



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

KLEANE TARGINO OLIVEIRA PEREIRA

**CICLOS DESCONTÍNUOS DE HIDRATAÇÃO COM ELICITORES DO ESTRESSE  
SALINO EM SEMENTES DE ESPÉCIES CULTIVADAS E FLORESTAIS**

MOSSORÓ

2022

KLEANE TARGINO OLIVEIRA PEREIRA

**CICLOS DESCONTÍNUOS DE HIDRATAÇÃO COM ELICITORES DO ESTRESSE  
SALINO EM SEMENTES DE ESPÉCIES CULTIVADAS E FLORESTAIS**

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

Linha de Pesquisa: Tecnologia de Sementes

Orientador: Salvador Barros Torres, Prof. Dr.

Coorientadora: Emanoela Pereira de Paiva, Prof. Dr.

MOSSORÓ

2022

©Todos os direitos estão reservados à Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996, e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tornar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata, exceto as pesquisas que estejam vinculadas ao processo de patenteamento. Esta investigação será base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) seja devidamente citado e mencionado os seus créditos bibliográficos.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Biblioteca Central Orlando Teixeira (BCOT)  
Setor de Informação e Referência (SIR)

P436c Pereira, Kleane.

Ciclos Descontínuos de hidratação com elicitores do estresse salino em sementes de espécies cultivadas e florestais / Kleane Pereira. - 2022.

92 f. : il.

Orientador: Salvador Barros Torres.

Coorientadora: Emanoela Pereira de Paiva.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, 2022.

1. Potencial fisiológico. 2. Homeostase osmótica. 3. Memória hídrica. 4. Salinidade. I.

Barros Torres, Salvador, orient. II. Pereira de Paiva, Emanoela, co-orient. III. Título.

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

KLEANE TARGINO OLIVEIRA PEREIRA

**CICLOS DESCONTÍNUOS DE HIDRATAÇÃO COM ELICITORES DO ESTRESSE  
SALINO EM SEMENTES DE ESPÉCIES CULTIVADAS E FLORESTAIS**

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

Linha de Pesquisa: Tecnologia de Sementes

Defendida em: 21 / 10 / 2022.

**BANCA EXAMINADORA**



---

Salvador Barros Torres, Prof. Dr. (UFERSA)  
Orientador e Presidente



---

Emanoela Pereira de Paiva, Dra. (UFERSA)  
Coorientadora



---

Clarisse Pereira Benedito, Profª Dra. (UFERSA)  
Membro Examinador



---

Charline Zaratín Alves, Profª Dra. (UFMS)  
Membro Examinador

Rômulo Carantino Lucena Moreira

---

Rômulo Carantino Lucena Moreira, Dr. (UFCG)  
Membro Examinador

Givalnido Zildo da Silva

---

Givalnido Zildo da Silva, Prof. Dr. (UFJ)  
Membro Examinador

*Aos meus avós, Salete Targino Oliveira e Benedito Xavier de oliveira, e aos meus tios maternos (In Memoriam), que com certeza estariam felizes com minha jornada.*

*DEDICO*

*A toda a minha família, em especial ao meu esposo, Maxwell, e ao nosso filho, Matias. Obrigada por serem o incentivo que necessito nessa jornada.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que é o autor e consumidor da minha fé, me concedeu saúde, sabedoria, força e perseverança para seguir nessa jornada e realizar mais essa conquista.

A toda a minha família, em especial ao meu esposo Maxwell, pelo amor, apoio e paciência durante todos esses anos. Por ter me segurado todas as vezes que caí e me ajudado a levantar.

À Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) e seu corpo docente, que oportunizaram uma educação de qualidade; especialmente ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, o qual tenho muito orgulho de integrar.

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

Ao meu orientador, professor D. Sc. Salvador Barros Torres, pela disponibilidade e ensinamentos repassados. À minha coorientadora, D. Sc. Emanoela Pereira de Paiva, pela ajuda durante a realização deste trabalho.

Ao amigo D. Sc. Francisco Vanies da Silva Sá, por todas as contribuições durante todo o desenvolvimento e execução deste trabalho. Obrigada por todos os ensinamentos, acolhimento, vivências compartilhadas e por acreditar em mim.

Às empresas Gransafra Sementes e EMPARN; aos guardiões de sementes crioulas; e ao projeto Caatinga, por terem disponibilizado as sementes utilizadas nesta pesquisa.

Aos membros da banca da qualificação e defesa que se dispuseram a participar desse momento e contribuir na avaliação e enriquecimento deste trabalho.

A toda a equipe do Laboratório de Análises de Sementes (LAS), em especial a Clarisse, Lilia, Emanoela, Tatianne, Sara, Valéria, Jéssica, Renata e Moadir, pela troca de experiência durante esses anos, pela ajuda e companheirismo na condução de todos os nossos trabalhos. Agradeço também pela amizade compartilhada ao longo desses anos de graduação e pós-graduação.

Aos que estão chegando ao Laboratório de Análises de Sementes, Emerson, Roseane, Giovanna e Eduardo, que também contribuíram de alguma maneira para a realização do nosso trabalho.

A todos os que acompanharam este percurso, me deram forças e torceram por mim. Minha eterna gratidão.

- Não fui eu que ordenei a você? Seja forte e corajoso! Não se apavore nem desanime, pois o senhor, o seu Deus, estará com você por onde você andar.  
- Eu creio, amém!

(Josué 1:9)



## RESUMO

O estresse salino reduz a disponibilidade hídrica e afeta os processos iniciais de germinação. Com isso, a hidratação das sementes é o primeiro processo afetado, seguida pela redução do crescimento de plântulas. Nas regiões áridas e semiáridas, a indisponibilidade hídrica ocorre naturalmente pelas condições ambientais e climáticas que caracterizam estas regiões, podendo ser intensificada por ações antrópicas. Ciclos descontínuos de hidratação ocorrem naturalmente nestas regiões. Isso tem favorecido a germinação e promovido a aclimação das espécies vegetais nativas que ocorrem nas regiões, como a *Mimosa caesalpinifolia* e *Pityrocarpa moniliformis*, ou para as espécies agrícolas em condição de sequeiro, como *Zea mays* e *Vigna unguiculata*. A aplicação estratégica dos ciclos descontínuos de hidratação em conjunto com elicitores de tolerância ao estresse abiótico nas sementes pode melhorar a germinação e a sobrevivência das plântulas em condições de baixo potencial osmótico induzido pelo estresse salino. Objetivou-se avaliar a ação de ciclos descontínuos de hidratação com diferentes agentes elicitores contra o estresse salino em sementes de milho e feijão-caupi, assim como nas espécies florestais *M. caesalpinifolia* e *P. moniliformes*. Nas culturas agrícolas, o experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, seguindo o arranjo fatorial 2 x 7, com quatro repetições de 50 sementes. As sementes de milho, cv. BR 206 e a BRS 5037 Cruzeta, e as sementes de feijão-caupi, var. Sempre Verde e Pingo de Ouro, foram submetidas aos seguintes tratamentos: 0,0 mM de NaCl; estresse salino - 250 mM de NaCl (milho) e 100 mM de NaCl (feijão-caupi); estresse salino + três ciclos descontínuos de hidratação das sementes em água; estresse salino + CDH com ácido giberélico; estresse salino + CDH em peróxido de hidrogênio; estresse salino + CDH em ácido salicílico; e estresse salino + CDH em ácido ascórbico. Para as florestais, o experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado seguindo o arranjo fatorial 2 x 12, com quatro repetições de 30 sementes. As sementes florestais foram submetidas aos tratamentos controle e salino simulado com 200 mM de NaCl. Os demais tratamentos foram semelhantes aos adotados para as espécies agrícolas, mas aplicados em um e dois ciclos de hidratação. O estresse salino reduziu a germinação, comprimento e acúmulo de biomassa em plântulas de espécies agrícolas e florestais. Os CDH beneficiaram a germinação, comprimento e acúmulo de biomassa de plântulas de milho, feijão-caupi e das espécies florestais sob estresse salino, principalmente por induzir a síntese de osmoprotetores. Os CDH em ácidos giberélico e salicílico mitigaram os efeitos do estresse salino na formação de plântulas de milho e feijão-caupi que se aclimataram e resultaram em maior potencial germinativo, comprimento e biomassa sob estresse salino de 250 e 100 mM NaCl, respectivamente. Para as espécies florestais, um ciclo de priming em água e dois de priming com ácido giberélico promoveram maior tolerância ao estresse salino de 200 mM NaCl para *P. moniliformis* e *M. caesalpinifolia*, respectivamente.

**Palavras-chave:** Potencial fisiológico. Homeostase osmótica. Memória hídrica. Salinidade.

## ABSTRACT

Salt stress reduces water availability and affects early germination processes. Thus, seed hydration is the first process affected, followed by reduced seedling growth. In arid and semi-arid regions, water unavailability occurs naturally due to the environmental and climatic conditions that characterize these regions, but can be intensified by human actions. Discontinuous hydration cycles occur naturally in these regions. This has favored germination and promoted the acclimatization of native plant species that occur in the regions, such as *Mimosa caesalpinifolia* and *Pityrocarpa moniliformis*, or for species cultivated under rainfed conditions, such as *Zea mays* and *Vigna unguiculata*. The strategic application of discontinuous hydration cycles in conjunction with abiotic stress elicitors in seeds can improve germination and seedling survival in conditions of low osmotic potential induced by saline stress. The objective of this study was to evaluate the effects of discontinuous hydration cycles with different salt stress elicitors in maize and cowpea seeds, as well as in the forest species *M. caesalpinifolia* and *P. moniliformis*. In agricultural crops, the experiment was carried out in a completely randomized design following a 2 x 7 factorial arrangement, with four replications of 50 seeds. Corn seeds, cv. BR 206 and BRS 5037 Cruzeta, and cowpea seeds, var. Semper Verde and Pingo de Ouro, were submitted to the following treatments: 0.0 mM NaCl; salt stress - 250 mM NaCl (corn) and 100 mM NaCl (cowpea); salt stress + three discontinuous cycles of seed hydration in water; salt stress + DHC with gibberellic acid; salt stress + DHC in hydrogen peroxide; salt stress + DHC in salicylic acid; and salt stress + DHC in ascorbic acid. For the forest species, the experiment was carried out in a completely randomized design following the 2 x 12 factorial arrangement, with four replications of 30 seeds. The forest seeds were submitted to control and simulated saline treatments with 200 mM of NaCl. The other treatments were similar to those adopted for agricultural species, but applied in one and two cycles. Salt stress reduced germination, growth and biomass accumulation in seedlings of agricultural and forestry species. DHC benefited the germination, growth and biomass accumulation of seedlings of maize, cowpea and forest species under saline stress, mainly by inducing the synthesis of osmoprotectants. DHC in gibberellic and salicylic acids mitigated the effects of saline stress on maize and cowpea seedling formation that acclimated and resulted in higher germination potential, growth and biomass under saline stress of 250 and 100 mM NaCl, respectively. For the forest species, one cycle of priming in water and two of priming with gibberellic acid promoted greater tolerance to the saline stress of 200 mM NaCl for *P. moniliformis* and *M. caesalpinifolia*, respectively.

**Keywords:** Physiological potential. Osmotic homeostasis. Water memory. Salinity.

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO I

- Figura 1 – Curva de embebição de sementes de milho (*Zea mays* L.), cultivares BRS 5037 Cruzeta e BR 206, pelo método de imersão em água a 25 °C. Início da emissão radicular (ER). Fonte: Elaborada pela autora.....29
- Figura 2 – Médias da primeira contagem de germinação (PCG), germinação (G), comprimento da parte aérea (CPA) e comprimento da raiz (CR) de *Zea mays* L. submetidas a elicitores de tolerância ao estresse salino em três ciclos descontínuos de hidratação (CDH): Água destilada (H<sub>2</sub>O), ácido giberélico (AG<sub>3</sub>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ácido salicílico (AS), ácido ascórbico (ASC).....33
- Figura 3 – Médias da massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), massa seca total (MST) e índice de tolerância à salinidade (ITS) de plântulas de *Zea mays* L. submetidos a elicitores de tolerância ao estresse salino em três ciclos descontínuos de hidratação (CDH): Água destilada (H<sub>2</sub>O), ácido giberélico (AG<sub>3</sub>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ácido salicílico (AS), ácido ascórbico (ASC).....34
- Figura 4 – Testes de média para a quantificação de açúcares solúveis totais (AST), aminoácidos (AA) e prolina (PRO) em plântulas de *Zea mays* L. submetidas a elicitores de tolerância ao estresse salino em três ciclos descontínuos de hidratação (CDH): Água destilada (H<sub>2</sub>O), ácido giberélico (AG<sub>3</sub>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ácido salicílico (AS), ácido ascórbico (ASC).....36
- Figura 5 – Aspectos morfológicos de plântulas de milho (*Zea mays* L.), cultivar BR 206 e BRS 5037 Cruzeta submetidas a elicitores de tolerância ao estresse salino em três ciclos descontínuos de hidratação (CDH): Água (H<sub>2</sub>O), ácido giberélico (AG<sub>3</sub>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ácido salicílico (AS), ácido ascórbico (ASC).....37

### CAPÍTULO II

- Figura 1 – Curva de embebição de sementes de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.), variedades Sempre Verde e Pingo de Ouro, pelo método de imersão em água a 25° C Início da emissão radicular (ER). Fonte: Elaborada pela autora.....52
- Figura 2 – Médias da primeira contagem de germinação (PCG), germinação (G), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento da raiz (CR) em plântulas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.), variedades Sempre Verde e Pingo de Ouro, submetidas a elicitores de tolerância ao estresse salino em três ciclos descontínuos de hidratação (CP). Água (H<sub>2</sub>O), ácido giberélico (AG<sub>3</sub>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ácido salicílico (AS), ácido ascórbico (ASC).....55
- Figura 3 – Aspectos morfológicos de plântulas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.), variedades Sempre Verde e Pingo de Ouro, submetidas a elicitores de tolerância estresse salino em três ciclos descontínuos de hidratação. Água (H<sub>2</sub>O), ácido giberélico (AG<sub>3</sub>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ácido salicílico (AS), ácido ascórbico (ASC).....56
- Figura 4 – Médias da massa seca dos cotilédones (MSCOT), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca da raiz (MSR) de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.), variedades Sempre Verde e Pingo de Ouro, submetidos a elicitores de tolerância ao estresse salino em três ciclos descontínuos de hidratação (CP). Água (H<sub>2</sub>O), ácido giberélico (AG<sub>3</sub>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ácido salicílico (AS), ácido ascórbico (ASC).....57
- Figura 5 – Índice de tolerância à salinidade da parte aérea (ITSPA) e raiz (ITSR) de plântulas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.), variedades Sempre Verde e Pingo de Ouro, submetidos a elicitores de tolerância ao estresse salino em três ciclos descontínuos de hidratação (CP). Água (H<sub>2</sub>O), ácido giberélico (AG<sub>3</sub>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ácido salicílico (AS), ácido ascórbico (ASC).....58
- Figura 6 – Testes de média para a quantificação de açúcares solúveis totais (AST), aminoácidos (AA) e prolina (PRO) em plântulas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.), variedades Sempre Verde e Pingo de Ouro, submetidas a elicitores de tolerância ao estresse salino em três ciclos descontínuos de hidratação (CP). Água (H<sub>2</sub>O), ácido giberélico (AG<sub>3</sub>), peróxido de hidrogênio

(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ácido salicílico (AS), ácido ascórbico (ASC).....59

### CAPÍTULO III

- Figura 1 – Curva de embebição de sementes de *Mimosa caesalpinifolia* Benth. e *Pityrocarpa moniliformis* (Benth.) Luckow & R.W. Jobson pelo método de imersão em água a 25 °C. Início da emissão radicular (ER). Fonte: Elaborada pela autora.....74
- Figura 2 – Médias da primeira contagem de germinação (A) e germinação (B) de *Mimosa caesalpinifolia* e *Pityrocarpa moniliformis* submetidos a elicitores de estresse salino em ciclos de priming: Água destilada (H<sub>2</sub>O), ácido giberélico (AG<sub>3</sub>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ácido salicílico (AS), ácido ascórbico (ASC).....77
- Figura 3 – Médias do comprimento da parte aérea (A), comprimento da raiz (B) de plântulas de *Mimosa caesalpinifolia* e *Pityrocarpa moniliformis* submetidos a elicitores de tolerância ao estresse salino em ciclos de priming: Água destilada (H<sub>2</sub>O), ácido giberélico (AG<sub>3</sub>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ácido salicílico (AS), ácido ascórbico (ASC).....79
- Figura 4 – Aspectos morfológicos de plântulas de *Mimosa caesalpinifolia* submetidos a elicitores de tolerância ao estresse salino em ciclos de priming: Água (H<sub>2</sub>O), ácido giberélico (AG<sub>3</sub>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ácido salicílico (AS), ácido ascórbico (ASC).....80
- Figura 5 – Aspectos morfológicos de plântulas de *Pityrocarpa moniliformis* submetidos a elicitores de tolerância ao estresse salino em ciclos de priming: Água (H<sub>2</sub>O), ácido giberélico (AG<sub>3</sub>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ácido salicílico (AS), ácido ascórbico (ASC).....80
- Figura 6 – Médias da massa seca da parte aérea (A) e massa seca dos cotilédones (B) de plântulas de *Mimosa caesalpinifolia* e *Pityrocarpa moniliformis* submetidos a elicitores de tolerância ao estresse salino em ciclos de priming: Água destilada (H<sub>2</sub>O), ácido giberélico (AG<sub>3</sub>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ácido salicílico (AS), ácido ascórbico (ASC).....81
- Figura 7 – Médias da massa seca da raiz (A) e índice de tolerância a salinidade (B) de plântulas de *Mimosa caesalpinifolia* e *Pityrocarpa moniliformis* submetidos a

	elicitores de tolerância ao estresse salino em ciclos de priming: Água destilada (H <sub>2</sub> O), ácido giberélico (AG <sub>3</sub> ), peróxido de hidrogênio (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ), ácido salicílico (AS), ácido ascórbico (ASC).....	83
Figura 8	Teste de média para a quantificação de açúcares solúveis totais (A) e aminoácidos (B) em plântulas de <i>Mimosa caesalpiniiifolia</i> e <i>Pityrocarpa moniliformis</i> submetidas a elicitores de tolerância ao estresse salino em ciclos de priming: Água destilada (H <sub>2</sub> O), ácido giberélico (AG <sub>3</sub> ), peróxido de hidrogênio (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ), ácido salicílico (AS), ácido ascórbico (ASC).....	84
Figura 9	Teste de média para a quantificação de prolina (A) em plântulas de <i>Mimosa caesalpiniiifolia</i> e <i>Pityrocarpa moniliformis</i> submetidas a elicitores de tolerância ao estresse salino em ciclos de priming: Água destilada (H <sub>2</sub> O), ácido giberélico (AG <sub>3</sub> ), peróxido de hidrogênio (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ), ácido salicílico (AS), ácido ascórbico (ASC).....	85

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO I

- Tabela 1 – Condutividade elétrica (CE) das soluções utilizadas nos ciclos descontínuos de hidratação nas sementes de milho (*Zea mays* L.), cultivares BR 206 e BRS 5037 Cruzeta.....30

### CAPÍTULO II

- Tabela 1 – Condutividade elétrica (CE) das soluções utilizadas nos ciclos descontínuos de hidratação nas sementes de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.), variedades Sempre Verde e Pingo de Ouro.....52

### CAPÍTULO III

- Tabela 1 – Localização geográfica da coleta das sementes de *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. e *Pityrocarpa moniliformis* (Benth.) Luckow & R.W. Jobson.....73
- Tabela 2 – Condutividade elétrica (CE) das soluções utilizadas nos ciclos descontínuos de hidratação nas sementes de *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. e *Pityrocarpa moniliformis* (Benth.) Luckow & R.W. Jobson.....75

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>17</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>21</b>
<b>2 CICLOS DESCONTÍNUOS DE HIDRATAÇÃO COM ELICITORES ATENUAM O ESTRESSE SALINO EM SEMENTES DE MILHO.....</b>	<b>26</b>
2.1 INTRODUÇÃO.....	28
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	29
2.3 RESULTADOS .....	33
2.4 DISCUSSÃO.....	39
2.5 CONCLUSÕES.....	42
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>43</b>
<b>3 CICLOS DE PRIMING COM ELICITORES DE TOLERÂNCIA AO ESTRESSE SALINO EM SEMENTES DE FEIJÃO-CAUPI .....</b>	<b>48</b>
3.1 INTRODUÇÃO.....	50
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	51
3.3 RESULTADOS .....	55
3.4 DISCUSSÃO.....	61
3.5 CONCLUSÕES.....	65
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>66</b>
<b>4 CICLOS DE PRIMING COM ELICITORES DE TOLERÂNCIA AO ESTRESSE SALINO EM SEMENTES DE <i>Mimosa caesalpinifolia</i> E <i>Pityrocarpa moniliformis</i> .....</b>	<b>70</b>
4.1 INTRODUÇÃO.....	72
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	73
4.3 RESULTADOS .....	78
4.4 DISCUSSÃO.....	87
4.5 CONCLUSÕES.....	89
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>90</b>



## 1 INTRODUÇÃO GERAL

A perda de recursos provenientes do solo pelo processo de salinização impacta negativamente a produção agrícola, desde a germinação até o desenvolvimento de espécies agrícolas e florestais que ocorrem no ecossistema Caatinga. O processo de salinização é um problema global, com área estimada em ~8,31–11,73 Mkm<sup>2</sup>, que pode ser agravado nas regiões áridas e semiáridas devido em virtude da taxa de evaporação ser maior do que a de precipitação, o que favorece a formação de crostas de sais nas camadas superficiais do solo. A elevada evaporação aumenta o acúmulo de sais presentes nas águas dos aquíferos, principalmente em áreas cristalinas, que, seguido da precipitação de sais, intensifica essa problemática (ALMEIDA; FRISCHKORN, 2015; DALIAKOPOULOS et al., 2016; HASSANI; AZAPAGIC; SHOKRI, 2021).

O desempenho produtivo das plantas está diretamente ligado a uma uniformidade na germinação e vigor das sementes, além de depender das condições encontradas em campo, que são afetadas pelo excesso de sais presentes no solo, seja de origem natural ou proveniente da água de irrigação, do excesso de fertilizantes, quando manejados inadequadamente (ALMEIDA; FRISCHKORN, 2015; FERREIRA et al., 2016; SILVA et al., 2020). O efeito nocivo do excesso de sais é descrito na literatura para as culturas agrônômicas como o milho (*Zea mays* L.) e o feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.) (FERREIRA et al., 2017; ASAD et al., 2022), que apresentam redução no potencial germinativo e na formação de plântulas, assim como ocorre nas espécies florestais, *Mimosa caesalpinifolia* Benth. e *Pityrocarpa moniliformis* (Benth.) Luckow & R.W. Jobson (Fabaceae) (PEREIRA et al., 2016; SOUSA et al., 2018).

O milho (Poaceae) e o feijão-caupi (Fabaceae) são espécies cultivadas e comercializadas no mundo, sendo consumidos em todas as classes sociais, na forma de grãos secos, frescos ou imaturos; o feijão-caupi é rico em proteínas e o milho em carboidratos, importante fonte energética para humanos e animais (MELO et al., 2017; FAOSTAT, 2020). Na região nordeste do Brasil, essas culturas são consideradas fonte de renda e geração de emprego, sobretudo para os pequenos agricultores familiares (CRESPI et al., 2022). O aumento significativo da demanda de mercado consumidor do feijão-caupi agrega maiores valores aos grãos que são comercializados, com produtividade média de 451,2 mil toneladas, ao passo que o milho apresenta produtividade média de 115.662,71 mil toneladas (CONAB, 2021/22).

As espécies florestais *M. caesalpinifolia* e *Pityrocarpa moniliformis* pertencem à família Fabaceae, de ocorrência na Caatinga do nordeste brasileiro. Conhecidas como sabiá e catanduva, respectivamente, possuem múltiplos usos, sendo utilizadas para reflorestamento, recuperação de áreas degradadas, fabricação de postes, fins apícolas e forrageiros (AZERÊDO et al., 2016; SOUSA et al., 2018) e indicadas para projetos de recuperação de áreas afetadas por sais (SÁ et al., 2013; FERREIRA et al., 2021).

O processo germinativo dessas espécies é afetado desde o início pela dificuldade de absorção de água pelas sementes, exercida pela presença de sais, seguida pelas restrições metabólicas, respiratórias essenciais à sobrevivência das plântulas, podendo, em casos mais severos, ocasionar ausência de germinação (FERREIRA et al., 2017; AKTER et al., 2018; SÁ et al., 2018; SÁ et al., 2019; ASAD et al., 2022). Em laboratório, o estresse salino pode ser simulado pelo NaCl, que aumenta a retenção osmótica da água no substrato, razão pela qual reduz a hidratação das sementes, em conjunto com o estresse iônico causado pelo excesso de íons de Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> nas células vegetais, o que interfere na quebra de açúcares e na mobilização das reservas, processos indispensáveis para que a germinação prossiga e ocorram a divisão e alongamento celular necessários à formação de plântulas (PESSOA NETO, 2016; LIANG et al., 2018; SILVA et al., 2019).

O efeito em cascata é observado na forma de redução nas fases posteriores de crescimento, como, por exemplo, a diminuição do comprimento das raízes ocorre em resposta às alterações nas relações hídricas nas células vegetais, promovida pelo efeito de sais (SILVA et al., 2019; PRAXEDES et al., 2020). Na folha, o estresse salino ocasiona a redução da taxa de crescimento, além de queda na velocidade de alongamento foliar, resultando em redução do número de células e da sua taxa de alongação (WILLADINO; CAMARA, 2010). Na fase reprodutiva, o aumento da salinidade causa atraso na floração e abortamento das flores (FURTADO et al., 2014; LE et al., 2021; LOIOLA et al., 2022).

Os efeitos dos sais nas células vegetais vão além das características morfofisiológicas informadas. O aumento da concentração salina na água de irrigação prejudica a fotossíntese, a condutância estomática e a transpiração das espécies (SILVA et al., 2013). A redução da assimilação de carbono pode ser uma resposta às reduções na condutância estomática, bem como na acumulação de íons de Na<sup>+</sup> e/ou Cl<sup>-</sup>, que afetam os processos bioquímicos e fotoquímicos envolvidos na fotossíntese (NEDJIMI, 2009). O estresse oxidativo é outro efeito negativo do excesso de sais, promovendo a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (ROS) que degeneram as membranas citoplasmáticas e causam a morte celular (LIANG et al., 2018; CATÃO et al., 2020).

A ocorrência do ajuste osmótico intracelular é perceptível pelo acúmulo de solutos orgânicos compatíveis com o metabolismo vegetal, mais precisamente no citosol, que atuam como agentes osmoprotetores (LIANG et al., 2018; ANDRADE et al., 2021). Essa resposta ocorre como mecanismo de resistência para minimizar os efeitos do estresse hídrico induzido pela salinidade, sendo os açúcares solúveis, álcoois de açúcar, prolina, glicina betaína, ácidos orgânicos e trealose os principais osmoprotetores produzidos (FAROOQ et al., 2015). A síntese desses compostos geralmente é iniciada pela percepção da diminuição do potencial hídrico pelas raízes, que, junto ao eficiente mecanismo de transdução de sinais, culmina no fechamento estomático para reduzir a perda de água (CORDEIRO et al., 2017).

O fato é que as respostas das plantas variam entre espécies e dentro da própria espécie, também sendo influenciadas pelos fatores externos, ambientais e pela adoção de técnicas pré-germinativas nas sementes, como os ciclos descontínuos de hidratação (LIMA et al., 2018; NICOLAU et al., 2020). Além disso, há interferência do uso de elicitores que atenuam os efeitos dos estresses abióticos, como ácido giberélico, ácido salicílico, ácido ascórbico e peróxido de hidrogênio (CHEN; ARORA, 2013; COSTA et al., 2021; HONGNA et al., 2021; CHEN et al., 2021).

As pesquisas demonstram que as respostas adotadas pelas espécies florestais e agronômicas são de aquisição de tolerância e maior taxa de sobrevivência após ciclos descontínuos de hidratação em água. A memória hídrica das sementes é obtida após uma descarga pluviométrica, cujas sementes absorvem água e iniciam as atividades metabólicas, respiratórias, quebra e translocação de reservas. Quando o conteúdo de água cessa, ocorre o processo inverso: as sementes perdem água para o ambiente de forma lenta, paralisando as atividades anteriormente iniciadas. Esse processo pode ocorrer em ciclos, até que a hidratação dos tecidos das sementes esteja suficiente para que o processo germinativo tenha prosseguimento, com a retomada das atividades metabólicas de onde parou (memória hídrica), culminando na protrusão radicular e formação de uma plântula, mesmo sob estresses abióticos (LIMA; MEIADO, 2017; LIMA et al., 2018; NICOLAU et al., 2020; SARMENTO et al., 2020).

Os ciclos descontínuos de hidratação geralmente ocorrem em regiões áridas e semiáridas do nordeste brasileiro. Esses são importantes para as espécies ortodoxas, como *M. caesalpiniiifolia* e *P. moniliformes*, que toleram a dessecação e podem ser adotados para as espécies cultivadas, cuja semeadura é realizada em condição de sequeiro, como é o caso do milho e do feijão-caupi.

O uso de elicitores de tolerância ao estresse abiótico como tratamento pré-germinativo nas sementes tem demonstrado bons resultados para a homeostase celular e aclimação das espécies aos estresses abióticos. O acúmulo de açúcares e aminoácidos aumentou substancialmente com a hidratação das sementes de *Salvia hispanica* L. com ácido giberélico ( $4 \text{ mL}^{-1}$ ), e o aumento do acúmulo de prolina foi verificado com a hidratação das sementes com ácido salicílico ( $1 \text{ mL}^{-1}$ ). O aumento na concentração desses elicitores de tolerância ao estresse potencializou a tolerância da espécie ao estresse hídrico ( $-0,4 \text{ MPa}$ ) (COSTA et al., 2021).

De acordo com Silva et al. (2022), a hidratação de sementes de girassol com  $100 \text{ mM}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  aumentou a tolerância ao sal ( $100 \text{ mM NaCl}$ ). Esses autores enfatizam que esse fato está diretamente associado à redução dos teores de  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  e por reduzir o dano oxidativo a partir do aumento da atividade da enzima catalase (CAT) nas folhas e raízes. A aplicação de  $10 \text{ mM}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  via foliar em milho amenizou a perda de água e induziu resistência ao estresse osmótico pelo aumento do conteúdo de açúcares solúveis, prolina e poliaminas (TERZI et al., 2014). Os resultados demonstram que  $\text{H}_2\text{O}_2$ , apesar de ser uma espécie reativa de oxigênio, quando aplicado em baixas concentrações atua como sinalizador do estresse e favorece a resposta das plantas que se aclimatam a condições estressantes.

Quando houve condicionamento de sementes de feijão-caupi com ácido ascórbico nas concentrações de  $0,50 \text{ mM}$  para o genótipo BRS Marataoã e  $0,75 \text{ mM}$  para o Setentão, ocorreu aumento no desenvolvimento de plântulas, sendo mais vigorosas sob déficit hídrico de  $-1,2 \text{ MPa}$ . O ácido ascórbico reduziu os danos às membranas ocasionados pelo estresse oxidativo (NUNES et al., 2020). O resultado encontrado para ácido ascórbico ocorre em resposta ao potencial antioxidante não enzimático que melhora a tolerância das plantas aos efeitos nocivos dos sais, razão pela qual também é conhecido como ascorbato ou vitamina C (CHEN et al., 2021).

Os ciclos descontínuos de hidratação têm sido investigados para aumentar a tolerância das espécies, florestais e agronômicas aos estresses abióticos. No entanto, a associação com os elicitores de tolerância ao estresse abiótico ainda é incipiente, e a hipótese da pesquisa é de que os ciclos descontínuos de hidratação com elicitores de estresse podem mitigar o estresse salino nas culturas agrícolas (milho e feijão) e nas espécies florestais (*M. caesalpiniifolia* e *P. moniliformes*). Portanto, objetivou-se avaliar a ação de ciclos descontínuos de hidratação com diferentes agentes elicitores de tolerância ao estresse salino em sementes das culturas agrícolas de milho e feijão-caupi, bem como nas espécies florestais de *M. caesalpiniifolia* e *P.*

*moniliformes*, por meio de avaliações fisiológicas (germinação, vigor, comprimento e acúmulo de biomassa) e bioquímicas (solutos orgânicos).

## REFERÊNCIAS

- ANDRADE, W. L. et al. Bradyrhizobium inoculation plus foliar application of salicylic acid mitigates water deficit effects on cowpea. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 40, p. 656-667, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00344-020-10130-3>. Acesso em: 16 mar. 2022.
- AKTER, L. et al. Amelioration of salinity stress in maize seed germination and seedling growth attributes through seed priming. **Open Journal of Soil Science**, v. 8, n. 5, p. 137-146, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.4236/ojss.2018.85011>. Acesso em: 16 mar. 2022.
- ALMEIDA, J. R. F.; FRISCHKORN, H. Salinization mechanisms of a small alluvial aquifer in the semiarid region of northeast Brazil. *Revista brasileira de engenharia agrícola e Ambiental*, v. 19, n. 7, p. 643-649, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v19n7p643-649>. Acesso em: 23 set. 2022.
- ASAD, F. et al. Effect of indole-3- acetic acid and gibberellic acid (GA<sub>3</sub>) on seeds germination, growth performance and biochemical constituents of *Zea mays* L. growing under the salt stress. **Pure and Applied Biology**, v. 11, n. 2, p. 639-650, 2022. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.19045/bspab.2022.110065>. Acesso em: 16 mar. 2022.
- AZERÊDO, G. A. et al. Germinação de sementes de *Piptadenia moniliformis* Benth. sob estresse hídrico. **Ciência Florestal**, v. 26, n. 1, p. 193-202, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.5902/1980509821112>. Acesso em: 27 set. 2022.
- CATÃO, H. C. R. M. et al. Antioxidant activity and physiological performance of popcorn seed after saline stress and analysis of seedling images. **Ciência e Agrotecnologia** [online], v. 44, e005020, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1413-7054202044005020>. Acesso em: 16 mar. 2022.
- CHEN, Z.; CAO, X-L; NIU, J-P. Effects of exogenous ascorbic acid on seed germination and seedling salt-tolerance of alfalfa. **Plos One**, v. 16, n. 4, e0250926, 2021. Disponível em: <http://dx-doi.ez13.periodicos.capes.gov.br/10.1371/journal.pone.0250926>. Acesso em: 04 abr. 2022.
- CHEN, K.; ARORA, R. Priming memory invokes seed stress-tolerance. **Environmental and Experimental Botany**, v. 94, p. 33-45, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.03.005>. Acesso em: 26 jan. 2022.
- CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos, Brasília, DF, 10º levantamento, safra 2021/22. Disponível em: [file:///C:/Users/Cliente/Downloads/E-book\\_Boletim\\_de\\_Safras-10o\\_lev%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/Cliente/Downloads/E-book_Boletim_de_Safras-10o_lev%20(1).pdf). Acesso em: 27 de set. 2022.

- CORDEIRO, Y. E. M. et al. Aspectos bioquímicos de plantas jovens de açaízeiro (*Euterpe oleraceae*) sob dois regimes hídricos na Amazônia Oriental. **Biota Amazônia**, v. 7, n. 3, p. 52-56, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.18561/2179-5746/biotaamazonia.v7n3p52-56>. Acesso em: 26 set. 2022.
- COSTA, A. A. et al. Seed priming improves *Salvia hispanica* L. seed performance under salt stress. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 43, e52006, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v43i1.52006>. Acesso em: 16 mar. 2022.
- CRESPI, T. B. et al. Absortive capacity in a Public Research Company: from maturity to scalability. **Brazilian Business Review**, v. 19, n. 2, p. 133-152, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.15728/bbr.2021.19.2.2>. Acesso em: 27 set. 2022.
- DALIAKOPOULOS, I. N. et al. The threat of soil salinity: A European scale review. **Science of The Total Environment**, v. 573, p. 727-739, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.08.177>. Acesso em: 28 jun. 2022.
- FAOSTAT – Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics. **Estimativa** (2020). Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data>. Acesso em: 10 mar. 2022.
- FAROOQ, M. et al. Salt stress in maize: effects, resistance mechanisms, and management. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 35, p. 461-481, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13593-015-0287-0>. Acesso em: 02 fev. 2022.
- FERREIRA, P. A. et al. Aspectos físicos e químicos de solos em regiões áridas e semiáridas. **Manejo da salinidade na agricultura: estudo básico e aplicados**. Fortaleza: INCTSal, 2016. Disponível em: <https://docplayer.com.br/69560100-Aspectos-fisicos-e-quimicos-de-solos-em-regioes-aridas-e-semiaridas.html>. Acesso em: 23 set. 2022.
- FERREIRA, A. C. T. et al. Water and salt stresses on germination of Cowpea (*Vigna unguiculata* cv. BRS Tumucumaque) seeds. **Revista Caatinga**, v. 30, n. 4, p. 1009-1016, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1983-21252017v30n422rc>. Acesso em: 29 jun. 2022.
- FERREIRA, A. D. S. et al. Production of *Pityrocarpa moniliformis* (Benth.) Luckow & R.W. Jobson (Fabaceae) seedlings irrigated with saline water. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 25, n. 3, p. 182-188, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v25n3p182-188>. Acesso em: 29 mar. 2022.
- FURTADO, G. F. et al. Pigmentos fotossintéticos e produção de feijão *Vigna unguiculata* L. Walp. sob salinidade e adubação nitrogenada. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, n. 9, p. 291-299, 2014.
- HASSANI, A.; AZAPAGIC, A.; SHOKRI, N. Global predictions of primary soil salinization under changing climate in the 21st century. **Nature Communications**, v. 12, n. 6663, p. 1-17, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41467-021-26907-3>. Acesso em: 28 jun. 2022.
- HONGNA, C. et al. Exogenous salicylic acid signal reveals an osmotic regulatory role in priming the seed germination of *Leymus chinensis* under salt-alkali stress. **Environmental**

and **Experimental Botany**, v. 188, 104498, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2021.104498>. Acesso em: 04 abr. 2022.

LE, L. T. T. et al. Na<sup>+</sup> and/or Cl<sup>-</sup> toxicities determine salt sensitivity in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.), Mungbean (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek), Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), and common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 4, e1909, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms22041909>. Acesso em: 29 jun. 2022.

LIANG, W. et al. Plant salt-tolerance mechanism: A review. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 495, n. 1, p. 286-291, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.11.043>. Acesso em: 28 fev. 2022.

LIMA, A. T. et al. Does discontinuous hydration of *Senna spectabilis* (DC.) H.S. Irwin & Barneby var. *excelsa* (Schrad.) H.S. Irwin & Barneby (Fabaceae) seeds confer tolerance to water stress during seed germination? **Journal of Seed Science**, v. 40, n. 1, p. 36-43, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/2317-1545v40n1182838>. Acesso em: 31 mar. 2022.

LIMA, A.; MEIADO, M. Discontinuous hydration alters seed germination under stress of two populations of cactus that occur in different ecosystems in Northeast Brazil. **Seed Science Research**, v. 27, n. 4, p. 292-302, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0960258517000241>. Acesso em: 4 jan. 2022.

LOIOLA, A. T. et al. Phenology and production of traditional seeds of cowpea irrigated with saline water. **Revista Ciência Agronômica**, v. 53, e20217962, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20220050>. Acesso em: 26 jun. 2022.

MELO, N. Q. C. et al. Chemical characterization of green grain before and after thermal processing in biofortified cowpea cultivars. **Revista Ciência Agronômica**, v. 48, n. 5, p. 811-816, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20170095>. Acesso em: 27 set. 2022.

NEDJIMI, B. Salt tolerance strategies of *Lygeum spartum* L.: a new fodder crop for Algerian saline steppes. **Flora Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 204, n. 10, p. 747-754, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.flora.2008.11.004>. Acesso em: 26 set. 2022.

NICOLAU, P. B. et al. Discontinuous hydration on the germination of *Mimosa caesalpiniiifolia* and *Pityrocarpa moniliformis* seeds under water stress. **Revista Caatinga**, v. 33, n. 2, p. 555-561, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1983-21252020v33n228rc>. Acesso em: 31 mar. 2022.

NUNES, L. R. L. et al. Effects of ascorbic acid on the germination and vigour of cowpea seeds under water stress. **Revista Ciência Agronômica**, v. 51, n. 2, e20196629, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20200030>. Acesso em: 26 set. 2022.

PRAXEDES, S. S. C. et al. Tolerance of seedlings traditional varieties of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) to salt stress. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 41, n. 5, p. 1963-1974, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2020v41n5Sup1p1963>. Acesso em: 29 jun. 2022.

PEREIRA, F. E. et al. Saline stress and temperatures on germination and vigor of *Piptadenia moniliformis* Benth. Seeds. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 20, n.7, p. 649-653, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v20n7p649-653>. Acesso em: 31 mar. 2022.

PESSOA NETO, J. A. et al. Physiological quality corn seed under conditions of stress Saline. **Cultura Agronômica**, v. 25, n. 4, p. 401-408, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.32929/2446-8355.2016v25n4p401-408>. Acesso em: 23 set. 2022.

SÁ, F. V. S. et al. Growth, gas exchange and photochemical efficiency of the cowpea bean under salt stress and phosphorus fertilization. **Comunicata Scientiae**, v. 9, p. 668-679, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.14295/cs.v9i4.2763>. Acesso em: 23 set. 2022.

SÁ, F. V. S. et al. Phytomass accumulation and mineral composition of cowpea (*Vigna unguiculata*) under salt stress and phosphate fertilization. **Australian Journal of Crop Science**, v. 13, p. 1149-1154, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.21475/ajcs.19.13.07>. Acesso em: 23 set. 2022.

SARMENTO, E. C. S. et al. Physiological potential of sorghum seeds under discontinuous hydration and water deficiency conditions. **Revista Ciência Agronômica**, v. 51, n. 4, e20207200, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20200069>. Acesso em: 21 jul. 2021.

SILVA, P. C. C. et al. Seed priming with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> improves photosynthetic efficiency and biomass production in sunflower plants under salt stress. **Arid Land Research and Management**, v. 36, n. 3, p. 283-297, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/01904167.2020.1862202>. Acesso em: 14 jul. 2022.

SILVA, A. J. et al. Reduction of salinity and sodicity of saline-sodic soils under filed condition in Brazilian semi-arid region. **Scientia Plena**, v. 16, n. 9, p. 090203, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.14808/sci.plena.2020.090203>. Acesso em: 23 set. 2022.

SILVA, H. A. et al. Salt stress differentially regulates mobilisation of carbon and nitrogen reserves during seedling establishment of *Pityrocarpa moniliformis*. **Plant Biology**, v. 21, p. 1110–1118, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/plb.13017>. Acesso em: 15 mar. 2022.

SILVA, E. M. et al. Application methods of different concentrations of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in maize under salt stress. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento sustentável**, v. 11, n. 3 p. 01-07, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.18378/rvads.v11i3.4343>. Acesso em: 23 set. 2022.

SILVA, F. L. B. et al. Irrigation with saline water plus bovine biofertilizer in the gas exchanges and productivity of cowpea. **Irriga**, v. 18, n. 2, p. 304-317, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.15809/irriga.2013v18n2p304>. Acesso em: 26 set. 2022.

SOUSA, E. C. et al. Physiological changes in *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. Seeds from different sources and submitted to abiotic stresses. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 22, n. 6, p. 383-389, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v22n6p383-389>. Acesso em: 27 mar. 2022.



TERZI, R. et al. Hydrogen peroxide pretreatment induces osmotic stress tolerance by influencing osmolyte and abscisic acid levels in maize leaves. **Journal of Plant Interactions**, v. 9, n. 1, p. 559–565, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/17429145.2013.871077>. Acesso em: 26 set. 2022.

WILLADINO, L.; CAMARA, T. R. Tolerância das plantas à salinidade: aspectos fisiológicos e bioquímicos. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v. 6, n. 11, p. 2-23, 2010.

## 2 CICLOS DESCONTÍNUOS DE HIDRATAÇÃO COM ELICITORES ATENUAM O ESTRESSE SALINO EM SEMENTES DE MILHO

### RESUMO

O estresse salino reduz a germinação e crescimento inicial das plantas, mas ativa mecanismos de defesa, como o ajuste osmótico. Os ciclos descontínuos de hidratação com elicitores podem potencializar a tolerância das cultivares de milho ao estresse. Portanto, objetivou-se avaliar a ação de ciclos descontínuos de hidratação com diferentes agentes elicitores de tolerância ao estresse salino na germinação, comprimento e ajuste osmótico de cultivares de milho. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado seguindo o arranjo fatorial 2 x 7, com quatro repetições de 50 sementes. As sementes de milho, cv. BR 206 e a cv. BRS 5037 Cruzeta, foram submetidas aos seguintes tratamentos: 0,0 mM de NaCl (controle); 250 mM de NaCl (estresse salino); estresse salino + três ciclos descontínuos de hidratação (CDH) das sementes em água; estresse salino + CDH em ácido giberélico; estresse salino + CDH em peróxido de hidrogênio; estresse salino + CDH em ácido salicílico; estresse salino + CDH em ácido ascórbico. As seguintes variáveis foram avaliadas: primeira contagem de germinação, germinação, comprimento da parte aérea e raiz, massa seca da parte aérea e raiz, massa seca total, índice de tolerância à salinidade, açúcares solúveis totais, aminoácidos livres totais e prolina. O estresse salino (250 mM de NaCl) reduziu o número de plântulas formadas na primeira contagem de germinação, comprimento e acúmulo de biomassa em plântulas de milho, sendo a cv. BR 206 mais tolerante do que a cv. BRS 5037 Cruzeta. Os CDH melhoram a primeira contagem de germinação, comprimento e acúmulo de biomassa do milho sob o estresse salino, principalmente por induzir a síntese de osmoprotetores, em especial a prolina. No entanto, apenas com os ciclos descontínuos de hidratação em ácido salicílico foi mantido o ajuste osmótico pelo aumento da produção de prolina na cultivar BR 206. Os CDH com ácido giberélico promoveram maior acúmulo de prolina na cultivar BRS 5037 Cruzeta, registrando-se número semelhante para a cultivar BR 206.

**Palavras-chave:** *Zea mays* L. Ácido salicílico. Ácido giberélico. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Salinidade.

## 2 DISCONTINUOUS HYDRATION CYCLES ATTENUATE SALT STRESS IN CORN SEEDS

### ABSTRACT

Salt stress reduces germination and initial plant growth, but activates defense mechanisms such as osmotic adjustment. The discontinuous hydration cycles with elicitors can enhance the tolerance of corn cultivars to stress. Therefore, the objective was to evaluate the action of discontinuous hydration cycles with different saline stress tolerance elicitors on germination, length and osmotic adjustment of maize cultivars. The experiment was conducted in a completely randomized design, following a 2 x 7 factorial arrangement, with four replicates of 50 seeds. Maize seeds, cv. BR 206 and cv. BRS 5037 Cruzeta, were subjected to the following treatments: 0.0 mM of NaCl (control); 250 mM of NaCl (salt stress); salt stress + three discontinuous hydration cycles (DHCs) of seeds in water; salt stress + DHCs in gibberellic acid; salt stress + DHCs in hydrogen peroxide; salt stress + DHCs in salicylic acid; and salt stress + DHCs in ascorbic acid. The following variables were evaluated: first germination count, germination, shoot and root length, shoot and root dry mass, total dry mass, salinity tolerance index, total soluble sugars, total free amino acids and proline. Salt stress (250 mM of NaCl) reduced the number of seedlings formed in the first germination count, growth and biomass accumulation in maize seedlings, and the cv. BR 206 was more tolerant than cv. BRS 5037 Cruzeta. The DHCs improved the first germination count, growth and biomass accumulation of maize under salt stress, mainly by inducing the synthesis of osmoprotectants, especially proline. However, only with discontinuous hydration cycles salicylic acid the osmotic adjustment was maintained by the increase in the production of proline in the cultivar BR 206. Discontinuous hydration cycles in salicylic acid promoted greater accumulation of proline in the cultivar BRS 5037 Cruzeta, registering a similar number for the cultivar BR 206.

**Keywords:** *Zea mays* L. Salicylic acid. Gibberellic acid. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Salinity.

## 2.1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é uma das culturas anuais de maior importância comercial no mundo. Entre os anos de 2000-2020, o Brasil manteve a terceira posição como maior produtor de milho, ficando atrás dos Estados Unidos e China. Em 2020, a produção foi de 100 milhões de toneladas (FAOSTAT, 2020). A estimativa para a safra 2022 a produção nacional média é de 115,6 milhões de toneladas (BRASIL, 2013; FAO, 2021; CONAB, 2022). Alguns fatores podem influenciar a perda da produtividade dessa espécie, principalmente em regiões semiáridas. O déficit hídrico, associado a irregularidades das chuvas e ao clima seco, seguido da salinidade, são as principais ameaças ao crescimento das plantas e à produtividade agrícola (SAXENA et al., 2019; FAO 2021; CONAB, 2022).

Nessas regiões, são comumente constatados solos salinos e sódicos, que afetam o processo germinativo e o crescimento das culturas em virtude da restrição à absorção de água com altas concentrações de íons de  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  (FERREIRA et al., 2016; LIANG et al., 2018). As altas concentrações desses sais nos tecidos dificultam a mobilização de reservas, impedindo a germinação e o crescimento do embrião. Para aclimatar ao estresse salino, as plantas realizam o ajuste iônico, por meio da compartimentalização de íons orgânicos nos vacúolos ou pela exclusão de íons na raiz (SILVA et al., 2019; LUDWICZAK, 2021).

O ajuste osmótico ocorre a partir do acúmulo de solutos orgânicos, como L-prolina, N-amino solúvel, açúcares solúveis e outros agentes osmoprotetores no citosol para diminuir o potencial osmótico celular (LIANG et al., 2018; ANDRADE et al., 2021). A toxicidade iônica e o estresse osmótico são efeitos primários que podem causar estresse oxidativo, que é um estresse secundário, causando alterações no metabolismo das plantas. Portanto, ocorre produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs), causando danos às membranas citoplasmáticas e até a morte celular (SIDHU et al., 2017; LIANG et al., 2018).

A fim de equilibrar as alterações metabólicas e reduzir os efeitos causados pela presença de sais, as plantas produzem agentes osmoprotetores, dentre eles os açúcares e aminoácidos são produzidos em maior quantidade e acumulados nas células vegetais. A prolina, por exemplo, é acumulada nos cloroplastos e desempenha várias funções de modo a estabilizar as estruturas celulares, atua na atividade antioxidante por sinalizar a produção de enzimas antioxidativas para a eliminação de espécies reativas de oxigênio (EROS) (GHAFARI, et al., 2019; MEENA et al., 2019).

A literatura tem mostrado que a utilização de hidrocondicionamento, ácidos orgânicos e peróxido de hidrogênio no tratamento pré-germinativo de sementes atenua os efeitos do

estresse salino (SINGH et al., 2015; AKTER et al., 2018; COSTA et al., 2021). Os ciclos descontínuos de hidratação (CDH), também conhecidos como memória hídrica, são uma técnica pré-germinativa adotada para mitigar os estresses abióticos (LIMA; MEIADO, 2017; LIMA et al., 2018; NICOLAU et al., 2020). Os ciclos descontínuos de hidratação têm sido estudados principalmente em espécies florestais com objetivo de atenuar o estresse hídrico, mas recentemente algumas pesquisas foram desenvolvidas com espécies agrícolas, como o *Sorghum bicolor* (L.) Moench. (SARMENTO et al., 2020), e frutíferas, como *Annona squamosa* (SANTOS JÚNIOR et al., 2021). Estes trabalhos demonstram que os ciclos descontínuos de hidratação melhoram a tolerância das sementes e plântulas à desidratação.

A hipótese da pesquisa é de que os ciclos descontínuos de hidratação com elicitores de tolerância ao estresse podem mitigar o estresse salino em milho por ser uma cultura moderadamente sensível à salinidade, apresentando salinidade limiar da água de 1,1 dS m<sup>-1</sup> e do solo de 1,7 dS m<sup>-1</sup>. (AYERS; WESTCOR, 1999). No entanto, a tolerância do milho à salinidade é influenciada pela concentração de sais, tempo de exposição ao estresse, fases fenológicas e genótipo (FAROOQ et al., 2015; AKTER et al., 2018). Dessa forma, os mecanismos de tolerância e as alterações no metabolismo e, conseqüentemente, na germinação e crescimento de plântulas são expressos de forma diferenciada a depender também do genótipo e do ambiente (SHI et al., 2020).

O objetivo da pesquisa é avaliar a ação de ciclos descontínuos de hidratação com diferentes agentes elicitores de tolerância ao estresse salino na germinação, comprimento e ajuste osmótico de cultivares de milho.

## 2.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido entre junho e dezembro de 2019 no Laboratório de Análises de Sementes pertencente ao Departamento de Ciências Agronômicas e Florestais da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró/RN, Brasil (5°11' S e 37° 20' W, e 18 m altitude).

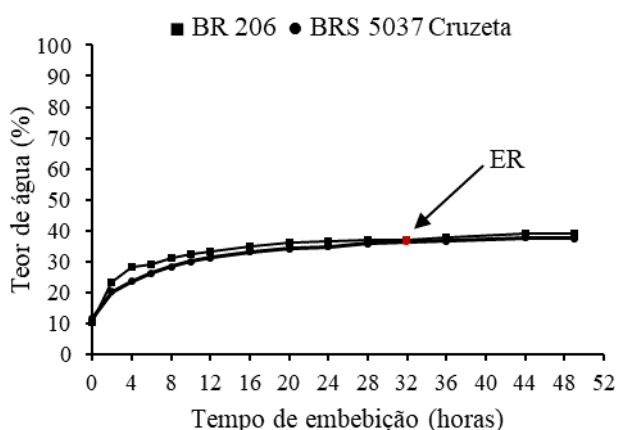
As sementes de milho, cultivares BR 206 e BRS 5037 Cruzeta, foram cedidas pela Gransafra sementes e EMPARN, respectivamente. Após o recebimento, foram armazenadas em câmara fria (16-18 °C e 40% de umidade relativa) durante toda a fase experimental.

As cultivares de milho foram escolhidas por apresentarem características favoráveis para a produção de grão e de silagem. A cv. BR 206 é do tipo híbrido duplo tolerante à seca. Pela sua rusticidade e alta produtividade (8.800 kg/ha), pode ser uma alternativa nas regiões

com disponibilidade hídrica limitada. Apresenta resistência ao quebramento do colmo, à helmintosporiose e à ferrugem, bom empalhamento de espigas e elevada densidade de grãos. A cv. BRS 5037 Cruzeta é superprecoce, de polinização aberta, com produtividade de 4290 kg/ha, adaptada para as regiões semiáridas do nordeste brasileiro, caracterizadas por problemas relacionados à insuficiente disponibilidade de água e, principalmente, por uma distribuição irregular das chuvas.

Inicialmente, quantificou-se o teor de água das sementes pelo método da estufa a  $105 \pm 3$  °C por 24 horas (BRASIL, 2009). Para isto, duas repetições de  $4,5 \pm 0,5$  g foram utilizadas. O teor de água foi calculado com base na massa úmida e expresso em porcentagem.

A curva de embebição foi realizada com duas repetições de 50 sementes, pesadas em balança analítica digital (0,001 g) antes da embebição e após cada intervalo de tempo previamente determinado, até a emissão da raiz primária. A embebição foi realizada pelo método de imersão em água com as sementes dispostas em *Becker* com 100 mL de água destilada, mantidos em câmaras de germinação, a 25 °C. Inicialmente, os intervalos de pesagem aconteceram a cada hora durante oito horas de embebição; em seguida, pesou-se a cada duas horas até completar trinta e quatro horas de embebição; e, por último, as pesagens foram a cada quatro horas até completar cinquenta e duas horas de hidratação, quando houve a protrusão da raiz primária em 50% das sementes de cada repetição. O início da protrusão radicular ocorre após trinta e duas horas de hidratação para as duas cultivares de milho (Figura 1).



**Figura 1.** Curva de embebição de sementes de milho (*Zea mays* L.), cultivares BRS 5037 Cruzeta e BR 206, pelo método de imersão em água a 25 °C. Início da emissão radicular (ER). Fonte: Elaborada pela autora.

Durante a embebição das sementes, o ganho de peso foi calculado de acordo com a fórmula proposta por Cromarty; Ellis; Roberts (1985): % Ganho de peso =  $[(Pf - Pi)/Pi] \times 100$ , em que Pf: peso final (ganho de umidade a cada período de embebição) e Pi: peso inicial das sementes antes da embebição.

O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado seguindo o arranjo fatorial  $2 \times 7$ , com quatro repetições de 50 sementes. Os tratamentos foram constituídos de duas cultivares de milho (BR 206 e BRS 5037 Cruzeta) e sete combinações dos elicitores de tolerância ao estresse salino, com os ciclos descontínuos de hidratação (CDH) sendo: T1 – 0,0 mM de NaCl (controle) sem CDH; T2 – 250 mM de NaCl (estresse salino) sem CDH; T3 – três CDH das sementes com água destilada + estresse salino; T4 – CDH com ácido giberélico – 50  $\mu\text{M}$  ( $\text{AG}_3$ ) + estresse salino; T5 – CDH com peróxido de hidrogênio – 5 mM ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) + estresse salino; T6 – CDH com ácido salicílico – 50  $\mu\text{M}$  (AS) + estresse salino e T7 - CDH com ácido ascórbico – 50  $\mu\text{M}$  (ASC) + estresse salino (Tabela 1).

**Tabela 1.** Condutividade elétrica (CE) das soluções utilizadas nos ciclos descontínuos de hidratação nas sementes de milho (*Zea mays* L.), cultivares BR 206 e BRS 5037 Cruzeta.

Soluções	CE ( $\mu\text{Sm}^{-1}$ ) a 25 °C
Água destilada	4,13
50 $\mu\text{M}$ de ácido giberélico	14,25
5 mM de peróxido de hidrogênio	4,17
50 $\mu\text{M}$ de ácido salicílico	14,96
50 $\mu\text{M}$ de ácido ascórbico	9,40

Fonte: Elaborada pela autora.

Os CDH foram definidos de acordo com os dados obtidos na curva de embebição, e as concentrações salina e dos agentes elicitores foram obtidas com base em testes preliminares. O processo de hidratação foi conduzido em 80 ml do agente elicitor a cada ciclo, em copos descartáveis contendo 100 sementes por duas horas em câmara de germinação a 25 °C no escuro. Posteriormente, as sementes foram secas e sobrepostas em papel toalha e o processo de desidratação ocorreu por doze horas, por três ciclos. A secagem foi realizada em temperatura e umidade relativa ambiente média de  $29,5 \pm 0,7$  °C e  $67 \pm 5\%$ , respectivamente, obtidos por Termo-higrômetro digital Jprolab®. Ao final dos CDH, as sementes apresentaram teor de água em torno de 25%.

Posteriormente aos CDH, as sementes foram semeadas em rolo de papel umedecido com água destilada (0,0 mM - controle) e água salina nos demais tratamentos a 250 mM,

obtida pela dissolução de cloreto de sódio (NaCl), correspondente a 14,61 g L<sup>-1</sup>. Os rolos foram incubados em germinador sob a temperatura de 25 °C (BRASIL, 2009). As avaliações da germinação foram realizadas aos quatro e sete dias após a semeadura (BRASIL, 2009).

Os comprimentos das partes aérea e raiz das plântulas normais foram aferidos ao fim do teste de germinação. O comprimento da parte aérea (medido do colo ao ápice da plântula) e da raiz primária (medida da base do colo à extremidade da raiz) foram mensurados com auxílio de uma régua graduada em centímetros. Após as mensurações de comprimento, as plântulas foram acondicionadas em sacos de papel tipo *kraft* e postas para secar em estufa de circulação de ar forçado, a 65 °C por 72 horas. Posteriormente, foram pesadas em balança de precisão, para obtenção da massa seca (MS) da parte aérea, raiz e total.

Com os dados de MS total, foram calculadas as percentagens particionadas entre os órgãos vegetativos e o índice de tolerância à salinidade, comparando-se os dados dos tratamentos salinos com os do controle (CE= 4,13 µSm<sup>-1</sup> a 25 °C). A classificação da tolerância foi realizada com base na perda de biomassa em quatro níveis: T (tolerante; 0–20%), MT (moderadamente tolerante; 21–40%), MS (moderadamente sensível; 41–60%) e S (sensível; >60%), por meio da Equação adaptada de Fágéria, Soares e Gheyi (2010):

$$IT(\%) = \frac{MS \text{ do tratamento salino}}{MS \text{ do tratamento controle}} \times 100$$

Os açúcares solúveis totais foram obtidos a partir da massa fresca das plântulas. No momento da extração, a massa fresca foi macerada com auxílio de cadinho e pistilo em nitrogênio líquido. Em seguida, foram pesadas 0,2 g em triplicata, e o material foi acondicionado em tubos rosqueados do tipo Eppendorf. Em seguida, foi adicionado 1 mL de álcool 80%, e as amostras foram colocadas em banho-maria a 60 °C por 20 minutos. O material foi submetido à centrífuga refrigerada a 4 °C por 10 minutos a 10 RPM (processo realizado três vezes), e o sobrenadante foi coletado para quantificação dos açúcares. A dosagem de açúcares solúveis totais foi mensurada pela absorvância em 620 nm pelo método da antrona (YEMM; WILLIS, 1954), tendo a glucose como substância padrão e os resultados expressos em µmol de GLU g<sup>-1</sup> de massa fresca.

Na determinação de aminoácidos livres totais, o sobrenadante obtido no processo de extração com álcool foi utilizado para a quantificação dos teores de aminoácidos. Para isso, aplicou-se o método da nihidrina ácida com a medição da absorvância a 570 nm (YEMM et



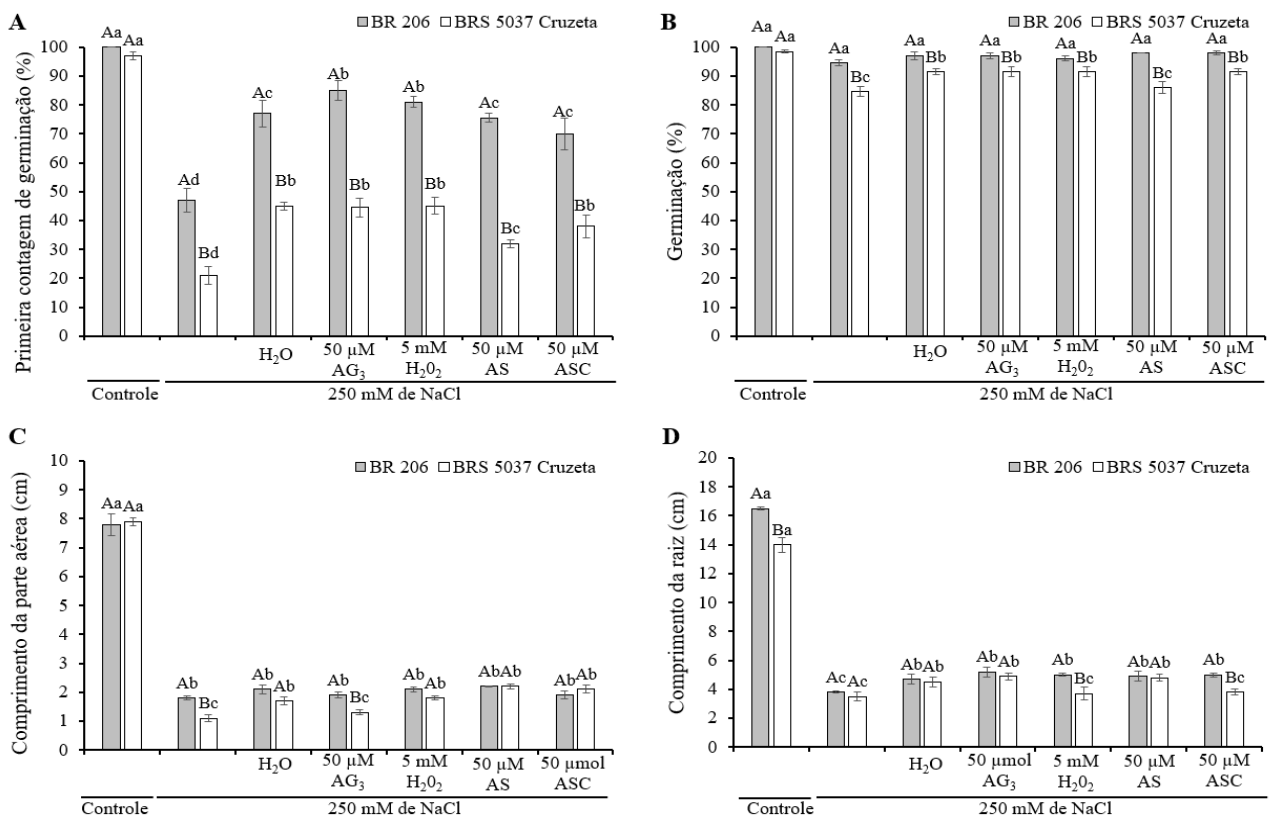
al., 1955), tendo a glicina como substância padrão e os resultados expressos em  $\mu\text{mol GLI g}^{-1}$  de massa fresca.

A determinação de prolina obedeceu à metodologia descrita por Bates et al. (1973). As concentrações de prolina foram determinadas com base em uma curva padrão obtida a partir de L-Prolina, medindo a absorbância em 520 nm. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol PRO g}^{-1}$  de massa fresca.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (teste F), e as médias dos tratamentos pré-germinativos dentro de cada cultivar foram comparadas pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de significância, ao passo que as médias das cultivares dentro de cada tratamento foram comparadas pelo teste t-Student ao nível de 5% de significância. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa computacional Sistema para Análise de Variância – SISVAR (FERREIRA, 2019).

### 2.3 RESULTADOS

Houve interação entre as cultivares de milho e os tratamentos pré-germinativos para a primeira contagem de germinação ( $p < 0,01$ ), germinação ( $p < 0,01$ ), comprimento da parte aérea ( $p < 0,05$ ) e comprimento da raiz ( $p < 0,01$ ) (Figura 2).



**Figura 2.** Médias da primeira contagem de germinação (PCG), germinação (G), comprimento da parte aérea (CPA) e comprimento da raiz (CR) de *Zea mays* L. submetidas a elicitores de tolerância ao estresse salino em três ciclos descontínuos de hidratação (CDH): Água destilada (H<sub>2</sub>O), ácido giberélico (AG<sub>3</sub>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ácido salicílico (AS), ácido ascórbico (ASC). Médias seguidas da mesma letra minúscula (tratamentos) não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade e de mesma letra maiúscula (cultivares) não diferem entre si pelo teste T Student a 5% de probabilidade. Fonte: Elaborada pela autora.

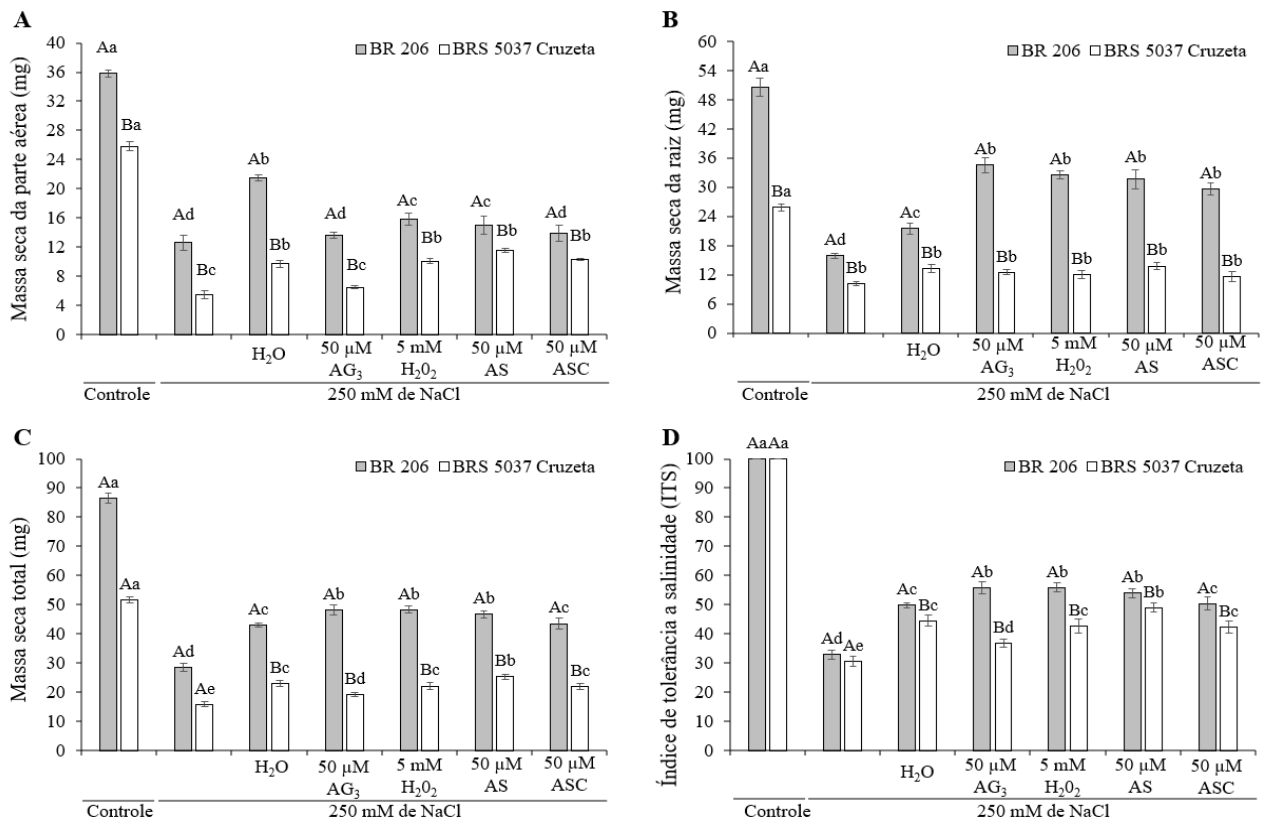
O estresse salino sem CDH reduziu em 53 e 77 pontos percentuais a primeira contagem de germinação das cultivares de milho BR 206 e BRS 5037 Cruzeta, quando comparadas ao tratamento controle, respectivamente. Na cv. BR 206, os CDH proporcionaram maior porcentagem de plântulas na primeira contagem em relação ao tratamento salino sem CDH. Porém, com os CDH em AG<sub>3</sub> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foram obtidos resultados mais próximos ao do controle, com 38 e 34 pontos percentuais a mais na primeira contagem de germinação em relação ao estresse salino, respectivamente. Na cv. BRS 5037 Cruzeta, o uso dos CDH com elicitores de tolerância em condição de salinidade beneficiou a porcentagem de plântulas ao 4º dia quando comparados ao estresse salino sem CDH, resultados semelhantes aos encontrados para o estresse salino em CDH com água, exceto no estresse salino em CDH com ácido salicílico, que foi inferior. A melhor resposta aos CDH com elicitores ocorreu para a cv. BR 206 na comparação com BRS 5037 Cruzeta (Figura 2A).

O estresse salino sem CDH não afetou a germinação da cv. BR 206 (Figura 2B). No entanto, o estresse salino sem CDH reduziu em 14% pontos percentuais a germinação da cv. BRS 5037 Cruzeta. Os CDH melhoraram a germinação em média sete pontos percentuais em relação ao tratamento salino sem CDH, exceto o ácido salicílico, que foi semelhante. As melhores geminações sobre condições de estresse salino ocorrem na BR 206 em relação ao BRS 5037 Cruzeta em todos os tratamentos com estresse salino.

As plântulas submetidas ao estresse salino sem CDH tiveram o comprimento da parte aérea afetado em 77 e 86% para a cv. BR 206 e BRS 5037 Cruzeta, respectivamente, quando comparados ao controle. Para a cv. BR 206, os tratamentos com CDH nos elicitores de tolerância ao estresse salino não foram suficientes para a atenuação do estresse causado pelo excesso de sais. Para a cv. BRS 5037 Cruzeta, o uso de CDH com elicitores também reduziu o comprimento da parte aérea, mas os resultados foram superiores (média de 77,3%) ao encontrado para o tratamento com estresse salino sem CDH, exceto para o ácido giberélico, estatisticamente igual ao estresse salino sem CDH. Somente os estresses salinos sem CDH e com os CDH em ácido giberélico promoveram resultados distintos entre as cultivares (Figura 2C).

O comprimento da raiz foi reduzido na condição de estresse salino sem CDH em 77 e 75% para a cv. BR 206 e BRS 5037 Cruzeta, respectivamente. Os tratamentos com os CDH nos elicitores favoreceram o aumento médio de 30,5% para cv. BR 206 na condição salina, quando comparado ao estresse salino sem CDH. Para a cv. BRS 5037 Cruzeta, houve redução do comprimento radicular no estresse salino sem CDH, contudo os CDH favoreceram o aumento da raiz em 28,5% com o uso de hidrocondicionamento, em 40% com o uso de AG<sub>3</sub> e 37,1% para o ácido salicílico, na condição estressante (Figura 2D).

Para a massa seca, houve interação entre as cultivares e os tratamentos pré-germinativos ( $p < 0,01$ ) para a massa seca da parte aérea, massa seca da raiz, massa seca total e índice de tolerância à salinidade (Figura 3).



**Figura 3.** Médias da massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), massa seca total (MST) e índice de tolerância à salinidade (ITS) de plântulas de *Zea mays* L. submetidos a elicitores de tolerância ao estresse salino em três ciclos descontínuos de hidratação (CDH): Água destilada (H<sub>2</sub>O), ácido giberélico (AG<sub>3</sub>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ácido salicílico (AS), ácido ascórbico (ASC). Médias seguidas da mesma letra minúscula (tratamentos) não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade e de mesma letra maiúscula (cultivares) não diferem entre si pelo teste T Student a 5% de probabilidade. Fonte: Elaborada pela autora.

A massa seca da parte aérea foi mais reduzida no tratamento salino sem CDH em 65% para BR 206 e 69% para BRS 5037 Cruzeta. Na cv. BR 206, porém, os CDH em água favoreceram o aumento de 70,6% na massa seca da parte aérea em comparação ao tratamento com estresse salino sem CDH. Na cv. BRS 5037 Cruzeta, os CDH com água incrementaram em 74,5% a massa seca da parte aérea, ao passo que os CDH com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ácido salicílico e ácido ascórbico promoveram incremento médio de 84% de massa seca da parte aérea em relação ao estresse salino sem CDH. A cv. BR 206 resultou em massa seca da parte aérea superior a BRS 5037 Cruzeta, independentemente da salinidade (Figura 3A).

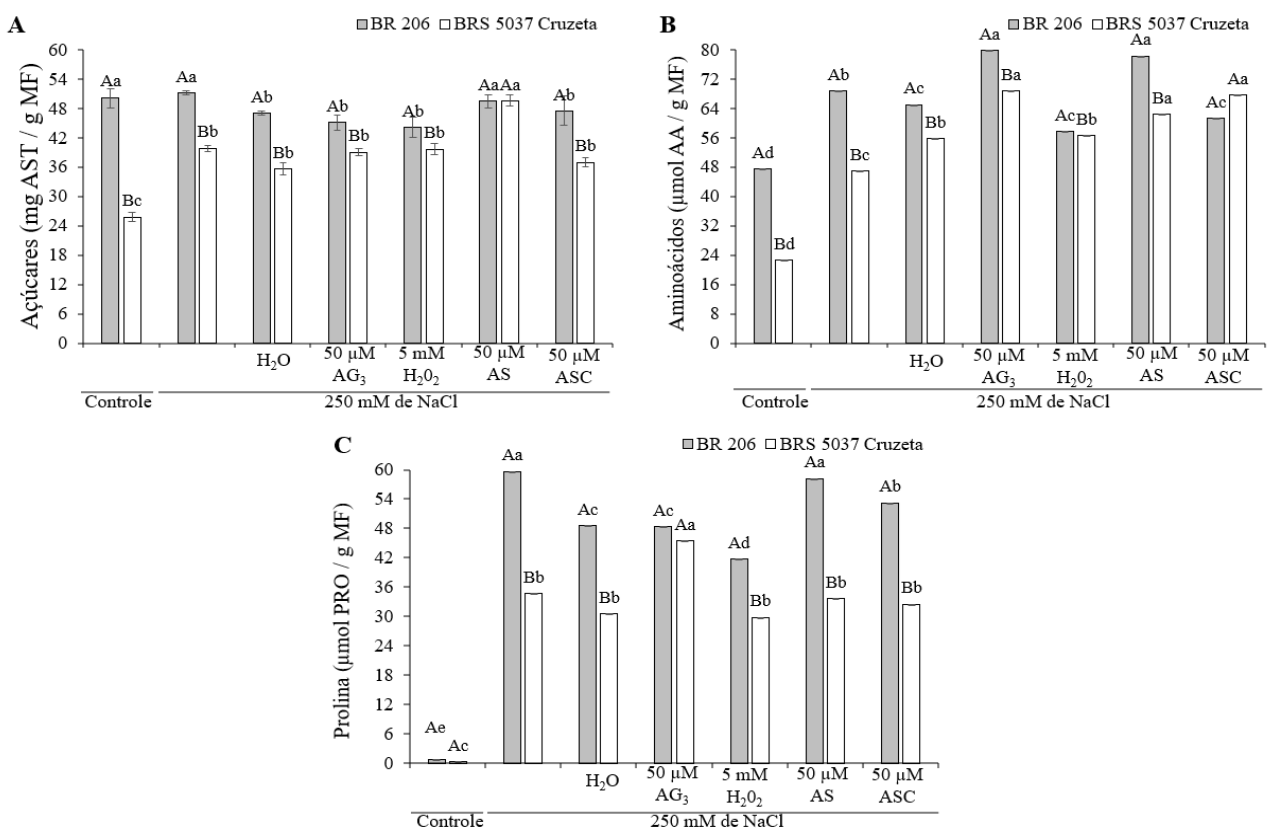
No estresse salino sem CDH, a cv. BR 206 teve redução de 68,6% na massa seca da raiz em comparação ao tratamento controle (Figura 3B). Todavia, com aplicação dos CDH com ácido giberélico, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ácido salicílico e ácido ascórbico, a cv. BR 206 produziu 117,6, 104,4, 99,4 e 86,2% de massa seca da raiz a mais que o tratamento com estresse salino sem CDH, respectivamente. Na cv. BR 5037 Cruzeta, o estresse salino sem CDH provocou redução de 60,6% na massa seca da raiz em relação ao controle, e os CDH nos elicitores não incrementaram esta variável. A cv. BR 206 obteve maior massa seca da raiz em comparação a cv. BRS 5037 Cruzeta.

A massa seca total da cv. BR 206 foi reduzida em 67,1% no estresse salino sem CDH em relação ao controle. Todos os CDH aumentaram a massa seca total na cv. BR 206, no entanto os CDH com ácido giberélico, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e ácido salicílico tiveram melhor desempenho, sendo em média 67,5% superiores ao estresse salino sem CDH (Figura 3C). A cv. BR 5037 Cruzeta teve massa seca total reduzida em 64,4% no estresse salino sem CDH em relação ao controle. Nessa cultivar, o acúmulo de massa seca total ocorreu quando os CDH foram conduzidos com ácido salicílico, 60,7%, em comparação ao estresse salino sem CDH, não diferindo do resultado encontrado para o ácido giberélico. A cv. BR 206 produziu mais massa seca total que a cv. BR 5037 Cruzeta no estresse salino, independentemente dos CDH nos elicitores.

No índice de tolerância à salinidade (ITS), as cv. BR 206 e BR 5037 Cruzeta foram sensíveis (ITS < 40%) ao estresse salino sem CDH. Na cv. BR 206, todos os CDH melhoram o ITS e as plantas passaram de sensíveis para moderadamente sensíveis à salinidade (40% < ITS < 60%) (Figura 3D). Na cv. BRS 5037 Cruzeta, todos os CDH, exceto com ácido giberélico, melhoram o ITS e as plantas passaram de sensíveis para moderadamente sensíveis à salinidade (40% < ITS < 60%).

Para a homeostase osmótica, verifica-se interação significativa entre as cultivares e os tratamentos pré-germinativos ( $p < 0,01$ ) para a quantificação de açúcares, aminoácidos e

prolina (Figura 4). Na cv. BR 206, os maiores teores de açúcares solúveis totais (AST) ocorreram no controle, estresse salino sem CDH e nos CDH com ácido salicílico (Figura 4A). No entanto, para os demais tratamentos o teor de AST foi inferior ao controle. Na cv. BRS 5037 Cruzeta, todos os tratamentos com estresse salino obtiveram maior teor de AST quando comparado ao controle. Nessa cultivar, os CDH com ácido salicílico favoreceram a maior produção de AST, com  $49,6 \text{ mg g}^{-1}$  de MF. A cv. BR 206 produziu mais AST do que a cv. BRS 5037 Cruzeta, no entanto, com CDH com ácido salicílico os teores destes açúcares foram semelhantes.



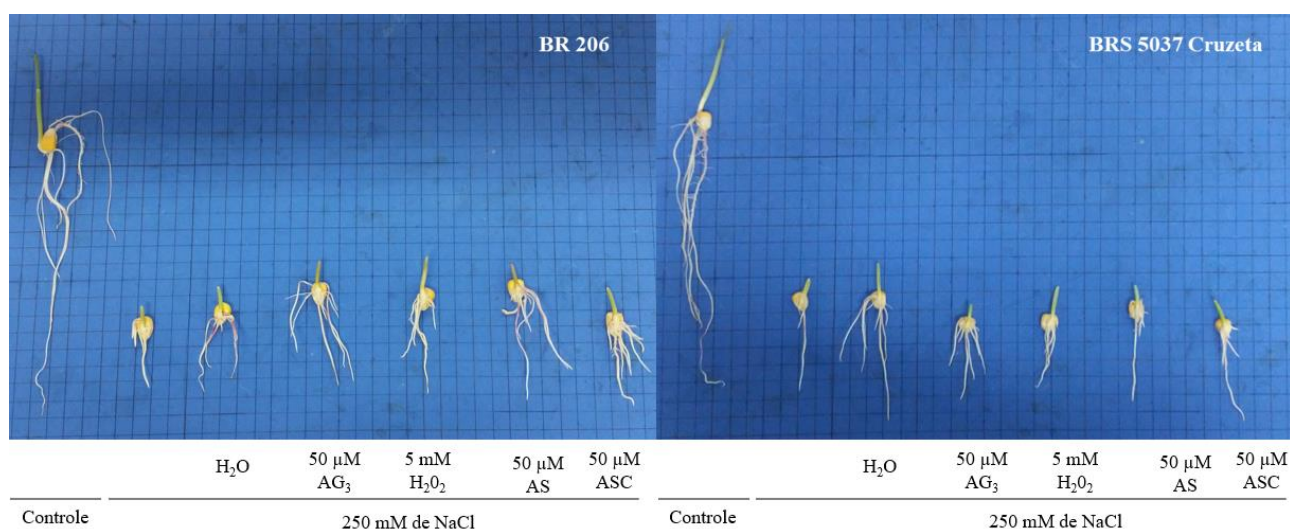
**Figura 4.** Testes de média para a quantificação de açúcares solúveis totais (AST), aminoácidos (AA) e prolina (PRO) em plântulas de *Zea mays* L. submetidas a elicitores de tolerância ao estresse salino em três ciclos descontínuos de hidratação (CDH): Água destilada (H<sub>2</sub>O), ácido giberélico (AG<sub>3</sub>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ácido salicílico (AS), ácido ascórbico (ASC). Médias seguidas da mesma letra minúscula (tratamentos) não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade e de mesma letra maiúscula (cultivares) não diferem entre si pelo teste T Student a 5% de probabilidade. Fonte: Elaborada pela autora.

O estresse salino sem CDH aumentou a síntese de aminoácidos (AA) em 44,9 e 107,5% para as cultivares BR 206 e BRS 5037 Cruzeta em comparação ao controle, respectivamente (Figura 4B). Na cv. BR 206, os CDH em ácido giberélico e ácido salicílico aumentaram, respectivamente, em 15,9 e 13,7% a síntese AA, quando comparado ao estresse

salino sem CDH. Na cv. BRS 5037 Cruzeta, os CDH em ácido giberélico, ácido salicílico e ácido ascórbico incrementaram a síntese AA em 44,6, 33,2 e 44,5% ao estresse salino sem CDH, respectivamente.

O estresse salino sem CDH aumentou o acúmulo de prolina para as cultivares BR 206 e BRS 5037 Cruzeta em 58,98 e 34,46  $\mu\text{mol g}^{-1}$  de MF, em relação ao controle, respectivamente (Figura 4C). Na cv. BR 206, os maiores teores de prolina ocorreram no estresse salino sem CDH e nos CDH com ácido salicílico. Na cv. BRS 5037 Cruzeta, o maior acúmulo de prolina ocorreu nos CDH com ácido giberélico. Na condição de estresse salino, a cultivar BR 206 produziu mais prolina do que a cv. BRS 5037 Cruzeta, porém no CDH com ácido giberélico o teor de prolina foi semelhante entre cultivares.

Os resultados apresentados para o comprimento da parte aérea usando CDH com elicitores para a cv. BR 206 não demonstraram diferença significativa para o estresse salino sem CDH, porém constatou-se maior investimento no comprimento de raiz para esta cultivar em condição de salinidade com os elicitores (Figura 5). Na cultivar BRS 5037 Cruzeta, os CDH em água e ácido salicílico favoreceram tanto o comprimento da parte aérea quanto o comprimento de raiz. Os resultados indicaram que esses tratamentos mitigaram o estresse salino (Figura 5). Mesmo em condição de salinidade, as duas cultivares apresentaram a formação de plântulas com coleóptilo e desenvolvimento radicular. No entanto, neste trabalho a formação de coleóptilo foi reduzida em todos os tratamentos salinos, quando comparadas ao tratamento controle.



**Figura 5.** Aspectos morfológicos de plântulas de milho (*Zea mays* L.), cultivar BR 206 e BRS 5037 Cruzeta, submetidas a elicitores de tolerância ao estresse salino em três ciclos descontínuos de hidratação (CDH): Água (H<sub>2</sub>O), ácido giberélico (AG<sub>3</sub>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ácido salicílico (AS), ácido ascórbico (ASC). Fonte: Acervo da pesquisa.

## 2.4 DISCUSSÃO

Os parâmetros morfofisiológicos em ambas as cultivares de milho foram reduzidos pelo estresse salino. Os resultados obtidos para a cv. BR 206 foram superiores aos encontrados para a cv. BRS 5037 Cruzeta, exceto para o CR e ITS, que foram semelhantes. Na primeira contagem de germinação da cv. BR 206, os CDH com ácido giberélico se destacaram com 85% de sementes germinadas, não diferindo estatisticamente do uso de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> com 81% de sementes germinadas. Esse resultado se deve ao fato das giberelinas (GA<sub>3</sub>) agirem como sinalizadores do estresse. Dessa forma, as respostas adotadas pelas plantas são por melhor absorção de água, germinação e comprimento das plântulas mesmo em condições desfavoráveis, como no estresse salino (KHAN et al., 2020; SÁ et al., 2020; ASAD et al., 2022). O H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, semelhantemente ao AG<sub>3</sub>, atua como sinalizador ao estresse oxidativo e quando aplicado em baixas concentrações interage com hormônios que controlam o processo germinativo (SIES, 2017; RODRIGUES et al., 2021), o que explica maior número de plântulas e germinação uniforme na primeira contagem de germinação nesses tratamentos.

Geralmente a porcentagem de germinação de sementes de milho é reduzida em condições de estresse salino (AKTER et al., 2018; ASAD et al., 2022), porém esse resultado pode variar de acordo com a cultivar. Na cv. BR 206, não houve diferença na germinação entre os tratamentos. Mesmo no estresse salino induzido (250 mM de NaCl), todos os tratamentos resultaram em germinações superiores a 95%. Para a cv. BRS 5037 Cruzeta, por sua vez, o estresse salino sem CDH resultou em perda de 14 pontos percentuais em relação ao tratamento controle, o que comprova a variação no potencial germinativo entre cultivares. As pequenas alterações na contagem final de germinação sugerem a necessidade de outros parâmetros para determinação do grau de tolerância das cultivares de milho. Nesse contexto, parâmetros relacionados ao comprimento e acúmulo de biomassa podem ser utilizados para complementar os resultados de germinação de milho em condições de estresse salino, na medida em que são mais sensíveis aos efeitos da salinidade (SOOTHAR et al., 2021; CATÃO et al., 2020; BRAZ et al., 2019; AKTER et al., 2018).

As cultivares de milho responderam ao estresse salino diminuindo o comprimento da parte aérea e raiz, semelhantemente aos resultados encontrados por Pereira et al. (2024) e Singh et al. (2015). A redução do comprimento das plântulas também foi observada após CDH nos elicitores de tolerância ao estresse. Esta redução está ligada ao desequilíbrio osmótico causado pelo excesso de sais que reduz a absorção de água, a mobilização de reservas, alongação das células da radícula e afeta a divisão e síntese de DNA (BRAZ et al.,

2019; AKTER et al., 2018; TAIZ et al. 2018). Mas ao comparar os CDH com elicitores de tolerância ao estresse, com o tratamento salino, o comprimento da parte aérea foi maior, principalmente na cv. BRS 5037 Cruzeta, exceto com CDH com ácido giberélico. A resposta ao comprimento radicular após os CDH foi maior para as duas cultivares, exceto para a BRS 5037 Cruzeta, com CDH com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Os resultados encontrados nesta pesquisa demonstram que 250 mM de NaCl causam toxidez nas cultivares de milho, provocando deficiência no mecanismo de defesa das plantas, mesmo após os CDH com elicitores. De acordo com Roy et al. (2014), um dos primeiros mecanismos de tolerância das plantas é o ajuste osmótico, regulado por sinais de longa distância que reduzem o comprimento e são acionados antes do acúmulo de Na<sup>+</sup>, o que foi verificado para as cultivares de milho. A segunda estratégia ocorre a partir da exclusão iônica, mediante redução do transporte de Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> nas raízes e consequente redução do acúmulo dos íons nas folhas. A tolerância às altas concentrações de sais nas folhas se deve à compartimentalização dos íons nos vacúolos das células vegetais.

Os CDH com elicitores contribuíram para que as plântulas de milho tolerassem as concentrações de sais nas folhas. Apesar da resposta não ter ocorrido de forma expressiva para o comprimento das plântulas, é perceptível a tentativa das cultivares para tolerar o estresse salino, principalmente com o investimento no comprimento radicular, a partir do aumento de raízes adventícias, principalmente da cultivar BR 206. O incremento no sistema radicular fasciculado é importante para que as plântulas possam retirar água e nutrientes do ambiente antes que as reservas presentes no endosperma sejam exauridas (PEREIRA et al., 2024). Esta resposta é mais pronunciada pelo acúmulo de biomassa das plântulas das cultivares de milho.

Os CDH com elicitores minimizaram os efeitos do estresse salino no acúmulo de biomassa do milho, porém as cultivares tiveram respostas distintas entre os elicitores de tolerância ao estresse salino. Os CDH com água favoreceram o aumento da massa seca da parte aérea na cv. BR 206, porém os resultados de massa seca da raiz e total neste mesmo tratamento foram inferiores aos demais elicitores. Estudos recentes com ciclos descontínuos de hidratação em água induziram à tolerância de espécies florestais ao estresse hídrico em nível morfofisiológico (GONÇALVES et al., 2020; LIMA et al., 2018; HU et al., 2018; BAI et al., 2012). Os CDH permitem que as sementes apresentem melhoria na expressão do vigor em ambiente adverso, de modo que a hidratação e desidratação destas favorecem a aclimação da espécie ao estresse. Os autores relatam que durante esse processo ocorre a iniciação das atividades metabólicas energéticas, respiratórias, mediante mobilização de



reservas,  $\beta$ -oxidação de ácidos graxos, mobilização de nitrogênio e melhoria na permeabilidade da membrana. Essas melhorias favorecem o crescimento embrionário e a emissão radicular em plantas sob o estresse hídrico, no entanto ainda não havia estudo com uso de elicitores de tolerância ao estresse salino.

O fato é que as perdas de biomassa foram próximas a 70% no tratamento salino quando comparadas àquelas do tratamento controle, o que mostra mais uma vez que as sementes de milho apresentaram alta sensibilidade ao estresse salino de 250 mM de NaCl. Porém, nos CDH com elicitores as cultivares de milho passaram de sensíveis para moderadamente sensíveis à salinidade, e as perdas de biomassa foram reduzidas a 60% para a BRS 5037 Cruzeta e 50% para BR 206.

O aumento do acúmulo de biomassa foi a resposta adotada após os CDH com elicitores de tolerância ao estresse salino, semelhantemente aos trabalhos conduzidos com CDH com água como agente elicitor do estresse (LIMA et al., 2018; NICOLAU et al., 2020; SARMENTO et al., 2020), comprovando que o processo de desidratação atua como um estresse prévio, no qual a semente armazena na memória (memória de hidratação) essa informação, e as sementes apresentam maior tolerância quando são expostas ao novo estresse (CHEN; ARORA, 2013). De acordo com Hu et al. (2018), o processo de desidratação naturalmente danifica as membranas lipídicas. O diacilglicerol presente nas células das plantas (plastídio e no retículo endoplasmático) é precursor na síntese de glicerolipídeos, que são desarranjados, causando vazamento de eletrólitos que afeta o desenvolvimento das plântulas. A fim de reduzir esses danos, as sementes investem sua energia metabólica no reparo das membranas, ao invés de investir em comprimento, o que pode explicar a redução do comprimento das plântulas de milho.

Os CDH, em conjunto com os agentes elicitores de tolerância ao estresse, potencializaram as respostas adotadas pelas cultivares de milho sob estresse salino. Os CDH com ácido salicílico permitiram que os resultados do comprimento da parte aérea e raiz, o acúmulo de açúcares e aminoácidos fossem semelhantes entre as duas cultivares. Essa resposta é importante na medida em que reforça que o uso de ácido salicílico favorece o comprimento e desenvolvimento das plantas (KHAN et al., 2015), e esse resultado pode ser mais nítido quando a espécie é mais afetada pelo efeito do estresse salino, como observado para a cv. BR 5037 Cruzeta.

O ácido salicílico também promove aumento da produção de prolina, aumentando o ajuste osmótico, o que permite maior absorção de água e desencadeia a atividade de enzimas antioxidantes (KHAN et al., 2020; SHARMA et al., 2019). Esse comportamento foi

observado para a cv. BR 206, que sintetizou mais prolina, diferindo da cv. BRS 5037 Cruzeta, quando as sementes foram tratadas nos CDH com ácido salicílico; possivelmente foi isso que promoveu maior acúmulo de massa seca da parte aérea, raiz e total, havendo respostas distintas entre as cultivares. De acordo com Khan et al. (2015), o ácido salicílico é um composto fenólico que favorece o crescimento e desenvolvimento das plantas por meio da regulação e produção de vários osmólitos e metabólitos secundários envolvidos nos processos fisiológicos de plantas, sob condições estressantes, razão pela qual as plântulas de milho foram mais vigorosas com o uso desse agente elicitor.

Em condições estressantes, as plantas tendem a produzir mais agentes osmoprotetores. Para as cultivares de milho, esse comportamento foi verificado a partir do acúmulo de aminoácidos no estresse salino sem CDH naturalmente em relação ao controle. Todavia, após os CDH em ácido giberélico e ácido salicílico, sob estresse salino, o aumento de aminoácidos é mais pronunciado, logo as cultivares de milho tenderam a se aclimatar por meio da regulação osmótica. Verifica-se ainda que dentre os aminoácidos produzidos a prolina se acumulou em maior quantidade. A cv. BR 206 obteve maiores teores de aminoácidos e prolina na comparação com a BRS 5037 Cruzeta, o que pode ter contribuído para a maior tolerância desta cultivar. O ajuste osmótico nas células vegetais garante a manutenção da entrada de água e a turgência celular, limitando a quantidade de danos causados no início do estresse (BOWNE et al., 2011; WAN et al., 2017).

Fato importante é que a síntese de açúcares não foi alterada entre o controle e o estresse salino sem CDH, em ambas as cultivares, indicando que o ajuste osmótico do milho ocorre principalmente pelo incremento na síntese de aminoácidos. No entanto, nos CDH com água, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e ácido ascórbico houve diminuição da síntese de açúcares em detrimento do aumento da síntese de aminoácidos.

Os resultados demonstraram que há diferença entre as cultivares de milho, além de reforçar que a resposta adotada após os CDH com elicitores de tolerância ao estresse é variável e depende de fatores diversos (FAROOQ et al., 2015; AKTER et al., 2018; SHI et al., 2020), mas a elevada concentração salina de 250 mM de NaCl e o número de ciclos pode ter sido excessivo para uma resposta mais assertiva.

## 2.5 CONCLUSÕES

O estresse salino (250 mM de NaCl) reduziu a velocidade de germinação e o desenvolvimento de plântulas de milho, sendo a cv. BR 206 mais tolerante do que a cv. BRS

5037 Cruzeta. Os ciclos descontínuos de hidratação atenuam os efeitos do estresse salino, melhorando a velocidade de germinação e o desenvolvimento de plântulas de milho, principalmente por induzir a síntese de osmoprotetores, em especial a prolina. A aplicação de ciclos descontínuos de hidratação com ácido salicílico manteve o ajuste osmótico via aumento da produção de prolina na cultivar BR 206. Quando conduzido com ácido giberélico, promoveu maior acúmulo de prolina para as duas cultivares de milho.

## REFERÊNCIAS

- ANDRADE, W. L. et al. Bradyrhizobium inoculation plus foliar application of salicylic acid mitigates water deficit effects on cowpea. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 40, p. 656-667, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00344-020-10130-3>. Acesso em: 16 mar. 2022.
- AKTER, L. et al. Amelioration of salinity stress in maize seed germination and seedling growth attributes through seed priming. **Open Journal of Soil Science**, v. 8, n. 5, p. 137-146, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.4236/ojss.2018.85011>. Acesso em: 16 mar. 2022.
- ASAD, F. et al. Effect of indole-3- acetic acid and gibberellic acid (GA<sub>3</sub>) on seeds germination, growth performance and biochemical constituents of *Zea mays* L. growing under the salt stress. **Pure and Applied Biology**, v. 11, n. 2, p. 639-650, 2022. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.19045/bspab.2022.110065>. Acesso em: 16 mar. 2022.
- AYERS, R. S.; WESTCOT, D. W. **A qualidade de água na agricultura**. 2.ed. Campina Grande: UFPB, 1999. 153p. (Estudos FAO. Irrigação e Drenagem, 29).
- BAI, B. et al. Ecotypic variability in the metabolic response of seeds to diurnal hydration-dehydration cycles and its relationship to seed vigor. **Plant and Cell Physiology**, v. 53, n. 1, p. 38-52, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/pcp/pcr169>. Acesso em: 16 mar. 2022.
- BATES, L. S. et al. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, v. 39, n. 1, p. 205-207, 1973. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00018060>. Acesso em: 17 mar. 2022.
- BOWNE, J. et al. Abiotic stress and metabolomics. In: HALL, R. D. (Edited). **Annual Plant Reviews: biology of plant metabolomics**, v. 43, p. 61-85, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/9781119312994.apr0463>. Acesso em: 16 mar. 2022.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Projeções do agronegócio: Brasil 2012/2013 a 2022/2023**. Assessoria de Gestão Estratégica. Brasília: Mapa/ACS, 2013. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/ptbr/assuntos/politica-agricola/todas-publicacoes-de-politica-agricola/projecoesdo-agronegocio/projecoes-do-agronegocio-brasil-2012-2013-a-2022-2023.pdf>. Acessado em: 12 nov. 2021.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009.

- BRAZ, R. S. et al. Growth and physiology of maize under water salinity and nitrogen fertilization in two soils. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 23, n. 12, p. 907-913, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/18071929/agriambi.v23n12p907-913>. Acesso em: 26 jan. 2022.
- CATÃO, H. C. R. M. et al. Antioxidant activity and physiological performance of popcorn seed after saline stress and analysis of seedling images. **Ciência e Agrotecnologia** [online], v. 44, e005020, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1413-7054202044005020>. Acesso em: 16 mar. 2022.
- CHEN, K.; ARORA, R. Priming memory invokes seed stress-tolerance. **Environmental and Experimental Botany**, v. 94, p. 33-45, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.03.005>. Acesso em: 26 jan. 2022.
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**, Brasília, DF, v. 9, safra 2021/22, n. 6 sexto levantamento, março 2022. Acesso em: 10 de março de 2021. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/graos/boletim-da-safra-de-graos>. Acesso em: 2 fev. 2022.
- COSTA, A. A. et al. Seed priming improves *Salvia hispanica* L. seed performance under salt stress. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 43, e52006, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v43i1.52006>. Acesso em: 16 mar. 2022.
- CROMARTY, A. S.; ELLIS, R. H.; ROBERTS, E. H. **Design of seed storage facilities for genetic conservation**. Rome: INTERNACIONAL BOARD OF PLANT GENETIC RESOURCES, 1985. 100 p.
- FAGÉRIA, N. K.; SOARES, W. S. F.; GHEYI, H. R. Melhoramento genético vegetal e seleção de espécies tolerantes à salinidade. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. (org.). **Manejo da salinidade na agricultura: estudos básicos e aplicados**. Fortaleza: INCTSal, 2010. p. 205-216.
- FAOSTAT – Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics. **Estimativa** (2020). Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data>. Acesso em: 10 mar. 2022.
- FAROOQ, M. et al. Salt stress in maize: effects, resistance mechanisms, and management. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 35, p. 461-481, 2015. Disponível em: [https:// DOI 10.1007/s13593-015-0287-0](https://doi.org/10.1007/s13593-015-0287-0). Acesso em: 02 fev. 2022.
- FERREIRA, P. A. et al. Aspectos físicos e químicos de solos em regiões áridas e semiáridas. **Manejo da salinidade na agricultura: estudo básico e aplicados**. Fortaleza, INCTSal, 2016.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.28951/rbb.v37i4.450>. Acesso em: 02 fev. 2022.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO), Global Information and Early Warning System (GIEWS). **Country Briefs**. Rome: 2021.

Disponível em: <https://www.fao.org/giews/countrybrief/country.jsp?code=BRA>. Acesso em: 12 nov. 2021.

GHAFFARI, H. et al. Proline-mediated changes in antioxidant enzymatic activities and the physiology of sugar beet under drought stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 41, n. 2, p. 1-13, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11738-019-2815-z>. Acesso em: 10 mar. 2022.

GONÇALVES, B. G. et al. Embryo responses to extreme water events provide insights into the behavior of *Butia capitata* (Arecaceae) seed banks during hydration cycles. **Environmental and Experimental Botany**, v. 169, p. 103904, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.103904>. Acesso em: 10 mar. 2022.

HU, X-L. et al. Turnover of glycerolipid metabolite pool and seed viability. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 5, 1417, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms19051417>. Acesso em: 10 mar. 2022.

KHAN, A. et al. Silicon and gibberellins: synergistic function in harnessing ABA signaling and heat stress tolerance in date palm (*Phoenix dactylifera* L.). **Plants**, v. 9, n. 5, 620, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/plants9050620>. Acesso em: 20 jan. 2022.

KHAN, M. I. R. et al. Salicylic acid-induced abiotic stress tolerance and underlying mechanisms in plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, 462, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00462>. Acesso em: 20 jan. 2022.

LIANG, W. et al. Plant salt-tolerance mechanism: A review. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 495, n. 1, p. 286-291, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.11.043>. Acesso em: 28 fev. 2022.

LIMA, A.; MEIADO, M. Discontinuous hydration alters seed germination under stress of two populations of cactus that occur in different ecosystems in Northeast Brazil. **Seed Science Research**, v. 27, n. 4, p. 292-302, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0960258517000241>. Acesso em: 4 jan. 2022.

LIMA, A. T. et al. Does discontinuous hydration of *Senna spectabilis* (DC.) H.S. Irwin & Barneby var. *excelsa* (Schrad.) H.S. Irwin & Barneby (Fabaceae) seeds confer tolerance to water stress during seed germination? **Journal of Seed Science**, v. 40, n. 1, p. 36-43, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/2317-1545v40n1182838>. Acesso em: 4 jan. 2022.

LUDWICZAK, A. et al. Osmotic stress or ionic composition: which affects the early growth of crop species more? **Agronomy**, v. 11, n. 3, 435, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/agronomy11030435>. Acesso em: 4 jan. 2022.

MEENA, M. et al. Regulation of L-proline biosynthesis, signal transduction, transport, accumulation and its vital role in plants during variable environmental conditions. **Heliyon**, v. 5, n. 12, p. e02952, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02952>. Acesso em: 15 jan. 2022.

NICOLAU, P. B. et al. Discontinuous hydration on the germination of *Mimosa caesalpinifolia* and *Pityrocarpa moniliformis* seeds under water stress. **Revista Caatinga**, v.

33, n. 2, p. 555-561 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1983-21252020v33n228rc>. Acesso em: 24 nov. 2021.

PEREIRA, K. T. O. et al. Exogenous application of organic acids in maize seedlings under salt stress. **Brazilian Journal of Biology**, v. 84, p. e250727, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.250727>. Acesso em: 16 mar. 2022.

RODRIGUES, M. H. B. S. et al. Hydrogen peroxide as a mitigation of salt stress on the germination of *Myracrodruon urundeuva* (Allemão) Engl. Seeds. **Scientia Forestalis**, v. 49, n. 130, e3557, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.18671/scifor.v49n130.14>. Acesso em: 4 jan. 2022.

ROY, S. J. et al. Plantas de cultivo resistentes ao sal. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 26, p. 115–124, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2013.12.004>. Acesso em: 4 jan. 2022.

SÁ, F. V. S. et al. Exogenous application of phytohormones mitigates the effect of salt stress on *Carica papaya* plants. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 24, n. 3, p. 170-175, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v24n3p170-175>. Acesso em: 16 mar. 2022.

SANTOS JÚNIOR, J. L. et al. Discontinuous hydration improves germination and drought tolerance in *Annona squamosa* seedlings. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 3, e56710313706, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i3.13706>. Acesso em: 21 jul. 2021.

SARMENTO, E. C. S. et al. Physiological potential of sorghum seeds under discontinuous hydration and water deficiency conditions. **Revista Ciência Agronômica**, v. 51, n. 4, e20207200, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20200069>. Acesso em: 21 de jul. 2021.

SAXENA, R. et al. Plant responses and resilience towards drought and salinity stress. **Plant Archives**, v. 19, n. 2, p. 50-58, 2019. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/336718293\\_PLANT\\_RESPONSES\\_AND\\_RESILIENCE\\_TOWARDS\\_DROUGHT\\_AND\\_SALINITY\\_STRESS](https://www.researchgate.net/publication/336718293_PLANT_RESPONSES_AND_RESILIENCE_TOWARDS_DROUGHT_AND_SALINITY_STRESS). Acesso em: 5 jan. 2022.

SIDHU, G. P. S. et al. Tolerance and hyperaccumulation of cadmium by a wild, unpalatable herb *Coronopus didymus* (L.) Sm. (Brassicaceae), **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 135, p. 209-215, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.10.001>. Acesso em: 21 jul. 2021.

SIES, H. Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule in physiological oxidative stress: oxidative eustress. **Redox Biology**, v. 11, p. 613-619, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.redox.2016.12.035>. Acesso em: 15 mar. 2022.

SILVA, H. A. et al. Salt stress differentially regulates mobilisation of carbon and nitrogen reserves during seedling establishment of *Pityrocarpa moniliformis*. **Plant Biology**, v. 21, p. 1110–1118, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/plb.13017>. Acesso em: 15 mar. 2022.

SINGH, P. K. et al. Effects of salt stress on physico-chemical changes in maize (*Zea mays* L.) plants in response to salicylic acid. **Indian Journal of Plant Sciences**, v. 4, n. 1, p. 69-77, 2015. Disponível em: <https://www.cibtech.org/J-Plant-Sciences/PUBLICATIONS/2015/Vol-4-No-1/13-JPS-DEC-016-2014-PRAMOD-EFFECTS-SALICYLIC.pdf>. Acesso em: 16 mar. 2022.

SHARMA, L. et al. Plant growth-regulating molecules as thermoprotectants: functional relevance and prospects for improving heat tolerance in food crop. **Journal of Experimental Botany**, v. 71, n. 2, p. 569-594, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jxb/erz333>. Acesso em: 16 mar. 2022.

SHI, R. et al. Response and modeling of hybrid maize seed vigor to water deficit at different growth stages. **Water**, v. 12, n. 11, 3289, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/w12113289>. Acesso em: 15 mar. 2022.

SOOTHAR, M. K. et al. Assessment of acidic biochar on the growth, physiology and nutrients uptake of maize (*Zea Mays* L.) seedlings under salinity stress. **Sustainability**, v. 13, n. 6, 3150, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/su13063150>. Acesso em: 16 mar. 2022.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fundamentals of plant physiology**. New York, NY: Sinauer Associates, 2018.

WAN, Q. et al. Salinity tolerance mechanism of osmotin and osmotin-like proteins: a promising candidate for enhancing plant salt tolerance. **Current Genomics**, v. 18, n. 6, p. 553-556, 2017. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.2174/138920291866617070515304\\_5](http://dx.doi.org/10.2174/138920291866617070515304_5). Acesso em: 16 mar. 2022.

YEMM, E. W. et al. The determination of amino acid with ninhydrin. **Analyst**, v. 80, n. 2, p. 209-213, 1955. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/AN9558000209>. Acesso em: 17 mar. 2022.

YEMM, E. W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. **Biochemical Journal**, v. 57, n. 3, p. 508-514, 1954. Disponível em: <https://doi.org/10.1042/bj0570508>. Acesso em: 17 mar. 2022.

### 3 CICLOS DE PRIMING COM ELICITORES DE TOLERÂNCIA AO ESTRESSE SALINO EM SEMENTES DE FEIJÃO-CAUPI

#### RESUMO

A exposição das sementes a agentes elicitores de tolerância aos estresses abióticos, como os fitormônios e ácidos orgânicos, em ciclos de hidratação e desidratação pode determinar sua resposta a um estímulo subsequente, como a exposição ao estresse salino. Diante disso, objetivou-se avaliar a ação de ciclos descontínuos de hidratação com diferentes agentes elicitores do estresse salino na germinação, comprimento e ajuste osmótico de cultivares de feijão-caupi. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado seguindo o arranjo fatorial 2 x 7, com quatro repetições de 50 sementes. As sementes de feijão-caupi, variedades Sempre Verde e a Pingo de Ouro, foram submetidas aos seguintes tratamentos: 0,0 mM de NaCl (controle); 100 mM de NaCl (estresse salino); estresse salino + três ciclos de priming (CP) das sementes em água; estresse salino + CP em ácido giberélico; estresse salino + CP em peróxido de hidrogênio; estresse salino + CP em ácido salicílico; estresse salino + CP em ácido ascórbico. As seguintes variáveis foram avaliadas: primeira contagem de germinação, germinação, comprimento da parte aérea e raiz, massa seca da parte aérea, cotilédone e raiz, índice de tolerância à salinidade da parte aérea e raiz, açúcares solúveis totais, aminoácidos livres totais e prolina. O estresse salino (100 mM NaCl) reduz a germinação, comprimento e acúmulo de biomassa das variedades de feijão-caupi, Sempre Verde e Pingo de Ouro. Os CP com ácidos giberélico e salicílico são os que mais favoreceram a resposta das variedades de feijão-caupi. Os CP com ácidos giberélico e salicílico promoveram maior potencial germinativo, comprimento e biomassa sob estresse salino de 100 mM NaCl, conferindo maior tolerância pela regulação osmótica, principalmente para a variedade Sempre Verde.

**Palavras-chave:** *Vigna unguiculata*. Estresse abiótico. Memória de hidratação. Atenuadores.



## PRIMING CYCLES WITH SALINE STRESS TOLERANCE ELICITORS IN SEEDS OF FEIJÃO-CAUPI

### ABSTRACT

The exposure of seeds to elicitor agents, such as phytohormones and organic acids, in hydration and dehydration cycles can determine their response to a subsequent stimulus, such as exposure to saline stress. The objective of this study was to evaluate the action of priming cycles with different salt stress-tolerance elicitors on germination, growth and osmotic adjustment of cowpea varieties. The experiment was conducted in a completely randomized design, following a 2 x 7 factorial arrangement, with four replicates of 50 seeds. Varieties cowpea, Sempre Verde and Pingo de Ouro, were subjected to the following treatments: 0.0 mM of NaCl (control); 100 mM of NaCl (salt stress); salt stress + three priming cycles (PCs) of seeds in water; salt stress + PCs in gibberellic acid; salt stress + PCs in hydrogen peroxide; salt stress + PCs in salicylic acid; and salt stress + PCs in ascorbic acid. The following variables were evaluated: first germination count, germination, shoot and root length, shoot, cotyledon and root dry mass, shoot and root salinity tolerance index, total soluble sugars, total free amino acids and proline. Salt stress (100 mM NaCl) reduces germination, growth and biomass accumulation of cowpea, Sempre Verde and Pingo de Ouro varieties. PCs with gibberellic and salicylic acids are the ones that most favored the response of cowpea varieties. The PC with gibberellic and salicylic acids promoted greater germination potential, growth and biomass under saline stress of 100 mM NaCl, conferring greater tolerance by osmotic regulation, mainly for the Sempre Verde variety.

**Keywords:** *Vigna unguiculata*. Abiotic stress. Hydration memory. attenuators.

### 3.1 INTRODUÇÃO

O processo de salinização é um problema global, com área estimada de ~8,31–11,73 Mkm<sup>2</sup>. Isso tem causado perda de recursos provenientes do solo, com impacto negativo ao meio ambiente, à produção agrícola, causando, conseqüentemente, problemas econômicos, socioculturais e para a saúde humana. Essa problemática pode ser agravada em regiões áridas e semiáridas em virtude da taxa de evaporação ser superior à de precipitação, o que favorece a formação de crostas de sais nas camadas superficiais do solo (DALIAKOPOULOS et al., 2016; HASSANI; AZAPAGIC; SHOKRI, 2021).

Dentre os sais presentes, os íons de sódio (Na<sup>+</sup>) nas camadas superficiais do solo elevam o potencial de retenção de água e nutrientes, comprometendo a capacidade produtiva do solo e inibindo a germinação e o crescimento das plantas em resposta à toxicidade iônica e ao desequilíbrio catiônico (LE et al., 2021; LIU et al., 2022). As culturas agrônômicas apresentam níveis distintos de tolerância ao estresse salino, e as leguminosas toleram níveis modestos de potencial osmótico. Dentre estas, o feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.) demonstra sensibilidade ao estresse salino desde a germinação, seguido do desenvolvimento inicial de plântulas (FERREIRA et al., 2017; PRAXEDES et al., 2020).

O excesso de íons, principalmente de Na<sup>+</sup> e/ou Cl<sup>-</sup>, reduz a uniformidade de germinação, e sua presença na zona radicular dificulta o estabelecimento das plântulas em campo, devido à redução da capacidade das plantas em remover a água do substrato (FERREIRA et al., 2017; PRAXEDES et al., 2020). Além disso, a toxidez iônica compromete os órgãos reprodutivos e a produção de sementes e/ou grãos, reduzindo o potencial reprodutivo e a produtividade da cultura (LE et al., 2021; LOIOLA et al., 2022). Para reduzir o potencial osmótico celular, manter as atividades metabólicas vitais e a turgência celular, as sementes e plântulas de feijão-caupi produzem osmólitos compatíveis a fim de melhorar a tolerância aos estresses abióticos (ANDRADE et al., 2021; SANTOS et al., 2022).

Apesar de ser determinada geneticamente, a melhoria da tolerância à salinidade em plantas é uma estratégia eficaz, mas depende da capacidade da espécie em perceber o ambiente estressante e sinalizar os mecanismos de defesa (MIRANDA et al., 2021). Essa tolerância à salinidade pode ser potencializada por meio da adoção de técnicas pré-germinativas, como o hidropriming, que resulta na melhoria do potencial germinativo, uniformidade de germinação e formação de plântulas mais vigorosas de feijão-caupi produzidas sob estresse salino (NABI et al., 2020). Quando o hidropriming é conduzido em ciclos, supre a necessidade de água que as sementes necessitam para ativar seu metabolismo.

O início da hidratação das sementes ativa as funções metabólicas energéticas, respiratórias e o início da mobilização de reservas. A perda de água paralisa essas atividades e melhora a permeabilidade das membranas, que favorece a embebição das sementes após a retomada do processo de hidratação quando a água ficar novamente disponível. As atividades anteriormente iniciadas prosseguem, de forma que o crescimento embrionário seguido da emissão radicular promove a germinação, mostrando que esse pré-tratamento das sementes pode ser eficiente para as espécies, aumentando sua tolerância aos estresses abióticos (LIMA et al., 2018; GONÇALVES et al., 2020; NASCIMENTO et al., 2021).

A adoção de tratamento pré-germinativo com outros agentes elicitores de tolerância aos estresses abióticos, como hormônios vegetais e ácidos orgânicos, tem sido relatada na literatura nas fases iniciais de desenvolvimento das espécies vegetais com o objetivo de melhorar a germinação, emergência e formação de plântulas. De acordo com Ali et al. (2022), a aplicação exógena de ácido giberélico em sementes de sorgo (*Sorghum bicolor* [L.] Moench) favorece a germinação, o comprimento e os parâmetros fisiológicos da planta sob estresse salino. O ácido giberélico melhora a absorção de água, aumenta a plasticidade da membrana celular, estimula a atividade da amilase e permite a conversão de amido insolúvel em açúcares solúveis em plântulas de arroz (*Oryza sativa*) (LI et al., 2019; GARCIA et al., 2021).

O priming com ácido ascórbico de sementes de feijão-caupi promove a ativação do mecanismo de defesa das plântulas, protegendo-as contra os danos oxidativos causados pelo excesso de sais nas células vegetais (NUNES et al., 2019). O ácido salicílico, por sua vez, é um fitohormônio bem conhecido como molécula sinalizadora na indução do sistema defensivo das plantas aos estresses bióticos ou abióticos e que, quando embebido pelas sementes, age como sinalizador do estresse (BARBOSA et al., 2019). O incremento de enzimas antioxidantes, principalmente a catalase, e a regulação nos teores de  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  nas folhas são relatados quando as sementes de girassol foram condicionadas com peróxido de hidrogênio, aumentando a tolerância da espécie ao estresse salino (SILVA et al., 2022).

A hipótese da pesquisa é de que os ciclos de priming com elicitores de tolerância ao estresse podem mitigar o estresse salino em variedades de feijão-caupi. Assim, objetivou-se avaliar, por meio de avaliações fisiológicas e bioquímicas, a ação de ciclos de priming com diferentes agentes elicitores de tolerância ao estresse salino em sementes de feijão-caupi.

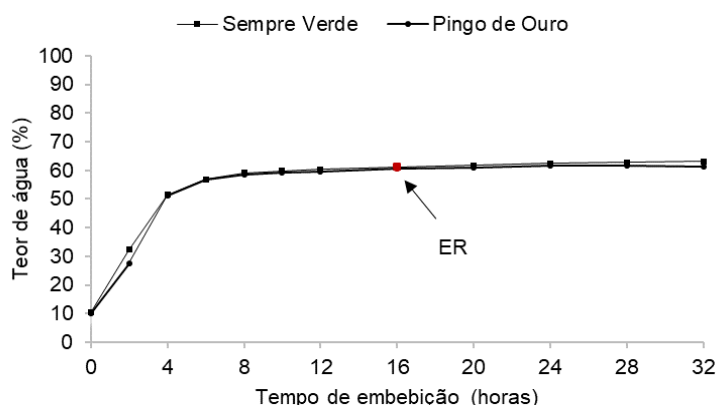
### 3.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido de novembro de 2019 a fevereiro de 2020 no Laboratório de Análise de Sementes, pertencente ao Departamento de Ciências Agronômicas e Florestais da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró/RN, Brasil (5° 11' S e 37° 20' W, e 18 m altitude).

As variedades de feijão-caupi utilizadas foram as de hábito de crescimento indeterminado Sempre Verde e Pingo de Ouro da safra 2019, provenientes de coleções de Guardiões de Sementes Crioulas existentes nas comunidades rurais no município de Caraúbas, Rio Grande do Norte, Brasil. Após o recebimento, as sementes foram armazenadas em ambiente controlado (16-18 °C e 40% de umidade relativa) durante toda a fase experimental. A Sempre Verde de grãos marrom-claro-esverdeada é amplamente cultivada na Região Nordeste por apresentar ciclo precoce, de 68 dias e produtividade média de 1022 kg/ha em regime de sequeiro e de 1.782 kg/ha irrigado. Pingo de ouro é uma variedade semiprecoce cultivada no nordeste brasileiro, com ciclo de até 80 dias e produtividade média de 636,9 kg/ha de grãos verdes.

Inicialmente, quantificou-se o teor de água das sementes pelo método da estufa a  $105 \pm 3$  °C por 24 horas (BRASIL, 2009), utilizando-se duas repetições de  $4,5 \pm 0,5$  g. O teor de água foi calculado com base na massa úmida e expresso em porcentagem.

A curva de embebição foi realizada com duas repetições de 50 sementes, que foram pesadas em balança analítica digital (0,001 g) antes da embebição e após cada intervalo de tempo previamente determinado, até a emissão da raiz primária. A embebição foi realizada pelo método de imersão em água com as sementes dispostas em *Becker* contendo 100 mL de água destilada a 25 °C. Inicialmente, os intervalos de pesagem aconteceram a cada hora durante oito horas de embebição; em seguida, pesou-se a cada duas horas até completar trinta e duas horas de embebição, quando houve a protrusão da raiz primária em 50% das sementes de cada repetição (Figura 1).



**Figura 1.** Curva de embebição de sementes de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.), variedades Sempre Verde e Pingo de Ouro, pelo método de imersão em água a 25 °C. Início da emissão radicular (ER). Fonte: Elaborada pela autora.

Durante a embebição das sementes, o ganho de peso foi calculado de acordo com a fórmula proposta por Cromarty; Ellis; Roberts (1985): % Ganho de peso =  $[(Pf - Pi)/Pi] \times 100$ , em que Pf: peso final (ganho de umidade a cada período de embebição) e Pi: peso inicial das sementes antes da embebição.

O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado seguindo o arranjo fatorial 2 x 7, com quatro repetições de 50 sementes. Os tratamentos foram constituídos de duas variedades de feijão (Sempre Verde e Pingo de Ouro) e sete combinações de ciclos de priming (CP) com elicitores de tolerância ao estresse salino: T1 – 0,0 mM de NaCl (controle) sem CP; T2 – 100 mM de NaCl (estresse salino); T3 – três ciclos priming (CP) das sementes com água destilada + estresse salino; T4 – CP com ácido giberélico – 50  $\mu$ M (AG<sub>3</sub>) + estresse salino; T5 – CP com peróxido de hidrogênio – 5 mM (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) + estresse salino; T6 – CP com ácido salicílico – 50  $\mu$ M (AS) + estresse salino e T7 - CP com ácido ascórbico – 50  $\mu$ M (ASC) + estresse salino (Tabela 1).

**Tabela 1.** Condutividade elétrica (CE) das soluções utilizadas nos ciclos de priming em feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.), variedades Sempre Verde e Pingo de Ouro.

Soluções	CE ( $\mu$ Sm <sup>-1</sup> ) a 25 °C
Água destilada	4,13
50 $\mu$ M de ácido giberélico	14,25
5 mM de peróxido de hidrogênio	4,17
50 $\mu$ M de ácido salicílico	14,96
50 $\mu$ M de ácido ascórbico	9,40

Fonte: Elaborada pela autora.

Os CP foram definidos de acordo com os dados obtidos na curva de embebição, ao passo que as concentrações salina e dos agentes elicitores de tolerância foram obtidas com base em testes preliminares. O processo de hidratação foi conduzido em 50 ml do agente elicitor a cada ciclo, em copos descartáveis contendo 100 sementes por trinta minutos em câmara de germinação a 25 °C no escuro. Posteriormente, as sementes foram secas e sobrepostas em papel toalha e o processo de desidratação ocorreu por doze horas de desidratação, por três ciclos. A secagem foi realizada em temperatura e umidade relativa ambiente média de 29,5±0,7 °C e umidade relativa de 67±5%, respectivamente, obtidos por Termo-higrômetro digital Jprolab®. Ao final dos CP, as sementes apresentaram teor de água em torno de 30%.

Posteriormente aos CP, as sementes foram semeadas em substrato tipo papel na forma de rolo, previamente umedecido com água destilada (0,0 mM - controle) e água salina nos demais tratamentos a 100 mM, obtida pela dissolução de cloreto de sódio (NaCl), correspondente a 5,84 g L<sup>-1</sup>. Os rolos foram incubados em germinador sob a temperatura de 25 °C (BRASIL, 2009). As avaliações da primeira contagem de germinação (PCG) e de germinação (G) foram realizadas aos cinco e oito dias, respectivamente, após a semeadura (BRASIL, 2009).

Os comprimentos da parte aérea (CPA) e raiz (CR) das plântulas normais foram aferidos no final do teste de germinação. Os comprimentos da parte aérea (medido do colo ao ápice da plântula) e da raiz primária (medida da base do colo à extremidade da raiz) foram mensurados com auxílio de uma régua graduada em centímetros. Após as mensurações de comprimento, as plântulas foram acondicionadas em sacos de papel tipo *kraft* e postas para secar em estufa de circulação de ar forçado, a 65 °C até a obtenção de peso constante. Posteriormente, foram pesadas em balança de precisão para a obtenção da massa seca dos cotilédones (MSCOT), da parte aérea (MSPA) e da raiz (MSR).

Com os resultados de massa seca (MS) da parte aérea e raiz, foram calculadas as percentagens particionadas entre os órgãos vegetativos e o índice de tolerância à salinidade da parte aérea e raiz, comparando-se os dados dos tratamentos salinos com os do controle (CE= 4,13 μSm<sup>-1</sup> a 25 °C). A classificação da tolerância foi realizada com base na perda de biomassa em quatro níveis: T (tolerante; 0–20%), MT (moderadamente tolerante; 21–40%), MS (moderadamente sensível; 41–60%) e S (sensível; >60%), por meio da Equação adaptada de Fágeria, Soares e Gheyi (2010):

$$IT(\%) = \frac{MS \text{ do tratamento salino}}{MS \text{ do tratamento controle}} \times 100$$

Os açúcares solúveis totais (AST) foram obtidos a partir da massa fresca das plântulas. No momento da extração, o material foi macerado com auxílio de cadinho e pistilo em nitrogênio líquido. Em seguida, foram pesados 0,2 g em triplicata e acondicionados em tubos rosqueados do tipo Eppendorf. Feito isso, foi adicionado 1 mL de álcool 80%, e as amostras foram colocadas em banho-maria a 60 °C por 20 min. O material foi submetido à centrífuga refrigerada a 4 °C por 10 minutos a 10 RPM (processo realizado três vezes), e o sobrenadante foi coletado para quantificação dos açúcares. A dosagem de açúcares solúveis totais foi mensurada pela absorbância em 620 nm pelo método da antrona (YEMM; WILLIS, 1954), tendo a glicose como substância padrão e os resultados expressos em  $\mu\text{mol}$  de GLU  $\text{g}^{-1}$  de massa fresca.

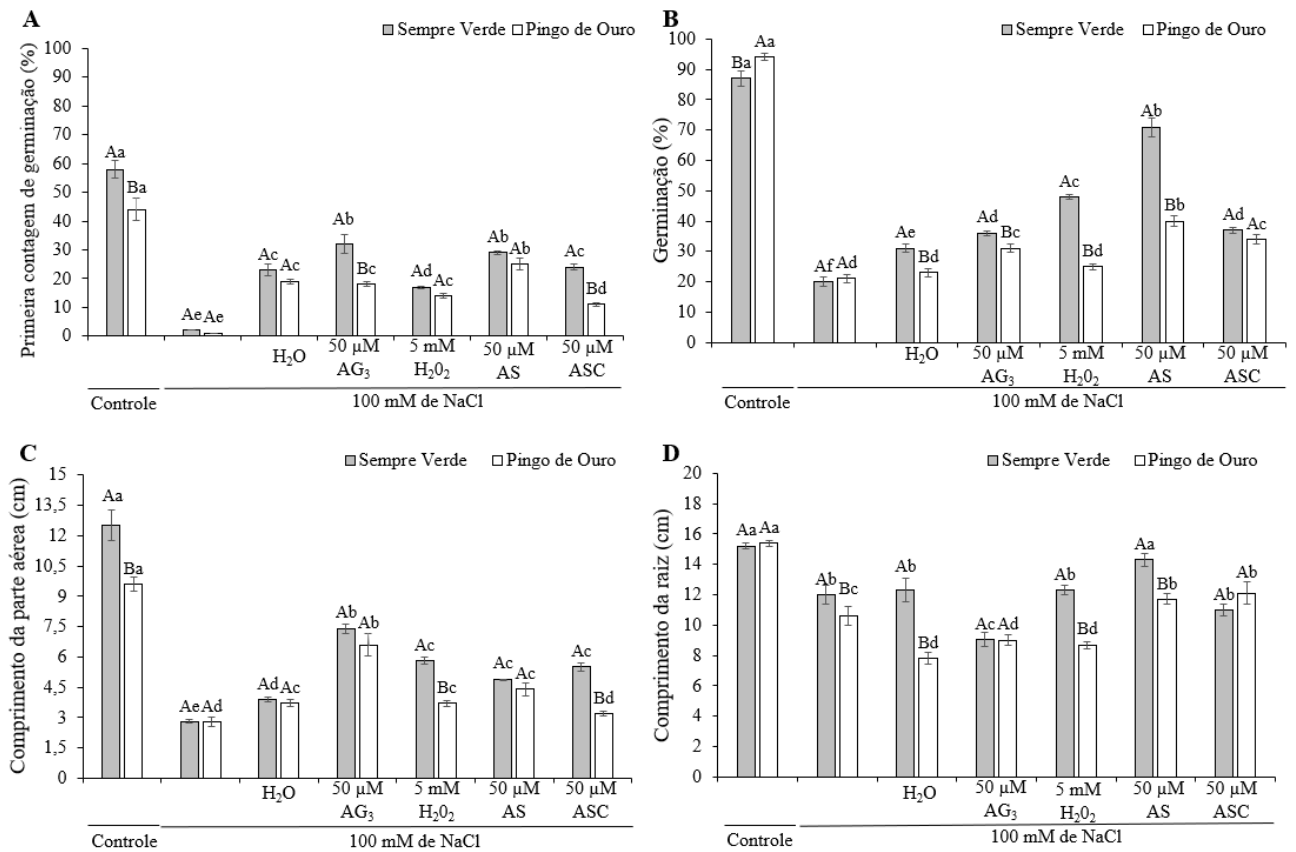
Na determinação de aminoácidos livres totais (AA), o sobrenadante obtido no processo de extração foi utilizado para a quantificação dos teores de aminoácidos. Para isso, aplicou-se o método da nihidrina ácida com a medição da absorbância a 570 nm (YEMM et al., 1955), tendo a glicina como substância padrão e os resultados expressos em  $\mu\text{mol}$  GLI  $\text{g}^{-1}$  de massa fresca.

A determinação de prolina (PRO) obedeceu à metodologia descrita por Bates et al. (1973). As concentrações de prolina foram determinadas com base na curva padrão obtida a partir de L-Prolina, medindo a absorbância em 520 nm. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol}$  PRO  $\text{g}^{-1}$  de massa fresca.

Os dados foram submetidos à análise de variância (teste F), e as médias dos tratamentos pré-germinativos dentro de cada variedade foram comparadas pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade, ao passo que as médias das variedades dentro de cada tratamento foram comparadas pelo teste T Student ao nível de 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa computacional Sistema para Análise de Variância – SISVAR (FERREIRA, 2019).

### 3.3 RESULTADOS

A interação entre as variedades de feijão-caupi e os tratamentos pré-germinativos foi significativa para a primeira contagem de germinação, germinação, comprimento da parte aérea e comprimento da raiz ( $p < 0,01$ ) (Figura 2).



**Figura 2.** Médias da primeira contagem de germinação (PCG), germinação (G), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento da raiz (CR) de plântulas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.), variedades Sempre Verde e Pingo de Ouro, submetidas a elicitores de tolerância ao estresse salino em três ciclos de priming (CP). Água (H<sub>2</sub>O), ácido giberélico (AG<sub>3</sub>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ácido salicílico (AS), ácido ascórbico (ASC). Médias seguidas da mesma letra minúscula (tratamentos) não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade e de mesma letra maiúscula (variedades) não diferem entre si pelo teste T Student a 5% de probabilidade. Fonte: Elaborada pela autora.

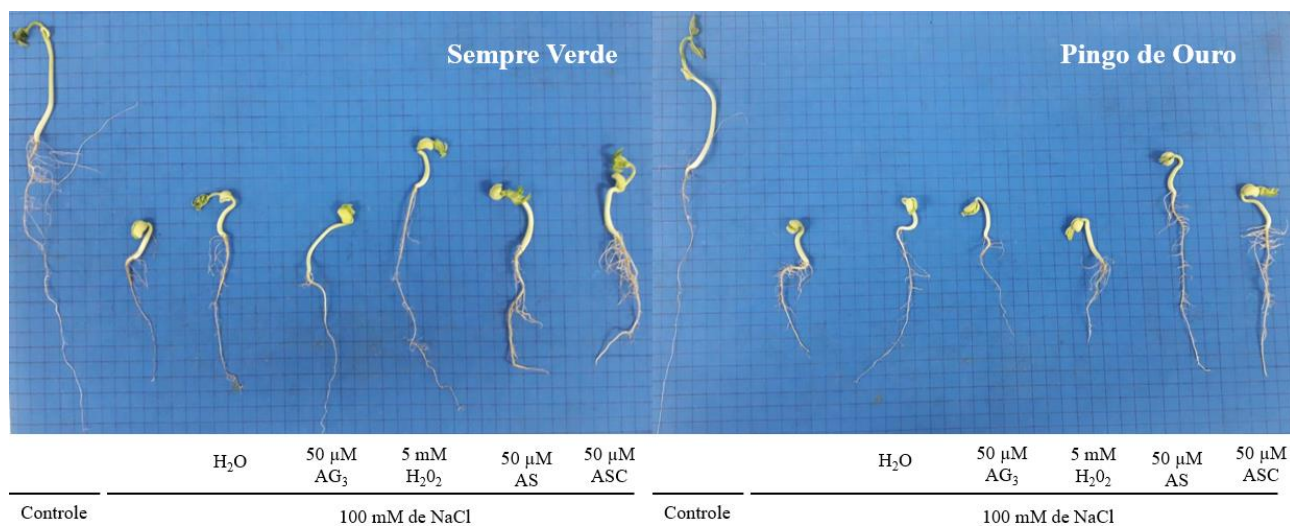
O estresse salino sem CP reduziu em 56 e 43 pontos percentuais a primeira contagem de germinação das variedades Sempre Verde e Pingo de Ouro, respectivamente, na comparação ao controle. Os CP nos elicitores de tolerância melhoraram a primeira contagem de germinação para a variedade Sempre Verde em relação ao estresse salino sem PC, mas os PC com ácido giberélico e salicílico aumentaram em 30 e 27 pontos percentuais, respectivamente (Figura 2A). Na variedade Pingo de Ouro, os CP nos elicitores de tolerância favoreceram o aumento de plântulas germinadas na primeira contagem de germinação, no entanto os CP com ácido salicílico promoveram melhores resultados, em 24 pontos percentuais quando comparados ao estresse salino sem CP.

O estresse salino sem CP afetou o potencial germinativo das variedades Sempre Verde e Pingo de Ouro em 67 e 73 pontos percentuais, respectivamente (Figura 2B). Os CP nos



elicitores de tolerância melhoraram a germinação em relação ao estresse salino sem CP, porém estes com ácido salicílico promoveram maior número de plântulas germinadas, correspondendo a 71% para a variedade Sempre Verde e 40% para a variedade Pingo de Ouro. As melhores geminações ocorreram para a variedade Sempre Verde, não havendo diferença estatística entre as variedades somente na condição de estresse salino sem CP e quando estes foram conduzidos com ácido ascórbico.

O comprimento da parte aérea de plântulas das variedades Sempre Verde e Pingo de Ouro foram reduzidas em 77,6 e 70,8%, respectivamente, quando as sementes foram semeadas em estresse salino sem CP nos elicitores de tolerância (Figura 3). Na variedade Sempre Verde, os CP nos elicitores de tolerância promoveram maior comprimento do CPA, com destaque para o CP com ácido giberélico em condição salina, com ganhos de 164%, em relação ao estresse salino sem CP (Figura 2C). Na variedade Pingo de Ouro, os PC nos elicitores de tolerância também promoveram ganhos no CPA de plântulas, exceto para PC com ácido ascórbico, não diferindo do estresse salino sem CP (Figura 2C). Para essa variedade, os CP com ácido giberélico promoveram maior CPA (137%), quando comparados à condição de estresse salino sem CP, não diferindo estatisticamente da Sempre Verde (Figura 2C).

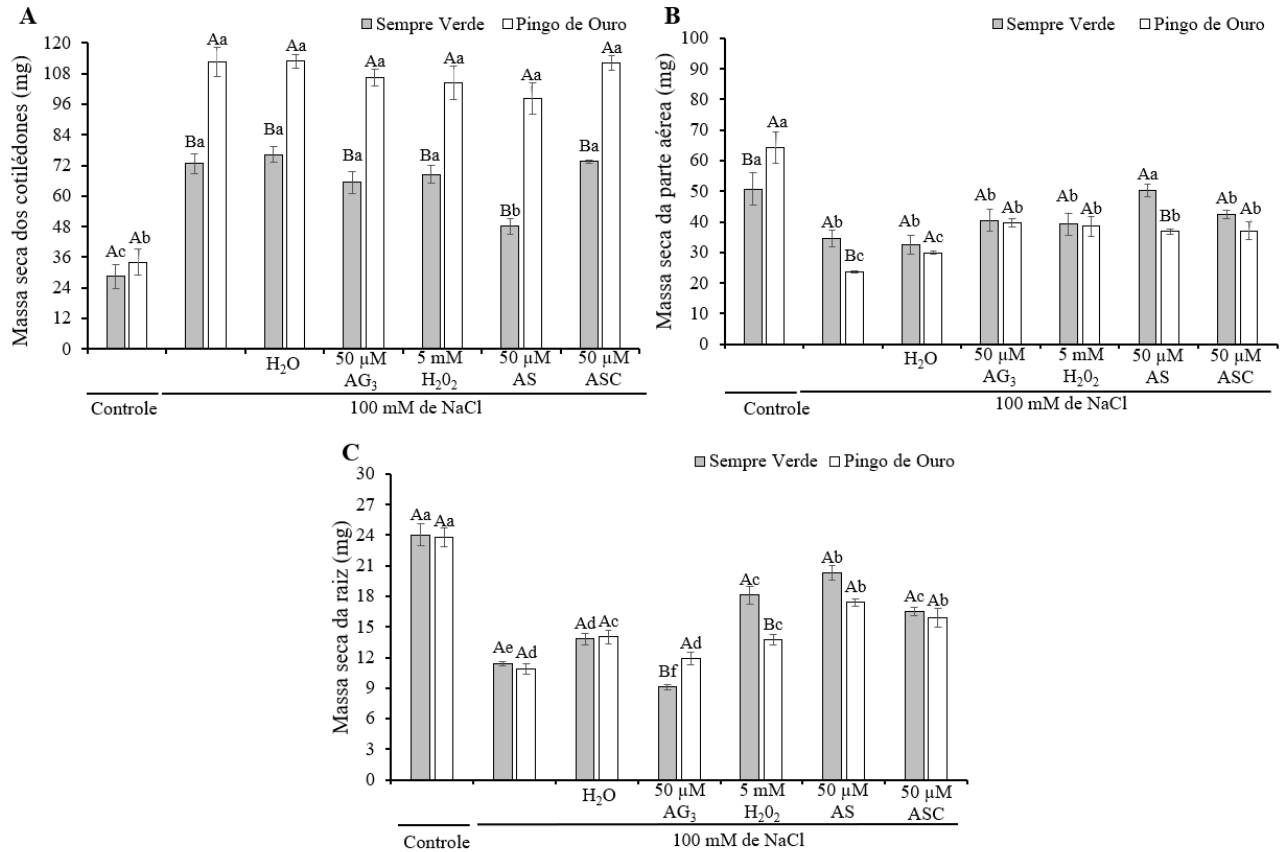


**Figura 3.** Aspectos morfológicos de plântulas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.), variedades Sempre Verde e Pingo de Ouro, submetidas a elicitores de tolerância ao estresse salino em três ciclos de priming. Água (H<sub>2</sub>O), ácido giberélico (AG<sub>3</sub>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ácido salicílico (AS), ácido ascórbico (ASC). Fonte: Acervo da pesquisa.

O estresse salino sem CP reduziu o CR das variedades Sempre Verde e Pingo de Ouro em 21 e 31,1%, respectivamente (Figura 2D). Para a variedade Sempre Verde, os CP com ácido salicílico promoveram o CR em 19,2% quando comparado ao estresse salino sem PC

(Figura 2D). Na variedade Pingo de Ouro, os CP com ácido salicílico favoreceram o CR em 10,4%, ao passo que os CP com ácido ascórbico favoreceram em 14,2%, não diferindo da Sempre Verde, quando comparados ao estresse salino sem CP.

A interação entre as variedades de feijão-caupi e os tratamentos pré-germinativos foi significativa ( $p < 0,01$ ) para a massa seca dos cotilédones, massa seca da parte aérea e massa seca da raiz (Figura 4).



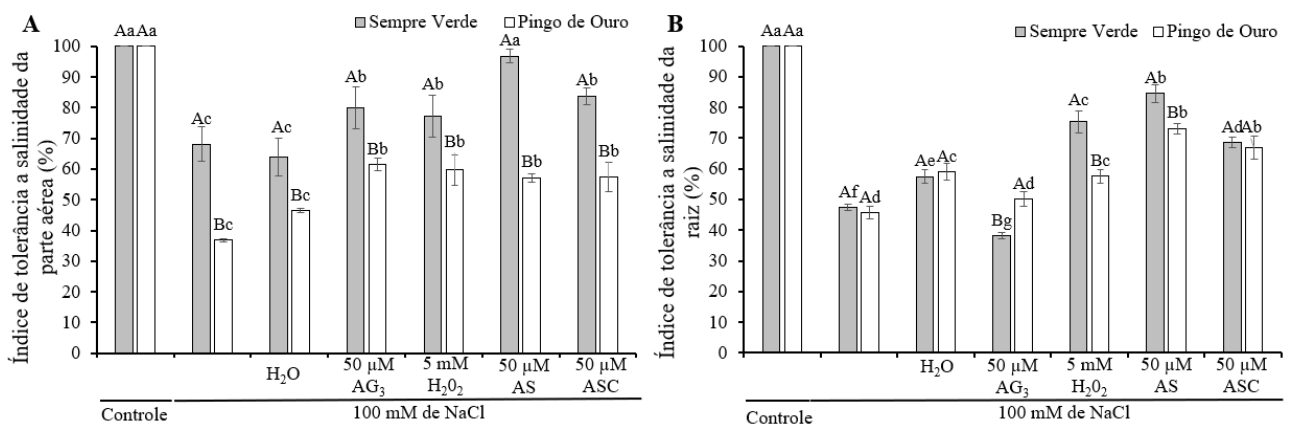
**Figura 4.** Médias da massa seca dos cotilédones (MSCOT), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca da raiz (MSR) de plântulas feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.), variedades Sempre Verde e Pingo de Ouro, submetidos a elicitores de tolerância ao estresse salino em três ciclos de priming (CP). Água (H<sub>2</sub>O), ácido giberélico (AG<sub>3</sub>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ácido salicílico (AS), ácido ascórbico (ASC). Médias seguidas da mesma letra minúscula (tratamentos) não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade e de mesma letra maiúscula (variedades) não diferem entre si pelo teste T Student a 5% de probabilidade. Fonte: Elaborada pela autora.

Todos os tratamentos salinos reduziram o consumo de reservas dos cotilédones para ambas as variedades. A Sempre Verde obteve média de 71,28 mg.plântula<sup>-1</sup> de MSCOT, exceto nos CP com ácido salicílico, que obteve 48,2 mg. plântula<sup>-1</sup> de MSCOT. Para Pingo de Ouro, o resultado médio foi de 107,85 mg.plântula<sup>-1</sup> de MSCOT (Figura 4A).

Para a massa seca da parte aérea, o estresse salino sem CP promoveu redução de 31,7 e 63,2% para as variedades Sempre Verde e Pingo de Ouro, respectivamente. Para a Sempre Verde, os CP com ácido salicílico promoveram resultados semelhantes ao controle, com ganho de 45,7% quando comparados ao estresse salino sem CP (Figura 4B). Em contrapartida, somente nos CP com água para a variedade Pingo de Ouro a massa seca da parte aérea não obteve resposta distinta em relação ao estresse salino sem CP. Para essa variedade, a massa seca da parte aérea foi superior em média 60,4% nos CP com ácido giberélico, CP com peróxido de hidrogênio, CP com ácido salicílico e CP com ácido ascórbico.

O acúmulo de massa seca da raiz foi afetado quando as sementes foram submetidas ao estresse salino sem PC em 52,5 e 54,2%, em relação ao controle nas variedades Sempre Verde e Pingo de Ouro, respectivamente (Figura 4C). Os CP nos elicitores de tolerância favoreceram a massa seca da raiz da Sempre Verde, com destaque para os CP em ácido salicílico, com incremento de 78,1% em comparação ao estresse salino sem CP. Para essa variedade, o menor acúmulo de massa seca da raiz (62,1%) ocorreu para os CP em ácido giberélico. Resultado semelhante foi obtido na variedade Pingo de Ouro. Os CP com ácido giberélico não promoveram ganhos na massa seca da raiz em comparação à condição de estresse salino sem CP. No entanto, os CP com ácido salicílico e CP com ácido ascórbico resultaram em maior acúmulo de massa seca da raiz em 59,6 e 45,9%, respectivamente, quando comparados ao estresse salino sem CP.

A interação entre as variedades de feijão-caupi e os tratamentos pré-germinativos foi significativa ( $p < 0,01$ ) para o índice de tolerância à salinidade da parte aérea e raiz (Figura 5).

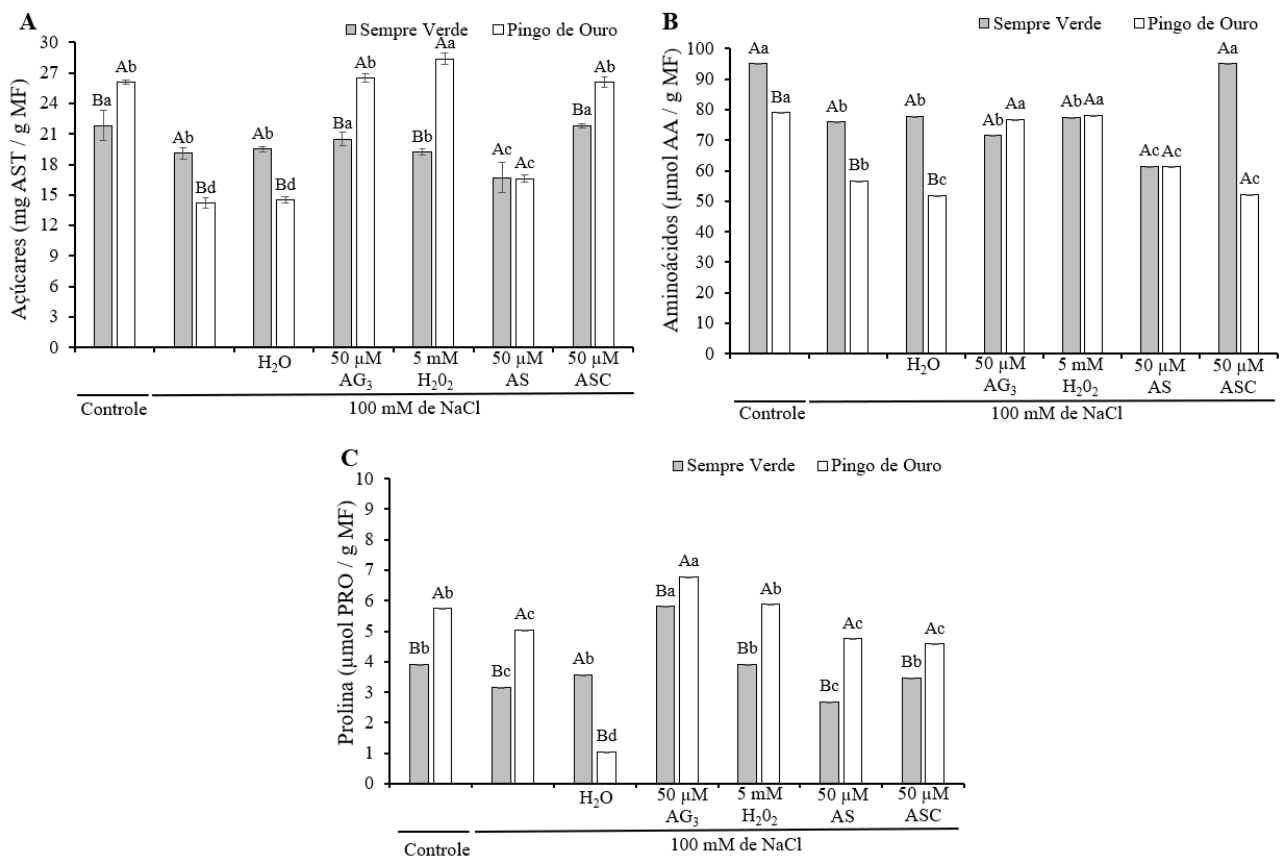


**Figura 5.** Índice de tolerância à salinidade da parte aérea (ITSPA) e raiz (ITSR) de plântulas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.), variedades Sempre Verde e Pingo de Ouro, submetidos a elicitores de tolerância ao estresse salino em três ciclos de priming (CP). Água (H<sub>2</sub>O), ácido giberélico (AG<sub>3</sub>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ácido salicílico (AS), ácido

ascórbico (ASC). Médias seguidas da mesma letra minúscula (tratamentos) não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade e de mesma letra maiúscula (variedades) não diferem entre si pelo teste T Student a 5% de probabilidade. Fonte: Elaborada pela autora.

Em relação ao ITSPA, verifica-se que a Sempre Verde é moderadamente tolerante ( $60\% < ITS < 80\%$ ) à salinidade de 100 mM de NaCl, ao passo que Pingo de Ouro é sensível ( $ITS < 40\%$ ) (Figura 5A). Após os CP com ácido salicílico e CP com ácido ascórbico, a Sempre Verde passa a ser tolerante ( $ITS > 80\%$ ). Pingo de Ouro obteve resultados inferiores de ITSPA em comparação com Sempre Verde, no entanto, após os CP nos elicitores de tolerância, passou a ser moderadamente sensível à salinidade ( $40\% < ITS < 60\%$ ). O ITSR foi reduzido quando as sementes foram semeadas em condição de estresse salino sem CP para as duas variedades. As variedades Sempre Verde e Pingo de Ouro passaram de moderadamente sensível à salinidade ( $40\% < ITS < 60\%$ ) para moderadamente tolerante ( $60\% < ITS < 80\%$ ) após CP com ácido salicílico e CP com ácido ascórbico.

A interação entre variedades de feijão-caupi e os tratamentos pré-germinativos foi significativa para a quantificação de açúcares solúveis totais ( $p < 0,01$ ), aminoácidos ( $p < 0,01$ ) e prolina ( $p < 0,05$ ) (Figura 6).



**Figura 6.** Testes de média para a quantificação de açúcares solúveis totais (AST), aminoácidos (AA) e prolina (PRO) de plântulas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.), variedades Sempre Verde e Pingo de Ouro, submetidas a elicitores de tolerância ao estresse

salino em três ciclos de priming (CP). Água (H<sub>2</sub>O), ácido giberélico (AG<sub>3</sub>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ácido salicílico (AS), ácido ascórbico (ASC). Médias seguidas da mesma letra minúscula (tratamentos) não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade e de mesma letra maiúscula (variedades) não diferem entre si pelo teste T Student a 5% de probabilidade. Fonte: Elaborada pela autora.

Os maiores teores de açúcares solúveis totais (AST) ocorreram no controle para a Sempre Verde, e após o estresse salino sem CP houve redução de 12,4%. Os CP com ácido giberélico e CP com ácido ascórbico resultaram em aumento do acúmulo de açúcares para essa variedade, resultado semelhante ao controle (Figura 6A). Quando a Sempre Verde foi submetida aos CP com ácido salicílico, o acúmulo de açúcares foi reduzido em 23,4% em comparação ao controle. Na variedade Pingo de Ouro, verifica-se redução do acúmulo de açúcares de 45,6% em relação ao controle. Os CP com peróxido de hidrogênio promoveram maior acúmulo de açúcares do que a condição controle; por outro lado, os CP com água e CP com ácido salicílico reduziram em 44,1% e 36,4%, respectivamente.

A concentração de aminoácidos foi reduzida quando as variedades de feijão-caupi foram submetidas ao estresse salino sem CP em 20 e 28,2% para as variedades Sempre Verde e Pingo de Ouro, respectivamente (Figura 6B). Na Sempre Verde, os CP com ácido ascórbico promoveram maior concentração de aminoácidos (25%) na comparação ao estresse salino sem CP, além de não diferir do controle. Na variedade Pingo de Ouro, os CP com ácido giberélico e CP com peróxido de hidrogênio favoreceram a concentração de aminoácidos, obtendo resultados semelhantes ao controle. As menores concentrações de aminoácidos para Pingo de Ouro ocorreram nos CP com água (34,2%) e CP com ácido ascórbico (33,9%), quando comparados ao controle.

Em relação à concentração de prolina, verifica-se redução de 18,9 e 12,2% para as variedades Sempre Verde e Pingo de Ouro, respectivamente, quando submetidas ao estresse salino sem CP (Figura 6C). Os CP nos elicitores de tolerância favorecem o aumento da concentração de prolina, com destaque para os CP com ácido giberélico na Sempre Verde, com aumento de 83,3% quando comparados ao estresse salino sem CP. Os CP com ácido salicílico reduziram a concentração de prolina, não diferendo do estresse salino. Os CP com ácido giberélico promoveram o aumento na concentração de prolina para Pingo de Ouro em 34,5%, seguida do peróxido de hidrogênio, com ganho de 16,7%, em comparação ao estresse salino sem CP. Os demais elicitores de tolerância resultaram em concentração de prolina semelhante ao estresse salino sem CP para essa variedade.

### 3.4 DISCUSSÃO

Os parâmetros fisiológicos de plântulas de feijão-caupi, variedades Sempre Verde e Pingo de Ouro, diminuíram significativamente sob estresse salino de 100 mM NaCl sem CP em comparação ao controle. A diferença na primeira contagem e na germinação final obtida entre as duas variedades para o tratamento controle está relacionada às características fenotípicas de cada variedade, principalmente a Pingo de Ouro, que apresentou maior potencial germinativo em condições ideais de temperatura substrato, luminosidade.

Esse resultado na germinação para a Pingo de Ouro é semelhante aos obtidos por Dutra et al. (2007), para quem a germinação foi elevada em condições ideais. No entanto, essa diferença não afeta a resposta das variedades sob estresse salino de 100 mM NaCl, com redução do número de plântulas normais germinadas na primeira contagem e se estendeu até a germinação final. Fato semelhante também ocorre para essa mesma variedade, cujo estresse salino de 8,0 dSm<sup>-1</sup> reduziu a germinação (SÁ et al., 2016). Em contrapartida, Loiola et al. (2022) verificaram que o estresse salino de 4,5 dSm<sup>-1</sup> favoreceu o aumento da germinação para as duas variedades deste trabalho e reforça que uma salinidade mais elevada afeta a germinação do feijão-caupi.

Outros parâmetros confirmam o efeito do estresse salino nas variedades de feijão-caupi, como a redução do comprimento das plântulas, tanto da parte aérea quanto da raiz, o que se refletiu na redução de biomassa das plântulas sob estresse salino de 100 mM NaCl. O efeito supressor do estresse salino ocorre em resposta ao excesso de íons de Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup>, causador de toxidez às células vegetais e que está associado à redução dos níveis de fitohormônios produzidos pelas plantas, sendo responsáveis por mediar as respostas de defesa (VERMA; RAVINDRAN; KUMAR, 2016).

O estresse salino causa inativação de genes relacionados à produção de giberelina, hormônio vegetal responsável por promover a germinação e favorecer o crescimento das plântulas (LIU et al., 2018). Este fato justifica a redução da germinação e o comprimento das variedades Sempre Verde e Pingo de Ouro. Em trabalho conduzido por Praxedes et al. (2020), o aumento da salinidade (5,5 dSm<sup>-1</sup>), apesar de não ter reduzido o potencial germinativo, afetou os parâmetros de crescimento de plântulas nas variedades Sempre Verde e Pingo de Ouro. Portanto, o comprimento inicial do feijão-caupi é afetado sob estresse salino e, conseqüentemente, o estande resultará em desuniformidade e poderá comprometer o desenvolvimento da cultura.

A aplicação de agente elicitor de tolerância ao estresse salino em CP reduziu os parâmetros fisiológicos de plântulas de feijão-caupi, variedades Sempre Verde e Pingo de

Ouro, sob estresse salino de 100 mM, quando comparados ao controle. No entanto, ao comparar os resultados obtidos nos CP com elicitores de tolerância ao estresse salino com os do estresse salino sem CP, verifica-se aumento na resposta das variedades de feijão-caupi. Diante disso, constata-se que há indicativo de que os elicitores de tolerância ao estresse salino promoveram a aclimação das variedades de feijão-caupi. Sendo assim, a resposta adotada foi variável de acordo com a variedade, com o agente elicitor e com a variável analisada.

Os CP com água favorecem a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de espécies agronômicas e florestais de ocorrência no ecossistema Caatinga sob estresse hídrico conforme na literatura (SARMENTO et al., 2020; NICOLAU et al., 2020; LIMA et al., 2018). De fato, os resultados obtidos para as variedades de feijão-caupi sob estresse salino reafirmam essa constatação pelo aumento do potencial germinativo verificado desde a primeira contagem de germinação, seguido do aumento da parte aérea, da massa seca total e pelo índice de tolerância da raiz. Isso indica que ocorreu aquisição de tolerância pelas variedades sob estresse salino após os CP com água, principalmente da Sempre Verde. Essa resposta pode ter sido influenciada pelo aumento da hidratação dos tecidos, que favoreceu a embebição das sementes, assim como pode ter sido beneficiada pelos períodos de secagem que promovem o estresse prévio e aclimação das plantas (SARMENTO et al., 2020; NASCIMENTO et al., 2021), germinando diante do novo estresse (salino). Esse comportamento é possível principalmente para as espécies tolerantes à dessecação, como é o caso do feijão-caupi (OLIVEIRA et al., 2015).

Os resultados da homeostase demonstram que não há diferença entre o estresse salino sem CP e com CP com água na quantificação de açúcares e aminoácidos para as duas variedades. O aumento da produção de prolina é uma resposta das plantas ao estresse, o que foi verificado para a Sempre Verde nos CP com água, conferindo maior tolerância ao estresse salino. Pingo de Ouro pode ter utilizado outra estratégia para se aclimatar ao excesso de sais, aumentando a produção de  $H_2O_2$ , que em excesso pode causar a morte celular. A fim de manter seu metabolismo ativo, as plantas tendem a produzir enzimas antioxidantes [superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase (POD)] (ALI et al., 2021). Essa resposta favorece a germinação e a retomada do crescimento das plântulas porque catalisa a quebra de  $H_2O_2$  em  $H_2O$  e  $O_2$ , corroborando com os resultados obtidos por Araújo et al. (2017) em variedades de feijão-caupi.

Os CP com ácido giberélico se destacaram na promoção da germinação, comprimento e redução dos efeitos negativos do estresse salino nas plântulas de feijão-caupi. O priming com ácido giberélico em sementes de feijão-caupi já foi relatado na literatura, e os resultados

demonstram que esse hormônio vegetal promove alterações morfológicas na arquitetura das plântulas, pois favoreceu o aumento da estatura do hipocótilo e do epicótilo (SOUZA et al., 2010). O aumento no CPA nas variedades Sempre Verde e Pingo de Ouro com CP com ácido giberélico pode ter ocorrido em resposta à melhoria na capacidade de osmorregulação pelo acúmulo de solutos compatíveis nas variedades de feijão-caupi que mantém a integridade das membranas por meio da prevenção da peroxidação lipídica, reduzindo os efeitos das espécies reativas de oxigênio produzidas sob estresse (MIRI et al., 2021).

Dentre os osmoprotetores quantificados para nas variedades de feijão-caupi, verifica-se que os CP com ácido giberélico, quando comparados ao estresse salino sem CP, promoveram maior teor de açúcares e prolina nas variedades Sempre Verde e Pingo de Ouro e de outros aminoácidos para Pingo de Ouro. A osmorregulação promovida pelo ácido giberélico causa redução do potencial hídrico nas plântulas de feijão-caupi, garantindo a retomada da absorção de água e prevenindo a desidratação dos tecidos (ARAÚJO et al., 2017). Pingo de Ouro se mostrou menos tolerante ao estresse salino de 100 mM NaCl. No entanto, com os CP com ácido giberélico, foi essa a variedade que mais produziu osmoprotetores, o que mostra a tentativa de se aclimatar ao estresse salino.

Os CP com peróxido de hidrogênio sob estresse salino resultaram em germinação superior ao estresse salino em ambas as variedades de feijão-caupi. A Sempre Verde se destacou com germinação acima de 70%, além de promover maior comprimento de parte aérea e raiz do que Pingo de Ouro. O peróxido de hidrogênio ativa mecanismos fisiológicos que aumentam a tolerância das plantas ao estresse salino, a partir da redução de íons de Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> nas folhas. Isso permite a manutenção da translocação e absorção de nutrientes para que a germinação ocorra em resposta à redução dos danos oxidativos pelo aumento da atividade enzimática (SILVA et al., 2022).

Os CP com ácido salicílico promoveram aumento expressivo de plântulas normais germinadas na contagem final para as variedades Sempre Verde e Pingo de Ouro sob estresse salino sem CP. A atuação desse fitohormônio pode ser explicada pela regulação na resposta de defesa das plantas, relacionada com a ativação e inativação de genes ligados à biossíntese de giberelinas (*crosstalk*), que antes foram desativadas pela presença de sais e são reativadas com a aplicação do ácido salicílico (VERMA; RAVINDRAN; KUMAR, 2016; LIU et al., 2018; LIU et al., 2022).

Os CP com ácido salicílico promoveram o comprimento radicular sob estresse salino nas variedades Sempre Verde e Pingo de Ouro, resultado que possivelmente se deve à redução do acúmulo de Na<sup>+</sup> intracelular promovido pelo ácido salicílico, o que favorece o equilíbrio



iônico ( $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ), motivo da retomada do comprimento, principalmente radicular (LIU et al., 2022). Em trabalho conduzido por Araújo et al. (2018) com sementes de feijão-caupi, verificou-se que o priming com ácido salicílico favoreceu a tolerância ao estresse osmótico durante a germinação e estágios de crescimento inicial das plântulas.

Os resultados da homeostase pelo acúmulo de osmoprotetores demonstram que os CP com ácido salicílico não foram responsáveis pela maior tolerância da Sempre Verde. A estratégia adotada pela Sempre Verde foi de remobilização das reservas presentes nos cotilédones, o que favoreceu o comprimento de plântulas e maior acúmulo de massa seca da parte aérea e na raiz quando são produzidas sob estresse salino de 100 mM NaCl, conferindo maior tolerância. Na variedade Pingo de Ouro, os CP com elicitores de tolerância ao estresse não proveram a remobilização das reservas cotiledonares, possivelmente tendo influenciado na menor tolerância desta variedade ao estresse salino de 100 mM NaCl quando comparada à variedade Sempre Verde.

O CP com ácido ascórbico permitiu desenvolvimento mais vigoroso das variedades de feijão-caupi sob estresse salino em resposta à regulação da homeostase celular (CHEN et al., 2021) pelo acúmulo de açúcares e, principalmente, aminoácidos. Esse resultado é perceptível pela maior germinação, comprimento radicular e da massa seca da parte aérea em ambas as variedades, sobretudo para a Sempre Verde, em virtude do maior comprimento da parte aérea. A produção de osmoprotetores como os açúcares e aminoácidos, em conjunto com a redução dos danos às membranas citoplasmáticas ocasionados pelo estresse oxidativo após os CP com ácido ascórbico, contribuíram para que as variedades de feijão-caupi respondessem positivamente sob estresse salino (NUNES et al., 2019).

A aquisição de tolerância pelas variedades de feijão-caupi, em sua maioria, foi possível devido à homeostase osmótica pelo acúmulo de solutos compatíveis com o metabolismo das plantas, mas outras estratégias podem ser adotadas pelas plantas, como mostram os resultados para as variedades de feijão-caupi. As diferentes respostas denotam a importância dos estudos sobre a ação de agentes elicitores de tolerância aos estresses na morfofisiologia e metabolismo vegetal. O conhecimento sobre a aquisição de tolerância é importante para essa espécie por ser semeada diretamente em campo e nem sempre encontrar condições ambientais favoráveis à germinação e ao desenvolvimento inicial de plântulas, sobretudo restrições hídricas causadas pelo excesso de sais no solo.

### 3.5 CONCLUSÕES

O estresse salino (100 mM NaCl) reduz a germinação, comprimento e acúmulo de biomassa das variedades de feijão-caupi, Sempre Verde e Pingo de Ouro. Os CP com ácidos giberélico e salicílico promoveram maior potencial germinativo, comprimento e biomassa sob estresse salino de 100 mM NaCl, conferindo maior tolerância graças à regulação osmótica, principalmente para a variedade Sempre Verde.

## REFERÊNCIAS

- ALI, A. Y. A. et al. Gibberellic acid and nitrogen efficiently protect early seedlings growth stage from salt stress damage in Sorghum. **Scientific Reports**, v. 11, n. 6672, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84713-9>. Acesso em: 14 jul. 2022.
- ARAÚJO, E. D. et al. Genotypic variation on the antioxidative response of cowpea cultivars exposed to osmotic stress. **Revista Caatinga**, v. 30, n. 4, p. 928-937, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1983-21252017v30n413rc>. Acesso em: 15 set. 2022.
- ARAÚJO, E. D. et al. Germination and initial growth of cowpea cultivars under osmotic stress and salicylic acid. **Revista Caatinga**, v. 31, n. 1, p. 80-89, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1983-21252018v31n110rc>. Acesso em: 1º jul. 2022.
- ANDRADE, W. L. et al. Bradyrhizobium inoculation plus foliar application of salicylic acid mitigates water deficit effects on cowpea. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 40, p. 656-667, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00344-020-10130-3>. Acesso em: 16 mar. 2022.
- BARBOSA, L. S. et al. Effect of salicylic acid and cold shock on seed germination. **Meio Ambiente**, v. 1, n. 2, p. 18-23, 2019.
- BATES, L. S. et al. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, v. 39, n. 1, p. 205-207, 1973. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00018060>. Acesso em: 17 mar. 2022.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009.
- CHEN, Z.; CAO, X-L; NIU, J-P. Effects of exogenous ascorbic acid on seed germination and seedling salt-tolerance of alfalfa. **Plos One**, v. 16, n. 4, e0250926, 2021. Disponível em: <http://dx-doi.ez13.periodicos.capes.gov.br/10.1371/journal.pone.0250926>. Acesso em: 04 abr. 2022.
- CROMARTY, A. S.; ELLIS, R. H.; ROBERTS, E. H. **Design of seed storage facilities for genetic conservation**. Rome: INTERNACIONAL BOARD OF PLANT GENETIC RESOURCES, 1985.
- DALIAKOPOULOS, I. N. et al. The threat of soil salinity: A European scale review. **Science of The Total Environment**, v. 573, p. 727-739, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.08.177>. Acesso em: 28 jun. 2022.

DUTRA, A. S. et al. Physiological quality cowpea seeds in four regions of the state of Ceará. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 2, p. 111-116, 2007. Disponível: <https://doi.org/10.1590/S0101-31222007000200015>. Acesso em: 12 set. 2022.

FAGÉRIA, N. K.; SOARES, W. S. F.; GHEYI, H. R. Melhoramento genético vegetal e seleção de espécies tolerantes à salinidade. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. (org.). **Manejo da salinidade na agricultura: estudos básicos e aplicados**. Fortaleza: INCTSal, 2010. p. 205-216.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.28951/rbb.v37i4.450>>. Acesso em: 02 fev. 2022.

FERREIRA, A. C. T. et al. Water and salt stresses on germination of Cowpea (*Vigna unguiculata* cv. BRS Tumucumaque) seeds. **Revista Caatinga**, v. 30, n. 4, p. 1009 – 1016, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1983-21252017v30n422rc>. Acesso em: 29 jun. 2022.

GARCIA, J. et al. Gibberellic acid promotes dormancy-breaking of rice seeds and the formation of abnormal seedling. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 20, n. 4, p. 278-285, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.5965/223811712042021278>. Acesso em: 15 set. 2022.

GONÇALVES, B. G. et al. Embryo Responses to Extreme Water Events Provide Insights into the Behavior of *Butia Capitata* (Arecaceae) Seed Banks during Hydration Cycles. **Environmental and Experimental Botany**, v. 169, 103904, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.103904>. Acesso em: 03 jul. 2022.

HASSANI, A.; AZAPAGIC, A.; SHOKRI, N. Global predictions of primary soil salinization under changing climate in the 21st century. **Nature Communications**, v. 12, n. 6663, p. 1-17, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41467-021-26907-3>. Acesso em 28 jun. 2022.

KARIM, M. N. et al. Stimulatory Effect of Seed Priming as Pretreatment Factors on Germination and Yield Performance of Yard Long Bean (*Vigna unguiculata*). **Horticulturae**, v. 6, n. 4, p. 104, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/horticulturae6040104>. Acesso em: 29 jun. 2022.

LE, L.T.T. et al. Na<sup>+</sup> and/or Cl<sup>-</sup> toxicities determine salt sensitivity in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.), Mungbean (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek), Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), and common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 4, e1909, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms22041909>. Acesso em: 29 jun. 2022.

LI, J.-Z. et al. The crucial role gibberellic acid on germination of drought-resistant upland rice. *Biologia Plantarum*, v. 63, p. 529-535, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.32615/bp.2019.049>. Acesso em: 16 set. 2022.

LIU, Z. et al. Exogenous SA affects rice seed germination under salt stress by regulating Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> balance and endogenous gas and ABA homeostasis. **Revista Internacional de Ciências Moleculares**, v. 23, n. 6, p. 3293, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms23063293>. Acesso em: 28 jun. 2022.

LIMA, A. T. et al. Does discontinuous hydration of *Senna spectabilis* (DC.) H.S. Irwin & Barneby cv. excelsa (Schrad.) H.S. Irwin & Barneby (Fabaceae) seeds confer tolerance to water stress during seed germination? **Journal of Seed Science**, v. 40, n. 1, p. 36-43, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/2317-1545v40n1182838>. Acesso em: 31 mar. 2022.

LIU, L. et al. Salinity inhibits rice seed germination by reducing  $\alpha$ -amylase activity via decreased bioactive gibberellin content. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, n. 275, 2018. Disponível em: [10.3389/fpls.2018.00275](https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00275). Acesso em: 15 jul. 2022.

LOIOLA, A. T. et al. Phenology and production of traditional seeds of cowpea irrigated with saline water. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 53, e20217962, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20220050>. Acesso em: 26 jun. 2022.

MIRANDA, R. S. et al. Salt-acclimation physiological mechanisms at the vegetative stage of cowpea genotypes in soils from a semiarid region. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 21, p. 3530–3543, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s42729-021-00625-7>. Acesso em: 1º jul. 2022.

MIRI, M. et al. Ameliorative effects of foliar spray of glycine betaine and gibberellic acid on cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) yield affected by drought stress). **Arabian Journal of Geoscience**, v. 14, n. 830, p. 1-9, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12517-021-07228-7>. Acesso em: 16 set. 2022.

NABI, F. et al. Influence of seed priming on early stages growth of cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) walp.] grown under salt stress conditions. **Legume Research**, v. 43, n. 5, p. 665-671, 2020. Disponível em: [10.18805/LR-504](https://doi.org/10.18805/LR-504). Acesso em: 1º jul. 2022.

NASCIMENTO, J. P. B.; DANTAS, B. F.; MEIADO, M. V. Hydropriming changes temperature thresholds for seed germination of tree espécies from the Caatinga, a Brazilian tropical dry forest. **Journal of Seed Science**, v. 43, e202143004, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/2317-1545v43238649>. Acesso em: 28 abr. 2022.

NICOLAU, P. B. et al. Discontinuous hydration on the germination of *Mimosa caesalpiniiifolia* and *Pityrocarpa moniliformis* seeds under water stress. **Revista Caatinga**, v. 33, n. 2, p. 555-561, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1983-21252020v33n228rc>. Acesso em: 31 mar. 2022.

NUNES, L. R. L. et al. Ascorbic acid of cowpea seeds under saline stress. **Journal of Seed Science**, v. 41, n. 4, p. 441-451, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/2317-1545v41n4222276>. Acesso em: 14 jul. 2022.

PRAXEDES, S. S. C. et al. Tolerance of seedlings traditional varieties of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) to salt stress. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 41, n. 5, p. 1963-1974, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2020v41n5Sup11p1963>. Acesso em: 29 jun. 2022.

SÁ, F. V. S. et al. Seed germination and Vigor of different cowpea cultivars under salt stress. **Comunicata Scientiae**, v. 7, n. 4, p.450-455, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.14295/CS.v7i4.1541>. Acesso em: 12 set. 2022.

SANTOS, A. R. et al. Exogenous Silicon and Proline Modulate Osmoprotection and Antioxidant Activity in Cowpea Under Drought Stress. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 22, p. 1692-1699, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s42729-022-00764-5>. Acesso em: 1º jul. 2022.

SARMENTO, E. C. S. et al. Physiological potential of sorghum seeds under discontinuous hydration and water deficiency conditions. **Revista Ciência Agronômica [online]**, v. 51, n. 4, e20207200, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20200069>. Acesso em: 14 jul. 2022.

SIDDIQUI, M. H.; AL-WHAIBI, M. H.; BASALAH, M. O. Interactive effect of calcium and gibberellin on nickel tolerance in relation to antioxidant systems in *Triticum aestivum* L. **Protoplasma**, v. 248, n. 3, p. 503–511, 2011. Disponível em: [10.1007/s00709-010-0197-6](https://doi.org/10.1007/s00709-010-0197-6). Acesso em: 15 set. 2022.

SILVA, P. C. C. et al. Seed priming with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> improves photosynthetic efficiency and biomass production in sunflower plants under salt stress. **Arid Land Research and Management**, v. 36, n. 3, p. 283-297, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/01904167.2020.1862202>. Acesso em: 14 jul. 2022.

SOUZA, C. A. et al. Influence of gibberellic acid on the architecture of common bean plants at early growth development. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 32, n. 2, p. 325-332, 2010. Disponível em: [10.4025/actasciagron.v32i2.3721](https://doi.org/10.4025/actasciagron.v32i2.3721). Acesso em: 13 jul. 2022.

VERMA, V.; RAVINDRAN, P.; KUMAR, P. P. Plant hormone-mediated regulation of stress responses. **BMC Plant Biology**, v. 16, n. 86, p. 1-10, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12870-016-0771-y>. Acesso em: 25 jul. 2022.

YEMM, E. W.; COCKING, E. C.; RICKETTS, R. E. The determination of amino acid with ninhydrin. **Analyst**, v. 80, n. 2, p. 209-213, 1955. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/AN9558000209>. Acesso em: 17 mar. 2022.

YEMM, E.W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. **Biochemical Journal**. v. 57, n. 3, p. 508-514, 1954. Disponível em: <https://doi.org/10.1042/bj0570508>. Acesso em: 17 mar. 2022.

#### 4 CICLOS DE PRIMING COM ELICITORES DE TOLERÂNCIA AO ESTRESSE SALINO EM SEMENTES DE *Mimosa caesalpiniiifolia* E *Pityrocarpa moniliformis*

##### RESUMO

A exposição das sementes a ciclos de priming com elicitores de tolerância pode favorecer a sobrevivência das espécies em condição de estresse salino. Dessa forma, objetivou-se avaliar a ação de ciclos de priming com diferentes agentes elicitores de tolerância ao estresse salino em sementes de *Mimosa caesalpiniiifolia* e *Pityrocarpa moniliformis*. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado seguindo o arranjo fatorial 2 x 12, com quatro repetições de 30 sementes. As sementes das espécies florestais foram submetidas aos seguintes tratamentos: 0,0 mM de NaCl (controle); 200 mM de NaCl (estresse salino); estresse salino + 1 ciclo de priming das sementes com água; estresse salino + 1 ciclo de priming com ácido giberélico; estresse salino + 1 ciclo priming com peróxido de hidrogênio; estresse salino + 1 ciclo de priming com ácido salicílico; estresse salino + 1 ciclo priming em ácido ascórbico; estresse salino + 2 ciclos de priming das sementes com água; estresse salino + 2 ciclos de priming com ácido giberélico; estresse salino + 2 ciclos de priming com peróxido de hidrogênio; estresse salino + 2 ciclos de priming com ácido salicílico; estresse salino + 2 ciclos de priming com ácido ascórbico. O estresse salino (200 mM de NaCl) reduziu a germinação, comprimento e acúmulo de biomassa em plântulas das espécies, sendo a *P. moniliformis* mais tolerante que a *M. caesalpiniiifolia*. Os ciclos de priming promoveram maior tolerância da *M. caesalpiniiifolia* em condição de salinidade, que passou de moderadamente sensível para moderadamente tolerante à salinidade quando submetidas a 1 ciclo de priming com ácido salicílico e 2 ciclos de priming em ácido giberélico. As tolerâncias de *P. moniliformis* e *M. caesalpiniiifolia* ao estresse salino são melhores com 1 ciclo de priming em água e 2 ciclos de priming com ácido giberélico, respectivamente.

**Palavras-chave:** Caatinga. Atenuadores. Salinidade. Memória hídrica.

**PRIMING CYCLES WITH SALINE STRESS TOLERANCE ELICITORS IN SEEDS  
OF *Mimosa caesalpinifolia* AND *Pityrocarpa moniliformis***

**ABSTRACT**

Seed exposure to priming cycles with elicitors may favor the survival of species under salt-stress conditions. The objective of this study was to evaluate the effects of priming cycles with different salt stress elicitors on germination, initial growth, and osmotic adjustment in two Brazilian forest species. The experiment was carried out in a completely randomized design, following a  $2 \times 12$  factorial arrangement with four replicates of 30 seeds. Seeds of the species *Mimosa caesalpinifolia* and *Pityrocarpa moniliformis* were subjected to the following treatments: 0.0 mM NaCl (control); 200 mM NaCl (salt stress); salt stress + one priming cycle with water; salt stress + one priming cycle with gibberellic acid; salt stress + one priming cycle with hydrogen peroxide; salt stress + one priming cycle with salicylic acid; salt stress + one priming cycle with ascorbic acid; salt stress + two priming cycles with water; salt stress + two priming cycles with gibberellic acid; salt stress + two priming cycles with hydrogen peroxide; salt stress + two priming cycles with salicylic acid; and salt stress + two priming cycles with ascorbic acid. Salt stress (200 mM NaCl) reduced germination, growth and biomass accumulation in the seedlings of the two species, with *P. moniliformis* being more tolerant than *M. caesalpinifolia*. The priming cycles promoted greater tolerance of *M. caesalpinifolia* in salinity conditions, which changed from moderately sensitive to moderately tolerant to salinity when submitted to 1 cycle of priming with salicylic acid and 2 cycles of priming in gibberellic acid. The tolerances of *P. moniliformis* and *M. caesalpinifolia* to salt stress are better with 1 cycle of priming in water and 2 cycles of priming with gibberellic acid, respectively.

**Keywords:** Caatinga. Attenuators. Salinity. Water memory.

## 4.1 INTRODUÇÃO

As baixas precipitações e intensa evapotranspiração das regiões áridas e semiáridas favorece a intensificação do processo de salinização do solo, transformando estas áreas inadequadas para o cultivo, principalmente para as espécies menos tolerantes aos efeitos nocivos dos sais durante o processo germinativo (SÁ et al., 2013; PESSOA et al., 2016). Ações antrópicas podem intensificar o processo de salinização, como, por exemplo, o uso e manejo inadequado da água subterrânea na irrigação, que geralmente apresentam sais em excesso na sua composição (OLIVEIRA et al., 2015; CASTRO; SANTOS, 2020). O estresse salino é um dos principais agentes abióticos responsáveis pelo efeito negativo para crescimento vegetal (PESSOA et al., 2016; COSTA et al., 2022).

As espécies *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. e *Pityrocarpa moniliformis* (Benth.) Luckow & R.W. Jobson (Fabaceae), difundidas na Caatinga do nordeste brasileiro, são indicadas para projetos de recuperação de áreas afetadas por sais (SÁ et al., 2013; FERREIRA et al., 2021). No entanto, a salinidade reduz a germinação de *M. caesalpiniiifolia* (SOUSA et al., 2018) e *P. moniliformis* (PEREIRA et al., 2016), cujas fases de sementes são sensíveis aos efeitos da salinidade, o que pode comprometer o estabelecimento da plântula. A intensidade do estresse salino modula a resposta das espécies e provoca alterações nos processos fisiológicos e metabólicos que ocorrem durante a germinação e o desenvolvimento das plântulas (SOUSA et al., 2018; SILVA et al., 2019; FERREIRA et al., 2021).

Em resposta ao estresse salino, algumas espécies vegetais desenvolveram estratégias de tolerância, como o ajuste osmótico, que aumenta a condutividade hidráulica do sistema solo-planta para manutenção da turgidez e das atividades celulares necessárias à sobrevivência das plantas. Esse ajuste ocorre via alterações na concentração de compostos orgânicos, como açúcares e aminoácidos, e acumulação destes nas células vegetais, permitindo que as plantas mantenham o equilíbrio intracelular e aclimatem-se ao estresse (COSTA et al., 2021; FERREIRA et al., 2021).

Em regiões áridas e semiáridas, os ciclos de hidratação e desidratação (ciclos de priming), conhecidos como memória hídrica, ocorrem naturalmente quando a disponibilidade de água é limitada e pode intensificar a resposta da semente ao estresse abiótico (LIMA et al., 2018; LIMA; MEIADO, 2017). O déficit hídrico afeta o processo germinativo pela desidratação das sementes. E quando a água fica novamente disponível, as sementes retomam o processo de absorção, prosseguindo a germinação, podendo este processo de hidratação ocorrer em ciclos. A memória de hidratação da semente permite maior aclimação à



desidratação, devido a alterações fisiológicas e bioquímicas que permitem aumento na taxa de sobrevivência durante períodos de estresse por seca (LIMA; MEIADO, 2017; LIMA et al., 2018; GONÇALVES et al., 2020; NICOLAU et al., 2020) e de altas temperaturas (NASCIMENTO et al., 2021). No entanto, são escassos os estudos avaliando ciclos de priming em sementes para melhorar a tolerância ao estresse salino, principalmente com o uso de ácidos orgânicos para favorecer o ajuste osmótico.

Elicitores de tolerância aos estresses abióticos como ácido giberélico, ácido salicílico, ácido ascórbico e peróxido de hidrogênio têm sido utilizados para mitigar o estresse salino em sementes (COSTA et al., 2021; HONGNA et al., 2021; CHEN et al., 2021). O ácido giberélico favorece a germinação a partir do alongamento e da divisão celular e, em plântulas sob estresse salino, melhora o ajuste osmótico e a mobilização de açúcares (COSTA et al., 2021). O peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), quando embebido pelas sementes, age como sinalizador e induz os sistemas de defesa antioxidativos, enzimáticos e não enzimáticos que melhoram a germinação e o crescimento em condições de estresse salino (WOJTYLA et al., 2016).

Outros elicitores de tolerância, como o ácido salicílico, aumentam a resistência das plantas ao estresse ao equilibrar o potencial osmótico, reduzem o dano osmótico à membrana plasmática, mediando os perfis de acúmulo de íons como Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> e Ca<sup>2+</sup>, bem como metabólitos compatíveis, como prolina e açúcares solúveis, aumentando, assim, a taxa de germinação e o vigor das sementes (HONGNA et al., 2021). Por sua vez, o ácido ascórbico (ASC) é um antioxidante solúvel em água de baixo peso molecular, atuando na eliminação de espécies reativas de oxigênio e na regulação da homeostase celular sob condições de estresse (BILSKA et al., 2019; CHEN et al., 2021).

A hipótese da pesquisa é de que os ciclos de priming com elicitores de tolerância ao estresse podem mitigar o estresse salino em sementes de *M. caesalpinifolia* e *P. moniliformis*. Assim, objetivou-se avaliar, por meio de avaliações fisiológicas e bioquímicas, a ação de ciclos de priming com diferentes agentes elicitores de tolerância ao estresse salino em sementes de *M. caesalpinifolia* e *P. moniliformis*.

## 4.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no laboratório de análises de sementes pertencente ao Departamento de Ciências Agrônômicas e Florestais da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), entre junho de 2021 e fevereiro de 2022.

As sementes de *M. caesalpiniiifolia* e *P. moniliformes* foram obtidas em parceria com o Projeto Caatinga, projeto de cooperação entre a UFERSA, PETROBRAS e a Fundação Guimarães Duque (FGD), com o objetivo de gerar tecnologia e informações sobre plantas da Caatinga. Os frutos foram coletados em dez plantas matrizes em 2018 nos municípios de Governador Dix-sept Rosado, Upanema e Assú, Rio Grande do Norte, Brasil (Tabela 1). Após a coleta dos frutos, as sementes foram beneficiadas (removidas dos frutos, retirando impurezas, sementes chochas, atacadas por insetos) e armazenadas em câmara fria (5-15 °C e 40% de umidade relativa) no banco de sementes localizado no Centro de Pesquisas Vegetais do Semiárido (CPVSA) pertencente à UFERSA.

**Tabela 1.** Localização geográfica da coleta das sementes de *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. e *Pityrocarpa moniliformis* (Benth.) Luckow & R.W. Jobson.

<i>M. caesalpiniiifolia</i>			<i>P. moniliformes</i>	
Governador Dix-sept Rosado e Upanema - RN			Assú-RN	
Matrizes	Latitude	Longitude	Latitude	Longitude
1	- 05° 29' 26.6"	- 037° 22' 23.4"	- 05° 35' 00.1"	- 037° 00' 13.0"
2	- 05° 29' 38.3"	- 037° 22' 24.5"	- 05° 35' 00.5"	- 037° 00' 19.0"
3	- 05° 29' 36.2"	- 037° 22' 29.8"	- 05° 35' 01.5"	- 037° 00' 18.7"
4	- 05° 29' 30.3"	- 037° 19' 36.2"	- 05° 35' 00.1"	- 037° 00' 18.1"
5	- 05° 26' 08.0"	- 037° 19' 35.2"	- 05° 34' 59.9"	- 037° 00' 15.6"
6	- 05° 26' 08.0"	- 037° 19' 35.6"	- 05° 35' 00.0"	- 037° 00' 16.0"
7	- 05° 26' 08.5"	- 037° 19' 34.9"	- 05° 34' 59.8"	- 037° 00' 16.9"
8	- 05° 26' 07.4"	- 037° 19' 35.9"	- 05° 34' 59.2"	- 037° 00' 16.9"
9	- 05° 26' 07.2"	- 037° 19' 36.1"	- 05° 34' 59.1"	- 037° 00' 17.8"
10	-05° 26' 03.2"	- 037° 19' 36.9"	- 05° 34' 58.5"	- 037° 00' 18.3"

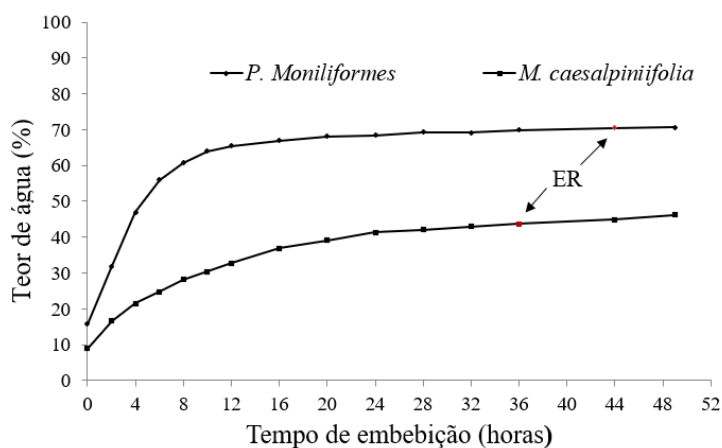
Fonte: Elaborada pela autora.

Inicialmente, quantificou-se o teor de água das sementes pelo método da estufa a  $105 \pm 3$  °C por 24 horas (BRASIL, 2013). Para isto, duas repetições de  $4,5 \pm 0,5$  g foram utilizadas, e o teor de água foi calculado com base na massa úmida e expresso em porcentagem.

A curva de embebição foi realizada com duas repetições de 50 sementes despontadas previamente. Estas foram pesadas em balança analítica digital (0,001 g) antes da embebição e após cada intervalo de tempo predeterminado, até a emissão da radícula. A embebição foi realizada pelo método de imersão em água com as sementes dispostas em *Becker* com 50 mL de água destilada, mantidos em câmaras de germinação, a 25 °C.

Inicialmente, os intervalos de pesagem aconteceram a cada duas horas durante doze horas de embebição. Em seguida, pesou-se a cada quatro horas até completar trinta e seis

horas de embebição para *P. moniliformes*, e a cada oito horas até completar quarenta e quatro horas de hidratação para *M. caesalpinifolia*, quando ocorreu início da protrusão da radícula. A pesagem foi finalizada após 52 horas de hidratação, quando ao menos 50% das sementes apresentaram emissão radicular (Figura 1).



**Figura 1.** Curva de embebição de sementes de *Mimosa caesalpinifolia* Benth. e *Pityrocarpa moniliformis* (Benth.) Luckow & R.W. Jobson pelo método de imersão em água a 25 °C. Início da emissão radicular (ER). Fonte: Elaborada pela autora.

Durante a embebição das sementes, o ganho de peso foi calculado de acordo com a fórmula proposta por Cromarty, Ellis e Roberts (1985): % Ganho de peso =  $[(Pf - Pi)/Pi] \times 100$ , em que Pf: peso final (ganho de umidade a cada período de embebição) e Pi: peso inicial das sementes antes da embebição.

O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado seguindo o arranjo fatorial 2 x 12, com quatro repetições de 30 sementes. Os tratamentos foram constituídos pelas duas espécies (*M. caesalpinifolia* e *P. moniliformis*) e doze combinações dos elicitores contra o estresse salino e os ciclos de priming (CP), sendo: T1 – 0,0 mM NaCl (controle); T2 – 200 mM NaCl (estresse salino); T3 – estresse salino + 1 ciclo de priming (CP) das sementes com água; T4 – estresse salino + 1 ciclo de priming com ácido giberélico – 50  $\mu$ M (AG<sub>3</sub>); T5 – estresse salino + 1 ciclo de priming com peróxido de hidrogênio – 5 mM (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>); T6 – estresse salino + 1 ciclo de priming com ácido salicílico – 50  $\mu$ M (AS) e T7 - estresse salino + 1 ciclo de priming com ácido ascórbico – 50  $\mu$ M (ASC); T8 - estresse salino + 2 ciclos de priming das sementes com água; T9 - estresse salino + 2 ciclos de priming com ácido giberélico; T10 - estresse salino + 2 ciclos de priming com peróxido de hidrogênio; T11 - estresse salino + 2 ciclos de priming com ácido salicílico; T12 - estresse salino + 2 ciclos de priming com ácido ascórbico (Tabela 2).

**Tabela 2.** Condutividade elétrica (CE) das soluções utilizadas nos ciclos de priming nas sementes de *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. e *Pityrocarpa moniliformis* (Benth.) Luckow & R.W. Jobson.

Soluções	CE ( $\mu\text{Sm}^{-1}$ ) a 25 °C
Água destilada	4,13
50 $\mu\text{M}$ de ácido giberélico	14,25
5 mM de peróxido de hidrogênio	4,17
50 $\mu\text{M}$ de ácido salicílico	14,96
50 $\mu\text{M}$ de ácido ascórbico	9,40

Fonte: Elaborada pela autora.

Os CP foram definidos de acordo com os dados obtidos na curva de embebição, e as concentrações salina e dos agentes elicitores foram obtidas com base em testes preliminares. As sementes foram despontadas na região oposta ao hilo (CORREIA et al., 2017; MEDEIROS et al., 2020) e submetidas a um e dois ciclos de priming (CP). O processo de hidratação foi conduzido em 50 ml do agente elicitor a cada ciclo, em copos Becker contendo 120 sementes por três horas em câmara de germinação a 25 °C no escuro. As sementes foram secas e sobrepostas em papel toalha, e os ciclos de desidratação ocorreram por nove horas (*M. caesalpiniiifolia*) e dezoito horas (*P. moniliformes*). A secagem foi realizada em temperatura e umidade relativa ambiente média de  $28,9 \pm 0,6$  °C e umidade relativa  $53 \pm 5\%$ , respectivamente, números obtidos por Termo-higrômetro digital Jprolab®. Ao final dos ciclos de priming, as sementes apresentaram teor de água entre 45 e 50%.

Posteriormente aos ciclos de priming, as sementes foram semeadas em substrato tipo papel na forma de rolo, previamente umedecido com água destilada (0,0 mM - controle) e água salina nos demais tratamentos a 200 mM, obtida pela dissolução de cloreto de sódio (NaCl), correspondente a  $11,69 \text{ g L}^{-1}$ . Os rolos obtidos foram incubados em germinador sob a temperatura de 25 °C (BRASIL, 2013). A primeira contagem de germinação (PCG) foi realizada após o 5° e 7° dias da semeadura para *M. caesalpiniiifolia* e *P. moniliformes*, respectivamente (BRASIL, 2013). A porcentagem de germinação (G) foi obtida pela contagem de plântulas no 10° e 14° dia após a semeadura para *M. caesalpiniiifolia* e *P. moniliformes*, respectivamente (BRASIL, 2013; BRASIL, 2009). Para ambas as espécies, foram consideradas plântulas normais aquelas que apresentaram raiz principal e hipocótilo desenvolvidos.

Os comprimentos das partes aérea e raiz das plântulas normais foram realizados ao fim do teste de germinação. Os comprimentos da parte aérea (medido do colo ao ápice da

plântula) e da raiz primária (medida da base do colo à extremidade da raiz) foram mensurados com auxílio de uma régua graduada em centímetros. Após as mensurações de comprimento, as plântulas foram acondicionadas em sacos de papel tipo *kraft* e postas para secar em estufa de circulação de ar forçado a 65 °C até a obtenção do peso constante. Posteriormente, foram pesadas em balança de precisão, para obtenção da massa seca (MS) da parte aérea, raiz e total.

Com os dados de MS total, foram calculadas as percentagens particionadas entre os órgãos vegetativos e o índice de tolerância (IT) à salinidade, comparando-se os dados dos tratamentos salinos com os do controle (CE = 4,13 $\mu$ Sm<sup>-1</sup> a 25 °C). A classificação da tolerância foi realizada com base na perda de biomassa em quatro níveis: T (tolerante; 0–20%), MT (moderadamente tolerante; 21–40%), MS (moderadamente sensível; 41–60%) e S (sensível; >60%), por meio da Equação adaptada de Fágéria, Soares e Gheyi (2010):

$$IT(\%) = \frac{MS \text{ do tratamento salino}}{MS \text{ do tratamento controle}} \times 100$$

Os açúcares solúveis totais foram obtidos a partir da massa fresca das plântulas. No momento da extração, a massa fresca foi macerada com auxílio de cadinho e pistilo em nitrogênio líquido. Em seguida, foram pesadas 0,2 g em triplicata e o material foi acondicionado em tubos rosqueados do tipo Eppendorf. Em seguida, foi adicionado 1 mL de álcool 80% e as amostras foram colocadas em banho-maria a 60 °C por 20 min. O material foi submetido à centrifuga refrigerada a 4 °C por 10 min. a 10 RPM (processo realizado três vezes). O sobrenadante do tubo foi coletado para quantificação dos açúcares. A dosagem de açúcares solúveis totais foi mensurada pela absorbância em 620 nm pelo método da antrona (YEMM; WILLIS, 1954), tendo a glucose como substância padrão e os resultados expressos em  $\mu$ mol de GLU g<sup>-1</sup> de massa fresca.

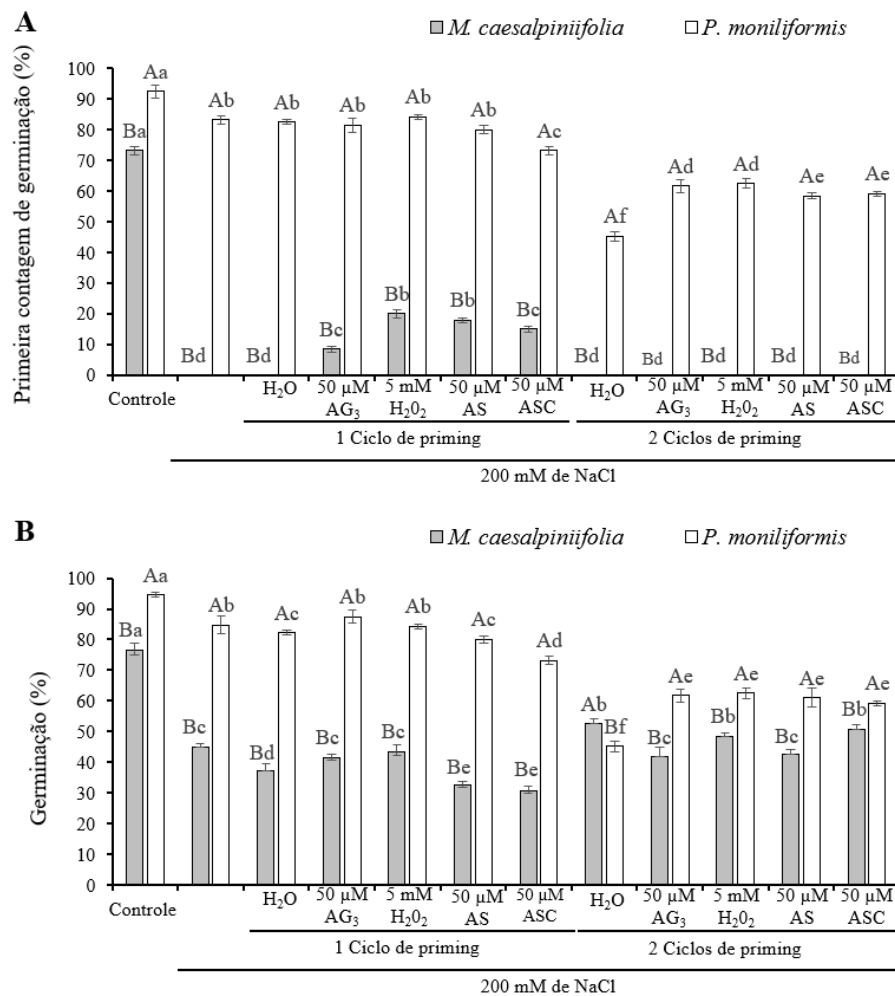
Na determinação de aminoácidos livres totais, o sobrenadante obtido no processo de extração em álcool foi utilizado para a quantificação dos teores de aminoácidos. Para isso, aplicou-se o método da nihidrina ácida com a medição da absorbância a 570 nm (YEMM et al., 1955), tendo a glicina como substância padrão e os resultados expressos em  $\mu$ mol GLI g<sup>-1</sup> de massa fresca.

A determinação de prolina obedeceu à metodologia descrita por Bates et al. (1973). As concentrações de prolina foram determinadas com base em uma curva padrão obtida a partir de L-Prolina, medindo a absorbância em 520 nm. Os resultados foram expressos em  $\mu$ mol PRO g<sup>-1</sup> de massa fresca.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (teste F), e as médias dos tratamentos pré-germinativos dentro de cada espécie foram comparadas pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de significância, ao passo que as médias das espécies dentro de cada tratamento foram comparadas pelo teste t-Student ao nível de 5% de significância. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa computacional Sistema para Análise de Variância – SISVAR (FERREIRA, 2019).

#### 4.3 RESULTADOS

A interação entre as espécies e os tratamentos pré-germinativos foi significativa ( $p < 0,01$ ) para primeira contagem de germinação e porcentagem de germinação (Figura 2).

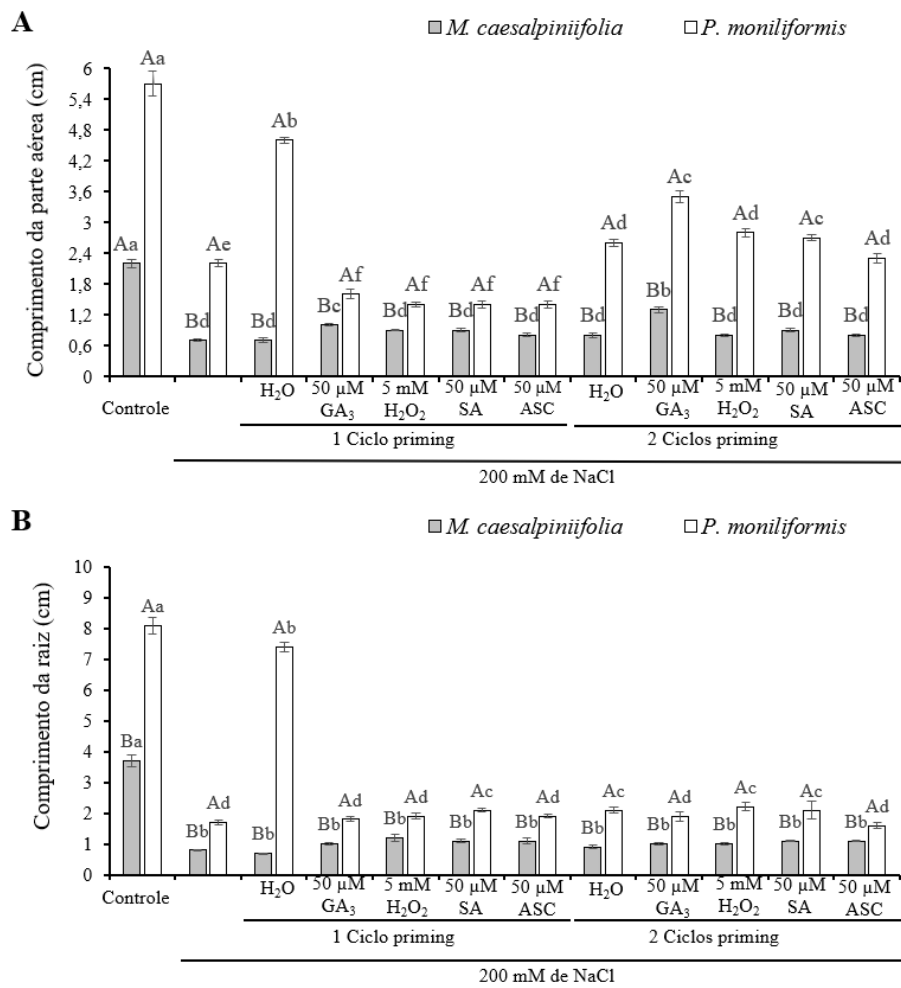


**Figura 2.** Médias da primeira contagem de germinação (A) e germinação (B) de *Mimosa caesalpinifolia* e *Pityrocarpa moniliformis* submetidos a elicitores de tolerância ao estresse salino em ciclos de priming: Água destilada (H<sub>2</sub>O), ácido giberélico (AG<sub>3</sub>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ácido salicílico (AS), ácido ascórbico (ASC). Médias seguidas da mesma letra minúscula (tratamentos) não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade e de mesma letra maiúscula (espécies) não diferem entre si pelo teste T Student a 5% de probabilidade. Fonte: Elaborada pela autora.

Em condições de estresse salino sem priming, não houve plântulas normais na primeira contagem de germinação para *M. caesalpiniifolia*, ao passo que para *P. moniliformis* o estresse salino sem priming reduziu a primeira contagem de germinação em 9,3 pontos percentuais, quando comparada ao controle (Figura 2A). Para *M. caesalpiniifolia*, o uso de um ciclo de priming melhora a primeira contagem de germinação em relação ao estresse salino sem priming, mas somente os ciclos com AG<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, AS e ASC resultaram em ganhos de 8,5, 20, 18 e 15 pontos percentuais, respectivamente, quando comparados ao estresse salino sem priming. Na *P. moniliformis*, um ciclo de priming nos elicitores não diferiu do estresse salino sem priming na primeira contagem de germinação, exceto pelo ASC, que reduziu ainda mais. O uso de dois ciclos de priming com água, ácido giberélico, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ácido salicílico e ácido ascórbico reduziu em 51,1, 33,3, 32,9, 37,1 e 36%, respectivamente, o número de plântulas normais na primeira contagem de germinação, em relação ao estresse salino sem priming.

O estresse salino sem priming diminuiu a germinação das espécies em 40,9 e 9,8 pontos percentuais para *M. caesalpiniifolia* e *P. moniliformis*, respectivamente (Figura 2B). As melhores geminações sob condições de estresse salino ocorrem para *P. moniliformis* em relação *M. caesalpiniifolia*, exceto com dois ciclos de priming em água. O uso de dois ciclos de priming com água, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e ácido ascórbico melhora a germinação em 7,5, 3,5 e 5,7 pontos percentuais em relação ao estresse salino sem priming para *M. caesalpiniifolia*. Para *P. moniliformis*, por sua vez, os resultados obtidos em todos os tratamentos com ciclos de priming não superaram a germinação obtida no estresse salino sem priming.

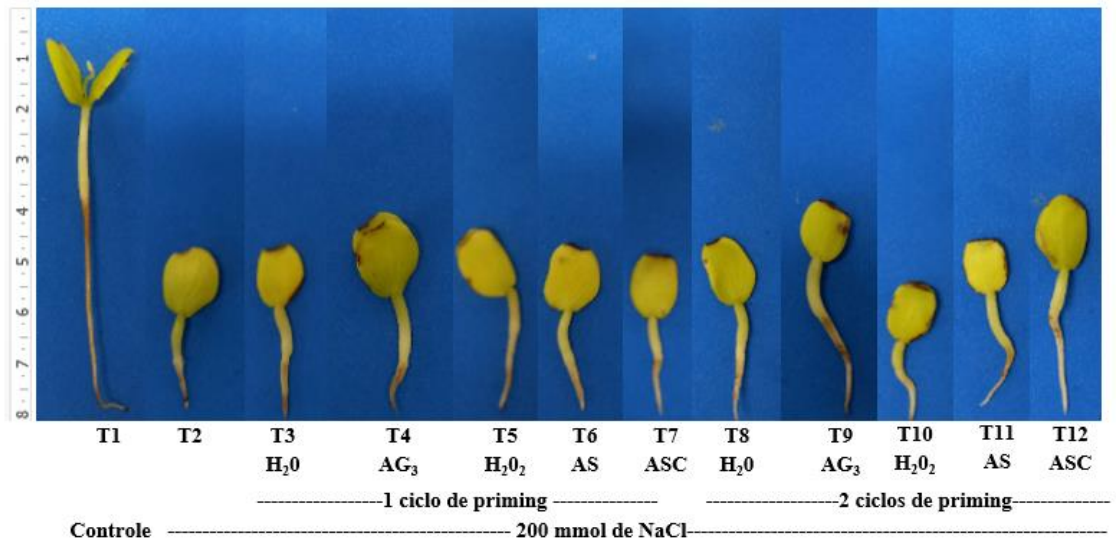
Para o comprimento da parte aérea e comprimento da raiz, a interação entre as espécies e os tratamentos pré-germinativos foi significativa ( $p < 0,01$ ) (Figura 3).



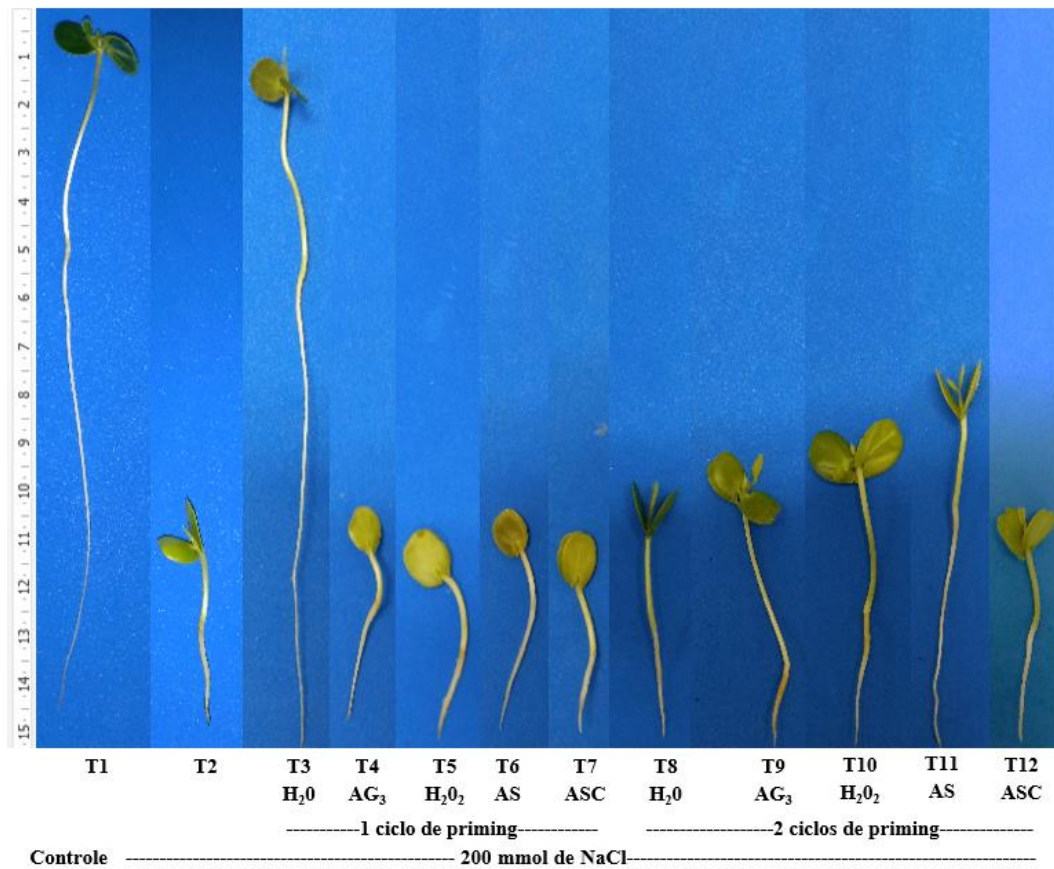
**Figura 3.** Médias do comprimento da parte aérea (A), comprimento da raiz (B) de plântulas de *Mimosa caesalpinifolia* e *Pityrocarpa moniliformis* submetidos a elicitores de tolerância ao estresse salino em ciclos de priming: Água destilada (H<sub>2</sub>O), ácido giberélico (AG<sub>3</sub>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ácido salicílico (AS), ácido ascórbico (ASC). Médias seguidas da mesma letra minúscula (tratamentos) não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade e de mesma letra maiúscula (espécies) não diferem entre si pelo teste T Student a 5% de probabilidade. Fonte: Elaborada pela autora.

O comprimento da parte aérea de plântulas (CPA) reduziu quando submetidas ao estresse salino sem priming em 68,2 e 61,4% para *M. caesalpinifolia* e *P. moniliformis*, respectivamente (Figura 3A). Para a *M. caesalpinifolia*, o tratamento com dois ciclos de priming em ácido giberélico promoveu maior CPA com ganho de 85%, superando o estresse causado pelo excesso de sais sem CP. Para *P. moniliformis*, o uso de um ciclo de priming com água promove CPA de 109,1% superior ao encontrado para o estresse salino sem priming (Figura 5). Os resultados encontrados para o CPA em *P. moniliformis* foram melhores quando comparados aos encontrados para *M. caesalpinifolia*.





**Figura 4.** Aspectos morfológicos de plântulas de *Mimosa caesalpiniiifolia* submetidos a elicitores de tolerância ao estresse salino em ciclos de priming: Água (H<sub>2</sub>O), ácido giberélico (AG<sub>3</sub>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ácido salicílico (AS), ácido ascórbico (ASC). Fonte: Dados da pesquisa. Fonte: Acervo da pesquisa.

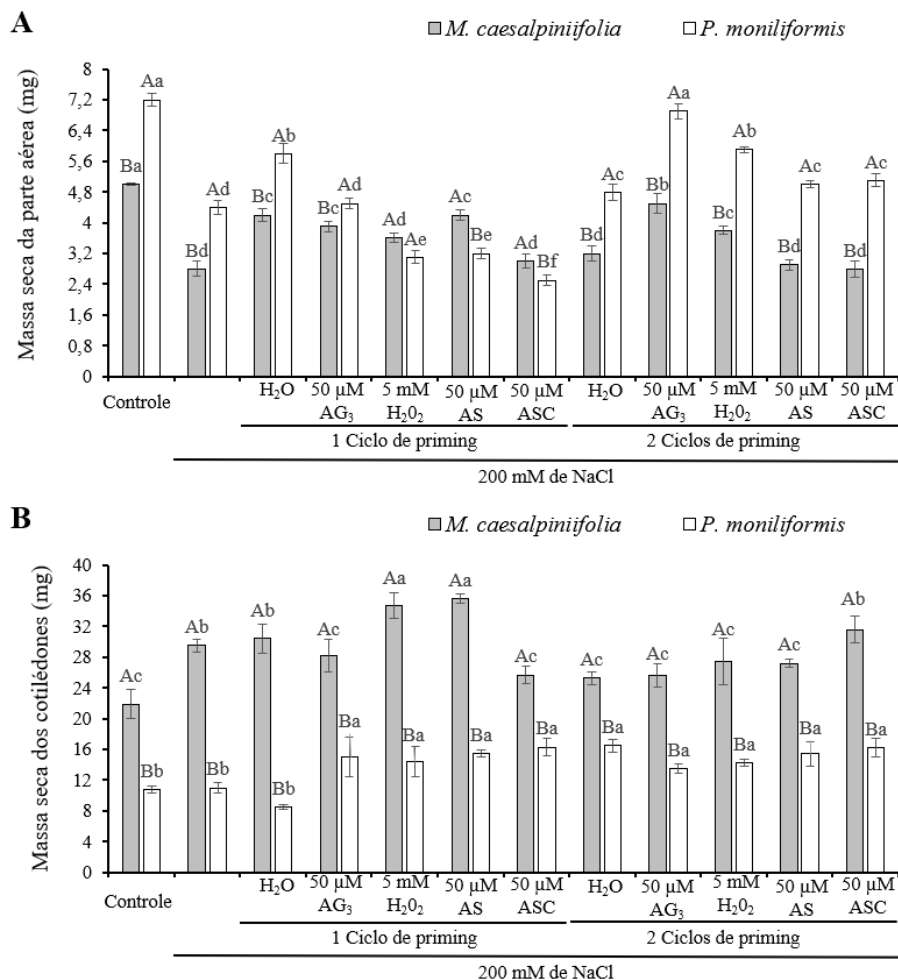


**Figura 5.** Aspectos morfológicos de plântulas de *Pityrocarpa moniliformis* submetidos a elicitores de tolerância ao estresse salino em ciclos de priming: Água (H<sub>2</sub>O), ácido giberélico

(AG<sub>3</sub>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ácido salicílico (AS), ácido ascórbico (ASC). Fonte: Acervo da pesquisa.

O estresse salino sem priming reduziu o comprimento da raiz das plântulas (CR) de *M. caesalpinifolia* em 78,4% e de *P. moniliformis* em 79,01%. Os tratamentos com os ciclos de priming em *M. caesalpinifolia* não foram suficientes para a superação do estresse causado pelo excesso de sais (Figura 3B). Por outro lado, apenas um ciclo de priming com água promoveu maior CR para *P. moniliformis*, com incremento de 335,3% em comparação ao estresse salino sem CP. Os resultados de CR para essa espécie foram superiores aos encontrados para *M. caesalpinifolia*.

Houve interação entre as espécies e os tratamentos pré-germinativos ( $p < 0,01$ ) para a massa seca da parte aérea e massa seca dos cotilédones (Figura 6).



**Figura 6.** Médias da massa seca da parte aérea (A) e massa seca dos cotilédones (B) de plântulas de *Mimosa caesalpinifolia* e *Pityrocarpa moniliformis* submetidos a elicitores de tolerância ao estresse salino em ciclos de priming: Água destilada (H<sub>2</sub>O), ácido giberélico (AG<sub>3</sub>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ácido salicílico (AS), ácido ascórbico (ASC). Médias seguidas da mesma letra minúscula (tratamentos) não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a

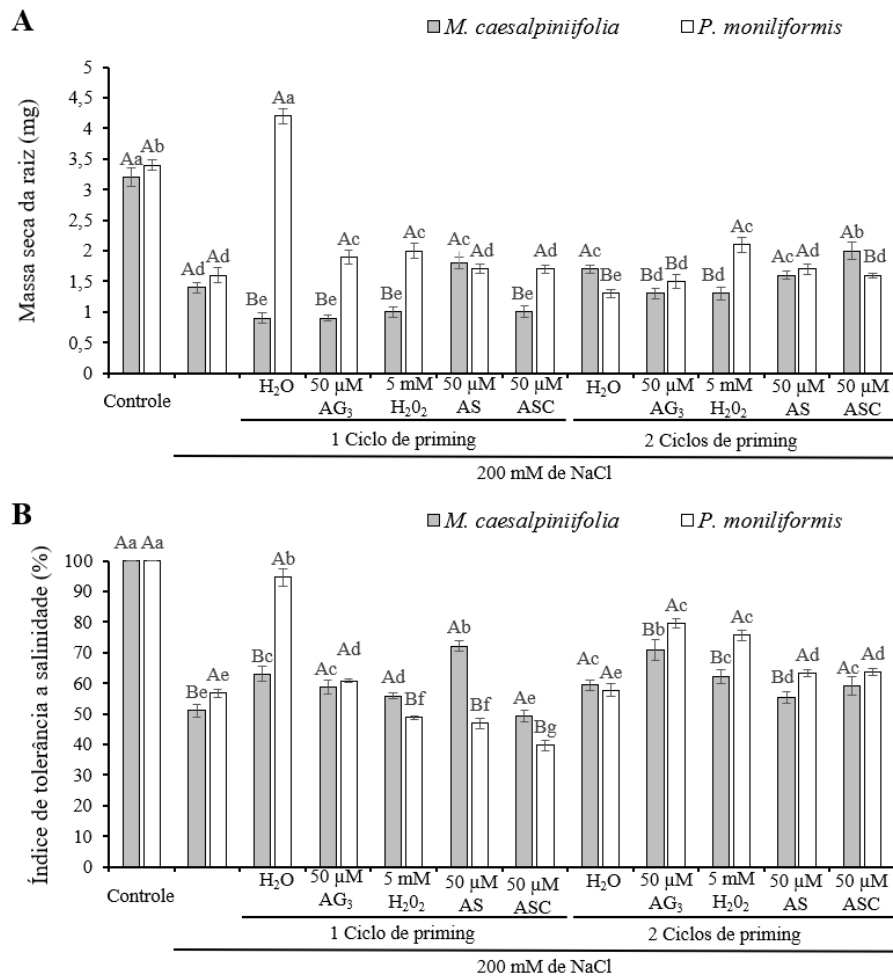
5% de probabilidade e de mesma letra maiúscula (espécies) não diferem entre si pelo teste T Student a 5% de probabilidade. Fonte: Elaborada pela autora.

A massa seca da parte aérea foi reduzida pelo estresse salino sem priming em 44 e 38,9% para *M. caesalpiniifolia* e *P. moniliformis*, respectivamente (Figura 6A). *M. caesalpiniifolia*, quando submetida a dois ciclos de priming com ácido giberélico, tiveram aumento de 60,7% na massa seca da parte aérea em relação ao tratamento com estresse salino sem priming. O uso de dois ciclos de priming com ácido giberélico em sementes de *P. moniliformis* promoveu resultados de massa seca da parte aérea semelhantes ao controle, com ganho de 56,8% em relação ao estresse salino sem CP.

A aplicação de um ciclo de priming com água e dois ciclos de priming com peróxido de hidrogênio proporcionou ganhos de 34,1 e 31,8% no acúmulo de massa seca da parte aérea de *P. moniliformis* (Figura 6A), que obteve maior acúmulo de massa seca da parte aérea comparada a *M. caesalpiniifolia*, exceto para um ciclo de priming com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, um ciclo de priming com ácido salicílico e um ciclo de priming com ácido ascórbico.

O estresse salino diminuiu o consumo de reservas dos cotilédones (MSC) da *M. caesalpiniifolia*, principalmente com o uso de um ciclo de priming com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e um ciclo de priming com ácido salicílico (Figura 6B). Em *P. moniliformis*, o consumo de reservas dos cotilédones no estresse salino sem priming e no tratamento com um ciclo de priming com água foi semelhante ao controle, ao passo que os demais tratamentos diminuiram o consumo de reservas dos cotilédones (MSC). Os resultados de MSC foram maiores para a *M. caesalpiniifolia*, na comparação a *P. moniliformis*.

Houve interação entre as espécies e os tratamentos pré-germinativos ( $p < 0,01$ ) para a massa seca da raiz e índice de tolerância à salinidade (Figura 7).



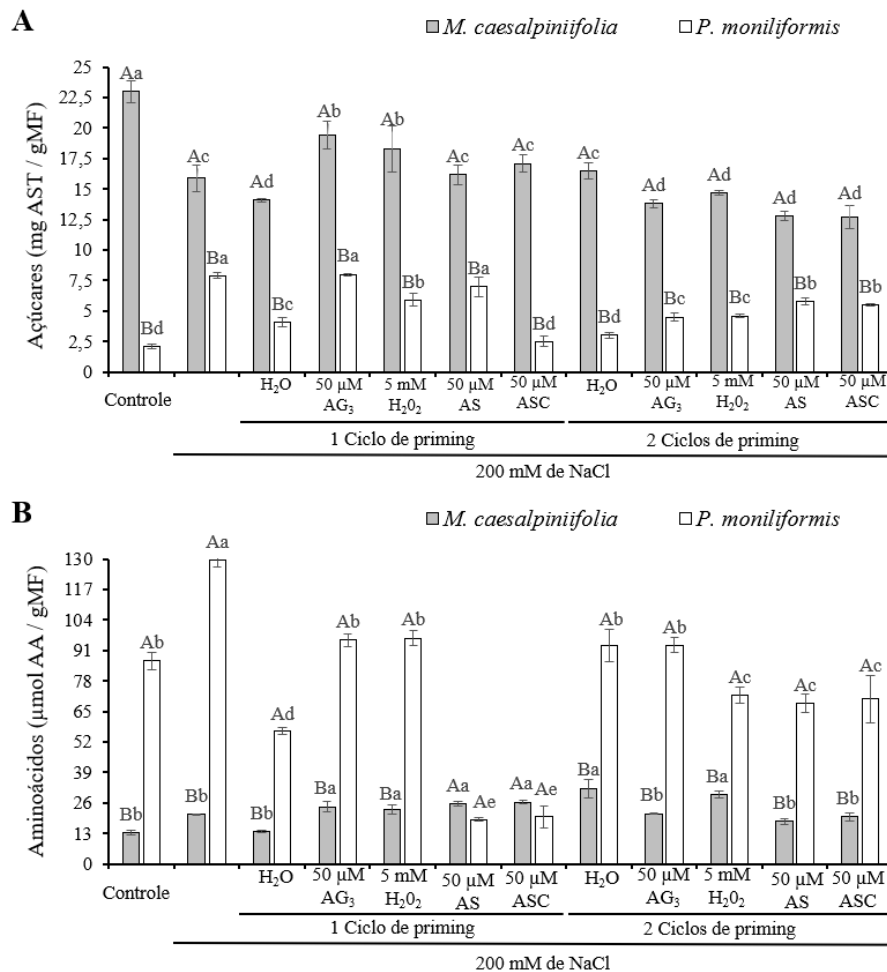
**Figura 7.** Médias da massa seca da raiz (A) e índice de tolerância a salinidade (B) de plântulas de *Mimosa caesalpinifolia* e *Pityrocarpa moniliformis* submetidos a elicitores de tolerância ao estresse salino em ciclos de priming: Água destilada (H<sub>2</sub>O), ácido giberélico (AG<sub>3</sub>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ácido salicílico (AS), ácido ascórbico (ASC). Médias seguidas da mesma letra minúscula (tratamentos) não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade e de mesma letra maiúscula (espécies) não diferem entre si pelo teste T Student a 5% de probabilidade. Fonte: Elaborada pela autora.

A massa seca da raiz foi reduzida no estresse salino sem priming para ambas as espécies, com 56,2% para *M. caesalpinifolia* e 52,9% para *P. moniliformis* (Figura 7A), em comparação ao tratamento controle. O uso de dois ciclos de priming com ácido ascórbico incrementou a massa seca da raiz em 42,8% para *M. caesalpinifolia*, quando comparado ao tratamento com estresse salino sem priming (Figura 7A), ao passo que para a *P. moniliformis* apenas um ciclo de priming com água foi suficiente para produção de maior massa seca da raiz (162,5%).

De acordo com o índice de tolerância à salinidade (ITS), as espécies *M. caesalpinifolia* e *P. moniliformis* são moderadamente sensíveis (40% <ITS < 60%) ao estresse salino de 200 mM sem priming (Figura 7B). Na *M. caesalpinifolia* submetida a um

ciclo de priming com ácido salicílico e dois ciclos de priming em ácido giberélico, as plântulas passaram de moderadamente sensíveis para moderadamente tolerantes à salinidade ( $60\% < \text{ITS} < 80\%$ ). Na *P. moniliformis*, um ciclo de priming em água melhora o ITS e as plântulas passaram de moderadamente sensíveis para tolerantes ( $\text{ITS} > 80\%$ ).

Houve interação entre as espécies e os tratamentos pré-germinativos ( $p < 0,01$ ) para as determinações de açúcares solúveis totais e aminoácidos (Figura 8).



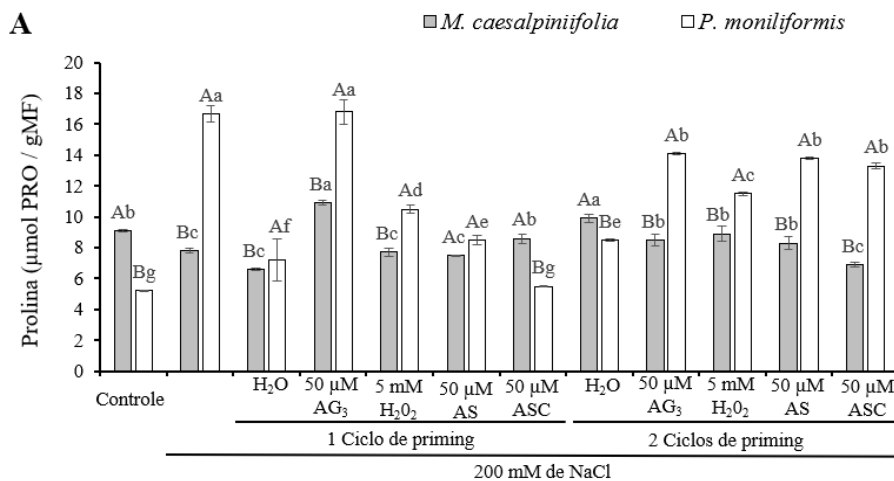
**Figura 8.** Teste de média para a quantificação de açúcares solúveis totais (A) e aminoácidos (B) em plântulas de *Mimosa caesalpinifolia* e *Pityrocarpa moniliformis* submetidas a elicitores de tolerância ao estresse salino em ciclos de priming: Água destilada (H<sub>2</sub>O), ácido giberélico (AG<sub>3</sub>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ácido salicílico (AS), ácido ascórbico (ASC). Médias seguidas da mesma letra minúscula (tratamentos) não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade e de mesma letra maiúscula (espécies) não diferem entre si pelo teste T Student a 5% de probabilidade. Fonte: Elaborada pela autora.

O maior teor de açúcares solúveis totais (AST) em *M. caesalpinifolia* ocorreu no controle, porém o estresse salino reduziu em 30,1% (Figura 8A). Os CP promoveram maior acúmulo de AST, principalmente quando conduzidos com um CP com ácido giberélico e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, com ganhos de 22 e 15%, quando comparados ao estresse salino sem CP. Para *P.*

*moniformis*, o estresse salino sem CP aumentou o acúmulo de AST em 276% em relação ao controle. Esse resultado não diferiu dos obtidos em um CP com ácido giberélico e um CP com ácido salicílico. Os resultados obtidos para o conteúdo de AST para essa espécie foram inferiores aos encontrados para *M. caesalpinifolia*.

A concentração de aminoácidos (AA) em *M. caesalpinifolia* no estresse salino sem priming foi semelhante ao controle (Figura 8B). No entanto, o uso de um ciclo de priming com ácido giberélico, um ciclo de priming com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, um ciclo de priming com ácido salicílico, um ciclo de priming com ácido ascórbico, dois ciclos de priming com água e dois ciclos de priming com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> aumentaram, respectivamente, em 16,2, 10,5, 21,4, 25,7, 53,8 e 40,9% a concentração de AA, na comparação ao estresse salino. A concentração de AA aumentou em 49,7% em *P. moniformis* sob estresse salino sem priming em comparação ao controle. Todavia, um e dois CP com ácido giberélico, um CP com peróxido de hidrogênio e dois CP com água obtiveram concentrações de AA semelhantes ao controle (Figura 8B).

Para a quantificação de prolina, ocorreu interação entre as espécies e os tratamentos pré-germinativos ( $p < 0,01$ ) (Figura 9).



**Figura 9.** Teste de média para a quantificação de prolina (A) em plântulas de *Mimosa caesalpinifolia* e *Pityrocarpa moniformis* submetidas a elicitores de tolerância ao estresse salino em ciclos de priming: Água destilada (H<sub>2</sub>O), ácido giberélico (AG<sub>3</sub>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ácido salicílico (AS), ácido ascórbico (ASC). Médias seguidas da mesma letra minúscula (tratamentos) não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade e de mesma letra maiúscula (espécies) não diferem entre si pelo teste T Student a 5% de probabilidade. Fonte: Elaborada pela autora.

A concentração de prolina em *M. caesalpinifolia* sob estresse salino sem CP foi reduzida em 14,3% em relação ao controle (Figura 9). Todavia, sementes tratadas com um CP

com ácido giberélico e com dois CP com água promoveram incrementos na concentração de Prolina (PRO) em 39,7 e 26,9%, respectivamente, em relação ao estresse salino sem priming (Figura 9). Na *P. moniliformis*, os maiores teores de prolina ocorreram no estresse salino sem CP e nas sementes tratadas em um CP com ácido giberélico (T4).

#### 4.4 DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram que o excesso de íons de Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> diminui a germinação e o comprimento inicial da *M. caesalpinifolia* e da *P. moniliformis*, corroborando com os resultados obtidos por Sousa et al. (2018) e Pereira et al. (2016), respectivamente. Os autores obtiveram respostas semelhantes às encontradas neste trabalho com estresse salino simulado por NaCl.

As espécies *M. caesalpinifolia* e da *P. moniliformis* apresentaram comportamentos distintos para germinação em condições de estresse salino com e sem os ciclos de priming. Esse resultado é nítido desde a primeira contagem de germinação, que é um teste eficiente para determinar o vigor de sementes (GUEDES et al., 2013). Na primeira contagem de germinação, *P. moniliformis* se mostrou mais tolerante ao estresse, com alta porcentagem de germinação, acima de 80%, que se manteve na germinação final, mesmo sem uso do priming de sementes.

Sob estresse salino, *M. caesalpinifolia* não formou plântulas normais na primeira contagem de germinação. A inibição inicial da germinação de sementes em condições de estresse salino se deve à hidratação insuficiente dos tecidos para que ocorra a ativação das atividades metabólicas, mobilização de reservas e, conseqüentemente, ocorra o desenvolvimento radicular e formação de uma plântula (TAIZ et al., 2018). Para essa espécie, apenas um ciclo de priming com AG<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, SA e ASC favoreceu uma rápida aclimação com crescimento do eixo hipocótilo-radícula, justamente porque os agentes elicitores contra o estresse atuam nos sinalizadores e induzem os sistemas de defesa contra a desidratação, como o aumento da síntese de osmólitos compatíveis que auxiliam no equilíbrio osmótico (WOJTYLA et al., 2016; COSTA et al., 2021; CHEN et al., 2021; HONGNA et al., 2021).

No 10º dia, as sementes de *M. caesalpinifolia* germinaram em todos os tratamentos, e a melhor germinação em condições de estresse salino ocorre com dois ciclos de priming em H<sub>2</sub>O, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e ASC. O uso de um ciclo de priming com AS e ASC conferiu germinação inferior ao estresse salino sem priming. Portanto, o gasto excessivo de energia para uma rápida germinação no 5º dia falhou em atenuar o estresse salino na germinação. Dessa forma,

dois ciclos de priming em H<sub>2</sub>O, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e ASC promovem maior percentagem de germinação na *M. caesalpinifolia*, porém ela é tardia. A memória de hidratação da semente devido aos ciclos de priming permite maior aclimação à desidratação e aumento da taxa de sobrevivência em condições de baixa disponibilidade hídrica (LIMA; MEIADO, 2017; LIMA et al., 2018; GONÇALVES et al., 2020; NICOLAU et al., 2020). O uso de dois ciclos de priming com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pode ativar o mecanismo de defesa antioxidante e diminuir os danos nas membranas lipídicas, causados pelo efeito tóxico dos íons de Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> (WOJTYLA et al., 2016). Por sua vez, o ácido ascórbico é um agente antioxidante que atua em atividades enzimáticas envolvidas na biossíntese de giberelinas (GA<sub>3</sub>) que favorece a germinação (BILSKA et al., 2019).

O estresse salino reduz o comprimento de plântulas de *M. caesalpinifolia* e *P. moniliformis* na medida em que compromete os processos de divisão e alongamento celular em resposta ao aumento da retenção osmótica no substrato, sendo essa uma das primeiras estratégias utilizadas pelas plantas para tolerar o estresse salino (SOUSA et al., 2018; PEREIRA et al., 2016). Para *P. moniliformis*, um ciclo de priming com água promoveu maior comprimento de plântulas em condições de estresse salino. Para essa espécie, houve a formação e comprimento da raiz principal, hipocótilo e epicótilo com duas folhas verdadeiras. A formação de uma plântula com todas as partes essenciais é fundamental para que o crescimento da planta tenha prosseguimento mesmo sob estresse salino, portanto essa espécie poderá abandonar os tecidos de reserva e se estabelecer em campo (SILVA et al., 2019). Resultados semelhantes foram obtidos por Nicolau et al. (2020) para *P. moniliformis* em condição de estresse hídrico severo (-0,8 Mpa), verificando que após dois ciclos de priming com água houve aumento do potencial germinativo e do comprimento das plântulas. Sementes de *Senna spectabilis* var. *excelsa* (Fabaceae), quando submetidas a baixos potenciais osmóticos, até -0,9 Mpa, mostram sensibilidade no processo germinativo, porém ciclos de priming de 16 horas favorecem a tolerância à condição de estresse hídrico, com aumento na porcentagem e plântulas germinadas (LIMA et al., 2018). Esses resultados reforçam que os ciclos de priming com água aumentam a tolerância das espécies em condição de estresse abiótico (NASCIMENTO et al., 2021; LIMA; MEIADO, 2017).

Para *M. caesalpinifolia*, ao contrário do que ocorreu para *P. moniliformis*, os ciclos de priming em água não foram suficientes para que o comprimento de plântula fosse melhorado em condição de salinidade. De acordo Nicolau et al. (2020), os ciclos de priming com água em sementes de *M. caesalpinifolia* antes da semeadura favoreceram a germinação, mas o vigor das plântulas sob estresse hídrico foi baixo. Neste trabalho, dois ciclos de priming com



ácido giberélico promoveram maior comprimento, acúmulo de massa seca da parte aérea na *M. caesalpiniiifolia* e coincidiram com maior consumo de reservas, devido à baixa MSC, em comparação ao estresse salino sem priming. O ácido giberélico favorece a germinação a partir do alongamento e da divisão celular e, em plântulas sob estresse salino, melhora o ajuste osmótico e a mobilização de açúcares (COSTA et al., 2021). A remobilização de reservas é uma das estratégias das plantas para tolerar os efeitos da salinidade (FERREIRA et al., 2021). Na *M. caesalpiniiifolia*, na condição de salinidade após dois ciclos de priming com AG<sub>3</sub>, o gasto energético foi direcionado para o comprimento da parte aérea.

A *P. moniliformis* após um ciclo de priming com água apresentou maior comprimento inicial e acúmulo de biomassa. Um ciclo de priming com água promoveu maior síntese de aminoácidos, o que foi essencial para o ajuste osmótico e maior desenvolvimento. A prolina reduz os efeitos da salinidade nas plantas a partir da estabilização das estruturas celulares, além de promover o aumento de açúcares solúveis nos tecidos vegetais, que são fontes energéticas para a produção de enzimas que eliminam espécies reativas de oxigênio (ROS) (GHAFARI, et al., 2019; MEENA et al., 2019).

Para ambas as espécies, a homeostase celular ocorreu por meio da regulação da quantidade de osmólitos compatíveis. *M. caesalpiniiifolia* acumulou principalmente açúcares, ao passo que *P. moniliformis* acumulou principalmente aminoácidos. Esses mecanismos são importantes para manter o turgor celular e controlar os efeitos adversos das flutuações dos níveis de sais nas células (FERREIRA et al., 2021).

Os resultados sugerem que técnicas com ciclos de priming em elicitores de tolerância a estresse em espécies vegetais precisam ser mais exploradas, principalmente avaliando mais solutos orgânicos diferenciando os açúcares, aminoácidos produzidos, quantificando as proteínas e enzimas antioxidativas. Os mecanismos de tolerância, as alterações metabólicas e bioquímicas podem sofrer variações interespecíficas. O comportamento é variável em função não apenas da espécie, mas depende do tipo de estresse abiótico, da intensidade do estresse, do número de ciclos, do tipo elicitador de tolerância e da capacidade das espécies se aclimatarem. Além disso, essas alterações também são influenciadas pelas condições ambientais em que as sementes foram produzidas (SOUSA et al., 2018).

#### 4.5 CONCLUSÕES

O estresse salino (200 mM NaCl) reduz a germinação, comprimento e acúmulo de biomassa das espécies, sendo *P. moniliformis* mais tolerante do que *M. caesalpiniiifolia*.

A aplicação de um ciclo de priming em água atenua o efeito do estresse salino sobre o comprimento, acúmulo de biomassa e a regulação osmótica no processo de germinação de *P. moniliformis*, ao passo que para *M. caesalpinifolia* são necessários dois ciclos de priming com ácido giberélico.

## REFERÊNCIAS

- AKBARI, M. et al. Desertification risk assessment and management program. **Global Journal of Environmental Science and Management**, v. 2, n. 4, p. 365-380, 2016. Disponível em: 10.22034/GJESM.2016.02.04.006. Acesso em: 21 mar. 2022.
- AZERÊDO, G. A. et al. Temperature and substrate for the germination of *Piptadenia moniliformis* Benth. seeds. **Scientia Forestalis**, v. 39, n. 92, p. 479-488, 2011. Disponível em: <http://www.ipef.br/publicacoes/scientia/nr92/cap11.pdf>. Acesso em: 21 mar. 2022.
- BATES, L. S. et al. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, v. 39, n. 1, p. 205-207, 1973. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00018060>. Acesso em: 17 mar. 2022.
- BILSKA, K. et al. Ascorbic Acid - The Little-Known Antioxidant in Woody Plants. **Antioxidants**, v. 8, n. 12, p. 645, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antiox8120645>. Acesso em: 04 abr. 2022.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instruções para análise de sementes de espécies florestais**. Brasília: MAPA/ACS, 2013. Disponível em: [https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/laboratorios/arquivos-publicacoes-laboratorio/florestal\\_documento\\_pdf-ilovepdf-compressed.pdf](https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/laboratorios/arquivos-publicacoes-laboratorio/florestal_documento_pdf-ilovepdf-compressed.pdf). Acesso em: 21 mar. 2022.
- CASTRO, F. C.; SANTOS, A. M. Salinity of the soil and the risk of desertification in the semiarid region. **Mercator**, v. 19, e19002, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.4215/rm2020.e19002>. Acesso em: 21 mar. 2022.
- CARVALHO, F. E. et al. Salt stress acclimation in rice plants induced by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pretreatment. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n. 4, p. 416-423, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1415-43662011000400014>. Acesso em: 1º abr. 2022.
- CHEN, Z.; CAO, X-L.; NIU, J-P. Effects of exogenous ascorbic acid on seed germination and seedling salt-tolerance of alfalfa. **Plos One**, v. 16, n. 4, e0250926, 2021. Disponível em: <http://dx-doi.ez13.periodicos.capes.gov.br/10.1371/journal.pone.0250926>. Acesso em: 04 abr. 2022.
- CORREIA, L. A. S. et al. Physiological quality of catanduva seeds under *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) infestation. **Revista Agropecuária Técnica**, v. 38, n. 2, p. 65-70, 2017. Disponível em: 10.25066/agrotec.v38i2.29838. Acesso em: 07 abr. 2022.

COSTA, A. A. et al. Seed priming improves *Salvia hispanica* L. seed performance under salt stress. **Acta Scientiarum-Agronomy**, v. 43, p. e52006, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v43i1.52006>. Acesso em: 04 jul. 2022.

CROMARTY, A. S.; ELLIS, R. H.; ROBERTS, E. H. **Design of seed storage facilities for genetic conservation**. Rome: INTERNACIONAL BOARD OF PLANT GENETIC RESOURCES, 1985.

FAGÉRIA, N. K.; SOARES, W. S. F.; GHEYI, H. R. Melhoramento genético vegetal e seleção de espécies tolerantes à salinidade. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. (org.). **Manejo da salinidade na agricultura: estudos básicos e aplicados**. Fortaleza: INCTSal, 2010. p. 205-216.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.28951/rbb.v37i4.450>. Acesso em: 02 fev. 2022.

FERREIRA, A. D. S. et al. Production of *Pityrocarpa moniliformis* (Benth.) Luckow & R.W. Jobson (Fabaceae) seedlings irrigated with saline water. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 25; n. 3, p. 182-188, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v25n3p182-188>. Acesso em: 29 mar. 2022.

GHAFFARI, H. et al. Proline-mediated changes in antioxidant enzymatic activities and the physiology of sugar beet under drought stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 41, n. 2, p. 1-13, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11738-019-2815-z>. Acesso em: 10 mar. 2022.

GUEDES, R. S. et al. Evaluation of physiological potential of *Amburana cearenses* (Allemão) A. C. Smith seeds. **Bioscience Journal**, v. 29, n. 4, p. 859-866, 2013. Disponível em: <https://seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/13994>. Acesso em: 04 jul. 2022.

GONÇALVES, B. G. et al. Embryo responses to extreme water events provide insights into the behavior of *Butia capitata* (Arecaceae) seed banks during hydration cycles. **Environmental and Experimental Botany**, v. 169, p. 103904, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.103904>. Acesso em: 10 mar. 2022.

HONGNA, C. et al. Exogenous salicylic acid signal reveals an osmotic regulatory role in priming the seed germination of *Leymus chinensis* under salt-alkali stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 188, 104498, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2021.104498>. Acesso em: 04 abr. 2022.

LIMA, A. T. et al. Does discontinuous hydration of *Senna spectabilis* (DC.) H.S. Irwin & Barneby var. *excelsa* (Schrad.) H.S. Irwin & Barneby (Fabaceae) seeds confer tolerance to water stress during seed germination? **Journal of Seed Science**, v. 40, n. 1, p. 036-043, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/2317-1545v40n1182838>. Acesso em: 31 mar. 2022.

LIMA, A. T.; MEIADO, M. V. Discontinuous hydration alters seed germination under stress of two populations of cactus that occur in different ecosystems in Northeast Brazil. **Seed Science Research**, v. 27, n. 4, p. 292-302, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0960258517000241>. Acesso em: 31 mar. 2022.

MEDEIROS, H. L. S. et al. Dormancy overcoming and preconditioning in *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. Seeds. **Revista Caatinga**, v. 33, n. 3, p. 720-727, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/1983-21252020v33n315rc>. Acesso em: 07 mar. 2020.

MEENA, M. et al. Regulation of L-proline biosynthesis, signal transduction, transport, accumulation and its vital role in plants during variable environmental conditions. **Heliyon**, v. 5, n. 12, p. e02952, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02952>. Acesso em: 15 jan. 2022.

NASCIMENTO, J. P. B.; DANTAS, B. F.; MEIADO, M. V. Hydropriming changes temperature thresholds for seed germination of tree espécies from the Caatinga, a Brazilian tropical dry forest. **Journal of Seed Science**, v. 43, e202143004, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/2317-1545v43238649>. Acesso em: 28 abr. 2022.

NICOLAU, P. B. et al. Discontinuous hydration on the germination of *Mimosa caesalpiniiifolia* and *Pityrocarpa moniliformis* seeds under water stress. **Revista Caatinga**, v. 33, n. 2, p. 555-561, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1983-21252020v33n228rc>. Acesso em: 31 de mar. 2022.

OLIVEIRA, F. A. et al. Interaction of irrigation water salinity and substrate on the production of yellow passion fruit seedlings. **Comunicata Scientiae**, v. 6, p. 471-478, 2015. Disponível em: [10.14295/cs.v6i4.982](https://doi.org/10.14295/cs.v6i4.982). Acesso em: 04 jul. 2022.

PEREIRA, F. E. et al. Saline stress and temperatures on germination and vigor of *Piptadenia moniliformis* Benth. Seeds. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 20, n.7, p. 649-653, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v20n7p649-653>. Acesso em: 31 mar. 2022.

PESSOA, L. G. et al. Spectral reflectance characteristics of soils in northeastern Brazil as influenced by salinity levels. **Environ Monit Assess**, v. 188, n. 11, p. 616, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5631-6>. Acesso em: 18 abr. 2022.

SÁ, F. V. S. et al. Initial growth of native trees on saline-sodic soil from northeastern Brazil using amendments. **Revista Ceres**, v. 60, p. 388-396, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0034-737X2013000300012>. Acesso em: 04 jul. 2022.

SILVA, H. A. et al. Salt stress differentially regulates mobilisation of carbon and nitrogen reserves during seedling establishment of *Pityrocarpa moniliformis*. **Plant biology**, v. 21, n. 6, p. 1110-1118, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/plb.13017>. Acesso em: 27 mar. 2022.

SOUSA, E. C. et al. Physiological changes in *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. Seeds from different sources and submitted to abiotic stresses. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 22, n. 6, p. 383-389, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v22n6p383-389>. Acesso em: 27 mar. 2022.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fundamentals of plant physiology**. New York, NY: Oxford, 2018.

WOJTYLA, L. et al. Different Modes of Hydrogen Peroxide Action During Seed Germination. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. 66, p. 1-16, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00066>. Acesso em: 04 jul. 2022.

YEMM, E. W. et al. The determination of amino acid with ninhydrin. **Analyst**, v. 80, n. 2, p. 209-213, 1955. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/AN9558000209>. Acesso em: 17 mar. 2022.

YEMM, E.W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. **Biochemical Journal**, v. 57, n. 3, p. 508-514, 1954. Disponível em: <https://doi.org/10.1042/bj0570508>. Acesso em: 17 mar. 2022.