

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI

Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal

Adriana de Souza Rocha

**QUALIDADE FISIOLÓGICA E ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE SEMENTES DE
GERGELIM APÓS O TESTE DE ENVELHECIMENTO ACELERADO**

**Diamantina - MG
2016**

ADRIANA DE SOUZA ROCHA

**QUALIDADE FISIOLÓGICA E ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE SEMENTES
DE GERGELIM APÓS O TESTE DE ENVELHECIMENTO ACELERADO**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Marcela Carlota Nery

**Diamantina
2016**

Ficha Catalográfica – Serviço de Bibliotecas/UFVJM
Bibliotecário Anderson César de Oliveira Silva, CRB6 – 2618.

R672q

Rocha, Adriana de Souza

Qualidade fisiológica e atividade enzimática de sementes de
Gergelim após o teste de envelhecimento acelerado / Adriana de Souza
Rocha. – Diamantina, 2017.

41 p. : il.

Orientador: Marcela Carlota Nery

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Produção
Vegetal) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.
2016.

1. Enzimas. 2. Oleaginosa. 3. Vigor. 4. Qualidade. I. Título.
II. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.

CDD 631.521

Elaborado com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

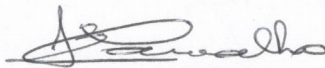
Adriana de Souza Rocha

**QUALIDADE FISIOLÓGICA E BIOQUÍMICA DE SEMENTES DE GERGELIM
SUBMETIDAS AO TESTE DE ENVELHECIMENTO ACELERADO**

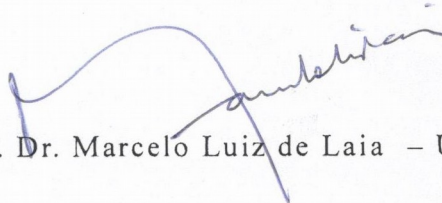
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, nível de Mestrado, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof^a Dr^a. Marcela Carlota Nery

Data da aprovação 24/09/2016



Prof. Dr^a. Maria Laene Moreira de Carvalho – UFPA



Prof. Dr. Marcelo Luiz de Laia – UFVJM



Prof. Dr^a. Marcela Carlota Nery – UFVJM

Diamantina

“Renda-se como eu me rendi. Mergulhe no que você não conhece como eu mergulhei.
Pergunte, sem querer, a resposta, como estou perguntando. Não se preocupe em
entender“. Viver ultrapassa todo o entendimento”.

Clarice Lispector

AGRADECIMENTOS

A Deus, é Dele toda vitória.

Aos meus pais, irmã e irmãos, pelo incentivo.

A todos os meus familiares, pelo interesse nas minhas conquistas.

À Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), pela oportunidade de realização do curso.

À Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudo e recurso financeiro.

À professora Marcela (UFVJM), por ter acreditado no meu potencial, depositado em mim sua confiança, pela sua paciência e compreensão. Por ter me convidado a enfrentar novos desafios e valorizado os meus esforços, me fazendo superar limites, o que me permitiu concluir essa etapa com grande crescimento como pessoa, o meu muito obrigada!

À professora Édila (UFLA), pela disposição, sugestões, ensinamentos, paciência, e generosidade em compartilhar seus conhecimentos.

Aos professores Marcelo Laia (UFVJM) e Laene (UFLA), por aceitarem participar da banca de avaliação.

Aos professores do programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal e professores do Departamento de Sementes da UFLA, pela contribuição à minha formação acadêmica.

Ao Laboratório de Sementes da UFLA e ao Núcleo de Estudos em Sementes da UFLA (NESEM) e ao NES (UFVJM), pelo esforço, companheirismo alegria e descontração no decorrer dos trabalhos.

Aos Ariadne, Michele, Raquel, Diego e principalmente a Heloisa, que contribuíram com a realização desse trabalho.

A Sara e a Cintia que além de serem ótimas amigas, não medem esforços para atender os meus pedidos com uma certa urgência

Aos colegas do mestrado, pela consideração e amizade compartilhando as alegrias e dificuldades.

Obrigado Pedro, por estar comigo em todos os momentos me tranquilizando e tornando os momentos ruins mais confortáveis.

Aos novos e velhos amigos que me apoiaram e entenderam minha ausência, tantas vezes necessária. É também de todos vocês o mérito, meu agradecimento.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

ARTIGO CIENTÍFICO I

- Figura 1** - Porcentagem de plântulas normais de quatro cultivares de gergelim (G2 (L1), G3 (L2), G4 (L3) e BRS SEDA (L4)), proveniente de sementes submetidas ao envelhecimento acelerado tradicional a 45°C por diferentes períodos de envelhecimento , 0h , 24h, 48h, 72h e 96h. UFVJM, Diamantina, MG, 2016 ---**17**
- Figura 2** - Porcentagem de plântulas normais de quatro cultivares de gergelim (G2 (L1), G3 (L2), G4 (L3) e BRS SEDA (L4)), proveniente de sementes submetidas ao envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl a 45°C por diferentes períodos de envelhecimento , 0h , 24h, 48h, 72h e 96h. UFVJM, Diamantina, MG, 2016-----**18**
- Figura 3** - Expressão da enzima esterase extraída de sementes de gergelim das cultivares G2 (C1), G3 (C2), G4 (C3) e BRS Seda (C4), submetidas ao teste de envelhecimento acelerado tradicional (H₂O) e com solução saturada de cloreto de sódio (NaCl) por diferentes períodos (0,48 e 96 horas).-----**20**
- Figura 4** - Expressão da enzima Superóxido Dismutase extraída das sementes de gergelim das cultivares G2 (C1), G3 (C2), G4 (C3) e BRS SEDA (C4), submetidas ao teste de envelhecimento acelerado tradicional (H₂O) e com solução saturada de cloreto de sódio (NaCl) por diferentes períodos (0,48 e 96 horas).-----**22**
- Figura 5** -Expressão da enzima malato desidrogenase extraída das sementes de gergelim cultivares G2 (C1), G3 (C2), G4 (C3) e BRS SEDA (C4), submetidas ao teste de envelhecimento acelerado tradicional (H₂O) e com solução saturada de cloreto de sódio (NaCl), por diferentes períodos (0,48 e 96 horas).-----**23**
- Figura 6** - Expressão da enzima isocitrato liase extraída das sementes de gergelim cultivares G2 (C1), G3 (C2), G4 (C3) e BRS SEDA (C4), submetidas ao teste de envelhecimento acelerado tradicional (H₂O) e com solução saturada de cloreto de sódio (NaCl) por diferentes períodos (0,48 e 96 horas). -----**25**
- Figura 7**- Expressão da enzima álcool desidrogenase extraída das sementes de gergelim cultivares G2 (C1), G3 (C2), G4 (C3) e BRS SEDA (C4), submetidas ao teste de envelhecimento acelerado tradicional (H₂O) e com solução saturada de cloreto de sódio (NaCl) por diferentes períodos (0,48 e 96 horas) . -----**26**
- Figura 8** - Expressão da enzima catalase extraída das sementes de gergelim das cultivares G2 (C1), G3 (C2), G4 (C3) e BRS SEDA (C4), submetidas ao teste de envelhecimento acelerado tradicional (H₂O) e com solução saturada de cloreto de sódio (NaCl), por diferentes períodos (0,48 e 96 horas). -----**26**

LISTA DE TABELAS

ARTIGO CIENTÍFICO I

- Tabela 1-** Grau de umidade – U (%), plântulas normais na primeira contagem – PC (%); índice de velocidade de germinação – IVG; germinação – G (%); estande inicial - EI (%); emergência – E (%) e índice de velocidade de emergência – IVE obtidos para quatro cultivares de sementes de gergelim. UFVJM, Diamantina, MG, 2016. -----**14**
- Tabela 2-** Grau de umidade (%) das sementes de gergelim submetidas a períodos de envelhecimento acelerado, pelo método tradicional e pelo método com solução saturada de NaCl. UFVJM, Diamantina, MG, 2016. -----**16**
- Tabela 3 -** Porcentagem de plântulas normais (%) obtidos no teste de germinação de sementes de gergelim, submetidas aos diferentes períodos de envelhecimento acelerado tradicional e com solução saturada de NaCl. UFVJM, Diamantina, MG, 2016.--**17**

LISTA DE SIGLAS

ADH – Álcool desidrogenase

AOAC – Association of Official Analytical Chemists

AOSA – Association of Official Seed Analysts

CAT - Catalase

DICRA - *Diversification withcrambe*

E – Emergência

EI – Estande Inicial

EST – Esterase

G - Germinação

ISTA – International Seed Testing Association

IVE – Índice de Velocidade de Emergência

IVG – Índice de Velocidade de Germinação

MDH - Malato desidrogenase

PC – Primeira Contagem

PNA - Plano Nacional de Agroenergia

PNPB - Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel

ROS - Espécies Reativas de Oxigênio

SOD – Superóxido dismutase

U – Grau de Umidade

UFLA – Universidade Federal de Lavras

UFVJM – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha E Mucuri

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES	i
LISTA DE TABELAS	ii
LISTA DE SIGLAS	iii
ARTIGO CIENTÍFICO I	v
TESTE DE ENVELHECIMENTO ACELERADO E COMPORTAMENTO DAS ISOENZIMAS EM SEMENTES DE GERGELIM	v
RESUMO	v
ABSTRACT	vi
1 INTRODUÇÃO.....	7
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	11
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
4 CONCLUSÃO.....	25
5 REFERÊNCIAS	26

ARTIGO CIENTÍFICO I

TESTE DE ENVELHECIMENTO ACELERADO E COMPORTAMENTO DAS ISOENZIMAS EM SEMENTES DE GERGELIM

RESUMO

A cultura do gergelim, *Sesamum indicum* L. possui grande potencial econômico devido a demanda, tanto nacional como internacional, de suas sementes que contém cerca de 50% de teor de óleo, sendo uma das principais razões que estimulam o seu cultivo. No entanto, informações sobre metodologias para avaliação da qualidade de sementes dessa cultura são escassas. Dessa forma, objetivou-se adequar as metodologias dos testes de envelhecimento acelerado para sementes de gergelim e investigar alterações no comportamento de isoenzimas das sementes submetidas ao teste. Foram utilizados quatro cultivares de sementes de gergelim da safra 2014/2015. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado. Para caracterização fisiológica das sementes realizou-se a determinação do grau de umidade e os testes de primeira contagem de germinação, índice de velocidade de germinação, emergência, estande inicial e índice de velocidade de emergência. Foi também realizada a análise eletroforética das isoenzimas superóxido dismutase, esterase, catalase, álcool desidrogenase, malato desidrogenase e isocitrato liase. Para o teste de envelhecimento acelerado, as sementes foram submetidas ao método tradicional e com solução saturada de NaCl, pelos períodos de envelhecimento de 0; 24; 48; 72 e 96 horas. Concluiu-se que é possível avaliar o vigor de sementes de gergelim pelo teste de envelhecimento acelerado, pelo método tradicional por 72 horas e com solução saturada de NaCl a 45 °C por 48 horas. Quando associado à atividade das isoenzimas EST, CAT, ADH e ICL foi possível visualizar que houve variação significativa na intensidade da expressão das bandas conforme avança o processo deterioração das sementes.

Palavras-chave: enzimas, oleaginosa, vigor, qualidade.

ABSTRACT

ACCELERATED AGING TEST AND BEHAVIOUR INVESTIGATION OF ISOENZYMES IN SESAME SEEDS

The sesame (*Sesamum indicum* L.) crop has great economic potential due to the demand, both nationally and internationally, for its seeds, which contains about 50% oil, and this is one of the main reasons that encourage its cultivation. However, information on methodologies for the assessment of quality seeds of this culture are scarce. Therefore, the objective of this study was to adapt the methods of accelerated aging tests for sesame seeds and investigate changes in the behavior of isoenzymes submitted to the test. Four sesame seed cultivars of the 2014/2015 crop were used. To characterize the profile of cultivars, the degree of moisture and the first count of germination were determined, besides germination, germination speed index, emergency, initial stand and emergence speed index. The electrophoretic analysis of isoenzymes superoxide dismutase, esterase, catalase, alcohol dehydrogenase, malate dehydrogenase and isocitrate lyase was also performed. For the accelerated aging test, the seeds were subjected to the traditional method, with a saturated NaCl solution, at aging times of 0; 24; 48; 72 and 96 hours. It was concluded that it is possible to evaluate the effect of sesame seeds by accelerated aging tests by the traditional method for 72 hours and saturated NaCl solution at 45 °C for 48 hours. When associated with the activity of isozymes EST, CAT, ADH and ICL, it was possible to observe that there was a significant variation in the intensity of expression of the bands as the seed deterioration process progresses.

Keywords: enzymes; Oilseed; vigor; quality

1 INTRODUÇÃO

O gergelim, (*Sesamum indicum* L.), é uma planta herbácea pertencente a família Pedaliacea, é a 9ª oleaginosa mais plantada no mundo (Saydut et al., 2008; Mesquita et al., 2013). Cultivado em 77 países, especialmente na Ásia e África, sua produção mundial está estimada em 5,46 milhões de toneladas, obtidas em 5,11 milhões de hectares e com uma produtividade média de 1068 Kg ha⁻¹. Os países que possuem as maiores produções são Índia, Sudan, China, Myanmar e Nigéria, responsáveis por cerca de 60% da produção mundial (FAO, 2016).

O Brasil é um pequeno produtor, com apenas 7.000 toneladas de grãos produzidos no ano de 2014 em 7.000 ha e com rendimento a cerca de 1000 kg ha⁻¹ (FAO, 2016).

É uma espécie considerada de alto valor, pois, o seu produto comercial é o grão, que possui cerca de 50% a 60% de teor de óleo. Esse óleo tem diversas utilidades, como para a produção de biodiesel, óleo de cozinha, tintas, margarinas, vernizes, sabões, cosméticos e remédios (Tunde-Akintude e Akintude 2004; Obiajunwa et al., 2005, Fazeli et al., 2006; Borchani et al., 2010).

Contudo, apesar do grande potencial econômico do gergelim em produzir grãos com óleo de qualidade superior às demais oleaginosas, pesquisas relacionadas à qualidade fisiológica das sementes ainda são limitadas. Na literatura encontram-se trabalhos voltados para a produção de grãos como estudos referentes a avaliação da adubação (Perin et al., 2010), espaçamento (Lima, 2011), irrigação (Mesquita et al., 2013; Silva et al. 2014), armazenamento de sementes (Oliveira e Costa, 2009), composição química e nutrição da planta (Queiroga et al., 2010; Antoniassi et al., 2013), característica do óleo para a produção de biodiesel (Ahmad et al., 2011), biologia e polinização de flores (Andrade et al., 2014) e épocas de colheita (Nobre et al., 2013).

A utilização de sementes de alta qualidade é de fundamental importância para o estabelecimento da cultura e consequente aumento da produtividade em uma lavoura. Esta qualidade é obtida pela combinação de atributos genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários, influenciando diretamente em um bom desempenho agrônomico e são fundamentais para o sucesso da cultura (Krzyzanowski et al., 2008).

A qualidade fisiológica das sementes tem sido determinada mais comumente através do teste de germinação. Este é conduzido em condições favoráveis e permite que o lote de sementes expresse sua capacidade máxima (Bertolin et al., 2011). Porém, desta forma, os resultados podem ser superestimados, não apresentando a qualidade real do lote. Com isso, tem-se buscado testes mais sensíveis que permitam detectar diferenças mais precisas entre os lotes que apresentam germinação semelhante, como os testes de vigor.

O conceito de vigor de sementes pode ser definido como o conjunto das propriedades da semente, que determina o potencial para a emergência e desenvolvimento rápidos e uniformes de plântulas normais, sob ampla diversidade de condições ambientais (Peske et al., 2012). O vigor das sementes complementa as informações obtidas pelo teste de germinação, influenciando o estabelecimento da cultura, o seu desempenho ao longo do ciclo e a produtividade das plantas.

Dentre os testes de vigor existentes, entre os mais importantes e reconhecidos, tanto pela Association of Official Seed Analysts - AOSA (1983), quanto pela International Seed Testing Association – ISTA (1995), encontra-se o teste de envelhecimento acelerado. Este teste têm sido utilizado na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de grandes culturas e olerícolas.

O teste de envelhecimento acelerado tem como princípio, o fato da taxa de deterioração da semente ser aumentada consideravelmente pela exposição em níveis elevados de temperatura e umidade relativa do ar, considerados os fatores ambientais preponderantes na intensidade e velocidade de deterioração (Delouche, 2002). Nestas condições, sementes mais vigorosas deterioram mais lentamente que as menos vigorosas, apresentando redução diferenciada da viabilidade (Alves e Sá, 2012).

Combinações entre o período de exposição e temperatura durante o teste de envelhecimento acelerado variam em diferentes espécies. Entre elas as oleaginosas, como o pinhão-manso recomenda-se 41°C/24 horas (Pereira et al., 2012), 41°C/72 horas para sementes de mamona (Mendes et al., 2010) e para canola 42°C/24 horas (Ávila et al., 2005). Para sementes menores a recomendação é a combinação de 42°C/48 horas para sementes de brócolis (Tunes et al., 2012), 41°C/48 horas para rabanete (Ávila et al., 2006) e 43°C/24 horas para sementes de camomila (Rollwagen e Carvalho, 2011) entre outros.

No teste de envelhecimento acelerado tradicional (com água), as diferenças na absorção de água pelas sementes, expostas à atmosfera com 100% umidade relativa, podem originar variações acentuadas no grau de umidade das sementes (Torres, 2004). Visando minimizar as variações na hidratação das sementes e nos resultados, foi proposta por Jianhua e McDonald (1996) a substituição da água destilada por soluções saturadas de sais KCl e NaCl que proporcionam 87% e 76% de umidade relativa, respectivamente. O uso de soluções salinas proporciona menor velocidade de hidratação das sementes durante o envelhecimento acelerado e menor grau de umidade ao final do teste, com maior eficiência na avaliação do vigor (Barr; Bennett; Brassbaugh, 1998; Panobianco; Marcos Filho, 2001; Torres, 2005).

A utilização de soluções saturadas no teste de envelhecimento acelerado é eficiente na classificação do vigor em diversas espécies. Para as sementes de erva doce, segundo Torres (2004), o método mais adequado foi utilizando a solução saturada de NaCl a 41°C/72 horas. Martins et al. (2002), trabalhando com sementes de couve-brócolis, determinaram que o período de 48 horas a 41°C em solução saturada de NaCl foi o mais eficiente e que obteve resultados semelhantes aos da emergência em substrato. Para as sementes de jiló é recomendado 41°C por 48 horas (Alves et al., 2012), 41°C por 72 horas em cenoura (Rodo et al., 2000), 42°C por 72 horas em amendoim (Rossetto et al., 2004) e 45°C por 36 horas em nabo forrageiro (Moraes e Rossetto, 2013).

As sementes envelhecidas ao passarem por situações de estresses conseguem modular respostas de defesa de forma a superar tais estresses e retornar ao metabolismo normal. Estudos básicos sobre as transformações fisiológicas pelas quais passam as sementes, incluindo o conhecimento das bases bioquímicas, que regem a perda da viabilidade e a compreensão da fisiologia da semente são essenciais para o entendimento dos mecanismos envolvidos na deterioração (Paula et al. 1998) e adequação e aperfeiçoamento dos testes de vigor.

Um das alternativas para o estudo de deterioração das sementes é a análise de grupos de isoenzimas, pois, permite identificar os pontos iniciais em que ocorrem os danos, bem como fornecer informações seguras sobre as reais causas de eventos deteriorativos e as suas consequências (Camargo, 2003).

Uma das consequências do processo deteriorativo é a formação de radicais livres, que são um grupo de átomos com elétrons não pareados, sendo, portanto, bastantes reativos e capazes de destruir grandes polímeros como os lipídios de

membrana. Os principais agentes oxidantes gerados são hidroxilas (OH^\cdot), superóxidos (O_2^\cdot) e os peróxidos de hidrogênio (H_2O_2). Uma vez presente na célula, estes podem iniciar reações oxidativas em cadeias, altamente prejudiciais, especialmente com ácidos graxos poliinsaturados, originando hidroperóxidos de lipídios (Coolbear, 1995; Desai et al., 1997).

As superóxidos dismutase (SOD) são grupos de enzimas cuja função é catalisar a reação de dismutação de radicais superóxidos livres (O_2^\cdot) produzidos em diferentes locais na célula, para oxigênio molecular (O_2) e peróxidos de hidrogênio (H_2O_2) (Scandális, 1993), cujo composto é muito menos reativo. Porém, o acúmulo de peróxido na célula também é tóxico, podendo levá-la à morte, principalmente na presença do ferro (Eaton, 1991).

A catalase (CAT) é uma enzima tetramérica, presente nos peroxissomas das células, e tem função de consumir peróxidos de hidrogênio produzidos em condições de estresse sendo, portanto, capaz de realizar a desintoxicação de O_2 e H_2O_2 , quebrando os peróxidos de hidrogênio em oxigênio molecular e água, sem a produção de radicais livres (Mallick; Mohn, 2000).

Segundo Ferreira et al. (2013), existem estudos que demonstram a correlação entre a perda da viabilidade das sementes e a queda na atividade da enzima esterase (EST), pois, essa enzima está envolvida em reações de hidrólise de ésteres. Esse grupo hidrolítico libera ácido graxo dos lipídios, os quais são usados na oxidação, como fonte de energia para eventos germinativos. Enquanto muitos desses lipídios são provenientes de lipossomos, alguns são constituintes de membrana, cuja degradação aumenta com a deterioração.

Já a enzima malato desidrogenase (MDH) apresenta importantes funções fisiológicas dentro da célula, como enzimas do ciclo de Krebs, além de atuar como papel central na maioria das rotas bioquímicas da célula. Essas enzimas são encontradas em associações a uma grande quantidade de organelas subcelulares, apresentando diferenças na regulação da atividade em vários sítios (Scandalios, 1974). A enzima MDH exibe poucas mudanças qualitativas durante o curso de desenvolvimento de um organismo. Por se tratar de uma enzima importante na respiração, o aumento do número e/ou da intensidade da coloração de bandas em sementes submetidas a períodos longos de armazenamento, pode ser em função do aumento da respiração, o que ocorre em sementes que se encontram em processo de deterioração avançado, uma vez que

enzimas envolvidas na respiração podem ser ativadas em sementes de qualidade reduzida (Shatters; Abdelghany; Elbagoury, 1994).

A enzima álcool desidrogenase (ADH) está relacionada à respiração anaeróbica, promovendo redução do acetaldeído a etanol (Buchanan, Gruissen; Jones, 2005). O acetaldeído acelera a deterioração das sementes, portanto, com o aumento da atividade da enzima ADH as sementes ficam mais protegidas contra a ação deletéria deste composto, constituindo uma ferramenta de grande valor no diagnóstico da qualidade de sementes (Zhang et al. 1994).

A enzima isocitrato-liase (ICL) participa do ciclo do glioxilato, pertencente ao metabolismo de lipídios (Zorato Et al., 2007). Em sementes de soja, as enzimas isocitrato-liase são chave na regulação do ciclo do glioxilato e estão diretamente envolvidas no metabolismo de lipídios armazenados nas sementes oleaginosas, e no desenvolvimento das atividades nos glioxissomos. As atividades dessa enzima aumentam durante a germinação das sementes, obtendo-se valores máximos quando ocorre o máximo da proporção de lipídios degradados e na síntese de sacarose (Bewley; Black, 1994). No ciclo do glioxilato, os lipídios insolúveis das sementes se transformam em açúcares solúveis, sacarose, os quais são facilmente deslocados para as regiões meristemáticas, radiculares e apicais (Cioni et. al., 1981).

Devido ao exposto, objetivou-se com essa pesquisa adequar metodologias dos testes de envelhecimento acelerado para as sementes de gergelim e correlacionar às alterações no comportamento das isoenzimas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Sementes do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras-MG, no período de abril a agosto de 2015. Foram utilizadas quatro cultivares de sementes de gergelim, fornecidos pela Embrapa Algodão, produzidas em mesmo local, sob mesmas condições e mesma época (safra 2014/2015), sendo as Cultivares: BRS G2 (Cultivar 1), BRS G3 (Cultivar 2), BRS G4 (Cultivar 3) BRA SEDA (Cultivar 4).

A caracterização dos cultivares e avaliação da qualidade fisiológica foram definidas pelos seguintes determinações e testes:

O **grau de umidade** foi determinado pelo método da estufa a 105 °C por 24 horas (Brasil, 2009), com duas repetições de 0,5 g de sementes para cada cultivar.

Para o **teste de germinação** a semeadura foi realizada em substrato papel mata-borrão, umedecido com uma quantidade de água equivalente 2,5 vezes o peso seco do papel, em caixas tipo *gerbox*, acondicionadas em câmara de germinação tipo B.O.D., regulada a temperatura de 25 °C, com fotoperíodo de 12 horas. Foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes e os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais ao 3º dia (**Primeira contagem**), sendo o teste encerrado ao 6º dia (Brasil, 2009). As contagens foram efetuadas diariamente, para a determinação do **índice de velocidade de germinação (IVG)**, calculado segundo a fórmula proposta por Maguire (1962), computando-se o número de sementes protundidas, a partir da emissão de 1 mm de radícula.

O **teste de emergência** foi conduzido com quatro repetições de 50 sementes por cultivar em bandejas com substrato areia e terra na proporção de 2:1. A emergência das plântulas foi computada ao 9º dia (**Estande inicial**) e ao 15º dia (**Estande final**), após a semeadura, avaliando-se o número de plântulas emergidas. Os resultados foram expressos em porcentagens. Para o **índice de velocidade de emergência (IVE)** foram computados, diariamente, o número de plântulas emersas a partir do início da emergência e o cálculo realizado conforme Maguire (1962).

Para o **teste de envelhecimento acelerado** foi feita uma camada uniforme de sementes sobre uma tela metálica acoplada a uma caixa plástica tipo *gerbox*, contendo 40 ml de água destilada ou de solução saturada de cloreto de sódio (NaCl), na proporção de 40 g de NaCl para 100 ml de água, o qual proporciona umidade relativa de 76% (Jianhua & McDonald, 1996). Os *gerboxes* foram levados a câmaras de germinação do tipo B.O.D., à temperatura de 45 °C, pelos períodos de 0 (testemunha), 24 , 48 , 72 e 96 horas. Após cada período foi determinado o teor de água e realizado o teste de germinação conforme descrito anteriormente, avaliando o número de plântulas normais após o sétimo dia de semeadura (Brasil, 2009).

A **análise enzimática** foi feita por meio da técnica de eletroforese. Para esta análise, 3 g de sementes de cada cultivar de gergelim submetidas ao envelhecimento acelerado tradicional e com solução saturada de NaCl nos tempos de 0, 48 e 96 horas, sendo o tempo determinado de forma a abranger a semente não deteriorada (0h), as sementes já em estágio de deterioração mediano (48h) e as sementes em estágio

avançado de deterioração (96h), as mesmas foram maceradas na presença de nitrogênio líquido e PVP em cadinho e armazenadas a -86°C de temperatura.

O tampão utilizado para extrair as enzimas de superóxido dismutase, catalase, esterase, álcool desidrogenase, malato desidrogenase e Isocitrato liase foi o Tris HCL 0,2 M, pH 8 adicionando-se 0,1% de mercaptoetanol, na proporção de 250 μL por 100mg de amostra de sementes. O material foi homogeneizado em vortex e mantido *overnight* em geladeira, seguido de centrifugação a 14.000 rpm por 60 minutos a 4°C .

Foi feito gel de poliacrilamida a 7,5% (gel separador) e 4,5% (gel concentrador), para a corrida eletroforética. O sistema gel/eletrodo utilizado foi tris-glicina pH 8,9. Foram aplicados 50 μL de sobrenadante das amostras no gel e a corrida eletroforética efetuada a 150 V por 5 horas.

Os géis foram revelados para as enzimas superóxido dismutase, catalase, esterase, malato desidrogenase, álcool desidrogenase, segundo protocolos de Alfenas et al.(2006). Isocitrato liase foi revelada com dl-ácido isocitríco, 20 mg NADP, 20 mg MTT, 2 mg PMS, 20 mg cloreto de magnésio, 100 mL Tris 0,2 M pH 8,0; 0,1 μL de Phenylhydrazine (Cruz et al. 2013).

O **delineamento experimental** foi inteiramente casualizado. Para o teste de envelhecimento acelerado os dados foram analisados em esquema fatorial 4x5 (4 cultivares, 5 períodos de envelhecimento) Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas entre si pelo teste de Scott-knott, a 5% de probabilidade e para o fator quantitativo (período de envelhecimento), estudou-se a regressão na análise da variância. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa estatístico SISVAR® (Ferreira, 2000).

Para a análise dos sistemas isoenzimáticos foi realizada a interpretação visual dos géis de eletroforese, levando-se em consideração a presença/ausência, bem como a intensidade de cada uma das bandas eletroforéticas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pela Tabela 1 observam-se os dados obtidos na caracterização do perfil das cultivares de sementes de gergelim. O grau de umidade das sementes não diferenciou entre as cultivares, que mantiveram valores dentro da faixa ótima de armazenamento de sementes de gergelim, que deve ser menor ou próxima de 6% (Bennet, 2011). Valores

semelhantes de umidade em sementes de gergelim foram encontrados por Jesus et al.(2015).

TABELA 1. Grau de umidade – U (%), plântulas normais na primeira contagem – PC (%); índice de velocidade de germinação – IVG; germinação – G (%); estande inicial - EI (%); emergência – E (%) e índice de velocidade de emergência – IVE obtidos para quatro cultivares de sementes de gergelim. UFVJM, Diamantina, MG, 2016.

Cultivares	Testes						
	U(%)	PC	G (%)	IVG	EI(%)	E(%)	IVE
1	6,14A	44A	98A	14,07A	88A	88A	11,52A
2	5,69A	32A	93,A	12,93A	88A	89A	11,58A
3	5,39A	40A	75B	9,77B	62B	63 B	5,95 B
4	5,29A	51A	89A	13,40A	88A	88 A	11,44 A
CV(%)	6,81	31,63	7,27	8,84	12,06	12,45	11,78

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5%.

O grau de umidade semelhante entre as cultivares é primordial, para que os testes não sejam afetados por diferenças na atividade metabólica, velocidade de umedecimento e na intensidade de deterioração das sementes (Hampton & TeKrony, 1995; Krzyzanowski, 1999). Sementes com teores de água diferente podem gerar interpretação errôneas, uma vez que as sementes com teores de água superiores tendem a ter degradação mais rapidamente nas condições de envelhecimento acelerado (Marcos Filho, 2005).

O teste de primeira contagem foi menos sensível às diferenças entre as cultivares de gergelim, não havendo diferença significativa entre as cultivares (Tabela 1).

A porcentagem de germinação das cultivares de gergelim apresentaram valores superiores ao padrão para a comercialização de sementes através da normativa n° 45 de 13 de setembro de 2013, que estabelece germinação mínima para sementes de gergelim de 70% (Brasil, 2013).

Através do teste de germinação (G), índices de velocidade de germinação (IVG), estande inicial (EI), emergência (E) e os resultados de velocidade de emergência (IVE) foram observados que as cultivares 1 , 2 e 4 apresentam qualidade superior em relação

a cultivar 3 de qualidade inferior (Tabela 1). A baixa qualidade da cultivar 3 foi devido a maior porcentagem de plântulas anormais infeccionadas (dados não apresentados).

Na Tabela 2 encontram-se os resultados obtidos na determinação do grau de umidade inicial e após os diferentes períodos de envelhecimento para os tratamentos tradicional e com NaCl. Pelo método tradicional observou-se que o grau de umidade das sementes somente diferiu entre as cultivares com 96 horas de exposição das sementes às condições do teste. Já o método com o uso de solução saturada foram verificados graus de umidade menores e uniformes, apesar de ter sido mais sensível em detectar diferenças entre as cultivares e períodos de envelhecimento, com diferenças após 72h de exposição da semente às condições do teste. De modo geral, pelo método tradicional observou-se grau de umidade superior ao método com solução de NaCl. Este aumento no grau de umidade das sementes pode ser explicado pela desorganização das membranas celulares durante o envelhecimento das sementes (Jaim et al. 2006). Porém, alguns autores relataram que mesmo com grau de umidade inferior há estresse suficiente para reduzir a germinação (Ramos et al., 2004; Fessel et al., 2005; Ávila et al., 2006).

O uso de solução saturada promoveu efeitos menos drásticos que o método tradicional, pois, ocorreu uma diminuição no grau de deterioração das sementes ao atingir menores teores de água, como observado em sementes de erva-doce (Torres, 2004 e em sementes de niger (Goldin et al. 2015).

As variações no grau umidade das sementes submetidas ao envelhecimento acelerado estão de acordo com o previsto por Marcos Filho (1999), onde afirma que, variações de 3% a 4% entre as amostras são toleráveis após o envelhecimento (Marcos Filho, 1999). No experimento em questão foi encontrado variação máxima de 3,24% no grau de umidade entre as cultivares no mesmo período de envelhecimento.

TABELA 2. Grau de umidade (%) das sementes de gergelim submetidas a períodos de envelhecimento acelerado pelo método tradicional e pelo método com solução saturada de NaCl. UFVJM, Diamantina, MG, 2016.

Cultivares	Tratamento / Períodos de envelhecimento (horas)									
	Tradicional					NaCl				
	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h
1	6,03Ac	16,03Ab	18,29Aa	18,67Aa	18,67Ba	6,10Aa	7,13Aa	6,77Aa	5,11Ba	6,87Aa
2	5,73Ad	15,24Ac	17,13Ab	18,43Ab	21,45Aa	5,69Ab	8,90Aa	7,79Aa	6,32Bb	6,54Ab

3	5,47Ac	16,07Ab	16,84Ab	17,53Ab	21,91Aa	5,38Ab	7,29Aa	8,86Aa	5,98Bb	5,90Ab
4	5,25Ac	14,39Ab	18,34Aa	18,16Aa	18,74Ba	5,30Ab	7,01Ab	6,56Ab	9,49Aa	5,45Ab
CV(%)	6,07					14,30				

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5%.

A redução no grau de umidade das sementes restringiu o ataque de fungos, que foi verificado com maior incidência nos tratamentos de envelhecimento tradicional. Isso é ocasionado pela restrição hídrica da umidade relativa do ambiente, que não favorece a proliferação de microrganismos (Torres E Bezerra-neto, 2009), sendo uma das vantagens da utilização do método de envelhecimento acelerado com solução de NaCl em comparação ao método tradicional. Cruz et al. (2013) e Caldeira e Perez (2010), citam a incidência de fungos como um problema encontrado no envelhecimento acelerado em sementes de *Crambe abyssinica* e *Myracrodruon urundeuva*.

A porcentagem de plântulas normais obtida após o envelhecimento acelerado tradicional (Tabela 3), mostra que todos os tratamentos foram sensíveis em detectar cultivares de maior e menor vigor, corroborando com os resultados de germinação onde o lote 3 foi considerado inferior aos demais (Figura 1). Pode-se observar que no método tradicional, os tempos de 72h e 96h permitiram a distinção do lote 3 aos demais, de maneira semelhante com os resultados obtidos nos testes de germinação, índices de velocidade de germinação, emergência de plântulas, estande inicial e índices de velocidade de emergência (Tabela 1).

TABELA 3. Porcentagem de plântulas normais (%) obtida no teste de germinação de sementes de gergelim submetidas aos diferentes períodos de envelhecimento acelerado tradicional e com solução saturada de NaCl. UFVJM, Diamantina, MG, 2016.

Cultivares	Tratamento x Períodos de envelhecimento									
	Tradicional					NaCl				
	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h
1	99Aa	93Aa	95Aa	84Ab	92Aa	98Aa	92Aa	89Aa	90Aa	95Aa
2	93Aa	95Aa	97Aa	92Aa	97Aa	94Aa	92Aa	91Aa	99Aa	97Aa
3	77Bb	67Bb	87Ba	46Bc	75Bb	75Bb	56Bd	24Ce	70Bc	88Aa
4	90Aa	67Bb	83Ba	90Aa	89Aa	89Aa	49Bd	48Bd	64Bc	75Bb
CV(%)	6,76					8,66				

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5%.

Nas sementes envelhecidas pelo método tradicional foi possível observar que no tempo de 72 horas houve uma redução na porcentagem de plântulas normais de sementes de gergelim para todas as cultivares (Figura 1), comportamento semelhante, foi observado em sementes de alface (Barbosa et al., 2011) e salsa (Tunes et al., 2013). Segundo Tunes et al. (2011), esse efeito da queda na germinação após 72 horas, provavelmente, deve-se ao alto teor de água atingido pelas sementes após o envelhecimento.

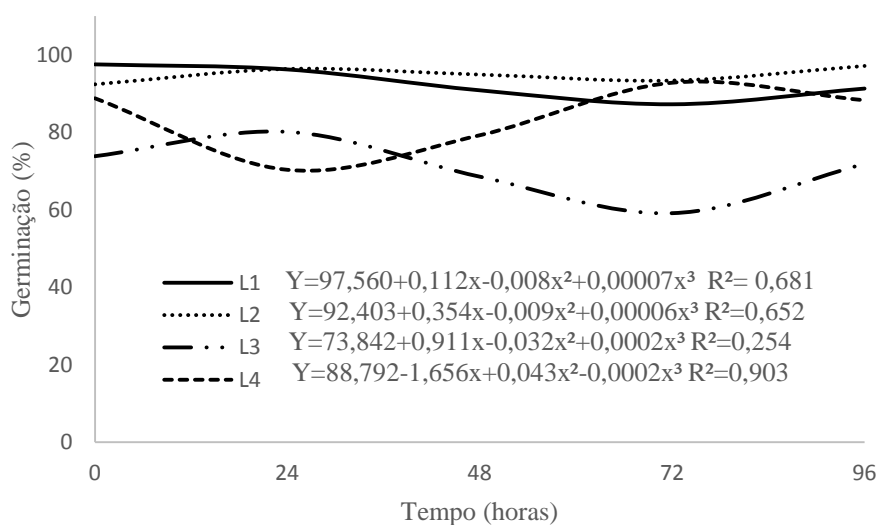


Figura 1. Porcentagem de plântulas normais de *Sesamum indicum* (gergelim), proveniente de sementes submetidas ao envelhecimento tradicional a 45 °C, por diferentes períodos. UFVJM, Diamantina, MG, 2016

Entretanto, os resultados obtidos no teste de envelhecimento acelerado com uso de solução de NaCl, durante 48 horas, demonstraram melhor separação das cultivares em diferentes níveis de vigor, pois, além de indicar as cultivares 1 e 2 como o de melhor qualidade e a cultivar 3 como a de qualidade inferior, também detectou diferença entre a cultivar 4 das cultivares 1 e 2; esta separação não foi verificada na análise estatística dos dados obtidos nos testes de germinação, de emergência de plântulas e demais procedimentos utilizados para a condução do teste de envelhecimento acelerado. Os resultados dos testes de envelhecimento com solução saturada de NaCl realizados após o período de 72 horas não foram consistentes, evidenciando resultados divergentes da caracterização das cultivares. (Tabela 3).

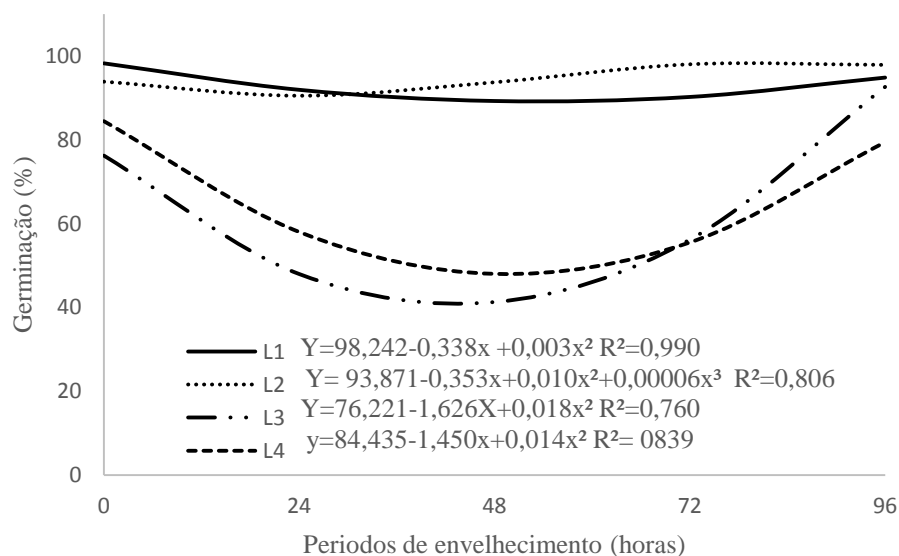


Figura 2. Porcentagem de plântulas normais de *Sesamum indicum* (gergelim), proveniente de sementes submetidas ao envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl a 45 °C, por diferentes períodos. UFVJM, Diamantina, MG, 2016.

Martins et al. (2002) trabalhando com as sementes de brócolos, relataram que o envelhecimento com água (100% UR) prejudicou mais a qualidade das sementes, visto que a taxa de absorção de água pela semente e conseqüentemente, a taxa de deterioração da mesma foi menor, trabalhando-se com a solução saturada de NaCl. Silvia (2010) em sementes de grama bermuda também relatou que o envelhecimento acelerado com o uso de solução saturada de NaCl, dentre os procedimentos estudados, é o método mais adequado para a avaliação do potencial fisiológico de sementes de grama bermuda, sendo que a combinação 45 °C/48 h é eficiente para a classificação dos lotes em diferentes níveis de vigor.

As condições do teste de envelhecimento acelerado com solução salina pelo período de até 96 horas interferiram positivamente na germinação das cultivares, apenas a cultivar 4 sofreu estresse suficiente para diferenci-la estatisticamente das demais.

Foram observados o revigoramento das cultivares 1, 3 e 4 nos tempos 96h e 48h pelo método tradicional e a cultivar 3 e 4 no tempo de 72h pelo método com NaCl (Figura 1 e 2). Observando os valores do grau de umidade das sementes após envelhecidas (Tabela 2), é notável o aumento do grau de umidade das mesmas, pode haver uma relação com o aumento do vigor das sementes, sendo denominado *priming*, que de acordo com Parera & Cantliffe (1994), consiste em embeber as sementes em uma solução osmótica por determinado período de tempo, de modo a promover uma hidratação controlada, reativando as fases iniciais da germinação (fases I e II) sem,

contudo, atingir o **estádio** de emergência da raiz primária (fase III), segundo o padrão trifásico de embebição proposto por Bewley & Black (1994). Segundo Tilden & West (1985), o "priming" reverteu os efeitos do envelhecimento em sementes de soja, aumentando a porcentagem de germinação de sementes de baixo vigor e reduzindo os valores de condutividade elétrica. Nery et al. (2009), em trabalho com nabo forrageiro também observaram o revigoramento das sementes submetidas ao envelhecimento acelerado.

Quanto à análise da atividade enzimática, os tempos escolhidos para a avaliação do comportamento das isoenzimas buscou abranger sementes em estádios de deterioração crescentes, sendo considerada como semente de gergelim não deteriorada o tempo zero, sementes já em estádios de deterioração mediano o tempo de 48h e as sementes em estágio avançado de deterioração o tempo de 96h.

Com relação às atividades das isoenzimas, observou-se para a enzima esterase (Figura 3), que as sementes submetidas ao envelhecimento acelerado tradicional tiveram uma redução da intensidade das bandas com o aumento do período e até extinção das mesmas, com destaque para a cultivar 1 e 2, que obtiveram uma intensidade maior em suas bandas.

A diminuição na intensidade das bandas indica que a peroxidação lipídica na membrana celular foi mais intensa, causando um aumento na permeabilidade e conseqüentemente avançado processo de deterioração. Para as sementes envelhecidas com NaCl as bandas das cultivares 1 e 2 mantiveram com intensidade maior, já a cultivar 4 com intensidade intermediária e a cultivar 3 com intensidade de bandas inferiores. Corroborando com os resultados encontrados na Tabela 3 que definem as cultivares 1 e 2 como de maior vigor e a cultivar 4 com qualidade intermediária e a cultivar 3 com qualidade inferior.

É possível observar também, que o comportamento de cada cultivar em diferentes tempos de exposição ao envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl tiveram uma maior uniformidade de bandas dentro das cultivares, em todos os períodos discriminados (0, 48h e 96h), indicando que houve uma menor deterioração dentro da cultivar comparada com o envelhecimento tradicional, onde as bandas possuem intensidades mais heterogêneas.

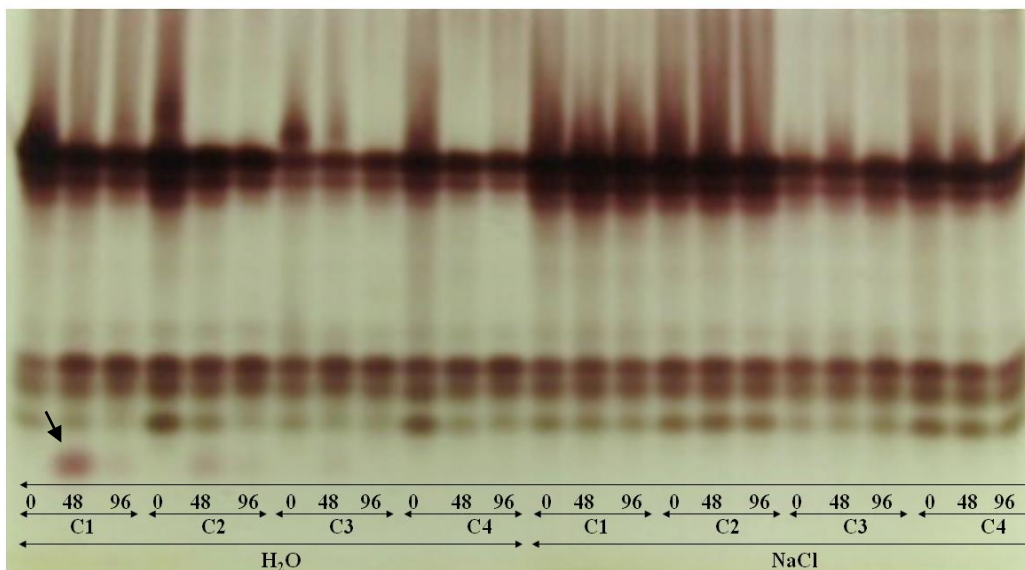


Figura 3. Expressão da enzima esterase extraída de sementes de gergelim das cultivares G2 (C1), G3 (C2), G4 (C3) e BRS Seda (C4), submetidas ao teste de envelhecimento acelerado tradicional (H_2O) e com solução saturada de cloreto de sódio (NaCl) por diferentes períodos (0,48 e 96 horas).

Os padrões de atividade da enzima esterase mostrados estão de acordo com os relatos de Aung & McDonald (1995), em trabalho com sementes de amendoim, onde observaram, diminuição da intensidade das bandas com o aumento do período de envelhecimento, tanto em sementes embebidas como não embebidas. Estes autores afirmam que as esterases são o grupo de enzimas mais importantes na germinação de amendoim. Essa variação de resultados se deve provavelmente ao duplo papel que essa enzima tem, dependendo do nível de deterioração das sementes do lote. Ela é acumulada antes do processo para prevenir a ação de radicais livres no início da deterioração, mas apresenta altos níveis quando já não tem esse papel de prevenção, estando presente tanto no início quanto em estádios mais avançados de deterioração.

Saath et al.(2014), Carvalho et al. (2006) e Moraes et al. (2016) que observaram uma diminuição no número e intensidade de bandas juntamente com a perda de viabilidade das sementes de café, copaíba e amendoim.

Em estudos com sementes de soja, Vieira et al. (2013) observaram que a esterase também diminui a atividade durante o período de armazenamento, ocorrendo o desaparecimento das bandas com o decorrer do armazenamento. Por conseguinte a diminuição da atividade de esterase no presente estudo indica o início do processo de degradação das sementes de gergelim.

Foi possível observar também a expressão de uma única banda (isoforme), apenas nas cultivares 1, quando submetidas ao envelhecimento acelerado tradicional por 48h (Figura 3, seta preta). Este resultado apresenta uma alternativa para distinguir essas cultivares de gergelim das demais, ao passo que o mesmo não foi identificado nas outras cultivares e em outros tratamentos, havendo a possibilidade de torná-lo uma ferramenta na identificação das cultivares. Em trabalhos com sementes de soja Vieira et al. (2009) também considerou que a esterase pode ajudar na caracterização de cultivares de soja, tornando possível separar as cultivares em grupos, quando extraído de sementes secas. Ferreira et al. (2009), trabalhando com gladiolo (*Gladiolus* sp.), foram capazes de distinguir 11 cultivares com a extração da esterase.

Em relação à superóxido dismutase (SOD), em todos os intervalos estão presentes bandas de mesma intensidade nas diferentes cultivares (Figura 4). A manutenção da atividade da SOD é importante, uma vez que ela atua na remoção e redução da reatividade de espécies de oxigênio (ROS), que podem causar danos às células (Moller et al. 2007 e Deuner et al. 2011). Com sementes de soja armazenadas em câmara fria depois de seis e oito meses a atividade da SOD também se manteve inalterada (Carvalho et al., 2014).

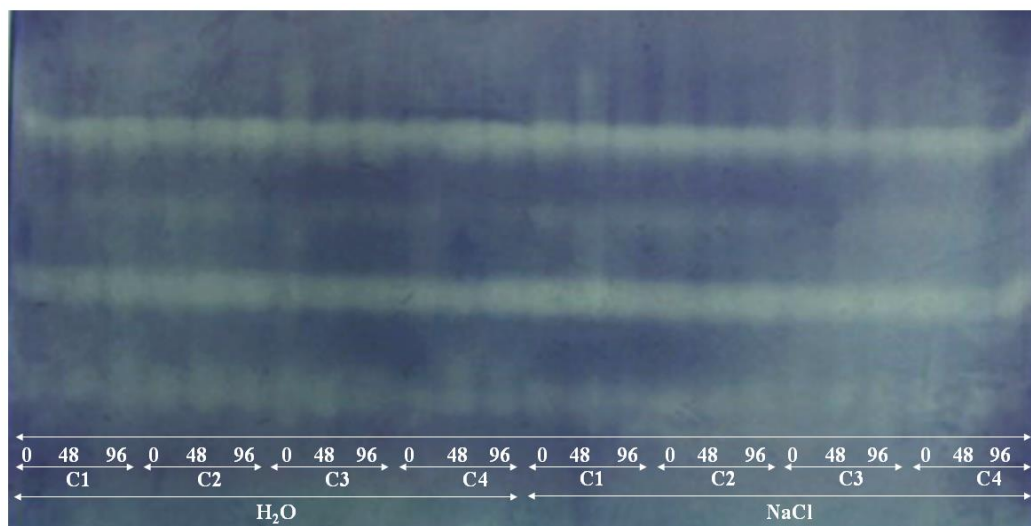


Figura 4. Expressão da enzima Superóxido Dismutase extraída das sementes de gergelim das cultivares G2 (C1), G3 (C2), G4 (C3) e BRS SEDA (C4), submetidas ao teste de envelhecimento acelerado tradicional (H_2O) e com solução saturada de cloreto de sódio (NaCl) por diferentes períodos (0,48 e 96 horas).

A atividade da isoenzima malato desidrogenase (MDH) (Figura 5) foi igual em todos os tratamentos, resultados semelhantes foram encontrados por Santos (2010), em

sementes de mamona da cultivar IAC -226 submetidas a épocas e condições diferentes de armazenamento.

A MDH é uma enzima importante na respiração celular, o aumento da sua atividade pode ser devido a um aumento na respiração em sementes em estádios avançados de deterioração, como as enzimas envolvidas na respiração pode ser ativada em sementes de qualidade reduzida (Shatters et al. 1994). Carvalho et al. (2014) observaram um aumento da expressão de MDH em sementes de soja armazenada durante seis e oito meses de armazenamento a frio, devido ao alto nível de estresse sofrido sob condições não controladas de armazenamento.

Com base nesta informação, o período de tempo de 96 horas de envelhecimento tradicional e com NaCl, usados em nosso estudo pode não ter sido suficiente para induzir alterações metabólicas, que poderiam mudar os perfis eletroforéticos desta enzima, uma vez que não houve alteração entre as bandas nos tratamentos submetidos.

Trabalhos relacionam a atividade da SOD com a atividade da MDH, uma vez que a SOD pode ser encontrada nas mitocôndrias, sendo possível que a regulação da sua atividade pode envolver a regulação MDH (Sacandalios (1993) e Allens (1995) . Com base nesta informação, a atividade SOD é esperada que seja semelhante a da MDH. Nossos resultados suportam esta hipótese, uma vez que nenhuma alteração foi observada nas atividades de ambas as enzimas durante o envelhecimento acelerado tradicional ou com NaCl (Figura 4 e 5).

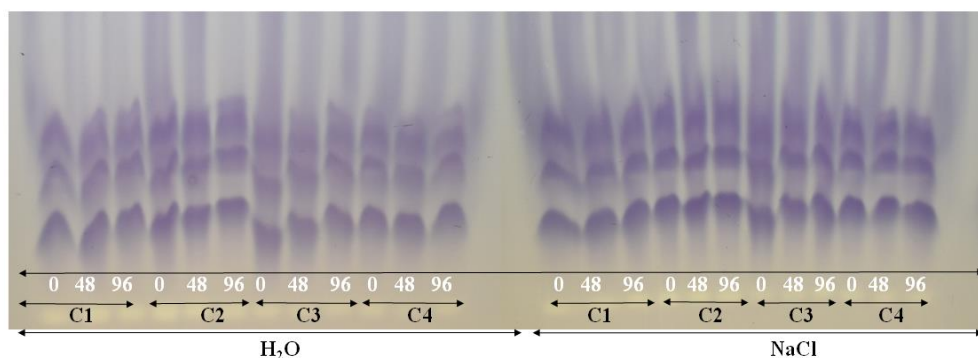


Figura 5. Expressão da enzima malato desidrogenase extraída das sementes de gergelim cultivares G2 (C1), G3 (C2), G4 (C3) e BRS SEDA (C4), submetidas ao teste de envelhecimento acelerado tradicional (H₂O) e com solução saturada de cloreto de sódio (NaCl) por diferentes períodos (0,48 e 96 horas),

Na Figura 6 é possível observar um aumento crescente na intensidade das bandas da enzima isocitrato liase no decorrer dos períodos de envelhecimento 0, 48h e

96h, em todas as cultivares. O perfil de expressão da isocitrato liase (ICL) tem sido sugerido como importante indicador do vigor de sementes, uma vez que ela fornece fontes de carbono necessárias para a germinação e desenvolvimento de plântulas. A alteração na sua transcrição e níveis de expressão podem refletir a qualidade das sementes (Ventura et al., 2012). A atividade dessa enzima aumenta durante a germinação das sementes, obtendo-se valores máximos quando ocorre o máximo da proporção de lipídios degradados e na síntese de sacarose. Neste ciclo, os lipídios insolúveis das sementes se transformam em açúcares solúveis (sacarose), os quais são facilmente deslocados para os meristemas radiculares e apicais e é sintetizada “de novo”, após o início do processo germinativo (Cioni; Pinzauti; Vanni, 1981).

As sementes de gergelim que foram submetidas ao envelhecimento acelerado tradicional apresentaram maior intensidade das bandas do que as submetidas à solução salina, que, apresentaram maior uniformidade de bandas dentro das cultivares, o que podemos relacionar com o grau de umidade das sementes, após o período de envelhecimento (Tabela 2). De acordo com Floriano (2004), com a absorção de água, ocorre a reidratação dos tecidos e, conseqüentemente, a intensificação da respiração e de todas as outras atividades metabólicas, o que pode ter contribuído com o aumento da atividade da ICL.

Observando o comportamento da ICL entre as cultivares, há diferenças entre a intensidade e número de bandas. As cultivares 1 e 2 tiveram maior intensidade e a cultivar 3 e posteriormente, a cultivar 4, com menores intensidades. Estes resultados corroboram com os resultados encontrados na tabela 3, em sementes submetidas ao envelhecimento acelerado com NaCl no período de 48 horas.

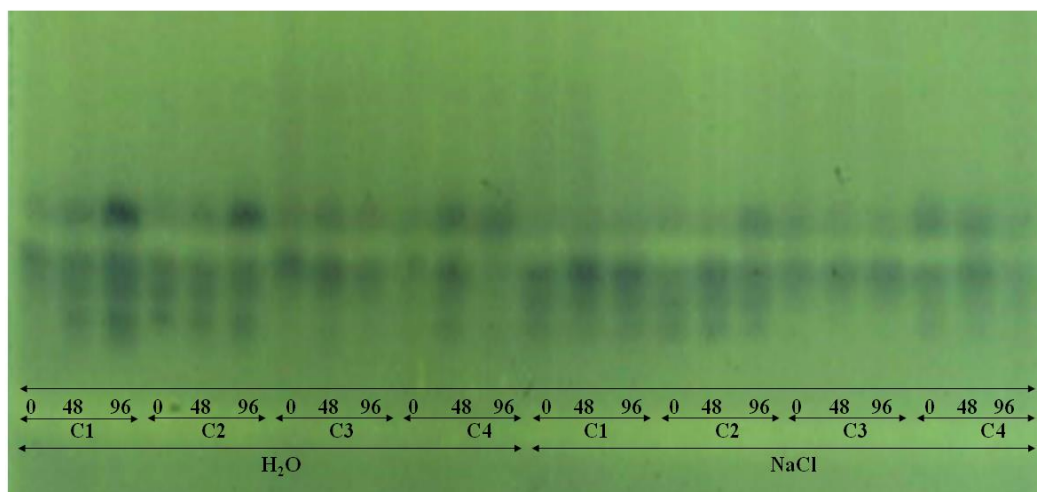


Figura 6. Expressão da enzima isocitrato liase extraída das sementes de gergelim cultivares G2 (C1), G3 (C2), G4 (C3) e BRS SEDA (C4), submetidas ao teste de envelhecimento acelerado tradicional (H_2O) e com solução saturada de cloreto de sódio (NaCl) por diferentes períodos (0,48 e 96 horas).

Com a ausência de oxigênio favorece-se o início do metabolismo de fermentação por indução da ADH, em que o acetaldeído é reduzido a etanol por dinucleótido adenina nicotinamida (NAD). De acordo com Veiga et al. (2010) esta enzima é importante, uma vez que converte acetaldeído em etanol, um composto com menos toxicidade, e reduz a velocidade do processo de deterioração. Assim, as sementes são menos sensíveis aos efeitos deletérios de acetaldeído com a maior atividade de ADH (Carvalho et al., 2014), sendo assim, é possível afirmar que as sementes das cultivares 1 e 2 apresentam uma maior proteção, já que a expressão da enzima ADH nestas cultivares tanto nas sementes submetidas ao envelhecimento tradicional como ao NaCl (Figura 7), apresentaram maior expressão das bandas. Este resultado coincide com os resultados de Carvalho et al. (2014), onde constataram maiores expressões de ADH em sementes de cultivares que apresentaram melhor qualidade fisiológica.

A partir da expressão da enzima ADH (Figura 7), foi possível observar uma baixa atividade enzimática da ADH em sementes das cultivares 3 e 4, corroborando com os resultados da adequação da metodologia de envelhecimento acelerado

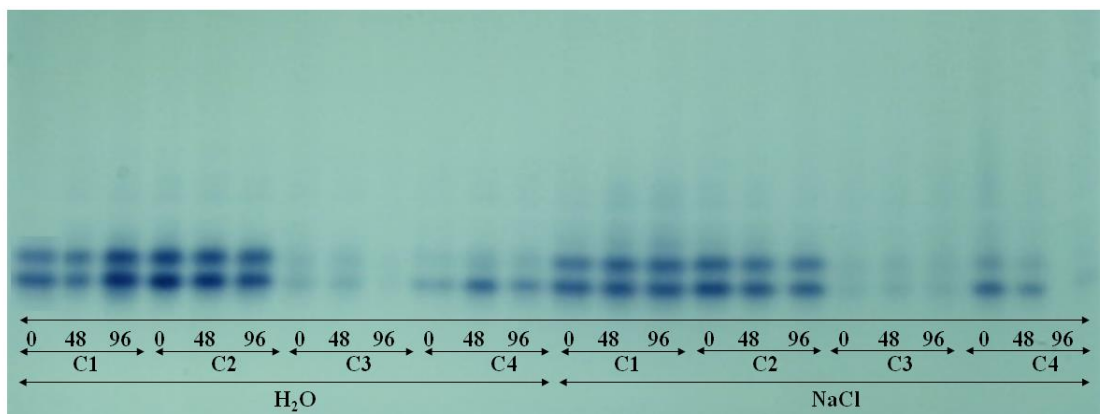


Figura 7. Expressão da enzima álcool desidrogenase extraída das sementes de gergelim cultivares G2 (C1), G3 (C2), G4 (C3) e BRS SEDA (C4), submetidas ao teste de envelhecimento acelerado tradicional (H_2O) e com solução saturada de cloreto de sódio (NaCl) por diferentes períodos (0,48 e 96 horas).

A catalase por ser uma enzima envolvida no processo de remoção do peróxido redução de hidrogênio desempenha controle desses peróxidos endógenos, por meio do ciclo oxido (Fridovich, 1986). Sendo assim, a redução na atividade dessa enzima, poderá resultar na diminuição da prevenção de danos oxidativos. A exemplo do ocorrido com as sementes de girassol, onde observaram decréscimo na atividade da enzima catalase, associada a perda da viabilidade (Baily et al. 1996). Na Figura 8 foi possível observar que no envelhecimento acelerado tradicional as sementes sofreram uma maior deterioração, confirmado pela menor quantidade e intensidade de bandas comparadas ao envelhecimento com solução saturada.

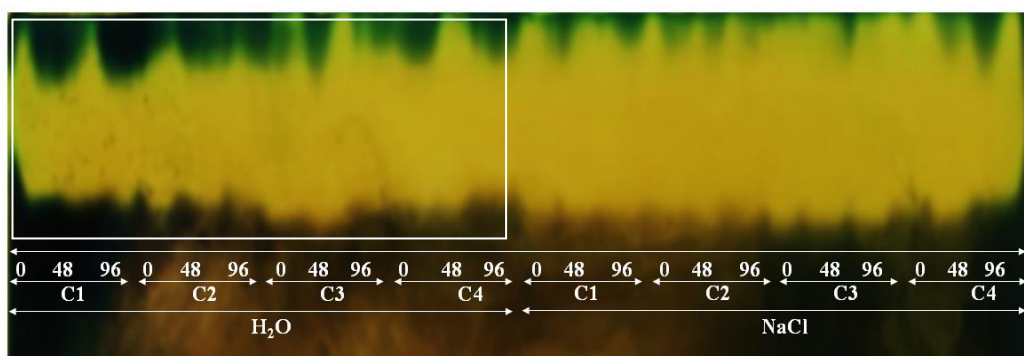


Figura 8. Expressão da enzima catalase extraída das sementes de gergelim das cultivares G2 (C1), G3 (C2), G4 (C3) e BRS SEDA (C4), submetidas ao teste de envelhecimento acelerado tradicional (H_2O) e com solução saturada de cloreto de sódio (NaCl) por diferentes períodos (0,48 e 96 horas).

Esses resultados corroboram com Demirkaya et al. 2010, que afirma que a diminuição geral da atividade da CAT na semente diminui a capacidade respiratória, reduzindo o fornecimento de energia (ATP; trifosfato de adenosina), para a germinação das sementes.

Face ao exposto, quando se comparam os resultados de expressão das isoenzimas e dos resultados observados nos testes fisiológicos em sementes submetidas ao envelhecimento acelerado tradicional e com solução saturada de NaCl, foi possível visualizar que houve variação significativa na intensidade da expressão isoenzimática, conforme avança o processo deterioração das sementes.

4 CONCLUSÃO

O teste de envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl a 45 °C pelo período de 48 horas é eficiente para avaliar a qualidade de sementes de gergelim.

Há variações no padrão de expressão das enzimas EST, CAT, ADH e ICL durante os processos de envelhecimento acelerado para sementes de gergelim.

O padrão da enzima esterase para as sementes de gergelim submetidas ao envelhecimento acelerado tradicional pelo período de 48 horas foi capaz de distinguir as cultivares 1 das demais cultivares.

5 REFERÊNCIAS

AHMAD, M.; ULLAH, K.; KHAN, M.A.; ALI, S.; ZAFAR, M.; SULTANA, S. Quantitative and qualitative analysis of sesame oil biodiesel. **Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects**, vol. 33, n.13, p. 1239-1249, 2011.

ALFENAS, A. C. et al. **Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais**. Viçosa, MG: UFV, 1991. v24.

Allen, R. D. 1995. Dissection of oxidative stress tolerance using transgenic plants. **Plant Physiol.** v. 107, p.1049-1054. 1995.

ALVES, C.Z.; SÁ, M.E. Adequação da metodologia do teste de envelhecimento acelerado em sementes de rúcula. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, p. 2789-2798, 2012.

ALVES, C.Z.; SÁ, M.E. Avaliação do vigor de sementes de rúcula pelo teste de lixiviação de potássio. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 32, n.2, p. 108-116, 2010.

ANDRADE, P. B.; FREITAS, B. M.; ROCHA, E. E. M.; LIMA, J. A.; RUFINO, L. L. Biologia e polinização de flores requisitos de gergelim (*Sesamum indicum* L.). **Acta Scientiarum - Ciências Animas**, v. 36, n. 1, p. 93-99, 2014.

ANTONIASSI, R.; ARRIEL, N. H. C.; GONÇALVES, E. B.; FREITAS, S. C.; ZANOTTO, D. L.; BIZZO, H.. Influência das condições de cultivo na Composição da semente e do óleo de gergelim. **Revista Ceres** , v. 60, n. 3, p. 301-310, 2013.

ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS (AOSA). **Seed vigor testing handbook**. East Lasing: AOSA, 1983. (Contribution, 32).

AUNG, U. T.; MCDONALD, M. B. Changes in esterase activity associated with peanut (*Arachis hypogaea* L.) seed deterioration. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 23, n. 1, p. 101-111, Jan./Apr. 1995.

ÁVILA, M. R.; BRACINI, A. L.; SCAPIM, C.A.; MARTORELLI, D.T.; ALBRECHT, L. P. Testes de laboratório em sementes de canola e a correlação com a emergência das plântulas em campo. **Revista Brasileira de Sementes**, v.27, n.1, p.62-76, 2005.

ÁVILA, P.F.V.; VILELLA, F.M.; ÁVILA, M.S.V. Teste de envelhecimento acelerado para avaliação do potencial fisiológico de sementes de rabanete. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 28, n.3, p.52-58, 2006.

ÁVILA, P.F.V.; VILELLA, F.M.; ÁVILA, M.S.V. Teste de envelhecimento acelerado para avaliação do potencial fisiológico de sementes de rabanete. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n.3, p.52-58, 2006.

BAILLY, C.; BENAMAR, A.; COBINEAU, F.; CÔME, D. Changes in malondialdehyde content and in superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase activities in sunflower seeds as related to deterioration during accelerated aging. **Physiologia Plantarum**, v. 97, n. 1, p. 104-110, 1996.

BARBOSA, R. M.; COSTA, D. S. ; SA, M. E.. Envelhecimento acelerado de Sementes de Espécies oleráceas. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 41, n. 3, p. 328-335,2011.

BARR, A.; BENNETT, M. & GRASSBAUGH, E. Seed vigor evaluation of su, se, and sh2 sweet corn genotypes using the saturated salt accelerated aging test. **In:INTERNATIONAL SEED TESTING CONGRESS**, 25, Pretoria, 1998. Abstracts. Pretoria: ISTA, 1998. p.92-93.

BENNET, M. **Sesame seed**: A Handbook for Farmers and Investors, 2011. Disponível: www.agmrc.org/media/cm/sesame_38F4324EE52CB.pdf. Acesso em: jun.2016.

BERTOLINI, B.C.; SÁ, M.E.; MOREIRA, E.R. Parâmetros do teste de envelhecimento acelerado para determinação do vigor de sementes de feijão. **Revista Brasileira de Sementes**, v.33, n.1, p. 104-112, 2011.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds**: physiology of development and germination. New York: Plenum Press, 1994. 445p.

BORCHANI, C., BESBES, S., BLECKER, C. H. & ATTIA, H. Chemical Characteristics and Oxidative Stability of Sesame Seed, Sesame Paste, and Olive Oils. **Journal of Agriculture, Science and. Technology**, v.12, p.585-596, 2010.

BRASIL. Congresso Nacional. Instrução Normativa nº 45, de 17 de setembro de 2013. Dispõe sobre os padrões para a produção e a comercialização de sementes. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 18 set. 2013. Seção 1, p. 16.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 395p.

BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W. ; JONES, R.L., **Bioquímica e biologia molecular de plantas** . Sociedade Americana de Plantas fisiologistas: Rockville, Maryland, 2005. 451p.

CALDEIRA, S. F.; PEREZ, S. C. J. G. de A. Envelhecimento acelerado como teste de vigor para diásporos de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. Allem). **Revista Árvore**. v. 34, n. 2, p. 215-221, 2010.

CAMARGO, R. **Armazenamento de sementes de milho doce**. 2003. 81 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

CARVALHO, D., OLIVEIRA, R. A., L. M., OLIVEIRA, A. F. ; GEMAQUE, R. C. R. . Eletroforese de proteínas e isoenzimas em sementes de *Copaifera langsdorffii* Desf. (leguminosa e caesalpinoideae) envelhecidas artificialmente. **Revista Árvore**, v.30, p.19-24, 2006.

CARVALHO, E. R., MAVAIEIE, D. P. R., OLIVEIRA, J. A., CARVALHO, M. V. AND VIEIRA, A. R. Alterações isoenzimáticas em sementes de cultivares de soja em diferentes condições de armazenamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** v.49 p. 967-976. 2014.

CIONI, M.; PINZAUTI, G.; VANNI, P. Comparative biochemistry of the glyoxylate cycle. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Oxford, v.70, n.1, p.1-26, 1981. Coolbear P (Mechanisms of seed deterioration. In AS Basra, ed, Seed Quality: Basic Mechanisms and Agricultural Implications. **Food Product Press**, New York, pp 223–277. 1995.

- CRUZ, S. M. et al. Testes de vigor para avaliação de crambe (*Crambe abyssinica* Hochst) a qualidade das sementes. **Jorn. Seeds Sci.** , v. 35, n. 4, p. 485-494, 2013.
- DELOUCHE, J.C. Germinação, deterioração e vigor da semente. **Revista Seed News**, v.6, n.6, p.24-31, 2002.
- DEMIRKAYA, M.; DIETZ, K. J.; SIVRITEPE, H. O. Changes in antioxidant enzymes during aging of onion seeds. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici**, v. 38, n. 1, p. 49-52, 2010.
- DESSAR, B.B. KOTTECHA, P. M. , SALUNKHE, D. K. (1997) **Seeds handbook** . Plenum. New York , USA. p. 627, 1997.
- DEUNER, C., MAIA, M. S., DEUNER, S., ALMEIDA, A. & MENEGHELLO, G. E. Viabilidade e atividade antioxidante de sementes de genótipos de feijão-miúdo submetidos ao estresse salino. *Revista Brasileira de Sementes*, v3, p. 711-720, 2011.
- EATON, J. W. Catalases and peroxidases and glutathione and hydrogen peroxide: mysteries of the bestiary. **J. Lab. Clin. Med.**, St. Paul, v. 118, n. 1, p. 3-4, jul. 1991.
- FAO-Organização para Alimentação e Agricultura, 2016. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>>. Acesso em: 22 de abril de 2016.
- FAZELI, F.; GHORBANLI, M.; NIKNAM, V. Effect of drought on water relations, growth and solute accumulation in two sesame cultivars. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v.9, n.9, p.1829-1835, 2006.
- FERREIRA, CA *et al.* Identificação de cultivares de *Gladiolus* sp. POR Meio de Marcadores genético-bioquímicos e de RAPD. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental** , v. 15, n. 2, p. 115-126, 2009.
- FERREIRA, D. F. **SISVAR- Sistema de análise de variância para dados balanceados**: programa de análises estatísticas e planejamento de experimentos, versão 4.1. Lavras: UFLA, 2000.

FESSEL, S.A.; SILVA, L.J.R.; SADER, R. Teste de condutividade elétrica para avaliar a qualidade fisiológica de sementes de brócolis (*Brassica oleracea* L. var. *italica* Plenck). **Científica**, v.33, n.1, p.35-41, 2005.

FRIDOVICH, I. Biological effects of the superoxide radical. **Archives Biochemistry and Biophysics**, v. 147, n. 1, p. 1-11, 1986.

GORDIN, C. R. B. ; SCALON, S. DE P. Q.; MASETTO, T. E. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de niger. **J. Seeds Sci.** , v. 37, n. 3, p. 234-240, 2015.

HAMPTON, J. G.; TEKRONY, D. M. (Ed.). **Handbook of vigour test methods**. 3rd. ed. Zurich: International Seed Testing Association, 1995. p. 117.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. **Handbook of vigour test methods**. Zürich: ISTA, 1995. 117p.

JAIN, N.; KOOPAR, R.; SAXENA, S. Effect of accelerated ageing on seeds of radish (*Raphanus sativus* L.). **Asian Journal of Plant Sciences, Bholakpur**, v.5, n.3, p.461-464, 2006.

JIANHUA, Z.; McDONALD, M.B. The saturated salt accelerated aging test for small-seeded crops. **Seed Science and Technology**, v.25, n.1, p.123-131, 1996.

KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA NETO, J. B.; HENNING, A. A.; COSTA, N. P. **A semente de soja como tecnologia e base para altas produtividades – série sementes**. Londrina: Embrapa, 2008.

KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina : ABRATES, 1999. cap. 8.2, p. 1-8.

LIMA, F. A.; SOUSA, G. G. de; VIANA, T. V. de A.; PINHEIRO NETO, L. G.; AZEVEDO, B. M.; CARVALHO, C. M. de. Irrigação da cultura do gergelim em solo com biofertilizante bovino. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, v.7, n.???, p.102-111, 2013.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination: aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.

MALLICK, N.; MOHN, F. H. Reactive oxygen species: response to alga cells. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 157, n. 2, p. 183-193, 2000.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495p.

MARTINS, C.C.; SENEME, A.M.; CASTRO, M.M.; NAKAGAWA, J.;CAVARIANI, C. Comparação entre métodos para avaliação do vigor de lotes de sementes de couve-brócolos (*Brassica oleracea L. var. itálica* PLENK). **Revista Brasileira de Sementes**, v.24, n.2, p.96-101, 2002.

MARTINS, C.C.; SENEME, A.M.; CASTRO, M.M.; NAKAGAWA, J.;CAVARIANI, C. Comparação entre métodos para avaliação do vigor de lotes de sementes de couve-brócolos (*Brassica oleracea L. var. itálica* PLENK). **Revista Brasileira de Sementes**, v.24, n.2, p.96-101, 2002.

MENDES, R.C.; DIAS, D.C.F.S.; PEREIRA, M.D.; DIAS, L.A.S. Testes de vigor para avaliação do potencial fisiológico de sementes de mamona (*Ricinus communis L.*). **Ciências Agrotecnica.**, v.34, n.1, p.114-120, 2010.

MESQUITA, J.B.R.; AZEVEDO, B.M.; CAMPELO, A.R.; FERNANDES, C.M.V.; VIANA, T.V.A. Crescimento e produtividade da cultura do gergelim (*Sesamum indicum L.*) sob diferentes níveis de irrigação. **Irriga**, v.18, n.2, p.364-375, 2013.

MOLLER, I.M.; JENSEN, P.E. & HANSSON, A. . Oxidative modifications to cellular components in plants. **Annual Review of Plant Biology**. v58, p. 459-481. 2007.

MORAES, A. C. P. ; BARBOSA, R. M.; UNÊDA-TREVISOLI, S. H.; VIEIRA, B. G. T. L. ; VIEIRA, R. D. Enzymatic activity pattern in peanut seeds at different periods os artificial aging , **Journal od Food** , Agriculture & Environment V. 14 n.2, p.54-58, 2016

MORAIS, C.S.B.; ROSSETTO, C.A.V. Teste de deterioração controlada e envelhecimento acelerado para avaliação do vigor de nabo forrageiro. **Revista Ciência Agronômica**, v.44, n.4, p. 703-713, 2013.

NERY, M.C.; CARVALHO, M.L.M.; GUIMARÃES, R. M. Testes de vigor para avaliação da qualidade de sementes de nabo forrageiro. **Informativo Abrates**, Londrina, v.19, n.1, p.9-20, 2009.

NOBRE, D. A. C.; Trogello, E.; Morais, D. L. B; Brandão Junior, D. S. Qualidade da Semente do gergelim preto (*Sesamum indicum L.*) em Diferentes épocas de Colheita. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 4, p. 609-616, 2013.

OBIJUNWA, E.I., ADEBIYI, F.M., OMODE, P.E. Determination of essential minerals and trace elements in Nigerian sesame seeds, using TXRF technique. **Pakistan Journal of Nutrition**, v.4, i.6, p.393–395, 2005.

OLIVEIRA, E.M.; COSTA, C.C. Qualidade fisiológica de gergelim armazenado em diferentes condições de conservação. **Engenharia Ambiental**, v.6, n.3, p. 395-403, 2009.

PANOBIANCO, M. & MARCOS-FILHO, J. Envelhecimento acelerado e deterioração controlada em sementes de tomate. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.58, n.3, p.525-531, 2001.

PARERA, C.A.; CANTLIFFE, D.J. Presowing seed priming. **Horticultural Reviews**, New York, v.16, p.109- 141, 1994.

PAULA, J. E.; IMAÑA-ENCINAS, J.; PEREIRA, B. A. S. Parâmetros volumétricos e da biomassa da mata ripária do Córrego dos Macacos. **Cerne**, Lavras v. 2, n. 2, p. 21-28, Jul./dez.1998.

PEREIRA, M.D.; FILHO, S.M.; LAVIOLA, B.G. Envelhecimento acelerado em sementes de pinhão- manso. **Pesquisa Agropecuária Tropical.**, v.42, n.1, p.119-123, 2012.

PERIN, A. ; CRUVINEL, D. J.; SILVA, J. W.. Desempenho do gergelim em Função da adubação NPK e fazer nível de Fertilidade do Solo. **Acta Scientiarum. Agronomy**. v. 32, n. 1, p. 93-98, 2010.

PESKE, S.T.; VILELLA, F.A.; MENEGHELLO, G.E. **Sementes: Fundamentos Científicos e Tecnológicos**. Pelotas, RS: 3ª edição, 2012. 573 p.

QUEIRORA, V.P.; BORBA, F.G.; ALMEIDA, K.V.; SOUSA, W.J.B.; JERÔNIMO, J.F.; QUEIROGA, D.A.N. Qualidade fisiológica e composição química das sementes de gergelim com distintas cores. **Revista Agroambiente On-line**, v.4, n.1, p.27-33, 2010.

RAMOS, N.P.; FLOR, E.P.O.; MENDONÇA, E.A.F.; MINAMI, K. Envelhecimento acelerado em sementes de rúcula (*Eruca sativa* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.26, n.1, p.98-103, 2004.

RODO, A.B.; PANOBIANCO, M.; FILHO, J.M. Metodologia alternativa do teste de envelhecimento acelerado para sementes de cenoura. **Ciências Agrícolas**, v.57, n.2, p.289-292, 2000.

ROLLWAGEN, D.G.; CARVALHO, R.I.N. Qualidade fisiológica de sementes de camomila [*Chamomilla recutita* (L.) Rauschert] após envelhecimento acelerado e estresse salino. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, n.2, p.139-145, 2011.

ROSSETTO, C.A.V.; LIMA, T.M.; GUIMARÃES, E.C. Envelhecimento acelerado e deterioração controlada em sementes de amendoim. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.8, p.795-801, 2004.

SAATH, R., BROETTO, F., BIAGGIONI, M. A. M., BORÉM, F. M., ROSA, S. D. V. F. AND TAVEIRA, J. H. S. 2014. Activity of some isoenzymatic systems in stored coffee grains. **Ciências. Agrotecnicas**. v.38 ,p.15-24,2014.

SAYDUT, A.; DUZ, M. Z.; KAYA, C.; KAFADAR, A. B.; HAMAMCI, C. Transesterified sesame (*Sesamum indicum* L.) seed oil as a biodiesel fuel. **Biosource Technology**, v.99, i.14, p.6656-6660, 2008.

Scandalios, J. G. Oxygen stress and superoxide dismutases. **Plant Physiol** v. 101, p. 7-12 1993.

SCANDALIOS, J. G. Isoenzymes in development and differentiation. **Annual Review of Plant Physiology**, Stanford, v. 25, p. 255-258,1974.

SCANDALIOS, J. G. Oxygen stress and superoxide dismutases. **Plant Physiology**. v.10, p.7-12 n.32, 1993.

SHATTERS, R. G. JR., ABDELGHANY, A., ELBAGOURY, O., WEST, S. H. . Soybean seed deterioration and response to priming: Changes in specific enzyme activities in extracts from dry and germinating seeds. **Seed Sci. Res.**v. 4 p. 33-41. 1994

SILVA, C. B. et al. Teste de Envelhecimento acelerado Para Avaliação do potencial fisiológico de Sementes de grama-bermuda. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 32, n. 2, p. 102-107, junho de 2010.

SILVA, J. C.A. da et al. Crescimento e Produção de genótipos de gergelim em Função de lâminas de Irrigação. **Revista brasileira Engenharia Agrícola e Ambiente**. , v. 18, n. 4, p. 408-416, 2014.

TILDEN, R.L.; WEST, S.H. Reversal of the effects of aging in soybean seeds. **Plant Physiology**, v.77, p.584-586, 1985.

- TORRES SB; BEZERRA NETO FB. Teste de Envelhecimento acelerado Pará Avaliação do potencial fisiológico de Sementes de urucum. **Horticultura Brasileira** 27: 55-58, 2009.
- TORRES, S. B.; BEZERRA-NETO, F. Teste de envelhecimento acelerado para avaliação do potencial fisiológico de sementes de urucum. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 1, p. 55-58, ,2009.
- TORRES, S.B. Envelhecimento acelerado em sementes de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L.) **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.36, n.1, p.98-104, 2005.
- TORRES, S.B. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de erva-doce. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 26, n.2, p.20-24, 2004.
- TUNDE-AKINTUDE, T.Y., AKINTUDE, B.O. Some physical properties of sesame seed. **Biosystems Engineering**, v.88, i.1, p.127–129, 2004.
- TUNES LM; BADINELLI PG; OLIVO F; BARROS ACSA. . 2009. Teste de Envelhecimento acelerado em cevada **Magistra** v.21, p. 111-119. 2011.
- TUNES, L.M.; PEDROSO, D.C.; GADOTTI, G.I.; MUNIZ, M.F.B.; BARROS, A.C.S.A.; VILLELA, F.A. Accelerated aging to assess parsley seed vigor. **Horticultura Brasileira.**, v. 31, n. 3, 2013.
- VEIGA, A. D. et al. Influência do potássio e da calagem na composição química, qualidade fisiológica e na atividade enzimática de sementes de soja. **Ciência e Agrotecnologia**. v.34, p.953-960, 2010.
- VENTURA, L.; DONÀ, M.; MACOVEI, A.; CARBONERA, D.; BUTTAFAVA, A.; MONDONI, A.; ROSSI, G.; BALESTRAZZI, A. Understanding the molecular pathways associated with seed vigor. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.60, p.196-206, 2012.
- VIEIRA, B. G. T. L., BARBOSA, R. M., UNÊDA-TREVISOLI, S. H., DI MAURO, A. O. VIEIRA, R. D. Biochemical alterations in soybean seeds with harvesting time and storage temperature. **J. Food, Agric.** v. 11,p.887-891, 2013.

VIEIRA, E.S.N.; SCHUSTER, I.; SILVA, R.B.; OLIVEIRA, M.A.R. Variabilidade genética em cultivares de soja determinada com marcadores microssatélites em gel de agarose. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, n.11, p.1460-1466, 2009.

ZHANG, M.; MAEDA, Y.; FURIHATA, Y.; NAKAMURU, Y.; ESASHI, Y. Mechanism of seed deterioration in relation to the compounds involved by dry seeds themselves. **Seed Sci. Res.**, v. 4, n. 1, p.49-56, mar. 1994.

ZORATO, M. F.; PESKE, S.; TAKEDA, C.; FRANÇANETO, J. B. Sementes esverdeadas em soja: testes alternativos para determinar a sua qualidade. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 1, p. 1-10, 2007.