tanto na parte aérea quanto nas raízes de plântulas de milho, demonstrando que estes lotes apresentaram maior qualidade fisiológica, provavelmente, por terem menor produção de ERO, caracterizando menor desestruturação do sistema de membranas e, conseqüentemente, menor atividade do processo de deterioração das sementes oriundas desses lotes.

Já a CAT é a enzima que possui alto potencial no processo de dismutação direta do  $H_2O_2$  em  $H_2O$  e  $O_2$ , sendo indispensável para a desintoxicação de ERO durante condições de alta produção de radicais tóxicos (Garg & Manchanda 2009). Entretanto, a atividade dessa enzima não apresentou diferença significativa na parte aérea das plântulas oriundas dos lotes de sementes de milho (Fig. 4E), havendo diferença significativa apenas nas raízes, onde apresentou maior atividade nas plântulas oriundas do L3 e menor nas oriundas dos L1 e L2 (Fig. 4F). Através deste resultado pode-se inferir que lotes com maior vigor possivelmente apresentariam menor produção ERO, como por exemplo, o  $H_2O_2$ .

A grande maioria dos trabalhos que analisam a atividade de enzimas antioxidantes (SOD, APX e CAT) relaciona a influência de estresses abióticos e bióticos em diferentes culturas (Cakmak *et al.* 2010, Mei & Song 2010, Cai *et al.* 2011). Nesses casos, a menor atividade dessas enzimas remetem sementes e plântulas de baixa viabilidade e vigor (Demirkaya *et al.* 2010, Chauhan *et al.* 2011, Prodanović *et al.* 2012), contudo, não foram encontrados trabalhos na literatura que explorem a relação entre o vigor das sementes

e a atividade dessas enzimas. Dessa forma, neste trabalho, onde as sementes não foram submetidas a nenhum tipo de estresse a maior atividade dessas enzimas remete maior produção de ERO o que, conseqüentemente, evidencia o início do processo deterioração, caracterizando o baixo vigor das sementes (El-Shabrawi *et al.* 2010).

Diante disso, a análise da atividade das enzimas do sistema antioxidante (SOD, APX e CAT) não é eficiente para diferenciar lotes heterogêneos de sementes de feijão, entretanto, a mesma é eficiente para detectar diferenças tênues e separar lotes homogêneos de sementes de milho quanto ao vigor.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) pelo suporte financeiro para a realização desta pesquisa.

## REFERÊNCIAS

- AZEVEDO, R. A., ALAS, R. M., SMITH, R. J. & LEA, P. J. 1998. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and a catalase-deficient mutant of barley. *Physiology Plantarum*, 104: 280-292.
- BENTO, S. R. S. de O., SANTOS, A. E. O. dos, MELO, D. R. M. de & TORRES, S. B. 2010. Eficiência dos testes de vigor na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de mulungu (*Erythrina velutina* Willd.). *Revista Brasileira de Sementes*, 32: 111-117.
- BRADFORD, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2): 248-254.
- BRASIL. 2009. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Regras para análise de sementes*. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília DF: Mapa/ACS. 395 p.
- CAI, F., LAN-JU, M., XIAO-LONG, A., SHUN, G., LIN, T. & FANG, C. 2011. Lipid peroxidation and antioxidant responses during seed germination of *Jatropha curcas*. *Journal of Agriculture and Biology*, 13: 25-30.
- CAKMAK, I., ATICI, O., AGAR, G. & SUNAR, S. 2010. Natural aging-related biochemical changes in alfafa (*Medicago sativa* L.) seeds stored for 42 years. *International Research Journal of Plant Science*, 1: 1-6.
- CATÃO, H. C. R. M., COSTA, F. M., VALADARES, S. V., DA ROCHA DOURADO, E., JUNIOR, D. D. S. B. & SALES, N. D. L. P. 2010. Qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes de milho crioulo produzidas no norte de Minas Gerais. *Ciência Rural*, 10: 2060-2066.
- CARVALHO, L. F., SEDIYAMA, C. S., REI, S. M. S., DIAS, D. C. F. S. & MOREIRA, M.A. 2009. Influência da temperatura de embebição da semente de soja no teste de condutividade elétrica para avaliação da qualidade fisiológica. *Revista Brasileira de Sementes*, 41(1): 9-17.
- CHAUHAN, D. S., DESWAL, D. P., DAHIYA, O. S. & PUNIA, R. C. 2011. Change in storage enzymes activities in natural and accelerated aged seed of wheat (*Triticum aestivum*). *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 81(11): 1037-1040.
- DEMIRKAYA, M., DIETZ, K. J. & SIVRITEPE, Ö. 2010. Changes in antioxidant enzymes during ageing of onion seeds. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici*, 38(1): 49-52.
- DEUNER, C., MAIA, M. S., DEUNER, S., ALMEIDA, A. & MENEGHELLO, G. E. 2011. Viabilidade e atividade antioxidante de sementes de genótipos de feijão-miúdo submetidos ao estresse salino. *Revista Brasileira de Sementes*, 33(4): 711-720.

- EL-SHABRAWI, H., KUMAR, B., KAUL, T., REDDY, M.K., SILNGLA-PAREEK, S.L. & SOPORY, S. K. 2010. Redox homeostasis, antioxidant defense, and methylglyoxal detoxification as markers for salt tolerance in Pokkali rice. *Protoplasma*, 245(1-4): 85-96.
- FORMAN, H. J., MAIORINO, M. & URSINI, F. 2010. Signaling functions of reactive oxygen species. *Biochemistry*, 49(5): 835-842.
- FUCK, M. P. & BONACELLI, M. B. 2009. Sementes geneticamente modificadas: in segurança e racionalidade na adoção de transgênicos no Brasil e na Argentina. *Revista Ibero Americana de Ciência e Tecnologia Social*, 4(12): 9-30.
- GARG, N. & MANCHANDA, G. 2009. ROS generation in plants: Boon or bane? *Plant Biosystems*, 143(1): 81-96.
- GUEDES, R. S., ALVES, E. U., GONÇALVES, E. P., VIANA, J. S., DE MEDEIROS, M. S. & DE LIMA, C. R. 2009. Teste de comprimento de plântula na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Erythrina velutina* Willd. *Semina: Ciências Agrárias*, 30(4): 793-802.
- GILL, S. S. & TUTEJA, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(12): 909-930.
- GIANNOPOLITIS, I. & RIES, S. K. 1977. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, 59: 309-314.
- HASANUZZAMAN, M., HOSSAIN, M. A., DA SILVA, J. A. T. & FUJITA, M. 2012. Plant response and tolerance to abiotic oxidative stress: antioxidant defense is a key factor. In: *Crop Stress and its Management: Perspectives and Strategies*. Springer Netherlands, 15: 261-315.
- KRZYŻANOWSKI, F. C., FRANÇA-NETO, J. B. & HENNING, A. A. 1991. Relato dos testes de vigor disponíveis para grandes culturas. In: *Informativo ABRATES*, 1(2): 15-50.
- MACHADO, A. A. & CONCEIÇÃO, A. R. 2007. WinStat: sistema de análise estatística para Windows. Versão 2.0. Pelotas: UFPEL/NIA.
- MAGUIRE, J. D. 1962. Speed of germination and in selection and evaluation for seedlings emergence and vigor. *Crop Science*, 2(2): 176-177.
- MARINI, P., BANDEIRA, J. M., BORBA, I. C. G., MARTINS, A. B. N., MORAES, D. M., AMARANTE, L. & VILLELA, F. A. 2013. Antioxidant activity of corn seeds after thermal stress. *Ciência Rural*, 43(6): 951-956.
- MEI, Y. & SONG, S. 2010. Response to temperature stress of reactive oxygen species scavenging enzymes in the cross-tolerance of barley seed germination. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B Biomedicine & Biotechnology*, 11(12): 965-972.
- NAKANO, Y. & ASADA, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22(5): 867-880.
- PÊGO, R. G., NUNES, U. R. & MASSAD, M. D. 2011. Qualidade fisiológica de sementes e desempenho de plantas de rúcula no campo. *Revista Ciência Rural*, 41(8): 1341-1346.
- PEREIRA, M. D. & MARTINS FILHO, S. 2012. Suitability of electrical conductivity test for *Solanum sessiliflorum* seeds. *Revista Agrarian*, 5(16): 93-98.
- PRODANOVIĆ, O., PRODANOVIĆ, R., ANOVIĆ PRISTOV, J. B., MITROVIĆ, A. & RADOTIĆ, K. 2012. Effect of cadmium stress on antioxidative enzymes during the germination of Serbian spruce [*Picea omorika* (Panc.) Purkyne]. *African Journal of Biotechnology*, 11(52): 11377-11385.
- SILVA, R. P. da, TEIXEIRA, I. R., DEVILLA, I. A., REZENDE, R. C. & DA SILVA, G. C. 2011. Qualidade fisiológica de sementes de soja (*Glycine max* L.) durante o beneficiamento. *Semina: Ciências Agrárias*, 32(4): 1219-1230.
- SOCOŁOWSKI, F., VIEIRA, D. C. M. & TAKAKI, M. 2011. Massa das sementes de *Tecoma stans* L. Juss. ex Kunth (Bignoniaceae): efeitos na emergência e desenvolvimento de suas plântulas no sol e na sombra. *Biota Neotropica*, 11(2): 171-178.
- VANZOLINI, S., ARAKI, C. A. D. S., SILVA, A. C. T. M. & NAKAGAWA, J. 2007. Teste de comprimento de plântula na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja. *Revista Brasileira de Sementes*, 29(2): 90-96.