

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA  
PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA/FITOTECNIA**

**ALEXANDRE BOSCO DE OLIVEIRA**

**ENVELHECIMENTO ARTIFICIAL, OSMOCONDICIONAMENTO E ESTRESSE  
OSMÓTICO EM SEMENTES DE SORGO: PARÂMETROS FISIOLÓGICOS,  
BIOQUÍMICOS E CITOQUÍMICOS**

**FORTALEZA-CE**

**2010**

**ALEXANDRE BOSCO DE OLIVEIRA**

**ENVELHECIMENTO ARTIFICIAL, OSMOCONDICIONAMENTO E ESTRESSE  
OSMÓTICO EM SEMENTES DE SORGO: PARÂMETROS FISIOLÓGICOS,  
BIOQUÍMICOS E CITOQUÍMICOS**

Tese submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Fitotecnia.

Orientador: Prof. Dr. Enéas Gomes-filho

**FORTALEZA-CE**

**2010**

ALEXANDRE BOSCO DE OLIVEIRA

ENVELHECIMENTO ARTIFICIAL, OSMOCONDICIONAMENTO E ESTRESSE  
OSMÓTICO EM SEMENTES DE SORGO: PARÂMETROS FISIOLÓGICOS,  
BIOQUÍMICOS E CITOQUÍMICOS

Tese submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Agronomia. Área de concentração Fitotecnia.

Aprovada em \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Enéas Gomes Filho (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará-UFC

---

Prof. Dr. Joaquim Enéas Filho (Conselheiro)  
Universidade Federal do Ceará-UFC

---

Prof. Dr. Antônio Marcos Esmeraldo Bezerra (Conselheiro)  
Universidade Federal do Ceará-UFC

---

Prof. Dr. Victor José Mendes Cardoso (Conselheiro)  
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho-UNESP

---

Prof. Dra. Marlei Rosa dos Santos (Conselheira)  
Universidade Estadual do Piauí

À F<sup>ca</sup> Clara,

Regilia e

Matheus,

...com amor.

## AGRADECIMENTOS

Ao Deus Todo Poderoso e ao Seu filho, meu Senhor e Salvador Jesus Cristo, pela infinita misericórdia para comigo, que possibilitou a realização dessa conquista.

À Universidade Federal do Ceará (UFC), em especial aos Departamentos de Fitotecnia e de Bioquímica e Biologia Molecular, pela oportunidade de realização deste curso.

À Universidade Estadual do Piauí (UESPI), pelo acolhimento e possibilidade que me deu de concluir este curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor Enéas Gomes Filho, pela sua relevante dedicação à esse trabalho e pela excelente orientação e preciosos ensinamentos transmitidos, além de ter sido um verdadeiro amigo durante todo esse tempo. O senhor, como poucos, realmente exerce na íntegra e com perfeição a função de “Professor Orientador”.

Aos professores José Tarquinio Prisco e Joaquim Enéas Filho, pela disponibilização de materiais e equipamentos dos laboratórios, pela convivência e ensinamentos transmitidos. A este último também agradeço a disponibilidade em participar da banca examinadora desta tese.

Ao professor Victor José Mendes Cardoso, pela disponibilidade em participar da banca examinadora desta tese.

Aos professores Antonio Marcos Esmeraldo Bezerra e Francisco José A. F. Távora, pela participação em minha banca de qualificação do doutorado. Ao professor Marcos Esmeraldo também sou grato por sua participação na banca de tese.

À professora Marlei Rosa dos Santos, pela paciência para com a minha pessoa, no que diz respeito à permissão que me foi dada de concluir este trabalho, e à disponibilidade em participar da banca examinadora desta tese.

Ao professor Sebastião Medeiros Filho, por disponibilizar o espaço físico e equipamentos do Laboratório de Análise de Sementes para auxiliar nas análises.

À professora Maria Izabel Gallão, responsável pelo Laboratório de Biologia Vegetal, pela disponibilização do espaço físico, equipamentos e reagentes para as análises citotóxicas das sementes, bem como, pela grandiosa contribuição para a realização do capítulo da tese que engloba tais análises. No que diz respeito ao capítulo mencionado, aproveito para agradecer à minha amiga Nara Lídia Mendes Alencar, aluna de doutorado em

Bioquímica desta universidade, que me ajudou nessa parte da pesquisa, dando grande colaboração para o desenvolvimento desse trabalho.

Aos amigos dos Laboratórios de Fisiologia Vegetal (LABFIVE I e LABFIVE II): Aiala Vieira Amorim, Alexcyane Rodrigues Feijão, Antônio Xavier de Oliveira Filho, Carlos Eduardo Braga de Abreu, Cibelle Gomes Gadelha, Elton Camelo Marques, Emanuelle Sampaio Almeida, Franklin Aragão Gondim, Jones Batista Vidal, Juan Carlos Alvarez Pizarro, Júlio César Barbosa da Silva, Michella de Albuquerque Lima, Michelle Aparecida Freitas de Andrade, Nara Lídia Mendes Alencar, Paulo André Ferreira de Freitas, Paulo Roberto Tomé de Sousa, Thalita Montoril Ferreira, Thiago Augusto Duarte de Menezes, Valdinéia Soares Freitas, Viviane Pinho de Oliveira e pela convivência, amizade, colaboração nos experimentos e pelos momentos de descontração (que não foram poucos).

Aos colegas do Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia pela amizade e auxílio no estudo de cada disciplina ao longo do curso.

Ao corpo docente do Departamento de Fitotecnia pelo aprendizado passado no decorrer deste curso.

À minha maravilhosa esposa, amiga e companheira, Regília, por me ensinar na prática o verdadeiro sentido do verbo “AMAR”.

À minha querida mãe, tudo que tenho e que sou devo a ela, Francisca Clara, e aos meus irmãos e irmãs, pelo amor, compreensão e paciência.

Ao meu filho, Matheus, meu companheiro de brincadeiras. Obrigado pelos jogos de futebol, esconde-esconde, cambalhotas, danças, desenhos animados, passeios, sorrisos, e, enfim, obrigado por existir e completar de maneira maravilhosa a minha vida. Você tem sido a grande motivação para eu alcançar meus objetivos. Papai te ama muito!

A todos que, direta ou indiretamente, ajudaram na realização desse trabalho.

*“Talvez não tenhamos conseguido fazer o melhor, mas lutamos para que o melhor fosse feito. Não somos o que deveríamos ser, não somos o que iremos ser... mas Graças a Deus, não somos o que éramos.”*

(Martin Luther King)

## RESUMO

OLIVEIRA, A. B. **Envelhecimento artificial, osmocondicionamento e estresse osmótico em sementes de sorgo: Parâmetros fisiológicos, bioquímicos e citoquímicos.** Fortaleza: UFC. 231 f. (Tese).

Esta pesquisa foi realizada visando a obtenção de dados básicos que possam auxiliar na compreensão dos mecanismos fisiológicos, bioquímicos e citoquímicos responsáveis pela deterioração de sementes envelhecidas, revigoração daquelas osmocondicionadas e inibição da germinação e estabelecimento de plântulas de sorgo sob condições de estresse salino, bem como estudar alguns dos mecanismos de adaptação ao estresse. No primeiro capítulo foram avaliados os efeitos dos estresses hídrico (0, -0,2, -0,4 e -0,8 MPa) e salino (0, 75, 150 e 300 mM de NaCl) na germinação e vigor de sementes de dois genótipos de sorgo forrageiro (CSF 18 e CSF 20). No segundo e terceiro capítulo, a fim de avaliar a qualidade fisiológica das sementes em laboratório e o estabelecimento de plântulas de sorgo no campo, respectivamente, utilizou-se um delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro repetições, no esquema fatorial 2 x 2, constando de quatro tratamentos: 1. sementes envelhecidas; 2. sementes não envelhecidas; 3. sementes envelhecidas e condicionadas osmoticamente e 4. sementes não envelhecidas e condicionadas osmoticamente. No quarto trabalho foram avaliadas a absorção de água, germinação e crescimento inicial de plântulas oriundas de semente envelhecidas, osmocondicionadas e sob estresse salino (0, 100, 200 ou 300 mM de NaCl). No quinto capítulo foram realizadas análises citoquímicas em sementes de sorgo submetidas aos tratamentos descritos no quarto capítulo, contudo sob salinidade de apenas 100 mM. Os mesmos tratamentos foram utilizados no sexto capítulo para avaliar o efeito desses fatores sobre o estabelecimento das plântulas, absorção de íons, acúmulo de solutos orgânicos, peroxidação de lipídios e alterações no sistema enzimático antioxidativo em plântulas cultivadas sob hidroponia na presença ou ausência de NaCl. Os genótipos de sorgo apresentam tolerância diferencial aos estresses osmóticos provocados pelo PEG-6000 e pelo NaCl, sendo que a sensibilidade aos mesmos varia em função do estágio de desenvolvimento da planta. O envelhecimento artificial e o estresse salino promovem efeitos prejudiciais à germinação, vigor e estabelecimento de plântulas de sorgo, os quais podem ser parcialmente atenuados com a técnica do condicionamento osmótico de sementes. O estresse salino provoca reduções significativas na qualidade fisiológica das sementes e no crescimento inicial das plântulas de sorgo, provocando algumas alterações citoquímicas nas sementes e várias alterações fisiológicas e bioquímicas em plântulas sob cultivo hidropônico.

Palavras-chave: *Sorghum bicolor*, envelhecimento acelerado, *priming*, resistência à salinidade, germinação.



## ABSTRACT

OLIVEIRA, A. B. **Artificial aging, osmoconditioning and osmotic stress in sorghum seeds: physiological, biochemical and cytochemical parameters.** Fortaleza: UFC. 230 p. (D.Sc. Tesis).

This research was carried out in order to obtain basic data that can help them understand the physiological, biochemical and cytochemical responsible for the deterioration of aged seeds, reinvigoration of those primed and inhibition of germination and seedling establishment of sorghum under salt stress and study some of the mechanisms of adaptation to stress. The first chapter studies the effects of water stress (0, -0.2, -0.4 and -0.8 MPa) and saline (0, 75, 150 and 300 mM NaCl) on germination and seed vigor two genotypes of sorghum (CSF 18 and CSF 20). In the second and third chapter, to assess the quality of the seeds in the laboratory and the establishment of sorghum seedlings in the field, respectively, used a completely randomized design with four replications and a 2 x 2, consisting of four treatments: 1. aged seeds, 2. aging seeds 3. aged seeds and osmotically conditioned and 4. aging seeds and osmotically conditioned. In the fourth study we evaluated the water uptake, germination and early growth of seedlings derived from seeds aged, primed and under salt stress (0, 100, 200 or 300 mM NaCl). In the fifth chapter cytochemical tests were performed on seeds of sorghum subjected to the treatments described in the fourth chapter, but under a salinity of only 100 mM. The same treatments were used in the sixth chapter to evaluate the effect of these factors on seedling establishment, absorption of ions, organic solutes accumulation, lipid peroxidation and changes in enzymatic antioxidant system in seedlings grown in hydroponics in the presence or absence of NaCl. The sorghum genotypes show differential tolerance to osmotic stress caused by PEG-6000 and by NaCl, and the sensitivity to them varies depending on the stage of plant development. The artificial aging and salt stress promote adverse effects on germination, vigor and stand establishment of sorghum, which can be partly alleviated by the technique of priming seeds. Salt stress leads to significant reductions in the quality of the seeds and early growth of sorghum seedlings, causing some cytochemical changes in the seeds and various biochemical and physiological changes in seedlings under hydroponic cultivation.

Keywords: *Sorghum bicolor*, accelerated aging, *priming*, resistance to salinity, germination.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

|  | Página |
|--|--------|
| <b>Figura 1.</b> Padrão trifásico de captação de água pelas sementes durante a germinação (BEWLEY; BLACK, 1978).   | 29     |
| <b>CAPÍTULO I</b>  |        |
| <b>Figura 1.</b> Evolução da germinação de sementes de dois genótipos de sorgo (CSF 18 e CSF 20) sob diferentes níveis de estresse hídrico.  | 88     |
| <b>Figura 2.</b> Primeira contagem, teste, índice de velocidade e tempo médio de germinação de sementes de dois genótipos de sorgo (CSF 18 e CSF 20) sob diferentes níveis de estresse hídrico.  | 88     |
| <b>Figura 3.</b> Evolução da germinação de sementes de dois genótipos de sorgo (CSF 18 e CSF 20) sob diferentes níveis de estresse salino.   | 89     |
| <b>Figura 4.</b> Primeira contagem, teste, índice de velocidade e tempo médio de germinação de sementes de dois genótipos de sorgo (CSF 18 e CSF 20) sob diferentes níveis de estresse salino.   | 89     |
| <b>CAPÍTULO II</b>   |        |
| <b>Figura 1.</b> Curva de embebição de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, submetidas ou não ao envelhecimento artificial.  | 108    |
| <b>Figura 2.</b> Teor de água e massa de mil sementes de dois sublotos de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas e envelhecidas artificialmente e submetidas ou não ao condicionamento osmótico.  | 108    |
| <b>Figura 3.</b> Primeira contagem, germinação, índice de velocidade e tempo médio de germinação de dois sublotos de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas e envelhecidas artificialmente e submetidas ou não ao condicionamento osmótico.   | 109    |
| <b>Figura 4.</b> Valores médios obtidos nos testes de envelhecimento acelerado, de frio, de condutividade elétrica e de lixiviação de potássio de dois sublotos de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas e envelhecidas artificialmente e submetidas ou não ao condicionamento osmótico. | 110    |
| <b>CAPÍTULO III</b>  |        |
| <b>Figura 1.</b> Estande inicial, estande final, índice de velocidade e tempo médio de emergência plântulas oriundas de dois sublotos de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas e envelhecidas artificialmente e submetidas ou não ao condicionamento osmótico.                           | 119    |
| <b>Figura 2.</b> Massa da matéria seca da raiz, da parte aérea e total e razão entre massa seca da parte aérea e raiz de plântulas oriundas de dois sublotos de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas e envelhecidas artificialmente e submetidas ou não ao                              |        |

condicionamento osmótico. 123

## CAPÍTULO IV

- Figura 1.** Curva de embebição de dois sublotos de sementes de sorgo (intacto e envelhecido), cv. IPA 1011, submetidos ou não ao condicionamento osmótico. 145
- Figura 2.** Primeira contagem, teste padrão e índice de velocidade de germinação de dois sublotos de sementes de sorgo (intacto e envelhecido), cv. IPA 1011, submetidos ou não ao condicionamento osmótico. 146
- Figura 3.** Comprimento da parte aérea e da raiz de plântulas oriundas de dois sublotos de sementes de sorgo (intacto e envelhecido), cv. IPA 1011, submetidos ou não ao condicionamento osmótico. 147
- Figura 4.** Massa da matéria seca da parte aérea e da raiz de plântulas oriundas de dois sublotos de sementes de sorgo (intacto e envelhecido), cv. IPA 1011, submetidos ou não ao condicionamento osmótico. 148

## CAPÍTULO V

- Figura 1.** Cortes transversais de sementes de sorgo coradas com o azul de toluidina, evidenciando a parede celular e o formato das células. 157
- Figura 2.** Cortes transversais de sementes de sorgo coradas com o xylidine ponceau, evidenciando os corpos protéicos nas células cotiledonares. 159
- Figura 3.** Cortes transversais de sementes de sorgo coradas com o xylidine ponceau, evidenciando a região endospermática e cotiledonar. 160
- Figura 4.** Cortes transversais de sementes de sorgo coradas com lugol. Endosperma e cotilédone das sementes, evidenciando os grânulos de amido. 161
- Figura 5.** Cortes transversais de sementes de sorgo coradas com lugol. Endosperma e cotilédone das sementes, evidenciando os grânulos de amido. 162

## CAPÍTULO VI

- Figura 1.** Porcentagem de sobrevivência de plântulas oriundas de dois sublotos de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas e envelhecidas artificialmente e submetidas ou não ao condicionamento osmótico, sob diferentes níveis de salinidade. 182
- Figura 2.** Massa da matéria fresca da parte aérea e das raízes de plântulas oriundas de dois sublotos de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas e envelhecidas artificialmente e submetidas ou não ao condicionamento osmótico, sob diferentes níveis de salinidade. 183
- Figura 3.** Massa da matéria fresca total e razão entre massa da matéria fresca da parte aérea e das raízes de plântulas oriundas de dois sublotos de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas e envelhecidas artificialmente e submetidas ou não ao condicionamento osmótico, sob diferentes níveis de salinidade. 184

|   |     |
|---|-----|
| <b>Figura 4.</b> Massa da matéria seca da parte aérea e das raízes de plântulas oriundas de dois sublotos de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas e envelhecidas artificialmente e submetidas ou não ao condicionamento osmótico, sob diferentes níveis de salinidade.   | 186 |
| <b>Figura 5.</b> Massa da matéria seca total e razão entre massa da matéria fresca da parte aérea e das raízes de plântulas oriundas de dois sublotos de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas e envelhecidas artificialmente e submetidas ou não ao condicionamento osmótico, sob diferentes níveis de salinidade. | 187 |
| <b>Figura 6.</b> Teores de potássio e sódio na parte aérea de plântulas oriundas de dois sublotos de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas e envelhecidas artificialmente e submetidas ou não ao condicionamento osmótico, sob diferentes níveis de salinidade.   | 189 |
| <b>Figura 7.</b> Teores de nitrato e cloreto na parte aérea de plântulas oriundas de dois sublotos de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas e envelhecidas artificialmente e submetidas ou não ao condicionamento osmótico, sob diferentes níveis de salinidade.  | 192 |
| <b>Figura 8.</b> Teores de prolina na parte aérea e raízes de plântulas oriundas de dois sublotos de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas e envelhecidas artificialmente e submetidas ou não ao condicionamento osmótico, sob diferentes níveis de salinidade.   | 194 |
| <b>Figura 9.</b> Teores de N-aminossolúveis na parte aérea e raízes de plântulas oriundas de dois sublotos de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas e envelhecidas artificialmente e submetidas ou não ao condicionamento osmótico, sob diferentes níveis de salinidade.  | 196 |
| <b>Figura 10.</b> Teores de proteínas solúveis na parte aérea e raízes de plântulas oriundas de dois sublotos de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas e envelhecidas artificialmente e submetidas ou não ao condicionamento osmótico, sob diferentes níveis de salinidade.   | 197 |
| <b>Figura 11.</b> Teores de carboidratos solúveis na parte aérea e raízes de plântulas oriundas de dois sublotos de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas e envelhecidas artificialmente e submetidas ou não ao condicionamento osmótico, sob diferentes níveis de salinidade.                                      | 199 |
| <b>Figura 12.</b> Teores de malondialdeído na parte aérea e raízes de plântulas oriundas de dois sublotos de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas e envelhecidas artificialmente e submetidas ou não ao condicionamento osmótico, sob diferentes níveis de salinidade.   | 201 |
| <b>Figura 13.</b> Atividade da dismutase do superóxido na parte aérea e raízes de plântulas oriundas de dois sublotos de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas e envelhecidas artificialmente e submetidas ou não ao condicionamento osmótico, sob diferentes níveis de salinidade.                                 | 202 |
| <b>Figura 14.</b> Atividade da catalase na parte aérea e raízes de plântulas oriundas de dois sublotos de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas e envelhecidas artificialmente e submetidas ou não ao condicionamento osmótico, sob diferentes níveis de salinidade.  | 204 |
| <b>Figura 15.</b> Atividade da peroxidase do ascorbato na parte aérea e raízes de plântulas   |     |

oriundas de dois sublotos de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas e envelhecidas artificialmente e submetidas ou não ao condicionamento osmótico, sob diferentes níveis de salinidade.

207

**Figura 16.** Atividade da peroxidase do guaiacol na parte aérea e raízes de plântulas oriundas de dois sublotos de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas e envelhecidas artificialmente e submetidas ou não ao condicionamento osmótico, sob diferentes níveis de salinidade.

208

## LISTA DE TABELAS

Página

### CAPÍTULO I

- Tabela 1.** Valores sumarizados da análise de variância para primeira contagem, teste, índice de velocidade e tempo médio de germinação de sementes de dois genótipos de sorgo (CSF 18 e CSF 20) sob diferentes níveis de estresse hídrico. 224
- Tabela 2.** Valores sumarizados da análise de variância para primeira contagem, teste, índice de velocidade e tempo médio de germinação de sementes de dois genótipos de sorgo (CSF 18 e CSF 20) sob diferentes níveis de estresse hídrico. 224

### CAPÍTULO II

- Tabela 1.** Valores sumarizados da análise de variância para primeira contagem, teste, índice de velocidade e tempo médio de germinação de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, em função do envelhecimento artificial e condicionamento osmótico das sementes. 225
- Tabela 2.** Valores sumarizados da análise de variância para os testes de envelhecimento acelerado, de frio, de condutividade elétrica e de lixiviação de potássio de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, em função do envelhecimento artificial e condicionamento osmótico das sementes. 225

### CAPÍTULO III

- Tabela 1.** Valores sumarizados da análise de variância para o estande inicial, estande final, índice de velocidade e tempo médio de emergência de plântulas oriundas de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, em função do envelhecimento artificial e condicionamento osmótico das sementes. 226
- Tabela 2.** Valores sumarizados da análise de variância para a massa da matéria seca da raiz, da parte aérea e total e razão entre massa seca da parte aérea e raiz de plântulas oriundas de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, em função do envelhecimento artificial e condicionamento osmótico das sementes. 226

### CAPÍTULO IV

- Tabela 1.** Valores sumarizados da análise de variância para a primeira contagem, teste padrão e índice de velocidade de germinação de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, em função do envelhecimento artificial, condicionamento osmótico e estresse salino. 227
- Tabela 2.** Valores sumarizados da análise de variância para a comprimento da radícula e da parte aérea e massa seca da radícula e da parte aérea de plântulas provenientes de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, em função do envelhecimento artificial, condicionamento osmótico e estresse salino. 227

### CAPÍTULO VI

- Tabela 1.** Valores sumarizados da análise de variância para a porcentagem de sobrevivência, massa fresca da parte aérea, das raízes e total e razão MFPA/MFR de plântulas

|   |     |
|---|-----|
| oriundas de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, em função do envelhecimento artificial, condicionamento osmótico e estresse salino.  | 228 |
| <b>Tabela 2.</b> Valores sumarizados da análise de variância para a massa seca da parte aérea, das raízes e total e razão MSPA/MSR de plântulas oriundas de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, em função do envelhecimento artificial, condicionamento osmótico e estresse salino.  | 228 |
| <b>Tabela 3.</b> Valores sumarizados da análise de variância para os teores de potássio, sódio, nitrato e cloreto na parte aérea de plântulas oriundas de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, em função do envelhecimento artificial, condicionamento osmótico e estresse salino.  | 229 |
| <b>Tabela 4.</b> Valores sumarizados da análise de variância para os teores de prolina, N-aminossolúveis, proteínas e carboidratos solúveis na parte aérea e nas raízes de plântulas oriundas de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, em função do envelhecimento artificial, condicionamento osmótico e estresse salino.   | 229 |
| <b>Tabela 5.</b> Valores sumarizados da análise de variância para os teores de malondialdeído e as atividades enzimáticas da dismutase do superóxido, catalase, peroxidase do ascorbato e do guaiacol na parte aérea e nas raízes de plântulas oriundas de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, em função do envelhecimento artificial, condicionamento osmótico e estresse salino. | 230 |

## SUMÁRIO

|   | Página |
|---|--------|
| Resumo .....  | 07     |
| Abstract .....  | 08     |
| Lista de ilustrações .....  | 09     |
| Lista de tabelas .....  | 13     |
| <br>  |        |
| <b>1. INTRODUÇÃO GERAL</b> .....  | 18     |
| 1.1. Objetivos gerais .....   | 21     |
| 1.2. Objetivos específicos .....  | 21     |
| <b>2. ESTRATÉGIA EXPERIMENTAL</b> .....                                   | 22     |
| <b>3. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....                                     | 24     |
| 3.1. Considerações sobre a cultura .....                                  | 24     |
| 3.1.1. Características gerais do sorgo .....                              | 24     |
| 3.1.2. Características agronômicas do sorgo .....                         | 26     |
| 3.1.3. O sorgo e o estresse salino .....                                  | 27     |
| 3.2. Qualidade das sementes .....   | 27     |
| 3.3. Germinação das sementes .....  | 28     |
| 3.3.1. Etapas da germinação das sementes .....                            | 28     |
| 3.3.2. Mudanças morfológicas e bioquímicas durante a germinação .....     | 30     |
| 3.4. Condicionamento osmótico de sementes .....                           | 31     |
| 3.4.1. Métodos de condicionamento .....                                   | 32     |
| 3.4.2. Fatores que afetam o condicionamento .....                         | 34     |
| 3.4.3. Mudanças fisiológicas e bioquímicas durante o <i>priming</i> ..... | 36     |
| 3.4.4. Condicionamento osmótico x envelhecimento de sementes .....        | 37     |
| 3.4.5. Condicionamento osmótico x estresses abióticos .....               | 39     |
| 3.5. O problema da salinidade na agricultura .....                        | 41     |
| 3.5.1. A salinidade no solo e na água .....                               | 41     |
| 3.5.2. A origem dos sais no solo .....                                    | 43     |
| 3.6. Respostas gerais das plantas ao excesso de sais .....                | 45     |
| 3.6.1. Aclimatação e adaptação das plantas ao estresse salino .....       | 45     |



|   |           |
|---|-----------|
| 3.6.2. Controle do excesso de íons .....                              | 47        |
| 3.6.3. Ajustamento osmótico .....                                     | 48        |
| 3.6.4. Proteção contra danos oxidativos .....                         | 50        |
| a) Sistemas antioxidativos de defesa .....                            | 50        |
| b) As espécies reativas de oxigênio e a peroxidação de lipídios ..... | 52        |
| <b>4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>                            | <b>52</b> |

#### **CAPÍTULO I** (Trabalho publicado)

|                                     |    |
|-------------------------------------|----|
| 1. INTRODUÇÃO .....                 | 73 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS .....         | 74 |
| 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....     | 76 |
| 4. CONCLUSÕES .....                 | 82 |
| 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS ..... | 83 |

#### **CAPÍTULO II** (Trabalho aceito para publicação)

|                                     |     |
|-------------------------------------|-----|
| 1. INTRODUÇÃO .....                 | 92  |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS .....         | 94  |
| 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....     | 98  |
| 4. CONCLUSÕES .....                 | 103 |
| 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS ..... | 104 |

#### **CAPÍTULO III** (Trabalho submetido)

|                                     |     |
|-------------------------------------|-----|
| 1. INTRODUÇÃO .....                 | 113 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS .....         | 115 |
| 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....     | 118 |
| 4. CONCLUSÕES .....                 | 125 |
| 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS ..... | 125 |

#### **CAPÍTULO IV** (Trabalho submetido)

|                                 |     |
|---------------------------------|-----|
| 1. INTRODUÇÃO .....             | 130 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS .....     | 131 |
| 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO ..... | 135 |
| 4. CONCLUSÕES .....             | 142 |

|   |         |
|---|---------|
| 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....           | 142     |
| <br><b>CAPÍTULO V</b> (Dados não publicados)  |         |
| 1. INTRODUÇÃO .....                           | 152     |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS .....                   | 153     |
| 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....               | 156     |
| 4. CONCLUSÕES .....                           | 163     |
| 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....           | 164     |
| <br><b>CAPÍTULO VI</b> (Dados não publicados) |         |
| 1. INTRODUÇÃO .....                           | 172     |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS .....                   | 173     |
| 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....               | 181     |
| 4. CONCLUSÕES .....                           | 210     |
| 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....           | 210     |
| <br><b>5. CONCLUSÕES GERAIS</b> .....         | <br>222 |
| <br><b>ANEXOS</b> .....                       | <br>223 |

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

Na produção de uma determinada cultura, um dos principais riscos refere-se à não obtenção de um estabelecimento adequado de plantas no campo. Quando um estande mínimo não é alcançado, haverá a necessidade de ressemeiar ou optar por outra cultura, o que implicará aumentar os custos de produção e reduzir as chances de obter-se uma alta produtividade, pois o agricultor provavelmente não estará semeando na época mais adequada (BRACCINI *et al.*, 1999).

O uso de sementes de baixa qualidade, aliado à ocorrência de condições ambientais adversas por ocasião do plantio, tais como temperaturas extremas, períodos de estiagem (veranicos) e solos com excesso de sais pode resultar em baixa porcentagem de germinação e menor velocidade de emergência das plantas. A salinidade do solo ou da água de irrigação tem sido considerada uma das causas mais comuns da baixa emergência das plântulas de sorgo no Brasil (OLIVEIRA; GOMES-FILHO, 2009). Além disso, a qualidade fisiológica da semente utilizada para o plantio da cultura é um dos fatores que podem levar à não obtenção de um estande adequado. Sementes consideradas de alto vigor normalmente apresentam germinação mais rápida e uniforme, sendo capazes de suportar melhor as adversidades do ambiente (BRACCINI *et al.*, 1999).

A detecção da deterioração de sementes por intermédio de testes de vigor pode ser entendida como componente importante na avaliação da qualidade fisiológica, contribuindo na solução de relevantes problemas da indústria de sementes. Os objetivos básicos dos testes de vigor consistem em avaliar ou detectar diferenças significativas na qualidade fisiológica de lotes de sementes com germinação semelhante, complementando as informações fornecidas pelo teste de germinação; distinguir, com segurança, lotes de alto dos de baixo vigor; separar (ou classificar) lotes em diferentes níveis de vigor, de maneira proporcional ao comportamento quanto à emergência das plântulas, resistência ao transporte e potencial de armazenamento (MARCOS-FILHO, 1999).

O teste de envelhecimento acelerado, desenvolvido por Delouche e Baskin (1973), com o intuito de avaliar o potencial relativo de armazenamento de lotes de sementes, destaca-se por apresentar, dentro de um mesmo laboratório, alto grau de padronização e reprodutibilidade, tanto em termos de metodologia de execução como interpretação dos resultados obtidos. Esse teste tem como base o fato de que a taxa de deterioração das sementes é aumentada consideravelmente através da exposição a níveis muito adversos de

temperatura e umidade relativa, considerados os fatores ambientais mais relacionados à deterioração. Desse modo, lotes de sementes com alto vigor manterão sua viabilidade quando submetidos ao estresse, enquanto as de baixo vigor terão sua viabilidade reduzida (MARCOS-FILHO, 1994; ISTA, 1995).

Lotes de sementes de baixa qualidade frequentemente requerem um maior tempo para germinação e emergência das plântulas. Tal fato torna as plântulas mais sensíveis às adversidades climáticas, reduzindo a porcentagem final de emergência e, normalmente, promovendo um estande desuniforme. Muitos estudos têm sido realizados com o intuito de reduzir o tempo necessário entre a semeadura e a emergência das plântulas, bem como aumentar a tolerância das sementes às condições adversas durante a germinação. Tratamentos como o condicionamento osmótico ou *priming*, condicionamento mátrico, pré-hidratação, umidificação, “fluid drilling”, entre outros, têm apresentado resultados bastante promissores nesse sentido com sementes de diversas espécies (TAYLOR; HARMAN, 1990; KHAN, 1992).

Durante o condicionamento osmótico, a semente hidrata-se lentamente, o que permite um maior tempo para a reparação ou reorganização das membranas, possibilitando que os tecidos se desenvolvam de maneira mais ordenada e reduzindo os riscos da ocorrência de danos ao eixo embrionário causados pela rápida embebição. Várias mudanças fisiológicas e bioquímicas ocorrem nas sementes durante o tratamento ou em consequência do condicionamento osmótico. Essas mudanças incluem a síntese de macromoléculas, aumento da atividade de várias enzimas, aumento no poder germinativo e vigor e superação da dormência (MARCOS-FILHO, 2005).

Diversos trabalhos têm demonstrado que o vigor das sementes é o componente de qualidade mais influenciado pelo *priming*. Por essa razão, o tratamento tem sido comumente designado na literatura como revigoramento de sementes. O vigor das sementes, com frequência, mostra-se elevado com o condicionamento osmótico, bem como a taxa, sincronia e porcentagem de emergência das plântulas, revelando resultados superiores àqueles obtidos com sementes não tratadas de várias espécies, particularmente sob condições adversas no plantio, tais como baixas e altas temperaturas, déficit hídrico ou salinidade (FOTI *et al.*, 2002; MURUNGU *et al.*, 2005; PATANÈ; CAVALLARO; COSENTINO, 2009).

Segundo Tilden e West (1985), os efeitos nocivos provocados pelo envelhecimento acelerado foram revertidos pela embebição lenta das sementes de soja (condicionamento osmótico). Segundo eles, o *priming* reduziu os valores do teste de condutividade elétrica e aumentou a porcentagem de germinação de sementes de baixo vigor,

sugerindo que o mecanismo de reversão foi, provavelmente, metabólico, uma vez que estava na dependência da temperatura, grau de umidade e duração do tratamento. Este aparente “rejuvenescimento” foi aceito como evidência para o processo de reparação metabólica de alguns componentes subcelulares bem como da membrana plasmática.

Sung e Chang (1993) verificaram que o condicionamento osmótico aumentou a porcentagem final e a uniformidade de emergência de sementes de milho-doce, especialmente em baixas temperaturas. De acordo com Braccini *et al.* (1999), o aumento nos períodos de envelhecimento acelerado influenciou negativamente o desempenho das sementes de soja, mas o tratamento com PEG-6000 foi satisfatório para manter a qualidade das mesmas. Carvalho *et al.* (2000), por sua vez, aplicaram o condicionamento osmótico em sementes de sorgo e constataram aumento na velocidade de emergência e capacidade de estabelecimento das plântulas, sendo que as sementes envelhecidas e não envelhecidas comportaram-se de maneira diferente quanto a germinação e ao vigor. Perez e Jardim (2005) relataram em sua pesquisa com sementes condicionadas de paineira (*Chorisia speciosa* St.-Hil), que estas apresentaram maior velocidade de germinação sob estresses salino e térmico. Patanè, Cavallaro e Cosentino (2009) acrescentam que o osmocondicionamento de sementes de sorgo sacarino pode ser uma alternativa para atenuar os estresses salino e térmico durante a germinação e crescimento da radícula.

A influência nociva dos sais na agricultura apesar de se refletir diretamente na produção das culturas, se manifesta primeiramente na germinação. O excesso de sais diminui o potencial hídrico do meio dificultando a absorção de água pela semente. Posteriormente, processos como os de divisão e alongamento celular são também afetados, assim como o de mobilização das reservas indispensáveis para o processo de germinação (SOLTANI; GHOLIPOOR; ZEINALI, 2006; VOIGT *et al.*, 2009).

Muito embora haja diversos estudos envolvendo o envelhecimento precoce, o osmocondicionamento e o estresse salino na germinação de sementes de algumas espécies de cereais, observa-se que há poucas informações disponíveis quando se trata das complexas mudanças que ocorrem no organismo vegetal durante esta fase e o subsequente crescimento das plântulas, além disso, a maioria das pesquisas aborda esses fatores de maneira isolada. Nesse contexto, os poucos trabalhos existentes na literatura utilizando a técnica do condicionamento osmótico em sementes de sorgo são bastante promissores, contudo, ainda são necessárias informações específicas a respeito das implicações fisiológicas, citoquímica e bioquímica, além da resposta de sementes com diferentes níveis de vigor e sob condições de estresse, antes de sua utilização em âmbito comercial.

## 1.1. Objetivos gerais

Obtenção de dados básicos que possam auxiliar na compreensão dos mecanismos fisiológicos, bioquímicos e citoquímicos responsáveis pela deterioração de sementes envelhecidas, revigoração daquelas osmocondicionadas e inibição da germinação e estabelecimento de plântulas de sorgo sob condições de estresse salino, bem como estudar alguns dos mecanismos de adaptação ao estresse.

## 1.2. Objetivos específicos

- Avaliar a influência dos estresses hídrico e salino na germinação e vigor de sementes de dois genótipos de sorgo com tolerância diferencial a salinidade na fase de crescimento vegetativo (Capítulo I).
- Estudar os efeitos do condicionamento osmótico de sementes de diferentes níveis de vigor (submetidas ou não ao envelhecimento artificial) sobre a germinação e vigor em ambiente de laboratório (Capítulo II).
- Verificar se a emergência e crescimento inicial de plântulas de sorgo no campo são afetados pelo envelhecimento e/ou condicionamento das sementes (Capítulo III).
- Analisar a absorção de água, germinação e crescimento inicial de plântulas oriundas de sementes de diferentes níveis de vigor (envelhecidas ou não) e submetidas ou não ao osmocondicionamento sob condições controle e de estresse salino (Capítulo IV)
- Observar as alterações citoquímicas durante o processo de germinação de sementes de diferentes níveis de vigor (envelhecidas ou não) e submetidas ou não ao

osmocondicionamento sob condições controle e de estresse salino (Capítulo V)

- Avaliar os efeitos do condicionamento de sementes com diferentes qualidades sobre o estabelecimento das plântulas, absorção de íons, acúmulo de solutos orgânicos, peroxidação de lipídios e alterações no sistema enzimático antioxidativo em cultivo hidropônico na presença ou ausência de NaCl (Capítulo VI).

## 2. ESTRATÉGIA EXPERIMENTAL

O presente trabalho foi dividido em experimentos sequenciais e independentes que resultaram na produção de seis capítulos, cada qual correspondendo a um artigo científico, sendo apresentados os que já foram submetidos ou publicados conforme as normas de cada revista. O primeiro capítulo é intitulado “**Germinação e vigor de sementes de sorgo forrageiro sob estresse hídrico e salino**”, o qual permitiu, comparando com pesquisas anteriores, verificar se há variação na tolerância ao estresse osmótico em função do estágio fenológico, bem como, saber qual destes estresses e que níveis aplicados afetam a germinação na cultura em estudo, dando suporte de grande relevância para os experimentos posteriores. De início, o plano experimental seria usar os genótipos utilizados neste capítulo em todos os trabalhos da tese, contudo em virtude da dificuldade de obtenção de material optou-se por trabalhar com o sorgo granífero IPA-1011, o qual estava disponível em abundância e foi utilizado em todos os outros capítulos. O segundo capítulo tem como título “**Efeito do condicionamento osmótico na germinação e vigor de sementes de sorgo com diferentes qualidades fisiológicas**”, possibilitando por meio deste a obtenção de dados a respeito do comportamento germinativo em resposta ao *priming* de dois sublotos de sementes de sorgo (envelhecido artificialmente ou não) em condições ótimas para a cultura (ambiente de laboratório). O terceiro trata do estudo sobre “**Estabelecimento de plântulas de sorgo oriundas de sementes osmocondicionadas de diferentes qualidades fisiológicas**”, fornecendo subsídios para avaliar se os efeitos do osmocondicionamento observados na germinação em ambiente de laboratório (Capítulo II) são confirmados por ocasião do estabelecimento do estande de plântulas no campo. O quarto capítulo é intitulado “**Influência**

do NaCl na embebição, germinação e crescimento inicial de plântulas de sorgo oriundas de sementes envelhecidas artificialmente e osmocondicionadas”, o qual viabilizou avaliar se o condicionamento osmótico atenua os efeitos deletérios da salinidade em sementes com diferentes qualidades fisiológicas. O quinto foi a pesquisa sobre: “**Alterações citoquímicas durante a germinação de sementes de sorgo envelhecidas artificialmente e osmocondicionadas, sob estresse salino**”, que avaliou as diferentes variações na mobilização de reservas das sementes em função desses três fatores avaliados durante o processo germinativo. O sexto capítulo tem como título “**Alterações fisiológicas e bioquímicas de plântulas de sorgo provenientes de sementes submetidas ou não ao envelhecimento artificial e ao osmocondicionamento, cultivadas sob estresse salino**”, permitindo, por meio deste ensaio, a obtenção de dados relacionados com a fisiologia e bioquímica das plântulas em função dos fatores analisados.



### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1. Considerações sobre a cultura

##### 3.1.1. Características gerais do sorgo

O sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) é uma gramínea originária da região central do continente africano. É uma cultura muito antiga cultivada muito antes da era cristã. Foi domesticado, provavelmente, na Etiópia, há cerca de 5.000 anos e em seguida foi cultivada na África Ocidental, desde o Sudão até o rio Níger (FERNANDES, 1981).

É uma cultura anual, cultivada, principalmente, nas regiões tropicais com latitude de até 45° norte ou sul, que apresentam clima quente e seco, onde a cultura do milho, geralmente, não apresenta bom desempenho. O sorgo é uma espécie C<sub>4</sub> que apresenta alta produção de matéria seca e características específicas de tolerância à seca e ao calor, porém de baixa tolerância ao frio, o que dificulta seu cultivo nas regiões frias ou temperadas (TABOSA *et al.*, 1999). Com relação à natureza e a forma de utilização, existem quatro tipos básicos de sorgo: o sorgo granífero, o forrageiro, o sacarino e o vassoura. Existem também suas combinações, os chamados de dupla aptidão, como o granífero-forrageiro, o granífero-sacarino e o forrageiro-sacarino. Possui múltipla utilização, desde a alimentação humana, caso da maioria dos países da África e da Ásia, até a alimentação animal, o que é o caso da maioria dos países ocidentais que o utilizam como principal substituto do milho.

O sorgo é o quinto cereal mais produzido no mundo, ficando atrás do milho (*Zea mays* L.), do trigo (*Triticum aestivum* L.), do arroz (*Oryza sativa* L.) e da cevada (*Secale cereale* L.). Aproximadamente 90% da área cultivada encontra-se nos países em desenvolvimento da Ásia e África (FAO, 2010), no entanto, as maiores produções são encontradas nos Estados Unidos, em decorrência do nível tecnológico utilizado nos últimos 25 anos.

No Brasil, a introdução do sorgo é relativamente recente e se deu no Rio Grande do Sul, onde foram realizados ensaios pioneiros nas extintas estações experimentais da Escola de Engenharia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (VEIGA, 1986). A partir da década de 70, tornou-se uma cultura comercialmente significativa ao alcançar uma área de

plântio de 80 mil hectares, concentrados, principalmente, no Rio Grande do Sul e São Paulo (LIRA; FARIS; MAFRA, 1982). Nas décadas de 70 e 80, na região Nordeste, o sorgo recebeu os maiores incentivos de órgãos oficiais para sua expansão, entretanto, esse esforço governamental não conseguiu estabelecer essa cultura na região de forma desejada (PITOMBEIRA, 2006). Trabalhos e projetos governamentais relativamente recentes têm impulsionado a cultura do sorgo, particularmente nos estados do Ceará e Pernambuco (TABOSA *et al.*, 2002).

O sorgo produzido no país é destinado principalmente à indústria de alimentos para aves, suínos e ruminantes, sendo os estados de Goiás e Minas Gerais os maiores produtores a nível nacional (IBGE, 2009). Entretanto, a introdução do plântio do sorgo nos estados do Nordeste brasileiro tem apresentado notáveis incrementos nos últimos anos. Diferente de outras gramíneas cultivadas, o sorgo se adapta melhor a condições adversas de clima e solo, devido as suas características morfo-fisiológicas que determinam o uso mais eficiente da água nesses ambientes (TABOSA, 1987). Seu melhor desempenho em ambientes quentes e secos e a intensificação do seu cultivo no semi-árido nordestino tornam o sorgo uma cultura estrategicamente importante para o Brasil. Em anos com ocorrência de condições climáticas desfavoráveis, a produção do sorgo poderia reduzir o impacto negativo que esses fatores teriam no abastecimento de grãos para o país.

De acordo com os levantamentos sistemáticos da produção agrícola, realizados no ano de 2009, o Brasil apresentou área plantada de 812.300 ha e produção total de 1.862.676 t de sorgo granífero, gerando um rendimento médio de 2.337 kg/ha. A região Centro-Oeste do país, maior produtora de grãos, apresentou 525.032 hectares de área plantada e produziu 1.253.371 toneladas de grãos, o que equivale à 64,6 e 67,3% de participação nos valores totais do país, respectivamente. A região Nordeste apresentou no referido ano uma área plantada e produção de 117.259 ha e 152.540 t, respectivamente, resultando numa produtividade média de 1.458 kg/ha. Em termos percentuais esses valores correspondem, respectivamente, a 14,4% da área plantada e 8,2% da produção total de sorgo (grãos) no Brasil (IBGE, 2009).

A cultura do sorgo tem maiores possibilidades de solucionar o problema da carência de fonte energética principalmente na região Nordeste, em virtude da alta produtividade, boa adequação à mecanização, resistência às estiagens, menor exigência de solo e, conseqüentemente, menores riscos e maior receita líquida. Assim, o sorgo pode ser utilizado nas rações de monogástricos e ruminantes, podendo ser fornecido na forma direta de grãos como ingrediente na ração, como corte verde em cochos, pastejo ou ainda conservados na forma de feno e silagem (POMPEU, 2003).

### 3.1.2. Características agronômicas do sorgo

O sorgo é uma gramínea anual, típica de clima quente, de baixa exigência quanto à fertilidade do solo e tolerante/resistente aos fatores abióticos, tais como: estresse hídrico, salinidade e encharcamento (TABOSA, 1987). Essa resistência/tolerância a fatores abióticos é devido às características morfo-fisiológicas do sistema radicular e da parte aérea dos diferentes genótipos de sorgo. O sistema radicular é composto de raízes finas e ramificadas com desenvolvimento subsuperficial, o qual permite que a planta absorva uma maior quantidade de água em um mesmo volume de solo. O acúmulo de água em maior quantidade nas raízes, colmos e bainhas do que nas folhas, juntamente com uma camada espessa de cera que recobre a epiderme das folhas (cutícula), colaboram para uma menor taxa de transpiração e desidratação e maior tolerância ao estresse hídrico. A tolerância à seca é diferenciada conforme o genótipo (MASOJIDEK *et al.*, 1991, DONATELLI; HAMMER; VANDERLIP, 1992 e LACERDA, 2000), dentro da mesma espécie vegetal. Assim, diferentes materiais genéticos de uma mesma espécie podem responder de maneiras distintas ao estresse hídrico.

A planta de sorgo possui características fisiológicas que permitem parar o seu crescimento e reduzir sua atividade metabólica durante o período de estresse hídrico, sendo capaz de reiniciar seu crescimento e aumentar sua atividade metabólica logo que a água se tornar disponível (MASOJIDEK *et al.*, 1991). Provavelmente, no início do estresse hídrico a planta acumula fotoassimilados, os quais podem induzir um crescimento mais acelerado após o término do estresse (DONATELLI; HAMMER; VANDERLIP, 1992).

Segundo a Wisconsin Corn Agronomy (2001), citado por Aquino (2005), para alcançar altas produtividades, o sorgo requer dias e noites quentes, com temperaturas médias acima de 25 °C, atingindo a maturidade entre 90 e 140 dias. É uma espécie indicada para regiões que apresentam regime hídrico desfavorável, com precipitações variando de 400 a 600 mm por ano ou menos. Em regiões isentas de geada, o sorgo comporta-se como uma cultura semiperene. Esta característica permite duas ou mais colheitas em um só plantio, podendo aumentar a quantidade de material verde produzido (SWERINGIN *et al.*, 1971), dependendo das condições edafoclimáticas, da disponibilidade mínima de água e dos níveis da adubação de reposição.

### 3.1.3. O sorgo e o estresse salino

Em relação à salinidade, Rhoades, Kandiah e Mashali (2000) afirmam que o sorgo tem sua salinidade limiar em torno de  $6,8 \text{ dS m}^{-1}$  (condutividade elétrica do extrato de saturação do solo) e  $4,5 \text{ dS m}^{-1}$  (condutividade elétrica da água de irrigação) com as plantas já estabelecidas. Entretanto, os níveis de salinidade necessários para que ocorra uma redução de 50%, tanto na emergência como na produção, variam entre 13 e  $15 \text{ dS m}^{-1}$ . Em experimentos conduzidos em casa de vegetação, Fageria e Gheyi (1997) mostraram que o sorgo, o trigo e o feijão caupi foram mais sensíveis durante o estágio vegetativo e no início da fase reprodutiva, menos sensíveis no estágio de floração e insensíveis no estágio de enchimento de grãos.

Oliveira (2002), estudando o efeito do estresse salino provocado por concentrações iso-osmóticas de NaCl + KCl em diferentes combinações, sobre o crescimento e o acúmulo de íons nas folhas de dois genótipos de sorgo forrageiro, um sensível (CSF 18) e outro tolerante (CSF 20), concluiu que a maior sensibilidade do CSF 18 parecia estar relacionada ao maior acúmulo de íons potencialmente tóxicos, ao menor acúmulo de  $\text{K}^+$  e a maior relação  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  nos tecidos foliares. No entanto, o aumento das concentrações de KCl na solução nutritiva resultou na diminuição dos teores de  $\text{Na}^+$  e no aumento dos teores de  $\text{K}^+$  nas folhas, sem que tenha resultado em maior tolerância ao estresse salino. Nesse sentido, deve-se observar que uma resposta fenotípica de tolerância ou de sensibilidade à salinidade não depende somente da expressão isolada de um mecanismo ou de uma característica genética, agrônômica, bioquímica ou fisiológica, mas da ação e de uma interação de um conjunto de genes que depende de fatores intrínsecos de cada espécie (YEO, 1999).

## 3.2. Qualidade das sementes

A qualidade das sementes é um conceito múltiplo que compreende diversos componentes. Para muitos dos que irão utilizá-la, uma semente de qualidade é aquela que vai germinar e está livre de espécies invasoras indesejadas. Este conceito público reflete-se no fato de que para muitos laboratórios de análise de sementes, entre 80 e 90% de todas as análises solicitadas são de pureza e germinação. Contudo, existem outros componentes de qualidade das sementes que podem ser agrupados em três categorias, envolvendo: 1. a

descrição – espécie e pureza varietal, pureza analítica, uniformidade e massa da semente; 2. A higiene – contaminação com invasoras nocivas, sanidade da semente, contaminação com insetos e ácaros; e 3. o potencial de desempenho – germinação, vigor, emergência e uniformidade em campo (HAMPTON, 2001).

A utilização de sementes de alta qualidade é um pré-requisito para o estabelecimento rápido e uniforme das plântulas no campo com conseqüências no estande, na produtividade e na qualidade do produto colhido. A qualidade da semente é particularmente crítica quando são utilizadas novas cultivares ou híbridos, pois, devido ao alto custo, há necessidade de melhores técnicas para se obter melhor emergência. Visando a melhoria na qualidade das sementes e rápido e uniforme estabelecimento das plântulas, diferentes tipos de tratamentos têm sido estudados, dentre eles, o condicionamento osmótico (BRADFORD, 1986).

### **3.3. Germinação das sementes**

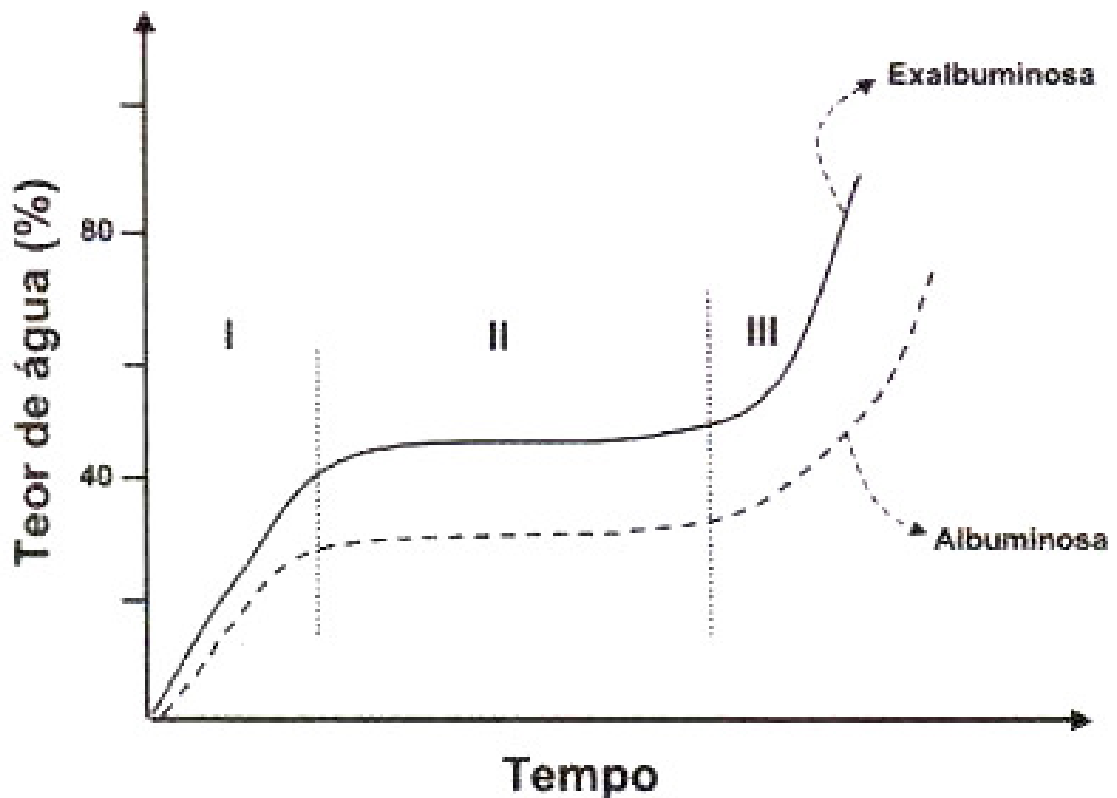
A germinação consiste numa série de eventos que se inicia com a absorção de água pela semente e termina com a emergência da radícula ou de outra parte do embrião (BEWLEY; BLACK, 1994).

Compreende uma sequência ordenada de eventos metabólicos, que resulta no reinício do desenvolvimento do embrião, originando uma plântula (MARCOS-FILHO, 2005). Já Copeland e McDonald (1985) conceituam como sendo a reativação do crescimento do embrião, resultando na ruptura da cobertura da semente e na emergência da plântula.

De acordo com as Regras para Análise de Sementes (RAS) (BRASIL, 1992), a germinação de sementes em teste de laboratório é a emergência e o desenvolvimento das estruturas essenciais do embrião, demonstrando sua aptidão para produzir uma planta normal sob condições favoráveis de campo.

#### **3.3.1. Etapas da germinação das sementes**

Segundo Bewley e Black (1994) o processo de germinação ou embebição de sementes pode ser dividido em três fases (Figura 1). De acordo com a Figura 1, na fase I da curva, a absorção de água pela semente é relativamente rápida, ocorrendo em decorrência do potencial matricial dos diversos tecidos que compõem a semente. Esta etapa independe da semente estiver viva, morta ou dormente. No plano bioquímico essa fase marca o início da degradação das substâncias de reserva, de modo a garantir energia e nutrientes necessários à retomada do crescimento do embrião. Ao atingir cerca de 25% de umidade, para espécies albuminosas, e 40%, para as exalbuminosas, tem início então a fase II. Nesta fase aparentemente está ocorrendo um transporte ativo do tecido de reserva para o tecido meristemático, a absorção de água é quase nula visto que os potenciais hídricos do substrato e da semente são semelhantes. No entanto a duração desta fase em relação à fase I é geralmente mais longa. O eixo embrionário, apesar de já estar recebendo nutrientes, ainda não consegue crescer (POWEL; MATTEUS, 1978; BEWLEY; BLACK, 1994). Ao final da fase II ocorre um súbito incremento no teor de água das sementes. Inicia-se então a fase III que é caracterizada pela reorganização das substâncias para formar o citoplasma, o protoplasma e as paredes celulares, o que resulta no crescimento do eixo embrionário, a chamada germinação visível (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000).



**Figura 1.** Padrão trifásico de captação de água pelas sementes durante a germinação (BEWLEY; BLACK, 1994).

Segundo Bewley e Black (1994), é necessário que seja atingido um grau mínimo de umidade para haver germinação, como por exemplo: 30% para sementes de milho, 26,5% (arroz), 33,4% (algodão) e 29,4% (mamona). A absorção de água por uma semente é dirigida pelo potencial hídrico ( $\Psi_w$ ) de suas células, o qual se relaciona com outros três potenciais pela seguinte fórmula:  $\Psi_w = \Psi_m + \Psi_\pi + \Psi_p$ , sendo  $\Psi_m$  o potencial mátrico,  $\Psi_\pi$ , o potencial osmótico e  $\Psi_p$ , o potencial de pressão. O  $\Psi_m$  é resultante de algumas matrizes, como por exemplo, parede celular, amido e proteínas que sofrem hidratação e se ligam à água. O potencial osmótico  $\Psi_\pi$  surge em função da concentração de solutos dissolvidos no interior das células. Por último, o  $\Psi_p$  se relaciona à força contrária da parede celular e a turgescência causada pela entrada de água na célula (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000; TAIZ; ZEIGER, 2004).

### **3.3.2. Mudanças morfológicas e bioquímicas durante a germinação**

As sementes têm sido estudadas intensamente quanto à composição química de suas reservas. O conhecimento da composição química é de interesse prático em tecnologia de sementes, porque tanto o vigor quanto o potencial de armazenamento das sementes são influenciados pelo teor dos compostos presentes. Outro aspecto importante diz respeito à influência da composição química no gasto das plantas em energia para produzi-las (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000).

Não só as mudanças bioquímicas, mas também as alterações estruturais e anatômicas relacionadas ao metabolismo das reservas armazenadas em sementes têm sido descritas por muitos autores em trabalhos que avaliaram essas modificações durante o processo germinativo de diferentes espécies (STONE; GIFFORD, 1997; SILVA; CORTELAZZO; DIETRICH, 1997; SILVA; CORTELAZZO; DIETRICH, 1998).

O acúmulo das substâncias de reservas durante a formação das sementes tem basicamente duas funções, que se relacionam com a manutenção e o desenvolvimento do embrião, sendo fonte de energia para manter processos metabólicos em funcionamento e/ou fonte de matéria para a construção de tecidos vegetais que irão constituir as plântulas (BUCKERIDGE *et al.*, 2004; GALLAO *et al.*, 2007). Os carboidratos e os lipídios servem como fonte de energia e carbono para a germinação das sementes e o desenvolvimento das

plântulas, enquanto que as proteínas têm como função armazenar nitrogênio e enxofre essenciais para a síntese de proteínas e compostos secundários essenciais para a plântula em crescimento (CORTE *et al.*, 2006).

A mobilização das reservas e a sua regulação durante a germinação de sementes de dicotiledôneas têm sido bastante estudadas e duas hipóteses foram propostas para explicar o papel do eixo embrionário nesse processo (BEWLEY, BLACK, 1994; BEWLEY, 1997). Primeiramente, o crescimento do eixo pode agir como dreno, direcionando os produtos da degradação, os quais podem inibir o desenvolvimento posterior das enzimas e/ou inibir as suas atividades. Segundo, o crescimento do eixo pode produzir substâncias de crescimento das plantas, os hormônios que estimulam a síntese de enzimas hidrolíticas necessárias para a mobilização das reservas nos cotilédones. A mobilização das reservas e o crescimento das plântulas parecem ser processos eficientemente sincronizados com a influência do eixo embrionário nos dois processos (ALENCAR, 2009).

### **3.4. Condicionamento osmótico de sementes**

Quando uma semente se hidrata, uma série de mudanças fisiológicas e bioquímicas ocorrem no embrião. Uma embebição prolongada, particularmente sob baixos potenciais hídricos, apresenta uma influência bastante acentuada na velocidade, sincronia e porcentagem de germinação das sementes (BEWLEY; BLACK, 1994). Segundo Khan (1992), vários procedimentos de hidratação das sementes têm sido desenvolvidos para aumentar a taxa e a uniformidade de emergência das plântulas. Um desses procedimentos tem sido a embebição das sementes com quantidades limitadas ou não de água, sob temperaturas baixas ou moderadas (pré-hidratação e *hardening*). Outro procedimento refere-se à pré-germinação das sementes, em condições ótimas de umidade e temperatura, e semeadura com a utilização de géis, os quais atuam como substâncias protetoras do eixo embrionário (*fluid drilling*). Uma terceira técnica tem sido a hidratação das sementes em umidades relativas do ar elevadas (umidificação). A quarta e mais popular técnica é a hidratação das sementes em soluções de baixo potencial hídrico de solutos orgânicos e inorgânicos por determinados períodos de tempo (condicionamento osmótico) ou por meio da embebição das sementes em meio sólido (condicionamento mátrico) (HEYDECKER; HIGGINS; GULLIVER, 1973; HEYDECKER; HIGGINS; TURNER, 1975; KHAN, 1992).



A técnica do condicionamento osmótico desenvolvida por Heydecker, Higgins e Gulliver (1973) e Heydecker, Higgins e Turner (1975), apesar de fisiologicamente complexa, é simples em conceito. Tem como objetivo reduzir o período de germinação, bem como sincronizar e melhorar a emergência das plântulas, submetendo as sementes a um controle da hidratação suficiente para permitir os processos respiratórios essenciais à germinação, porém insuficiente para propiciar a protrusão da radícula. Isto é, as sementes completariam as fases I e II da embebição, que são preparatórias para a germinação, sem, no entanto, avançarem para a fase III, caracterizada pelo alongamento celular e protrusão da radícula (SANTOS *et al.*, 2008).

O osmocondicionamento baseia-se no controle da hidratação das sementes a um nível que permita que ela inicie a atividade metabólica pré-germinativa, mas iniba a protrusão da radícula. As sementes são colocadas em contato com uma solução aquosa de um composto quimicamente inerte, mas osmoticamente ativo, como manitol ou polietilenoglicol. A partir daí, as sementes iniciam a embebição de água normalmente, paralisando o processo assim que entram em equilíbrio com o potencial osmótico da solução, o qual é regulado a fim de possibilitar que ocorram os processos iniciais da germinação, mas que não haja o alongamento celular e, por conseguinte, a emergência da radícula, ou seja, a germinação não é concluída (MARCOS-FILHO, 2005).

Sementes tratadas desta forma podem ser novamente desidratadas ao conteúdo de umidade inicial sem perda significativa dos efeitos benéficos promovidos pelo tratamento. Esse processo de secagem das sementes após o tratamento de condicionamento osmótico tem sido comumente designado na literatura como hidratação-desidratação (BRACCINI *et al.*, 1999).

#### **3.4.1. Métodos de condicionamento**

As metodologias empregadas no condicionamento fisiológico podem diferir entre si. As variações consistem nas formas de fornecimento de água (equilíbrio higroscópico com a atmosfera, embebição em substrato, imersão em água pura, em soluções salinas ou osmóticas), na opção por secagem subsequente à hidratação, no número de ciclos de hidratação e desidratação, na duração do período de hidratação, no nível de hidratação e no estágio da germinação atingido durante o condicionamento (GUIMARÃES, 2000).

O uso de substâncias químicas osmoticamente ativas como forma de controlar a entrada de água na semente tem sido amplamente difundido. Segundo Heydecker, Higgins e Turner (1975), o potencial hídrico da solução é ajustado de modo a possibilitar a ocorrência dos processos de preparação da germinação das sementes, mas que impeça o alongamento celular e a emergência da radícula, mesmo após semanas de contato entre as sementes e a solução. Khan (1992) afirma que os processos bioquímicos e fisiológicos da germinação são estimulados até o ponto em que o baixo potencial osmótico do meio de embebição impede a germinação.

Quando as condições do tratamento são favoráveis, o processo de mobilização de reservas, ativação e síntese *de novo* de algumas enzimas, síntese de DNA e RNA são iniciados durante o condicionamento osmótico. Quando o obstáculo à absorção de água é removido, ocorre o rápido crescimento do embrião (KHAN, 1992).

Os solutos usados ou soluções osmóticas com as quais as sementes permanecem em contato devem apresentar algumas características. Não podem ser tóxicos ou causar alterações estruturais, penetrar no sistema de membranas das células, serem metabolizados e nem estarem sujeitos à deterioração microbiana durante o condicionamento das sementes (BRADFORD, 1986). Dentre os agentes osmóticos utilizados incluem-se os sais ( $K_3PO_4$ ,  $KH_2PO_4$ ,  $MgSO_4$ ,  $NaCl$ ,  $KNO_3$ ), poliálcoois (manitol, sorbitol), polietilenoglicol (PEG) e glicerol. Entretanto, de acordo com Santos *et al.* (2008), nenhum desses solutos, comumente, utilizados no condicionamento osmótico atende completamente a essas exigências, sendo importante observar que o critério na escolha é o efeito desejável sobre a semente, não devendo ser tóxico e impedir a etapa final da germinação das sementes.

O PEG, de fórmula geral  $HOCH_2(OCH_2CH_2)_nOH$ , de alto peso molecular, maior que 4.000, apresenta vantagens sobre os outros agentes osmóticos por ser mais inerte que outros solutos; não ser absorvido pelas sementes, devido seu peso molecular ( $>4000$ ) e, geralmente, não ser tóxico (MEXAL *et al.*, 1975). Como desvantagem, apresenta efeito negativo sobre a disponibilidade de oxigênio para as sementes devido à alta viscosidade que leva à baixa taxa de difusão do oxigênio nas soluções contendo o PEG. Entretanto, agitação e adição de ar enriquecido (75% de  $O_2$ ) na solução de *priming* melhoram o desempenho de sementes submetidas ao tratamento (HEYDECKER *et al.*, 1978). Desse modo, cabe ressaltar que quando as sementes são imersas em solução aquosa, as condições das sementes e do meio, como potencial hídrico, lixiviação de reservas solúveis essenciais, suprimento de oxigênio e acúmulo de  $CO_2$ , são modificados. Essas modificações são influenciadas pelo tempo, temperatura, volume de água, tamanho e densidade das sementes (LOPES *et al.*,

1996). Bradford (1986) constatou variabilidade de respostas entre espécies, cultivares e mesmo entre lotes de sementes.

Segundo Khan (1992), o uso de compostos químicos biologicamente ativos, tais como os reguladores de crescimento, pode reduzir o impacto de fatores adversos, em condições de campo. O ácido giberélico, por sua vez, estimula a germinação, elevando a plasticidade da parede celular, seguida da hidrólise do amido em açúcares, por ativação das hidrolases, o que reduz os potenciais hídricos das células, resultando na entrada de água nas células, promovendo seu alongamento (BEWLEY; BLACK, 1994; BEWLEY, 1997; ARAGÃO; DANTAS *et al.*, 2008). As sementes, quando embebidas em solução contendo ácido giberélico, têm seu metabolismo acelerado, o que aumenta a porcentagem e a velocidade de emergência (ANDREOLI; KHAN, 2000; AROUCHA *et al.*, 2006).

### **3.4.2. Fatores que afetam o condicionamento**

Para se obter condições favoráveis ao condicionamento osmótico é importante determinar a temperatura, a concentração da solução (potencial osmótico), o período de duração do tratamento, a intensidade de luz, a densidade de gases envolvidos, o método e o período de secagem após o tratamento, e outros fatores que podem influenciar a extensão do condicionamento osmótico. Esses fatores variam amplamente em função das características das sementes de diferentes espécies e cultivares e, possivelmente, entre lotes de uma dada cultivar, bem como em função dos processos fisiológicos e bioquímicos envolvidos (BRADFORD, 1986).

A melhor combinação dos fatores envolvidos no tratamento e sua otimização devem ser feitas por tentativas para cada lote de sementes. Como referência, em uma determinada condição de condicionamento, se a proporção de germinação das sementes durante o tratamento, for superior a 4 a 6%, a concentração da solução osmótica deve ser aumentada na próxima tentativa (HEYDECKER; HIGGINS; TURNER, 1975; BRADFORD, 1986).

Para a maioria das espécies, a melhor temperatura para o condicionamento varia entre 10 e 20 °C (BEWLEY e BLACK, 1994). Para soja, a melhor temperatura está entre 20 e 25 °C (DEL GIÚDICE, 1996); para feijão, 25°C (PANDEY, 1989); para cenoura, 15 a 20 °C (PELÚZIO, 1999); para citrus, 35 °C (CHILEMBWE; CASTLE; CANTLIFFE, 1992) e para

melão, 25 °C (NASCIMENTO; WEST, 2000). O potencial osmótico que normalmente se utiliza no condicionamento osmótico com PEG-6000 está na faixa de -0,5 a -2,0 MPa e a duração do tratamento é de 4 a 35 dias (PAIXÃO, 1998).

Um pré-requisito essencial para o sucesso da técnica é o uso de sementes livres de microrganismos, entretanto, a obtenção de tais sementes nem sempre é possível (COPELAND; MCDONALD, 1985). A inclusão de substâncias protetoras de sementes como fungicidas e reguladores de crescimento na solução osmótica durante o processo de condicionamento osmótico favorece o desempenho de sementes. Durante a fase inicial de embebição na solução osmótica ocorre perda de solutos das sementes, e esses lixiviados podem estimular a atividade microbiana, geralmente saprófitas. Por outro lado, durante a embebição e lavagem das sementes após tratamento, o fungicida pode ser removido das sementes, diminuindo a sua eficiência e aumentando a proporção de plântulas anormais por contaminação (NASCIMENTO, 1998).

O condicionamento de sementes de sorgo em potencial osmótico de zero MPa (água destilada) foi o mais eficiente em promover aumento no vigor destas (MEDEIROS FILHO *et al.*, 2000). Já o osmocondicionamento de sementes de pimentão (*Capsicum annum* L) por 21 dias em solução de PEG-6000 a -0,5 MPa à temperatura de 25 °C foi eficiente em melhorar a germinação quando comparado aos tratamentos com potenciais -1,0 e -1,5 MPa durante 7, 14 e 21 dias (POSSE *et al.*, 2001). Soluções salinas com potencial osmótico mais negativo, que previnem a germinação durante o tratamento, resultaram em menores reduções no T<sub>50</sub> (tempo médio para ocorrência de 50% de germinação). Conforme Smith e Cobb (1991), o grau de hidratação das sementes está correlacionado com o potencial osmótico da solução. Sementes incubadas em soluções com potencial osmótico mais alto possuem um maior conteúdo de umidade e potencialmente maior atividade.

Sementes de cebola condicionadas em solução osmótica de PEG-6000 a -0,75 MPa a 15 °C por 4 a 6 dias, apresentaram melhor desempenho, principalmente nos testes de germinação e vigor, sob condições de laboratório, em relação às sementes não condicionadas e/ou embebidas em água destilada (LOPES *et al.*, 1996). Para as sementes de soja submetidas ao condicionamento osmótico em PEG-6000, a -0,8 MPa, por 4 dias, a 25°C, foram observados os melhores resultados de germinação e índice de velocidade de emergência de plântulas (DEL GIÚDICE, 1996).

Kang *et al.*, (1997) observaram que o condicionamento osmótico com KNO<sub>3</sub> a 20 °C durante sete dias proporcionou aumento na taxa de germinação de sementes de pimentão, quando comparado às sementes pré-condicionadas somente em água. Em sementes de

aspargo, Evans e Pill (1989) observaram que independentemente das condições de condicionamento (potencial osmótico, temperatura e duração do processo), as sementes condicionadas germinaram mais rapidamente do que as não condicionadas, embora o tratamento não tenha afetado a porcentagem final de germinação. Redução no tempo necessário para a germinação também foi constatada por Frett e Pill (1991) em sementes de aspargo condicionadas com PEG-8000, água do mar sintética e em soluções salinas.

O condicionamento osmótico incrementou a capacidade germinativa de sementes de amendoim, havendo também incremento no crescimento das plântulas devido ao aumento em atividade de enzimas promotoras de crescimento (FU *et al.*, 1988). O *priming* em solução aerada de KNO<sub>3</sub> a 3% numa temperatura de 25 °C não aumentou a porcentagem final de germinação, mas sim a velocidade de germinação e o desenvolvimento de plântulas de *Capsicum annuum* (L.). Além disso, o desenvolvimento do hipocótilo foi bastante aumentado (HALPIN-IGHAM; SUNDSTROM, 1992).

### **3.4.3. Mudanças fisiológicas e bioquímicas durante o *priming***

Quando as condições do tratamento são favoráveis, o processo de mobilização de reservas, a ativação e síntese *de novo* de algumas enzimas, a síntese de DNA e RNA são iniciados durante o condicionamento osmótico. Quando o obstáculo à germinação é removido, isto resulta em rápido crescimento do embrião. Várias mudanças fisiológicas e bioquímicas ocorrem nas sementes durante o tratamento ou como consequência do condicionamento osmótico. Estas mudanças incluem a síntese de macromoléculas, atividade de várias enzimas, aumento no poder germinativo e vigor e superação da dormência (FU *et al.*, 1988; KHAN, 1992; SMITH; COOB, 1992; SUNG; CHANG, 1993).

Estudos bioquímicos recentes indicam que o metabolismo do RNA e a síntese de proteínas e enzimas também são aumentados pelo condicionamento osmótico, sugerindo que este tratamento deixa disponível às sementes precursores utilizados para a síntese de macromoléculas. A síntese de RNA, proteínas e enzimas pode ser devido à remoção de certos fatores inibidores, tais como ácido abscísico (ABA) e/ou produção de fatores promotores. O estresse hídrico leva a um aumento de ABA e induz dormência, enquanto que o condicionamento osmótico leva ao completo desaparecimento do ABA (KHAN, 1992).

Smith e Coob (1992) observaram que a síntese de proteínas em sementes de pimentão aumenta durante o tratamento de condicionamento osmótico. Outros pesquisadores (FU *et al.*, 1988; BRAY *et al.*, 1989) verificaram que durante ou imediatamente após o condicionamento osmótico de sementes de amendoim e alho poró, grandes quantidades de RNA foram sintetizadas.

Incrementos nas atividades enzimáticas e metabólicas são características comuns durante o condicionamento osmótico e parecem estar relacionados com o revigoramento das sementes durante a germinação subsequente. As alterações na atividade de certas enzimas, tais como esterase, fosfatase ácida e desidrogenase do 3-fosfogliceraldeído, sugerem que a mobilização do material de reserva armazenado nas sementes, como carboidratos, lipídios e proteínas podem justificar o aumento da germinação e vigor induzido pelo condicionamento osmótico (KHAN, 1992).

#### **3.4.4. Condicionamento osmótico x envelhecimento de sementes**

Em uma população de sementes, existe variação quanto ao vigor das sementes. Durante o processo de germinação, enquanto as de alto vigor atingem um nível metabólico mais rápido e ordenado, as de baixo vigor apresentam nível metabólico mais lento. Quando submetidas ao condicionamento osmótico, aquelas de baixo vigor tendem a alcançar às de alto vigor e, conseqüentemente, obtém-se maior uniformidade na germinação e emergência (HEYDECKER; HIGGINS, 1978).

Diversos trabalhos mostram melhores efeitos na utilização da técnica do condicionamento osmótico em lotes de sementes de médio e baixo vigor (HEYDECKER; HIGGINS; TURNER, 1975). Como constatados por Brocklehurst e Dearman (1984), em quatro lotes de sementes de alho poró condicionadas em PEG; os melhores resultados ocorreram em lotes de baixo vigor. Resultados similares foram obtidos por Carvalho *et al.* (2000) em sementes de sorgo, cv. EA-166, submetidas ao condicionamento fisiológico com PEG-6000.

Sementes envelhecidas e deterioradas são as mais sensíveis aos danos de embebição, já que as membranas celulares encontram-se enfraquecidas, perdem sua integridade e tornam-se mais suscetíveis à rápida entrada de água. O envelhecimento de sementes ocasiona alterações metabólicas durante o processo germinativo, modificando o

metabolismo respiratório e a funcionalidade das membranas, a síntese de proteínas e ácidos nucleicos e o metabolismo do DNA (BASAJAVARAJAPPA; SHETY; PRAKASH, 1991). Vários trabalhos têm mostrado que os efeitos do condicionamento osmótico resultam em uma resposta mais rápida quanto ao tempo para a germinação, principalmente em lotes de sementes deterioradas ou de baixo vigor (BROCKLEHURST; DEARMAN, 1984; LOPES *et al.*, 1996).

O princípio do teste de envelhecimento acelerado é aumentar a taxa de deterioração das sementes, através de sua exposição a níveis muito adversos de temperatura e umidade relativa. Este processo de deterioração promove uma perda da compartimentalização celular e uma desintegração do sistema de membranas, que produzem um descontrole do metabolismo e das trocas de água e solutos entre as células eo meio exterior (MARCOS-FILHO, 1994). Este processo pode ser revertido, em alguns casos, através do condicionamento osmótico, como por exemplo, em estudo realizado por Lanteri, Nada e Beletti (1996) com sementes de *Capsicum annuum* L. O condicionamento osmótico, realizado com PEG e água do mar, também permitiu um aumento da germinação de sementes de aspargo com baixa qualidade fisiológica (BITTENCOURT *et al.*, 2005). A melhoria pode estar relacionada ao resultado do revigoramento de sementes, por tratamentos de hidratação, através de mecanismos de “reparo de membranas” atuando no processo de deterioração das sementes (BURGASS; POWELL, 1984). Resultados de teste de condutividade elétrica mostraram uma reduzida lixiviação de solutos de sementes de cebola osmocondicionadas, comparadas com as não tratadas, suportando a teoria do “reparo”, já que a lixiviação de solutos das células é, em parte, resultante de danos às membranas celulares.

Sementes em estágio avançado de deterioração vêm mostrando uma resposta positiva ao incremento na velocidade de germinação, quando submetidas ao osmocondicionamento (LANTERI; NADA; BELLETTI, 1996), permitindo um melhor aproveitamento dessas sementes. Melhoria no vigor após o condicionamento osmótico tem sido correlacionada com processos de reparo macromolecular durante o tratamento, bem como um balanço metabólico mais favorável das sementes pré-condicionadas no início da germinação (LANTERI; QUAGLIOTTI; BELLETTI, 1998). Com o envelhecimento há um declínio na atividade de enzimas que removem os peróxidos, como a catalase, contribuindo com o processo de deterioração (BRANDÃO JÚNIOR, 1996).

A atividade da desidrogenase da glucose-6-fosfato, enzima pertencente à via das pentoses fosfato, é importante na determinação do fluxo através da glicólise. O balanço entre a glicólise e a via das pentoses assegura um suprimento adequado às sementes de poder

reductor, ATP e esqueletos de carbono para a biossíntese de macromoléculas. Em sementes envelhecidas de brássicas, a atividade desta enzima é baixa, havendo uma restauração parcial da sua atividade após o condicionamento osmótico (BETTEY; FINCH-SAVAGE, 1996).

É importante ressaltar que há na literatura resultados negativos ou insatisfatórios com relação ao condicionamento osmótico de sementes envelhecidas. Por exemplo, o *priming* realizado em sementes de alho-poró e cenoura, antes do envelhecimento acelerado, propiciou certa antecipação da germinação das sementes, enquanto após o teste de envelhecimento verificou-se uma redução na porcentagem de germinação e emergência em ambas as espécies (DEARMAN; BROCKLEHURST; DREW, 1987). Semelhantemente, Heydecker e Coolbear (1977) não verificaram resposta satisfatória, utilizando o condicionamento osmótico em lotes de sementes de cebola envelhecidas, com germinação abaixo de 60%. Esses resultados mostram que, dependendo da espécie e da qualidade fisiológica dos lotes de sementes, podem ocorrer diferentes respostas ao condicionamento osmótico. No entanto, danos severos desenvolvidos na fase que precede à morte da semente são irreversíveis, enfatizam Lanteri *et al.* (2000), não sendo possível efetuar-se processos de reparo celular eficientes.

Tratamentos de hidratação mais longos foram efetivos em restaurar a taxa de germinação após o armazenamento. Entretanto se aplicados antes do armazenamento eles aceleraram a deterioração das sementes. Tarquis e Bradford (1992) verificaram que curtos tratamentos de hidratação em sementes de alface aumentaram o vigor das sementes em termos de taxa de crescimento da radícula, mas houve pouco efeito na taxa de germinação ou resistência à deterioração. Concomitantemente aos efeitos benéficos dos tratamentos, de hidratação e condicionamento osmótico, verificou-se redução no tempo de armazenamento das sementes. Incrementos na longevidade e na taxa de germinação das sementes associados ao osmocondicionamento também têm sido reportados. Em algumas espécies, como ervilha, tomate, cenoura e cebola o osmocondicionamento aumentou a capacidade de armazenamento (SAVINO; HAIGH; LEO, 1979; DEARMAN; BROCKLEHURST; DREW, 1986; LIU *et al.*, 1996).

### **3.4.5. Condicionamento osmótico x estresses abióticos**

Diversos benefícios têm sido relatados com o emprego da técnica do condicionamento osmótico, dentre eles, o aumento da possibilidade de se obter uma maior



porcentagem de germinação, particularmente sob condições adversas, como baixa disponibilidade hídrica, níveis elevados de salinidade e temperaturas sub e supra-ótimas (JELLER, 2002). O aumento do nível de tolerância foi encontrado por Taylor *et al.* (1998) e Patanè (2000), com uma germinação mais rápida em temperaturas mais baixas que a ótima; melhor resposta em condições de déficit hídrico, por Prisco, Haddad e Bastos (1991) e Fernandes, Azevedo e Barros (1994); germinação mais rápida, em temperaturas desfavoráveis acima do ótimo, por Yoon, Lang e Coob (1997) e por Nascimento, Cantliffe e Huber (2001) e sob condições de estresse salino por Passam e Kakouriotis (1994).

Trabalhos realizados por Posse *et al.* (2001) em pimentão, sob estresse de baixa temperatura, e por Perez e Negreiros (2002) em sementes de canafístula, sob condições de estresses salino e térmico, mostraram que o condicionamento em água pode ser mais efetivo ou semelhante ao condicionamento osmótico utilizando-se os sais inorgânicos  $\text{KNO}_3$  e  $\text{NaCl}$  para melhorar o processo germinativo, os autores verificaram que a canafístula apresentou sementes firmes quando submetidas ao condicionamento com  $\text{KNO}_3$ , sendo que essa característica não apareceu quando as sementes foram embebidas somente em água destilada.

O condicionamento osmótico aumentou a porcentagem final e a uniformidade de emergência de sementes de milho doce, especialmente em baixas temperaturas (SUNG; CHANG, 1993). De acordo com Braccini *et al.* (1999), o aumento nos períodos de envelhecimento acelerado influenciou negativamente o desempenho das sementes de soja, mas o tratamento com PEG-6000 foi satisfatório em manter a qualidade das mesmas. Carvalho *et al.* (2000), por sua vez, aplicaram o condicionamento osmótico em sementes de sorgo e constataram aumento na velocidade de emergência e capacidade de estabelecimento das plântulas, sendo que as sementes envelhecidas e não envelhecidas comportaram-se de maneira diferente quanto a germinação e ao vigor.

Perez e Jardim (2005) relataram em sua pesquisa com sementes condicionadas de paineira (*Chorisia speciosa* St.-Hil), que estas apresentaram maior velocidade de germinação sob estresses salino e térmico. Patanè, Cavallaro e Cosentino (2009), trabalhando com o osmocondicionamento de sementes de sorgo sacarino submetidas à estresses abióticos, afirmam que o *priming* pode ser uma alternativa para atenuar os estresses salino e térmico durante a germinação e crescimento da radícula.

Jeller (2002) constatou que o condicionamento osmótico de sementes de Cassia excelssa *Cassia excelsa* Schrad feito nos potenciais osmóticos de -0,4 e -0,6 MPa das soluções de PEG-6000 foi mais eficiente em superar o estresse salino do meio germinativo ( $\text{NaCl}$  à -1,0 e -1,4 MPa), quando comparado aos resultados obtidos pelas sementes que não

foram condicionadas, ou por aquelas que foram condicionadas em água destilada. A autora associa esses resultados ao fato de que a embebição sob baixos potenciais hídricos ocorre mais lentamente e essa hidratação lenta exerce influência significativa na porcentagem de germinação de sementes, permitindo um maior tempo para a reparação ou reorganização das membranas, possibilitando que os tecidos se desenvolvam de forma mais ordenada e diminuindo os riscos da ocorrência de danos ao eixo embrionário, causado pela rápida embebição.

### **3.5. O problema da salinidade na agricultura**

#### **3.5.1. A salinidade no solo e na água**

A salinidade do solo é um dos fatores de maior preocupação na agricultura moderna, e o manejo inadequado da irrigação é um dos principais responsáveis pelo aumento da quantidade de solos degradados (EPSTEIN; BLOOM, 2006). De um modo geral um solo é considerado salino quando a quantidade de sais existentes é capaz de prejudicar o desenvolvimento das plantas. Para a maioria das culturas isso ocorre quando a condutividade elétrica do extrato de saturação é igual ou superior a  $4 \text{ dS m}^{-1}$  (RICHARDS, 1954). Mas segundo o comitê de terminologia da Sociedade Americana de Ciência do Solo, foi recomendada a redução desse valor para  $2 \text{ dS m}^{-1}$  para algumas culturas (BRESLER; MCNEAL; CARTER, 1982).

De acordo com a classificação do “U.S. Salinity Laboratory”, solos salinos são os que possuem pH inferior a 8,5, condutividade elétrica do extrato de saturação (CEes) superior a  $4 \text{ dS m}^{-1}$  e percentagem de sódio trocável (PST) inferior a 15%; os salinos-sódicos possuem pH próximo de 8,5, CEes superior a  $4 \text{ dS m}^{-1}$  e PST superior a 15% e os solos sódicos possuem pH em geral de 8,5 a 10, CEes inferior a  $4 \text{ dS m}^{-1}$  e PST superior a 15% (DAKER, 1988).

Salinidade é um termo que qualifica uma situação de excesso de sais solúveis no solo ou no ambiente radicular onde as plantas estão crescendo. No entanto, o efeito da salinidade nas propriedades físicas do solo tem caráter positivo dependendo da concentração e da composição dos sais, pois em altas concentrações promovem a floculação das partículas, o que resulta em uma boa estrutura em todo o perfil (PIZARRO, 1978). Contudo, a

predominância de cátions monovalentes, especialmente o sódio, promove um aumento na espessura da dupla camada iônica difusa, aumentando consideravelmente a expansão das partículas de argila (FASSBENDER; BORNEMISZA, 1987), acarretando a dispersão das mesmas, formando camadas impermeáveis dificultando o movimento de ar e de água no solo. Estas alterações ocorrem quando a percentagem de sódio trocável é superior a 15%. Este valor, no entanto, pode variar em função da qualidade da irrigação, do tipo de mineral de argila predominante, e do grau de salinidade do solo (ROLSTON; BIGGAR; NIELSEN, 1984).

No mundo, estima-se que 19,5% das terras irrigadas (45 milhões de hectares) e 2,1% das não irrigadas (32 milhões de hectares) estejam afetadas pelos sais (FAO, 2000). A salinização dos solos é particularmente evidente nas regiões áridas e semi-áridas, atingindo cerca de 25% das áreas irrigadas. Atualmente, estima-se que ocorra uma perda de cerca de 1,5 milhões de hectares de terras aráveis a cada ano devido ao acúmulo de sais (FAO, 2000). Dessa forma, a salinização tem sido identificada como o principal processo de degradação dos solos.

No Brasil, embora a informação sobre as áreas salinas não esteja bem definida, estima-se que 20 a 25% das áreas irrigadas enfrentem problemas de salinização (FAO, 2000). Este problema é mais conspícuo na região Nordeste, a qual possui uma área de 155 milhões de hectares, sendo que 52% dessa superfície é semi-árida (LIRA; FARIS; MAFRA, 1982). Considerando que a prática da irrigação constitui a única maneira de garantir a produção agrícola com segurança no semi-árido e que a implantação dos projetos de irrigação tem sido incrementada nas últimas décadas, configura-se como de grande importância para a produção agrícola nessa região o desenvolvimento de pesquisas que venham a possibilitar um melhor manejo do solo e da água, face às projeções futuras de aumento da população e da demanda por alimentos.

A prática da irrigação nas regiões áridas e semi-áridas é indispensável devido à ocorrência do déficit hídrico para culturas na época seca (OLIVEIRA, 1997). Entretanto, nestas regiões é comum a ocorrência de fontes de água com elevados teores de sais que, antes de serem utilizadas na irrigação, devem ser avaliadas, principalmente sob os aspectos de salinidade, sodicidade e toxicidade de íons. A qualidade da água de irrigação pode variar significativamente de acordo com o tipo e a quantidade de sais nela dissolvidos. Para se prever problema futuro referente à qualidade da água para a irrigação, é importante considerar o potencial da água em criar condições no solo de modo a restringir sua utilização e avaliar a necessidade em ampliar técnicas especiais de manejo para manter bons rendimentos (AYERS;

WESTCOT, 1991).

Esforços têm sido feitos com o objetivo de controlar a salinidade através de meios técnicos, porém a recuperação de um solo inutilizado pelo excesso de sais ou em vias de inutilização, em geral, envolve grandes investimentos e somente em determinadas circunstâncias poderá ser economicamente viável (PRISCO, 1987).

A seleção das práticas de manejo para recuperação de solos afetados por sais depende do diagnóstico correto da natureza e extensão dos problemas de salinidade, e também de condições ambientais favoráveis, que permitam a sua aplicação. Em solos salinos e solos com altos teores de boro, a prática comum é o cultivo de plantas tolerantes, juntamente com gradagens e aplicações de altas lâminas de irrigação para lavagem de sais solúveis em excesso. Em solos sódicos, quando a infiltração é inadequada, opções de manejo são dirigidas para melhorar a condutividade hidráulica do solo. Assim, para melhorar as propriedades físicas do solo, podem ser utilizadas várias combinações de práticas de lavra, uso de corretivos e práticas culturais (GHEYI, 2000). Entretanto essas práticas são muito caras e o uso de espécies ou cultivares adaptáveis a tais condições adversas de solo pode ser uma estratégia promissora para melhorar a produção de alimentos. Nesse sentido, grande ênfase tem sido dada às pesquisas que tratam de aspectos fitotécnicos, tais como modificação das condições de cultivo e melhor manejo do ambiente em que as plantas são cultivadas e aumento da tolerância das culturas à salinidade, através da seleção e melhoramento genético e de domesticação de espécies selvagens (LACERDA, 1995). As práticas de manejo de solos salinos devem incluir combinações de manejo de solo, da água e da planta integralmente. No entanto, embora as diferenças entre as espécies com relação à tolerância à salinidade sejam bem relatadas, há necessidade de trabalhos básicos e aplicados nas áreas de fisiologia, genética e melhoramento de plantas, para melhor entendimento dos processos envolvidos (LACERDA, 2000).

### **3.5.2 Origem dos sais no solo**

Os sais são originados da intemperização dos minerais primários encontrados nos solos e nas rochas. Estes sais são transportados pelas águas e armazenados nos solos acumulando-se à medida que a água é evaporada ou consumida pelas culturas, originando o processo de salinização (DAKER, 1988). Os sais liberados durante o processo de

intemperização das rochas, dependendo da geomorfologia da região, podem ser carregados para horizontes inferiores, mediante percolação, ou levados a lugares distantes por escoamento superficial. Conforme as condições de relevo, fluxo de água, etc., no caso da percolação os sais são depositados nas águas sub-superficiais, podendo, por capilaridade, acumular-se na superfície do solo na medida em que a água for evaporada ou consumida pela planta; o segundo fenômeno, isto é, o escoamento superficial, é responsável pela deposição e acumulação de sais em rios, mares, açudes e lagoas (AYERS; WESTCOT, 1991).

Em regiões de clima árido e semi-árido, por apresentarem déficit hídrico na maior parte do ano, e na maioria das vezes, os solos serem rasos ou apresentarem camadas impermeáveis, a água que contém sais fica sujeita aos processos de evaporação ou evapotranspiração, podendo com o tempo, os sais atingirem níveis comprometedores para o crescimento e desenvolvimento das plantas (GHEYI, 2000).

Embora a fonte principal e direta de todos os sais presentes no solo seja a intemperização das rochas, são raros os exemplos em que esta fonte de sais tenha provocado diretamente problemas relacionados com a salinidade do solo. Comumente a salinização dos solos ocorre pelo acúmulo de sais transportados pelas águas de outros locais assim como invasão das águas de marés nas regiões costeiras e concentração por evaporação em regiões de baixa precipitação quando o lençol freático encontra-se próximo à superfície. A salinização do solo por este fenômeno é denominada salinização primária (RICHARDS, 1954)

Os problemas de salinidade têm sido também associados à água utilizada na irrigação, à drenagem deficiente e à presença de águas sub-superficiais ricas em sais solúveis à pouca profundidade. Nesses casos, ou seja, quando a salinização resultante é devida à ação antrópica, a mesma é conhecida como salinização secundária. Além disso, a salinização pode ser causada pela aplicação de fertilizantes, de forma excessiva e pouco parcelada ao longo do ciclo cultural, induzindo o sistema radicular ao estresse osmótico (AYERS; WESTCOT, 1991).

Em alguns casos a salinização secundária é responsável por perdas irreparáveis na capacidade produtiva dos solos, tornando estéreis grandes extensões de terras cultivadas. Assim, águas de qualidade duvidosa (com riscos de salinidade e sodicidade), adubos com elevado índice salino (cloreto de potássio, nitrato de sódio e nitrato de amônio), drenagem ineficiente, dentre outros fatores, podem acelerar o processo de salinização secundária (OLIVEIRA, 1997).

### **3.6. Respostas gerais das plantas ao excesso de sais**

O estresse salino afeta virtualmente todos os aspectos da fisiologia e metabolismo das plantas (ZHU, 2002). Os efeitos deletérios da salinidade no crescimento das plantas estão associados com a redução do potencial osmótico da solução do solo (estresse hídrico), distúrbios nutricionais, efeitos específicos de alguns íons (estresse iônico) ou uma combinação desses fatores (ASHRAF, 1994). A salinidade afeta o crescimento das plantas, inibindo tanto o processo de divisão como o de expansão celular (ZIDAN; AZAIZEH; NEWMANN, 1990). Geralmente, o primeiro efeito da salinidade no desenvolvimento das plantas é a redução no crescimento, provocado pelo decréscimo no potencial hídrico da solução do solo a nível abaixo do necessário para que ocorra a absorção de água pelas células das raízes, impedindo, por conseguinte, a expansão celular, visto que o potencial de pressão da célula tende a se igualar com o do solo (BOHNERT; NELSON; JENSEN, 1995; TAIZ; ZEIGER, 2004). A redução no potencial hídrico do meio pode induzir o estresse hídrico na planta inteira (PARIDA; DAS, 2005). Além disso, a salinidade reduz a condutividade hidráulica das raízes (SOHAN, JASONI; ZAJICEK, 1999), limitando o fluxo de água e sais para a parte aérea. Posteriormente, o acúmulo excessivo de sais pode levar à morte dos tecidos, órgãos e mesmo da planta inteira (MUNNS, 1993). Isso ocorre, em grande parte, devido aos distúrbios provocados pelos efeitos dos íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  acumulados nas células, os quais afetam vários processos metabólicos (MUNNS, 2002).

Para sobreviverem ao estresse salino, as plantas utilizam vários mecanismos bioquímicos e fisiológicos. As rotas bioquímicas que aumentam a tolerância à salinidade, provavelmente agem aditivamente e sinergisticamente (IYENGAR; REDDY, 1996). Tais estratégias incluem o acúmulo seletivo ou a exclusão de íons, o controle na absorção dos íons e seu transporte para as folhas, a compartimentalização dos íons nas células ou na planta como um todo, síntese de solutos compatíveis, mudanças na rota fotossintética, alteração na estrutura das membranas, indução de enzimas antioxidantes e hormônios vegetais (PARIDA; DAS, 2005).

#### **3.6.1. Acimação e adaptação das plantas ao estresse salino**

No estudo das respostas das plantas a condições de estresse salino, é importante diferenciar as mudanças que ocorrem durante a vida do indivíduo e aquelas que são resultado

de vários ciclos de seleção natural ou artificial de genes e que, portanto, fazem parte da estrutura genética da espécie. No primeiro caso, as mudanças ocorrem em decorrência de modificações fisiológicas temporárias, envolvendo uma série de processos metabólicos em resposta à presença do estresse, dando origem a um processo conhecido como aclimação. No segundo, há uma série de alterações morfo-fisiológicas definitivas que conduzem à evolução da espécie num processo denominado de adaptação. Embora os processos de aclimação e de adaptação envolvam alterações na expressão gênica, somente os mecanismos de adaptação são transmitidos de uma geração para outra (ABREU, 2004).

As respostas das plantas à salinidade ocorrem tanto a nível celular quanto da planta como um todo (YEO, 1998; MANSOUR; SALAMA, 2004). Tais respostas incluem o acúmulo seletivo ou a exclusão de íons, o controle na absorção dos íons pelas raízes, a síntese de solutos compatíveis, mudanças na rota fotossintética, alteração na estrutura das membranas, indução de enzimas antioxidantes e de hormônios vegetais (PARIDA; DAS, 2005).

Um dos mecanismos de tolerância à salinidade que tem recebido bastante atenção é a compartimentalização intracelular dos sais. Como sugerido por Cheeseman (1988), a quantidade de íons que atinge as folhas deve ser limitada para não ultrapassar a capacidade de compartimentalização dos mesmos no vacúolo. As halófitas e glicófitas diferem com relação à eficiência desse controle. Enquanto que nas glicófitas esse controle não é tão eficiente, nas halófitas a compartimentalização dos sais que alcançam as folhas via xilema permite que eles sejam utilizados no ajustamento osmótico sem causar efeitos tóxicos no citosol (GREENWAY; MUNNS, 1980). De acordo com Munns (2002), um modo de aumentar a tolerância das plantas à salinidade seria através de um controle mais eficiente no transporte de íons tóxicos para os órgãos aéreos transpirantes, acumulando-os nas raízes. Por sua vez, o grau de acúmulo de sais nas raízes é função dos processos de exclusão, compartimentalização, velocidade de carregamento e reabsorção de sais no xilema, e depende da seletividade na absorção de íons nas células das raízes (TESTER; DAVENPORT, 2003). Em adição, o fechamento dos estômatos reduz o fluxo transpiratório no xilema e, conseqüentemente, o transporte de íons para a parte aérea (ROBINSON *et al.*, 1997). A redistribuição dos sais a partir das folhas para outros órgãos também pode contribuir para a manutenção do conteúdo de sais nas folhas, embora ela seja menor do que a quantidade de sais que chega pelo fluxo transpiratório (MUNNS, 2002). Muitas halófitas possuem glândulas especializadas que removem os sais que alcançam as folhas e os lançam para o meio externo, mantendo a concentração iônica em níveis baixos (FLOWERS; TROKE; YEO, 1977).

As respostas das plantas à salinidade são muitas vezes acompanhadas por alterações morfológicas e anatômicas (KOZLOWSKI, 1997). Por exemplo, em algumas plantas sob condições de estresse salino, a espessura do mesofilo foliar aumenta devido ao aumento no número e comprimento das células paliçádicas e no número de camadas de células paliçádicas e esponjosas (PARIDA; DAS; MITTRA, 2004). Além disso, conforme esses autores, observa-se também aumentos na quantidade de água por área foliar, ou suculência foliar, à medida que as plantas são expostas a doses crescentes de sais no meio de cultivo. Adicionalmente, ocorre um aumento da suberização das células endodérmicas radiculares e da formação das estrias de Caspary em plantas salinizadas, reduzindo o transporte de  $\text{Na}^+$  pela via apoplástica (REINHARDT; ROST, 1995).

### 3.6.2. Controle do excesso de íons

As plantas não toleram grandes quantidades de sais no citoplasma e, dessa forma, sob condições de estresse salino, elas tanto restringem o excesso de sais nos vacúolos como compartimentalizam os íons em diferentes tecidos, para facilitar suas funções metabólicas (NIU *et al.*, 1995; IYENGAR; REDDY, 1996). Uma vez que o NaCl é o principal sal encontrado nos solos salinos, várias pesquisas têm focado os sistemas de transporte que utilizam o  $\text{Na}^+$  como soluto osmótico (BLUMWALD; AHARON; APSE, 2000; HASEGAWA *et al.*, 2000). Do ponto de vista energético, os íons  $\text{Na}^+$  são mais econômicos para a redução do potencial hídrico das células que os solutos compatíveis que são sintetizados em resposta aos sais (TAIZ; ZEIGER, 2004). Entretanto, vários processos metabólicos podem ser afetados negativamente pela presença em excesso de  $\text{Na}^+$  no citosol (BLUMWALD; AHARON; APSE, 2000). Quando os íons  $\text{Na}^+$  se acumulam em excesso, nas folhas, podem ocorrer o surgimento de manchas necróticas e a queima de suas pontas (LACERDA, 1995; BOSCO, 2006).

A homeostase intracelular do  $\text{Na}^+$  e a tolerância à salinidade são modulados pelo  $\text{Ca}^{2+}$ , sendo que altas concentrações externas de  $\text{Na}^+$  afetam negativamente a absorção de  $\text{K}^+$  (NIU *et al.*, 1995). O  $\text{Na}^+$  compete com o  $\text{K}^+$  por um sistema de transporte comum, sendo que o  $\text{Ca}^{2+}$  aumenta a seletividade de acúmulo intracelular nesse sistema de transporte em favor do  $\text{K}^+$  (MAATHUIS *et al.*, 2006), reduzindo assim os efeitos deletérios da salinidade. Devido ao efeito benéfico do  $\text{Ca}^{2+}$ , sua adição ao ambiente radicular tem sido sugerida como um meio



de aumentar a tolerância das plantas ao estresse salino (EPSTEIN; BLOOM, 2006). A absorção em excesso de  $\text{Cl}^-$  também provoca alteração no metabolismo como, por exemplo, inibição da fotossíntese provocada por seu acúmulo nos cloroplastos e o surgimento de injúrias nas folhas (TAIZ; ZEIGER, 2004). O  $\text{Cl}^-$  é acumulado rapidamente nas folhas mais jovens nos estágios iniciais de crescimento (COSTA *et al.*, 2003), se tornando um sério problema para seu desenvolvimento.

O controle do balanço iônico é um dos processos mais importantes na determinação da tolerância das plantas a ambientes salinos. Dessa forma, vários grupos de pesquisa têm trabalhado na obtenção de plantas transgênicas que superexpressam elementos responsáveis pelo controle da homeostase iônica sob salinidade. A expressão de proteínas reguladoras de leveduras, as quais controlam os níveis intracelulares de  $\text{K}^+$  e  $\text{Na}^+$ , e a superexpressão dos antiportes  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  vacuolar (APSE *et al.*, 2002) e de membrana plasmática (SHI *et al.*, 2003), bem como da  $\text{H}^+$ -pirofosfatase vacuolar (GAXIOLA *et al.*, 2001), em plantas de *Arabidopsis thaliana*, conferiram aumento na tolerância das plantas à salinidade. Esses resultados indicam que quando se deseja selecionar um genótipo com maior tolerância ao estresse salino, uma importante característica a ser observada é a capacidade de manutenção da homeostase iônica.

### 3.6.3. Ajustamento osmótico

As plantas reduzem o potencial osmótico de suas células ao acumular íons do meio externo, ou pela mobilização de seus próprios constituintes orgânicos, sendo tal processo denominado de ajustamento osmótico ou osmorregulação (YAMAGUCHI; BLUMWALD, 2005). Muitas das plantas que toleram o efeito do estresse salino o fazem por sintetizar compostos orgânicos, conhecidos como solutos compatíveis. Eles são em número bastante limitado, pois somente poucos compostos podem existir em concentrações relativamente altas no citoplasma sem causar danos às enzimas (LACERDA *et al.*, 2003)

Convém lembrar que, ao contribuir para a realização do ajustamento osmótico, os íons podem exercer efeitos tóxicos sobre as plantas. A interferência dos sais ocorre diretamente na atividade enzimática e, em consequência, processos fisiológicos e bioquímicos, tais como: respiração, fotossíntese e metabolismo de proteínas e ácidos nucleicos são afetados (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Desse modo, as plantas tolerantes à salinidade devem ser capazes de ajustar o seu potencial osmótico, o que envolve tanto a absorção e a acumulação de íons como a síntese de solutos orgânicos. Embora estes dois mecanismos tenham sido usados como base de classificação das plantas halofíticas, eles geralmente operam juntos. O mecanismo dominante varia entre espécies de planta e, em alguns casos, entre partes da planta.

Quando expostas a vários tipos de estresses, as plantas acumulam solutos osmóticos não tóxicos, por isso chamados de solutos compatíveis. Os solutos que se acumulam variam muito entre as espécies de plantas. Podem ser açúcares simples (principalmente glucose e frutose), açúcares álcoois (glicerol e inosítois metilados), açúcares complexos (trealose, rafinose e frutanas) (BOHNERT; JENSEN, 1996), polióis cíclicos (MERCHANT; ADAMS, 2005), compostos quaternários de amônio derivados de aminoácidos (glicina betaína, alanina betaína, prolina betaína), aminoácidos, aminas terciárias e compostos sulfonados (ASHRAF; HARRIS, 2004). Geralmente, é aceito que o aumento na osmolaridade celular, devido ao acúmulo de solutos compatíveis, é acompanhado pelo aumento no influxo de água ou, pelo menos, redução no seu efluxo, proporcionando, assim, a turgescência necessária para a expansão celular (HARE; CRESS; VAN-STADEN, 1998).

Os solutos compatíveis, apesar de se acumularem em elevadas concentrações no citosol, auxiliando na manutenção do equilíbrio osmótico com os vacúolos, quando estes compartimentalizam íons em excesso, não interferem com as reações bioquímicas normais (BRAY; BAILEY-SERRES; WERETILNYK, 2000; HASEGAWA *et al.*, 2000), pois têm efeito mínimo no pH e no balanço de cargas do citosol e compartimentos lumenais das organelas (PARIDA; DAS, 2005). É importante destacar, que a tolerância à desidratação depende, também, da habilidade das células de manterem a integridade de suas membranas e prevenir a desnaturação das proteínas. Os solutos compatíveis também atuam na proteção das proteínas, membranas e lipossomos sob condições ambientais adversas (CROWE; HOEKSTRA; CROWE, 1992; ASHRAF; HARRIS, 2004).

A síntese de solutos compatíveis é realizada, frequentemente, através do desvio de intermediários metabólicos básicos para outras reações bioquímicas (PARIDA; DAS, 2005). A alteração das rotas metabólicas normais, pela superexpressão de enzimas envolvidas na síntese de solutos compatíveis, tem sido uma técnica utilizada para obtenção de plantas mais tolerantes aos estresses hídrico e salino (BOHNERT; JENSEN, 1996). A utilização de técnicas de transformação deve ser vista com cautela, porém. Apesar de ser muito importante para o estudo das funções fisiológicas e bioquímicas dos solutos compatíveis, quando se pensa no cultivo agrícola dessas plantas deve-se observar se o desvio de uma determinada rota

bioquímica para a síntese de solutos compatíveis não interfere na produção da cultura sob condições normais de cultivo.

### 3.6.4. Proteção contra danos oxidativos

#### a) Sistemas antioxidativos de defesa

Outro aspecto comum aos estresses ambientais é o aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), tais como o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), o radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) e o radical hidroxil ( $HO^{\bullet}$ ), os quais são altamente reativos e podem alterar o metabolismo celular normal (ALSCHER; DONAHUE; CRAMER, 1997).

As plantas têm sistemas antioxidativos de defesa (não enzimáticos e enzimáticos) presentes em diversos compartimentos subcelulares que, usualmente, são suficientes para evitar o dano oxidativo durante períodos de crescimento sob condições normais e de estresse moderado (BRAY; BAILEY-SERRES; WERETILNYK, 2000). Entretanto, quando estressadas severamente, a produção de ROS pode exceder a capacidade de neutralização dos sistemas antioxidativos e o dano oxidativo pode ocorrer (KANG; SALTVEIT, 2001). Os sistemas não enzimáticos incluem antioxidantes de baixa massa molecular, hidrofílicos, como o ácido ascórbico e a glutatona reduzida, ou lipofílicos, como o  $\alpha$ -tocoferol e os carotenóides (McKERSIE; LESHEM, 1994). Os enzimáticos incluem as enzimas dismutase do superóxido (SOD), catalase (CAT), peroxidases não específicas (POX) e as enzimas do ciclo ascorbato-glutationa (ou via enzimática Halliwell-Asada): peroxidase do ascorbato (APX), redutase do monodesidroascorbato (MDHAR), redutase do desidroascorbato (DHAR) e redutase da glutatona (GR) (SHALATA *et al.*, 2001).

O radical superóxido é produzido regularmente nos cloroplastos e mitocôndrias, embora pequenas quantidades também sejam produzidas nos peroxissomos, glioxissomos e retículo endoplasmático (McKERSIE; LESHEM, 1994). A SOD, enzima presente em cloroplastos, mitocôndrias, citosol e peroxissomos, converte o  $O_2^{\bullet-}$  a  $H_2O_2$ , o qual é metabolizado a  $H_2O$  pela CAT e diferentes classes de peroxidases. A CAT, que é encontrada

em peroxissomos, citosol e mitocôndrias, dismuta  $\text{H}_2\text{O}_2$  em  $\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{O}_2$ . As peroxidases (POX e APX) são distribuídas por toda a célula e catalisam a redução do  $\text{H}_2\text{O}_2$  a  $\text{H}_2\text{O}$ . A POX, que é encontrada no citosol, vacúolo e parede celular, é pouco específica quanto ao substrato doador de elétrons e decompõe  $\text{H}_2\text{O}_2$  pela oxidação de co-substratos tais como compostos fenólicos (ex. guaiacol ou pirogallol) ou ascorbato. Já a APX, que como as demais enzimas do ciclo ascorbato-glutationa é encontrada em cloroplastos, mitocôndrias, citosol e peroxissomos e catalisa o primeiro passo do ciclo ascorbato-glutationa, reduzindo o  $\text{H}_2\text{O}_2$  a  $\text{H}_2\text{O}$  às custas da oxidação de ascorbato a monodesidroascorbato, o qual é reduzido novamente a ascorbato pela ação da MDHAR. Alternativamente, duas moléculas de monodesidroascorbato podem dismutar-se não enzimaticamente em uma de ascorbato e uma de desidroascorbato. Este último é reduzido a ascorbato através da rota DHAR e GR. Nesta rota, a glutaciona é oxidada pela ação da DHAR e, em seguida, é novamente reduzida pela ação da GR. Independentemente da rota utilizada (via MDHAR ou DHAR e GR), a regeneração do ascorbato tem como doador final de elétrons o NADPH (BRAY; BAILEY-SERRES; WERETILNYK, 2000; KANG; SALTVEIT, 2001).

Como pode ser observado, os sistemas enzimáticos são destinados a minimizar as concentrações de superóxido e peróxido de hidrogênio, muito embora estas espécies químicas sejam menos tóxicas que o radical hidroxil. Entretanto, este radical pode ser produzido não enzimaticamente pela reação entre  $\text{O}_2^{\bullet}$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$ , na presença ou não de íons  $\text{Fe}^{2+}$ , através das reações de Fenton e de Haber-Weiss, respectivamente. Os radicais hidroxil podem causar danos oxidativos a lipídios, proteínas, ácidos nucleicos e outras macromoléculas importantes, afetando severamente o metabolismo vegetal e, conseqüentemente, o crescimento e a produção (McKERSIE; LESHEM, 1994; ALSCHER; DONAHUE; CRAMER, 1997; IMLAY, 2003; SAIRAM; TYAGI, 2004).

Acredita-se que as enzimas do sistema antioxidativo estejam envolvidas com os principais mecanismos de tolerância das plantas a estresses ambientais. Dessa forma, estudos recentes têm mostrado uma correlação entre a tolerância à salinidade e a presença de um eficiente sistema antioxidativo nos genótipos tolerantes. Dentre estes, pode-se relatar as pesquisas de Sairam, Rao e Srivastava (2002), em *Triticum aestivum* L., Vaidyanathan *et al.* (2003) e Demiral e Türkan (2005), em *Oriza sativa* L., Bor, Özdemir e Türkan (2003), em *Beta vulgaris* e Azevedo Neto *et al.*, 2006, em *Zea mays*.

#### b) As espécies reativas de oxigênio e a peroxidação de lipídios

De modo geral, as ROS geradas sob condições de estresses hiperosmótico e hiperiônico são altamente reativas e provocam sérias alterações no metabolismo celular, causando peroxidação dos lipídios de membrana, oxidação de proteínas e ácidos nucleicos e danos físicos na estrutura do fotossistema II, podendo ocasionar morte celular (McKERSIE; LESHEM, 1994; MELONI *et al.*, 2003).

A peroxidação dos lipídios da membrana tem início com a remoção de um átomo de hidrogênio do grupo metileno dos ácidos graxos poliinsaturados, resultando na formação de um radical livre lipídico. Esse radical sofre rearranjo em suas duplas ligações produzindo dienos conjugados, que podem reagir com o oxigênio molecular, originando um radical peroxilipídico o qual pode promover a remoção de um átomo de hidrogênio de um lipídio adjacente para formar um hidroperoxilipídio ou um endoperoxilipídio. A formação de um endoperoxilipídio a partir de ácidos graxos poliinsaturados, contendo pelo menos três grupos metilenos alternados por duplas ligações, pode conduzir à formação de malondialdeído (MDA) (BUEGE; AUST, 1978).

A quantidade de lipídios peroxidados aumenta gradualmente com o aumento da salinidade (GOSSETT *et al.* 1994). Em plantas lenhosas e frutíferas, o teor de MDA é frequentemente utilizado como marcador do grau de dano oxidativo, observando-se maior acúmulo em genótipos que mostram menor tolerância a altos níveis de sais (SUDHAKAR; LAKSHMI; GIRIDARAKUMAR, 2001; ARBONA *et al.*, 2003; MELONI *et al.*, 2003). Shalata e Tal (1998) observaram que espécies silvestres de tomateiro (*Lycopersicum pennellii*) têm níveis baixos de MDA, que não aumentam significativamente com o incremento da salinidade, como acontece com as espécies cultivadas. A melhor proteção dessa espécie vegetal contra o dano oxidativo deve-se à expressão constitutiva das enzimas dismutase do superóxido (SOD) e peroxidase do ascorbato (APX) e à indução da catalase (CAT) e da redutase do monodesidroascorbato (MDHAR).

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, C. E. B. **Alterações fisiológicas e bioquímicas em plântulas de cajueiro anão-**

**precoce submetidas à salinidade em duas condições de cultivo.** 2004. 126 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2004.

ALENCAR, N. L. M. **Aspectos fisiológicos e bioquímicos da germinação e desenvolvimento inicial das plântulas de mandacaru (*Cereus jamacaru* D.C.).** 2009. 105 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.

ALSCHER, R. G.; DONAHUE, J. L.; CRAMER, C. L. Reactive oxygen species and antioxidants: relationship in green cells. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 100, p. 224-233, 1997

ANDREOLI, C.; KHAN, A. A. Integration of physiological, chemical and biological seed treatments to improve stand establishment and yield of vegetables. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v. 533, n. 31, p. 31-39, 2000.

APSE, M. P.; BLUMWALD, E. Engineering salt tolerance in plants. **Current Opinion in Biotechnology**, Amsterdam, v. 13, p. 146-150, 2002.

AQUINO, A. J. S. **Avaliação do crescimento e de mecanismos de tolerância à salinidade em plantas de sorgo forrageiro irrigadas com águas salinas.** 2005. 73 f. Dissertação (Mestrado em Irrigação e Drenagem) – Centro de Ciências Agrárias, Fortaleza, 2005.

ARAGÃO, C. A.; DANTAS, B. F. Efeito de doses e formas de aplicação de ácido giberélico em sementes de milho super doce. **Informativo Abrates**, Londrina, v. 11, n. 2, p. 345, 2008.

ARBONA, V.; FLORS, V.; JACAS, J.; GARCÍA-AGUSTÍN, P.; GÓMES-CARDENAS, A. Enzymatic and non-enzymatic antioxidant responses of carrizo citrange, a salt-sensitive citrus rootstock, to different levels of salinity. **Plant Cell Physiology**, Hamikyoku, v. 44, p. 388-394, 2003.

AROUCHA, E. M. M.; SILVA, R. F.; NUNES, G. H. S., SANTOS, M. C. A. Condicionamento osmótico na germinação de sementes de mamão (*Carica papaya* L). **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 19, n. 3, p. 272-277, 2006.

ASHRAF, M. Organic substances responsible for salt tolerance in *Eruca sativa*. **Biologia Plantarum**, Praga, v. 36, p. 255-259. 1994.

ASHRAF, M.; HARRIS, P.J.C. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in

plants. **Plant Science**, London, v. 166, p. 3-16, 2004.

AYERS, R. S.; WESTCOT, D. W. **A qualidade da água na agricultura**. Tradução de GHEYI, H. R.; MEDEIROS, J. F.; DAMASCENO, F. A. V. Campina Grande, PB: UFPB, 1991. 218 p.

AZEVEDO-NETO, A. D.; PRISCO, J. T.; ENÉAS-FILHO, J.; ABREU, C. E. B.; GOMES-FILHO, E. Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. **Environmental and Experimental Botany**, Paris, Paris, v. 56, p. 87-94, 2006.

BASAJAVARAJAPPA, B. S.; SHETY, H. S.; PRAKASH, H.S. Membrane deterioration and other biochemical changes, associated with accelerated aging of maize seeds. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 2, n. 2, p. 279-286, 1991.

BETTEY, M.; FINCH-SAVAGE, W. E. Respiratory enzyme activities during germination in *Brassica* seed lots of differing vigour. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 6, n. 7, p. 165-173, 1996.

BEWLEY, J. D. Seed germination and dormancy. **The Plant Cell**, Rockville, v. 9, n. 7, p. 1055-1066, 1997.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2. ed. New York: Plenum Press, 1994. 445 p.

BITTENCOURT, M. L. C.; DIAS, D. C. F. S.; DIAS, L. A. S.; ARAÚJO, E. F. Germination and vigour of primed asparagus seeds. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 62, n. 4, p. 319-324, 2005.

BLUMWALD, E.; AHARON, G. S.; APSE, M. P. Sodium transport in plant cells. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1465, p. 140-151, 2000.

BOHNERT, H. J.; JENSEN, R. G. Strategies for engineering water stress tolerance in plants. **Trends in Biotechnology**, v. 14, p. 89-97. 1996.

BOHNERT, H. J.; NELSON, D. E.; JENSEN, R. G. Adaptations to environmental stresses. **Plant Cell**, v. 7, p. 1099-1111, 1995.

BOR, M.; ÖZDEMİR, F.; TÜRKAN, I. The effect of salt stress on lipid peroxidation and

antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritima* L. **Plant Science**, London, v. 164, p. 77-84, 2003.

BOSCO, M. R. de O. **Efeitos da salinidade sobre a cultura da berinjela**. 2006. 63 f. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

BRACCINI, A. L.; REIS, M. S.; SEDIYAMA, C. S.; SCAPIM, C. A.; BRACCINI, M. C. L. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja, após o processo de hidratação-desidratação e envelhecimento acelerado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 6, p. 1053-1066, 1999.

BRADFORD, K. J. Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditions. **HortScience**, Alexandria, v. 21, n. 5, p. 1105-1112. 1986.

BRANDÃO JÚNIOR, D. S. **Eletroforese de proteína e isoenzima na avaliação da qualidade de sementes de milho**. 1996. 110 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1996.

BRASIL, Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365 p.

BRAY, C. M.; DAVISON, P. A.; ASHRAF, M.; TAYLOR, R. M. Biochemical changes during osmopriming of leek seeds. **Annals of Botany**, London. v. 63, n. 3, p. 185-193. 1989.

BRAY, E. A.; BAILEY-SERRES, J.; WERETILNYK, E. **Responses to abiotic stresses**. In: BUCHANAN, B. B., GRUISSEM, W.; JONES, R. L. (Ed.). **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**. Rockville: ASPP, p.1158-1203. 2000.

BRESLER, E.; MCNEAL, B. L. E.; CARTER, P.L. **Saline and sodic soils: Principles dynamics, madelling**. Berlim: Springer-verlog, 1982. 249 p.

BROCKLEHURST, P. A; DEARMAN, J. A. A comparison of different chemical of osmotic treatment of vegetable seed. **Annals of Applied Biology**, Warwickhire, v. 105, n. 2, p. 391-398, 1984.

BUCKERIDGE, M. S.; SANTOS, H. P.; TINÉ, M. A. S.; AIDAR, M. P. M. **Mobilização de reservas**. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (eds.). **Germinação, do básico ao aplicado**. Artmed: Porto Alegre, p. 163-185. 2004.



BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods in enzymology**, v. 52, p. 302-310, 1978.

BURGASS, W. R.; POWELL, A. A. Evidence for repair process in the invigoration of seeds by hydration. **Annals of Botany**, London, v. 53, n. 5, p. 753-757, 1984.

CARVALHO, L.F.; MEDEIROS FILHO, S.; ROSSETTI, A.G.; TEÓFILO, E.M. Condicionamento osmótico em sementes de sorgo. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.22, n.1, p.185-192, 2000.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588 p.

CHEESEMAN, J. M. Mechanisms of salinity tolerance in plants. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 87, p. 547-550, 1988.

CHILEMBWE, E. H. H; CASTLE, W. S; CANTLIFFE, D. J. Grading, Hydrating and osmotically priming seed of 4 citrus rootstocks to increase germination rate and seedling uniformity. **Journal American Society for Horticultura Science**, Alexandria, v. 117, n. 3, p. 368-372. 1992.

COPELAND, L. O.; McDONALD, M. B. **Principles of seed science and technology**. New York: Macmillan Publishing Company, p. 34-145, 1985.

CORTE, V. B.; BORGES, E. E. L.; PONTES, C. A.; LEITE, I. T. A.; VENTRELLA, M. C.; MATHIAS, A. A. Mobilização de reservas durante a germinação das sementes e crescimento das plântulas de *Caesalpinia peltophoroides* Benth. (Leguminosae-Caesalpinioideae). **Revista Árvore**, v. 30, n. 6, p. 941-949, 2006.

COSTA, P. H.; SILVA, J. V.; BEZERRA, M. A.; ENÉAS-FILHO, J.; PRISCO, J. T.; GOMES-FILHO, E. Crescimento em níveis de solutos orgânicos e inorgânicos em cultivares de *Vigna unguiculata* submetidos à salinidade. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, p. 289-297, 2003.

CROWE, J. H.; HOEKSTRA, F. A.; CROWE, L. M. Anhydrobiosis. **Annual Review of Physiology**, v. 54, p. 579-599, 1992.

DAKER, A. **A água na agricultura**; manual de hidráulica agrícola. 7.ed. Rio de Janeiro, RJ: Freitas Bastos, 1988. 543 p.

DANTAS, B. F.; SOARES, F. S. J.; LÚCIO, A. A.; ARAGÃO, C. A. Alterações bioquímicas durante a embebição de sementes de baraúna (*Schinopsis brasiliensis* Engl.). **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 30, n. 2, p. 145-152, 2008.

DEARMAN, J.; BROCKLEHURST, P. A.; DREW, R. L. K. Effects of osmotic priming and ageing on the germination and emergence of carrot and leek seeds. **Annals of Applied Biology**, Cambridge, v. 111, p. 717-722, 1987.

DEARMAN, J.; BROCKLEHURST, P.A.; DREW, R.L.K. Effects of osmotic priming and ageing on onion seed germination. **Annals of Applied Biology**, Cambridge, v. 108, p. 639-648, 1986.

DEL GIÚDICE, M. P. **Condicionamento osmótico de sementes de soja** (*Glycine max* L. Merrill). 1996. 130 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1996.

DELOUCHE, J. C., BASKIN, C. C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 1, n. 2, p. 427-452, 1973.

DEMIRAL, T.; TÜRKAN, I. Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. **Environmental and Experimental Botany**, Paris, v. 53, p. 247-257, 2005.

DONATELLI, M.; HAMMER, G. L.; VANDERLIP, R. L. Genotype and water limitation effects on phenology, growth and transpiration efficiency in grain sorghum. **Crop Science**, Madison, v. 32, p. 781-786, 1992.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas**. Londrina: Editora Planta, 2006. 403 p.

EVANS, T. A.; PILL, W. G. Emergence and seedling growth from osmotically primed or pre-germinated seeds of asparagus (*Asparagus officinalis* L.). **The Journal of Horticultural Science**, London, v. 64, n. 3, p. 275-282, 1989.

FAGERIA, N. K.; GHEYI, H. R. **Melhoramento genético das culturas e seleção de cultivares**. In: GHEYI, H. R., QUEIROZ, J. E., MEDEIROS, J. F. (eds.) Simpósio “manejo e controle da salinidade na agricultura irrigada”. Campina Grande, UFPB, p. 363-383. 1997.

FAO. FAOSTAT **Agriculture Data**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acesso em: 15/01/2010.

FAO. Global network on integrated soil management for sustainable use of salt-affected soils. 2000. Disponível em: <<http://www.fao.org/ag/AGL/agll/spush/intro.htm>>. Acesso em: 15 janeiro 2008.

FASSBENDER, H. W.; BORNEMISZA, E. **Química dos solos com ênfase em solos de América Latina**, 2. ed., San José: IICA, 1987. 420 p.

FERNANDES, C. S. **Sorgo - Fertilidade do solo e nutrição de plantas**. In. CURSO DE EXTENSÃO SOBRE A CULTURA DO SORGO, 1980, Vitória de Santo Antão, PE. Curso de extensão sobre a cultura do sorgo. Brasília: EMBRAPA DID, p. 7-13. 1981. (IPA. Documentos, 1).

FERNANDES, P. D.; AZEVEDO, N. C.; BARROS, A. D. Pré-embebição, seguida de secagem sobre o desempenho de sementes de caupi, sob condições de déficit hídrico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 1, p. 57-62, 1994.

FLOWERS, T. J.; TROKE, P. F.; YEO, A. R. The mechanism of salt tolerance in halophytes. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 28, p. 89-121, 1977.

FOTI, S.; COSENTINO, S.L.; PATANÈ, C.; D'AGOSTA, G. Effect of osmoconditioning upon seed germination of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) under low temperatures. **Seed Science and Technology**, v.30, n.3, p.521-533, 2002.

FRETT, T. A.; PILL, W. G. Comparison of priming agents for tomato and asparagus seeds. **HortScience**, Alexandria, v. 26, n. 9, p. 1156-1159, 1991.

FU, J. R.; LU, X. H.; CHEN, R. Z.; ZHANG, B. Z.; LIU, Z. S.; LI, Z. S.; CAI, D. Y. Osmoconditioning of peanut (*Arachis hypogaea* L.) seeds with PEG to improve vigour and some biochemical activities. **Seed Science and Technology**, Zürich. v. 16, n. 5, p. 197-212. 1988.

GALLÃO, M. I.; VIEIRA, I. G. P.; MENDES, F. N. P.; SOUSA, A. S. N.; BRITO, E. S. Reserve mobilisation in mesquite (*Prosopis juliflora*) seeds (Leguminosae). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Davis, v. 87, n. 11, p. 2012-2018, 2007.

GAXIOLA, R.; LI, J.; UNDURRAGA, S., DANG, L. M.; ALLEN, G. J.; ALPER, S.; FINK, G. Drought- and salt-tolerant plants result from overexpression of the AVP1 H<sup>+</sup>-pump.

PNAS, v. 98, p. 11444-11449, 2001.

GHEYI, H. R. Problema de salinidade na agricultura irrigada. *In*: OLIVEIRA, T. S.; ASSIS, R. N.; ROMERO, R. E.; SILVA, J. R. C. (eds). **Agricultura, sustentabilidade e o semi-árido**. Fortaleza: DCS/UFC, 2000, p. 329-346.

GOSSETT, D. R.; MILLHOLLON, E. P.; LUCAS, M. C.; BANKS, S. W.; MARNEY, M. M. The effects of NaCl on antioxidant enzyme activities in callus tissue of salt-tolerant and salt-sensitive cultivars (*Gossypium hirsutum* L.). **Plant Cell Report**, v. 13, p. 498-503, 1994.

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

GUIMARÃES, R. M. **Tolerância à dessecação e condicionamento fisiológico em sementes de cafeeiro** (*Coffea arabica* L.). 2000. 180 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.

HALPIN-INGHAM, B.; SUNDSTROM, F. J. Pepper seed water content, germination response and respiration following priming treatments. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 20, n. 3, p. 589-596, 1992.

HAMPTON, J. G. O que é qualidade de sementes? **Seed News**, New Zeland, set/out. 2001. Disponível em: <<http://www.seednews.inf.br/portugues/seed55/artigocapa55.shtml>>. Acesso em: 11 mai. 2008.

HARE, P. D.; CRESS, W. A.; VAN-STADEN, J. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. **Plant, Cell and Environment**, v. 21, p. 535-553. 1998.

HASEGAWA, P. M.; BRESSAN, R. A.; ZHU, J. K.; BOHNERT, H. J. Plant cellular and molecular responses to high salinity. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 51, p. 463-499, 2000.

HEYDECKER, W.; COOLBEAR, P. Seed treatments for improved performance; survey and attempted prognosis. **Seed science and technology**, Zurich, v. 5, n.2, p. 353-425, 1977.

HEYDECKER, W.; HIGGINS, B. M. The priming of seeds. **Acta horticultural**. Wageningen, v. 83, p. 213-223, 1978.

HEYDECKER, W.; HIGGINS, J.; GULLIVER, R. L. Accelerated germination by osmotic seed treatment. **Nature**, London, v. 246, n. 5427, p. 42-44, 1973.

HEYDECKER, W.; HIGGINS, J.; TURNER, I. J. Invigoration of seeds? **Seed Science and Tecnology**, Zurich, v. 3, n. 3/4, p. 881-888, 1975.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Rio de Janeiro, v. 21 n. 11 p. 1-80, 2009

IMLAY, J. A. Pathways of oxidative damage. **Annual Review of Microbiology**, v. 57, p. 395-418, 2003.

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

IYENGAR, E. R. R.; REDDY, M. P. Photosynthesis in highly salt tolerant plants. In: PESSERKALI, M. (Ed.). **Handbook of Photosynthesis**. Marshal Dekar, Baten Rose. 1996. p. 897-909.

JELLER, H. Pré-condicionamento em sementes de *Cassia excelsa* Schrad. 2002. 81 f. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2002.

KANG, H. M.; SALTVEIT, M. E. Activity of enzymatic antioxidant defense systems in chilled and heat shocked cucumber seedling radicles. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 113, p. 548-556, 2001.

KANG, N. J.; JEOUNG, Y. O.; CHO, J. L.; KANG, S. M. Changes of seed proteins related to low temperature germinability of primed seeds of peppers (*Capsicum annuum*L.). **Journal of the Korean Society for Horticultural Science**, Suwoniv, v. 38, n. 4, p. 342-346, 1997.

KHAN, A. A. Preplant physiological seed conditioning. **Horticultural Review**, Edinburgh, v. 13, p. 131-181, 1992.

KOZLOWSKI, T. T. Responses of woody plants to flooding and salinity. **Tree Physiology**, Monograph n.1, p. 1-29, 1997.

LACERDA, C. F. **Crescimento e acúmulo de solutos orgânicos e inorgânicos em dois genótipos de sorgo forrageiro submetidos a estresse salino**. 2000. 163 f. Tese (Doutorado

em Fisiologia Vegetal) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2000.

LACERDA, C. F. **Efeitos da salinidade no desenvolvimento e composição mineral de feijão-de-corda (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) e utilização do  $\text{Ca}^{2+}$  como meio para minorar tais efeitos.** 1995. 87 f. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição e Plantas) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1995.

LACERDA, C. F.; CAMBRAIA, J.; OLIVA, M. A.; RUIZ, H. A. Osmotic adjustment in roots and leaves of two sorghum genotypes under NaCl stress. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 15, p. 113-118, 2003.

LANTERI S.; PORTIS E.; BERGERVOET H. W.; GROOT S. P. C. Molecular markers for the priming of pepper seeds (*Capsicum annuum* L.). **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, London, v. 75, n. 5, p. 607-611, 2000.

LANTERI, S.; NADA, E.; BELLETTI, P. Effects of controlled deterioration and osmoconditioning on germination and nuclear replication in seeds of pepper (*Capsicum annuum* L.). **Annals of Botany**, New York, v. 77, n. 66, p. 591-597, 1996.

LANTERI, S.; QUAGLIOTTI, L.; BELLETTI, P. Delayed luminescence and priming-induced nuclear replication of unaged and controlled deteriorated pepper seeds (*Capsicum annuum* L.). **Seed Science and Tecnology**, Zürich, v. 26, n. 1, p. 413-424, 1998.

LIRA, M. A.; FARIS, M. A.; MAFRA. R. C. Soil fertility and fertilizer use research in intercropping systems in Northeast Brazil. **Fertilizer and Plant Nutrition Bulletin**, v. 5, p. 151-156, 1982.

LIU, Y.; BINO, R. J.; VAN DER BURG, W. J.; GROOT, S. P. C.; HILHORST, W. M. Effects of osmotic priming on dormancy and storability of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seeds. **Seed Science Research**, New Zealand, v. 6, p. 49-55, 1996.

LOPES, H. M.; FONTES, P. C. R.; MARIA, J.; CECON, P. R.; MALAVASI, M. de M. Germinação e vigor de sementes de cebola (*Allium cepa* L.) influenciados pelo período de temperatura de condicionamento osmótico. **Revista brasileira de sementes**, Brasília, v. 18, n. 2, p. 173-179, 1996.

MAATHUIS, F. J. M. The role of monovalent cation transporters in plant responses to salinity. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, p. 1137-1147, 2006.

MANSOUR, M. M. F.; SALAMA, K. H. A. Cellular basis of salinity tolerance in plants. **Environmental and Experimental Botany**, Paris, v. 52, p. 113-122, 2004.

MARCOS-FILHO, J. Envelhecimento acelerado. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. (eds.). **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal, FUNEP, 1994. p. 133-150.

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

MARCOS-FILHO, J. Testes de vigor: importância e utilização. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA-NETO, J. B. (eds.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES/Comitê de Vigor, 1999. p. 1-21.

MASOJIDEK, J.; TRIVEDI, S.; HALSHAW, L.; ALEXIOU, A.; HALL, D. O. The synergetic effect of drought and light stress in sorghum and pearl millet. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 96, p. 198-207, 1991.

McKERSIE, B. D.; LESHEM, Y. Y. **Stress and stress coping in cultivated plants**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishes, 1994. 256 p.

MEDEIROS FILHO, S.; CARVALHO, L. F.; TEÓFILO, E. M.; ROSSETTI, E. M. Efeito do condicionamento no vigor de sementes de sorgo. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 31, n. 1/2, p. 33-42, 2000.

MELONI, D. A.; OLIVA, M. A.; MARTINEZ, C. A.; CAMBRAIA, J. Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. **Environmental and Experimental Botany**, Paris, v. 49, p. 69-76. 2003.

MERCHANT, A.; ADAMS, M. Stable osmotica in *Eucalyptus spathulata* - responses to salt and water deficit stress. **Functional Plant Biology**, Victoria, v. 32, n. 9, p. 797-805. 2005.

MEXAL, J.; FISHER, J. T.; OSTERYOUNG, J.; REID, P. P. Oxigen availability in polyethylene glycol solutions and its implication in plant-water relations. **Plant physiology**, Lancaster, v. 55, p. 20-24, 1975.

MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 28, p. 239-250, 2002.

MUNNS, R. Physiological processes limiting plant growth on saline soils: some dogmas and

hypotheses. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 16, p. 15-24, 1993.

MURUNGU, F. S.; NYAMUGAFATA, P.; CHIDUZA, C.; CLARK, L. J.; WHALLEY, W. R. Effects of seed priming and water potential on germination of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) and maize (*Zea mays* L.) in laboratory assays. **South African Journal of Plant and Soil**, Johannesburg, v. 2, n. 1, p. 64-70, 2005.

NASCIMENTO, W. M. Condicionamento osmótico de sementes de hortaliças: potencialidades e implicações. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 16, n. 2, p. 106-109, 1998.

NASCIMENTO, W. M.; CANTLIFFE, D. J.; HUBER, D. J. Endo-beta-mannanase activity and seed germination of thermosensitive and thermotolerant lettuce genotypes in response to seed priming. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 1, n. 3, p. 255-264, 2001.

NASCIMENTO, W. M.; WEST, S. H. Drying during muskmelon (*Cucumis melo* L.) seeds priming and its effects on seed germination and deterioration. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 28, p. 211-215, 2000.

NIU, X.; BRESSAN, R. A.; HASEGAWA, P. M.; PARDO, J. M. Ion homeostasis in NaCl stress environments. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 109, p. 735-742, 1995.

OLIVEIRA, A. B.; GOMES-FILHO, E. Germinação e vigor de sementes de sorgo forrageiro sob estresse hídrico e salino. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 31, n. 3, p. 48-56, 2009.

OLIVEIRA, H. P. M. **Efeito de concentrações iso-osmóticas de sais (NaCl + KCl) sobre o crescimento e acúmulo de íons em plantas de sorgo forrageiro**. 2002. 32 f. Monografia (Graduação em Agronomia) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2002.

OLIVEIRA, M. Gênese, classificação e extensão de solos afetados por sais. In: SIMPÓSIO “MANEJO E CONTROLE DA SALINIDADE NA AGRICULTURA IRRIGADA”, 1997, Campina Grande, PB. **Anais...**, Campina Grande: UFPB, p. 3-35, 1997.

PAIXÃO, G. P. **Pré-condicionamento de sementes de quiabo (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench): efeitos sobre a qualidade fisiológica e potencial de armazenamento**. 1998. 56 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1998.



PANDEY, D. K. Priming induced alleviation of the effects of natural ageing derived selective leakage of constituents in French bean. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 17, p. 391-397, 1989.

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

PARIDA, A. K.; DAS, A. B.; MITTRA, B. Effects of salt on growth, ion accumulation, photosynthesis and leaf anatomy of the mangrove, *Bruguiera parviflora*. **Trees**, v. 18, p. 167-174, 2004.

PASSAM, H. C.; KAKOURITIS, D. The effects of osmoconditioning on the germination, emergency and early plant growth of cucumber under saline conditions. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 57, p. 233-240, 1994.

PATANÈ, C. Influence of temperature on seed germination of sulla sweetvetch (*Hedysarum conorarium* L.) population collected in a hilly area of southern Italy. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 28, n. 3, p. 887-890, 2000.

PATANÈ, C.; CAVALLARO, V.; COSENTINO, S. L. Germination and radicle growth in unprimed and primed seeds of sweet sorghum as affected by reduced water potential in NaCl at different temperatures. **Industrial Crops and Products**, Whashington DC, v. 30, n. 1, p. 1-8, 2009.

PELUZIO, L. E.; SILVA, R. F.; REIS, M. S.; CECOM, P. R.; DIAS, D. C. F. S. PELUZIO, J. B. E. Efeito do condicionamento osmótico na embebição e na germinação de sementes de cenoura (*Daucus carota* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 21, p. 161-169, 1999.

PEREZ, S. C. J. G. A.; JARDIM, M. M. Viabilidade e vigor de sementes de paineira após armazenamento, condicionamento e estresses salino e térmico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n. 6, p. 587-593, 2005.

PEREZ, S.C.G.A.; NEGREIROS, G.F. Pré-condicionamento na viabilidade e no vigor de sementes de canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng) Taub) em condições de estresse. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 175-183, 2002.

PITOMBEIRA, J. B. **Notas de aula – Grandes culturas (Cultura do Sorgo)**. 44 p. UFC, 2006.

PIZARRO, F. **Drenaje agrícola y recuperación de suelos salinos**. Madrid: Ed. Agrícola Española, 1978. 512 p.

POMPEU, R. C. F. F. **Valor nutritivo e características fermentativas de silagens de grãos úmidos de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench)**. 2003. 60 f. Monografia (Graduação em Agronomia) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2003.

POSSE, S. C. P.; SILVA, R. F.; SILVA, H. D. V.; CATUNDA, P. H. A. Efeito do condicionamento osmótico na germinação de sementes de pimentão (*Capsicum annuum* L.) submetidas a baixa temperatura. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 123-127, 2001.

POWELL, A. A.; MATTHEWS, S. Electrical conductivity test. In: PERRY, D. A. (Ed.) **Handbook of vigor test methods**. Zürich: ISTA, p. 37-42. 1978.

PRISCO, J. T.; HADDAD, C. R. B.; BASTOS, J. L. P. Hidration-dehydration seed pre-treatment and its effects on seed germination under water stress conditions. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 15, n. 1, p. 31-35, 1991.

PRISCO, J. T. Alguns aspectos da fisiologia do estresse salino. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 3, p. 85-94, 1987.

REINHARDT, D. H.; ROST, T. L. Salinity accelerates endodermal development and induces an exodermis in cotton seedlings in cotton seedlings roots. **Environmental and Experimental Botany**, Paris, v. 35, p. 563-574, 1995.

RHOADES, J. D.; KANDIAH, A.; MASHALI, A. M. **Uso de águas salinas para produção agrícola**. Trad. GHEYI, H. R.; SOUSA, J. R. de.; QUEIROZ, J. E. Campina Grande: UFPB, 2000.

RICHARDS, L. A. **Diagnostic and improvement of saline and alkali soils**. USDA. Agriculture Handbook, 60. Washington: United States Salinity Laboratory, 1954. 160 p.

ROBINSON, M. F.; VÉRY, A. A.; SANDERS, D.; MANSFIELD, T. A. How can stomata contribute to salt tolerance? **Annals of Botany**, London, v. 80, p. 387-393, 1997.

ROLSTON, D. E.; BIGGAR, J. W.; NIELSEN, D. R. Effect of salt on soils. **California Agriculture**, Califórnia, v. 36, n. 10, p. 11-13, 1984.

SAIRAM, R. K.; RAO, K. V.; SRIVASTAVA, G. C. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. **Plant Science**, London, v. 163, p. 1037-1046, 2002.

SAIRAM, R. K.; TYAGI, A. Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. **Current Science**, v. 86, p. 407-421, 2004.

SANTOS, M. C. A.; AROUCHA, E. M. M.; SOUZA, M. S.; SILVA, R. F.; SOUSA, P. A. Condicionamento osmótico de sementes. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 21, n. 2, p. 1-6, 2008

SAVINO, G.; HAIGH, P. M.; LEO, P. de. Effects of presoaking upon seed vigour and viability during storage. **Seed Science and Technology**, Geneve, v. 7, p. 57-64, 1979.

SHALATA, A.; MITTOVA, V.; VOLOKITA, M.; GUY, M.; TAL, M. Response of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii* to salt-dependent oxidative stress: The root antioxidative system. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 112, p. 487-494, 2001.

SHALATA, A.; TAL, M. The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in the leaf of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii*. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 104, p. 169-174, 1998.

SHI, H.; ISHITANI, M.; KIM, C.; ZHU, J.-K. The *Arabidopsis thaliana* salt tolerance gene SOS1 encodes a putative Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter. **PNAS**, v. 97, n. 12, p. 6896-6901, 2003.

SILVA, T. R. G.; CORTELAZZO, A. L.; DIETRICH, S. M. C. Cytological aspects of storage mobilization in seeds of *Dalbergia miscolobium* during germination and plantlet growth. **Ciência e Cultura**, v. 49, n. 3, p. 170-176, 1997.

SILVA, T. R. G.; CORTELAZZO, A. L.; DIETRICH, S. M. C. Variation in storage compounds during germination and early plantlet growth of *Dalbergia miscolobium*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 10, n. 2, p. 119-124, 1998.

SMITH, P. T., COBB, B. G. Accelerated germination of peppers seed by priming with salt solutions and water. **HortiScience**, Alexandria, v. 26, n. 4, p. 417-419, 1991.

SMITH, P. T.; COOB, B. G. Physiological and enzymatic characteristics of primed, re-dried, and germinated pepper seeds (*Capsicum annuum* L.). **Seed Science and Technology**, Zürich. v. 20, n. 6, p. 503-513. 1992.

SOHAN, D.; JASONI, R.; ZAJICEK, J. Plant–water relations of NaCl and calcium-treated sunflower plants. **Environmental and Experimental Botany**, Paris, v. 42, p. 105-111, 1999.

SOLTANI, A.; GHOLIPOOR, M.; ZEINALI, E. Seed reserve utilization and seedling growth of wheat as affected by drought and salinity. **Environmental and Experimental Botany**, Paris, v.55, n.1-2, p.195-200, 2006.

STONE, S. L.; GIFFORD, D. J. Structural and biochemical changes in loblolly pine (*Pinus taeda* L.) seeds during germination and early-seedling grown. I. Storage protein reserves. **International Journal of Plant Science**, v. 158, n. 6, p. 727-737, 1997.

SUDHAKAR, C.; LAKSHMI, A.; GIRIDARAKUMAR, S. Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. **Plant Science**, London, v. 161, p. 613-619, 2001.

SUNG, F. J. M.; CHANG, Y. H. Biochemical activities associated with priming of sweet corn seeds to improve vigor. **Seed Science & Technology**, Zurich, v. 21, p. 97-105, 1993.

SWERINGIN, M. L.; FOLEY, J. R.; MORRIS, W. H. M.; NEVES, J. D. **Sorgo granífero para o Nordeste Brasileiro - Estudo de viabilidade**. Relatório elaborado pela Universidade de Purdue, colaboração com a SUDENE, Ministério da Agricultura, USAID/NE, 1971.

TABOSA, J. N. Water use efficiency in sorghum and corn cultivars under field conditions. **Sorghum Newsletter**, Tucson, v. 30, p. 91-92, 1987.

TABOSA, J. N.; LIMA, G. S.; LIRA, M. A.; TAVARES FILHO, J. J.; BRITO, A. R. M. B. **Programa de melhoramento de sorgo e milho em Pernambuco**. In: QUEIROZ, M. A., GOEDERT, C. O.; RAMOS, S. R. R. (eds.) Simpósio “Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas para o Nordeste Brasileiro”. Petrolina – PE, EMPRAPA Semi-Árido/EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999. 29 p.

TABOSA, J. N.; REIS, O. V. dos; BRITO, A. R. de M. B.; MONTEIRO, M. C. D.; SIMPLÍCIO, J. B.; OLIVEIRA, J. A. C. de; SILVA, F. G. da; AZEVEDO NETO, A. D. de; DIAS, F. M.; LIRA, M. de A.; TAVARES FILHO, J. J.; NASCIMENTO, M. M. A. do; LIMA, L. E. de.; CARVALHO, H. W. L. de; OLIVEIRA, L. R. de. **Comportamento de cultivares de sorgo forrageiro em diferentes ambientes agroecológicos dos Estados de Pernambuco e Alagoas**. Revista Brasileira de Milho e Sorgo, Sete Lagoas, v. 1, n. 2, p. 47-58, 2002.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**, 3 ed. Porto Alegre: Artmed. 2004. 719 p.

TARQUIS, A. M.; BRADFORD, K. J. Prehydration and priming treatments that advance germination also increase the rate of deterioration of lettuce seeds. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 43, n. 248, p. 307-317, 1992.

TAYLOR, A. G.; ALLEN, P.S; BENNETT, M. A.; BRADFORD, J. K.; BURRIS, J. S.; MISRA, M. K. Seed enhancements. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 8, p. 245-256, 1998.

TAYLOR, A. G.; HARMAN, G. E. Concepts and technologies of selected seed treatments. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 28, p. 321-339, 1990.

TESTER, M.; DAVENPORT, R. Na<sup>+</sup> tolerance and Na<sup>+</sup> transport in higher plants. **Annals of Botany**, London, v. 91, p. 503-527, 2003.

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

VAIDYANATHAN, H.; SIVAKUMAR, P.; CHAKRABARTY, R.; THOMAS, G. Scavenging of reactive oxygen species in NaCl-stressed rice (*Oryza sativa* L.) — differential response in salt-tolerant and sensitive varieties. **Plant Science**, London, v. 165, p. 1411-1418, 2003.

VEIGA, A. C. Aspectos econômicos da cultura do sorgo. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 12, n. 144, p. 3-5, 1986.

VOIGT, E. L.; ALMEIDA, T. D.; CHAGAS, R. M.; PONTE, L. F. A.; VIÉGAS, R. A.; SILVEIRA, J. A. G. Source–sink regulation of cotyledonary reserve mobilization during cashew (*Anacardium occidentale*) seedling establishment under NaCl salinity. **Journal of Plant Physiology**, v.166, n.1, p.80-89, jan. 2009.

YAMAGUCHI, T.; BLUMWALD, E. Developing salt-tolerant crop plants: challenges and opportunities. **Trends in Plant Science**, v. 10, p. 615-620, 2005.

YEO, A. Molecular biology of salt tolerance in the context of whole-plant physiology. **Journal of Experimental Botany**, v. 49, p. 915-929, 1998.

YEO, A. Predicting the interaction between the effects of salinity and climate change on crop plants. **Scientia Horticulture**, v. 78, p. 159-174, 1999.

YOON, B. Y.; LANG, H. J.; COOB, B. G. Priming with salt conditions improves germination of pansy seed at high temperatures. **HortScience**, Alexandria, v. 32, n. 2, p. 248-250, 1997.

ZHU, J. K. Salt and drought stress signal transduction in plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 53, p. 247-273, 2002.

ZIDAN, I.; AZAIZEH, H.; NEWMANN, P. M. Does salinity reduce growth in maize root epidermal cells by inhibiting their capacity for cell wall acidification? **Plant Physiology**, Lancaster, v. 93, p. 7-11, 1990.

## Capítulo I

(Artigo publicado na Revista Brasileira de Sementes, v. 31, n. 3, p.48-56, 2009)

## GERMINAÇÃO E VIGOR DE SEMENTES DE SORGO FORRAGEIRO SOB ESTRESSE HÍDRICO E SALINO<sup>1</sup>

*Alexandre Bosco de Oliveira<sup>2</sup>, Enéas Gomes-Filho<sup>3</sup>*

RESUMO – Condições de estresse hídrico e salino durante a fase de germinação afetam a emergência das plântulas no campo e, conseqüentemente, o estande das plantas e o desenvolvimento vegetativo das culturas. Através de dois experimentos objetivou-se avaliar os efeitos dos estresses hídrico e salino na germinação e vigor de sementes de dois genótipos de sorgo forrageiro [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. A semeadura foi realizada no interior de caixas “Gerbox”, sobre duas folhas de papel “germitest” umedecidas com água destilada (controle) ou com soluções de polietilenoglicol 6000, de modo a fornecer os potenciais hídricos de -0,2, -0,4 e -0,8 MPa, ou com NaCl a 75, 150 e 300 mM, respectivamente. A germinação e o vigor das sementes foram avaliados através da primeira contagem (PCG), teste padrão (TG), índice de velocidade (IVG) e tempo médio de germinação (TMG). Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial (2x4), totalizando oito tratamentos, com quatro repetições de 50 sementes cada, em ambos os ensaios. O genótipo CSF 18 teve a germinação afetada somente no maior nível de salinidade (300 mM), observando-se aumento no TMG e redução nas variáveis PCG, IVG e TG. O genótipo CSF 20 apresentou comportamento semelhante, exceto para as variáveis IVG e TMG, as quais foram afetadas pelo NaCl a partir da concentração de 150 mM. O genótipo

---

<sup>1</sup> Submetido em 18 / 02 / 2009. Aceito para publicação em 13 / 08 / 2009.

<sup>2</sup> Eng<sup>o</sup>. Agrônomo, MSc., doutorando em Agronomia/Fitotecnia, CCA/UFC, bolsista do CNPq, Depto de Fitotecnia, CCA/UFC, Caixa Postal 12.168, 60356-001, Fortaleza-CE, aleufc@gmail.com.

<sup>3</sup> Eng<sup>o</sup>. Químico, Prof. Dr., Depto de Bioquímica e Biologia Molecular, CC/UFC, Caixa Postal 6039, 60455-970, Fortaleza-CE, egomesf@ufc.br, autor para correspondência.



CSF 18 apresentou maior tolerância aos estresses hídrico e salino durante a fase de germinação do que o CSF 20.

Termos para indexação: *Sorghum bicolor*, qualidade fisiológica, estresse osmótico, salinidade.

## GERMINATION AND VIGOR OF SORGHUM SEEDS UNDER WATER AND SALT STRESS

ABSTRACT – Salt and water stress during the germination affect the emergence of seedlings in the field and, consequently, the stand of the plants and the growth of crops. Two experiments were conducted to evaluate the effects of water and salt stress on germination and vigor of seeds of two genotypes of sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. The seeding was done inside the boxes "Gerbox", on two sheets of paper "germitest" dampened with distilled water (control) or with solutions of polyethylene glycol 6000 to provide the water potentials of -0.2, -0.4 and -0.8 MPa, or with NaCl at 75, 150 and 300 mM, respectively. The seed germination and vigor were evaluated by the first germination count (FGC), germination test (GT), germination speed index (GSI) and germination average time (GAT). In both studies was used the completely randomized design in factorial (2x4), totaling eight treatments, with four replicates of 50 seeds each. The CSF 18 genotype germination was affected only in higher level of salinity (300 mM) with an increase in the GAT and reduction in variables FGC, GSI and GT. The genotype CSF 20 showed similar behavior, except for GSI and GAT variables, which was affected by NaCl from the concentration of 150 mM. The CSF 18 genotype had greater tolerance to water and salt stress during the germination phase than CSF 20.

Index terms: *Sorghum bicolor*, physiology quality, osmotic stress, salinity.

## INTRODUÇÃO

Nas regiões áridas e semi-áridas, o déficit hídrico e o excesso de sais no solo têm limitado a produção agrícola. Esses fatores afetam negativamente a germinação, o estande das plantas, o desenvolvimento vegetativo das culturas, a produtividade e, nos casos mais graves, causam a morte das plântulas (Silva e Pruski, 1997).

A água é um dos fatores mais importantes que afetam a germinação, pois reativa o metabolismo e está envolvida direta e indiretamente em todas as demais etapas da germinação (Marcos Filho, 2005). Potenciais osmóticos muito negativos atrasam e diminuem a germinação, havendo um nível mínimo de umidade que a semente deve atingir para germinar, o qual depende da composição química e permeabilidade da testa (Verslues et al., 2006). Nesse contexto, é de suma importância a presença de um nível adequado de hidratação que permita a reativação dos processos metabólicos, culminando no crescimento do eixo embrionário (Marcos Filho, 2005).

A alta concentração de sais é outro fator de estresse para as plantas, pois a água é osmoticamente retida em solução salina, assim, o aumento da concentração salina torna-a cada vez menos disponível para as plantas (Munns, 2002). O’Leary (1995), afirma que as sementes são sensíveis à salinidade e, quando semeadas em soluções salinas, observa-se inicialmente uma diminuição na absorção de água, que atua reduzindo a velocidade dos processos fisiológicos e bioquímicos (Flowers, 2004). Tobe et al. (2000) acrescentam que a inibição da germinação ocasionada pela salinidade se deve tanto ao efeito osmótico, ou seja, à “seca fisiológica” produzida, como ao efeito tóxico, resultante da concentração de íons no protoplasma.

O sorgo é reconhecido por sua tolerância moderada aos estresses hídrico (Tabosa et al.,

2002) e salino (Tabosa et al., 2007), podendo constituir em uma alternativa para cultivos sob tais condições. O uso do sorgo se justifica, também, por suas características bromatológicas que, à semelhança do milho, possibilitam fermentação adequada e consequente armazenamento sob forma de silagem, pelos teores elevados de carboidratos solúveis e, até mesmo, de proteína bruta, em algumas variedades, e por suas características agronômicas que, entre outras, incluem elevada produtividade de biomassa (Von Pinho et al., 2006).

O trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar os efeitos dos estresses hídrico e salino sobre a germinação e vigor de sementes de dois genótipos de sorgo forrageiro.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Fisiologia Vegetal, do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, da Universidade Federal do Ceará (UFC), em Fortaleza-CE, nos meses de dezembro de 2008 a janeiro de 2009. Foram utilizadas sementes de dois genótipos de sorgo forrageiro [*Sorghum bicolor* (L) Moench], cedidas pela Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), Recife, PE, avaliados previamente como sensível (CSF 18) e tolerante (CSF 20) ao estresse salino durante a fase de crescimento vegetativo (Lacerda et al., 2003; Silva et al., 2003).

Realizou-se a semeadura sobre duas folhas de papel toalha, tipo Germitest, umedecidas com água destilada (controle) ou com soluções de polietilenoglicol 6000 (PEG-6000) de modo a fornecer os potenciais hídricos de -0,2, -0,4 e -0,8 MPa, no experimento 1 (estresse hídrico), bem como usando soluções de NaCl a 75, 150 e 300 mM, no experimento 2 (estresse salino), na proporção equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato seco. As sementes, em número de 50, foram mantidas no interior de caixas plásticas transparentes de 11 x 11 x 3,0 cm, com tampa, as quais foram vedadas com Parafilm<sup>®</sup> (BRAND, Alemanha) a fim de reduzir

a perda de umidade, e acondicionadas em câmara de germinação tipo BOD, à 25 °C, sob luz constante. As sementes foram avaliadas quanto à germinação e ao vigor, sendo este representado pela primeira contagem de germinação, analisando-se as seguintes variáveis:

**Primeira contagem de germinação** - conduzida juntamente com o teste de germinação, computando-se a porcentagem de plântulas normais no quarto dia após a instalação do ensaio, conforme recomendado por Brasil (1992).

**Teste de germinação** - realizado no décimo dia após a semeadura, por ocasião do final do experimento, considerando-se germinadas as sementes que emitiram raiz primária. Os resultados foram expressos em porcentagem média com base no número de plântulas normais (Brasil, 1992).

**Índice de velocidade de germinação** - calculado pelo somatório do número de sementes germinadas a cada dia, dividido pelo número de dias decorridos entre a semeadura e a germinação, de acordo com a fórmula de Maguire (1962).

$$IVG = (G_1/N_1) + (G_2/N_2) + (G_3/N_3) + \dots + (G_n/N_n), \text{ em que:}$$

IVG = índice de velocidade de germinação,

$G_1, G_2, G_3, \dots, G_n$  = número de plântulas computadas na primeira, segunda, terceira e última contagem;

$N_1, N_2, N_3, \dots, N_n$  = número de dias da semeadura à primeira, segunda, terceira e última contagem.

**Tempo médio de germinação** - obtido através de contagens diárias das sementes germinadas até o décimo dia após a semeadura e calculado através da fórmula abaixo, proposta por Labouriau (1983), sendo os resultados expressos em dias.

$$TMG = \Sigma (n_i t_i) / \Sigma n_i, \text{ em que:}$$

TMG = tempo médio de germinação (dias),

$n_i$  = número de sementes germinadas no intervalo entre cada contagem;

$t_i$  = tempo decorrido entre o início da germinação e a  $i$ -ésima contagem.

Em ambos os ensaios, adotou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições de 50 sementes, em esquema fatorial 2 x 4, tendo como tratamentos a combinação de dois genótipos de sorgo (CSF 18 e CSF 20) e quatro níveis de estresse hídrico (0, -0,2, -0,4 e -0,8 MPa), no experimento 1, ou dois genótipos e quatro níveis de salinidade (0, 75, 150 e 300 mM de NaCl), no experimento 2. Foram ajustadas equações de regressão das características avaliadas como variáveis dependentes dos níveis dos estresses. A análise de variância foi realizada através do teste F, a 1% de probabilidade, e as variâncias dos tratamentos foram testadas quanto à homogeneidade pelo teste de Bartlett, o qual mostrou não haver necessidade de transformar os dados (Banzatto e Kronka, 2006).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Estresse hídrico**

O comportamento germinativo das sementes de ambos os genótipos, sob déficit hídrico induzido pelo PEG-6000, ao longo de dez dias após a semeadura, é apresentado na Figura 1. Com o aumento do déficit hídrico houve um aumento gradativo no número de dias necessários para que o percentual de sementes germinadas se estabilizasse. A estabilização da germinação das sementes do genótipo CSF 18 ocorreu de forma mais rápida e com menor variação de tempo, em torno do 2º ao 4º dia e no 7º dia após a semeadura (DAS), nos tratamentos de zero a -0,4 MPa e de -0,8 MPa, respectivamente (Figura 1). Já no genótipo CSF 20, o qual foi mais afetado pelo estresse hídrico que o CSF 18, observou-se que a germinação variou bastante em função do potencial osmótico da solução do substrato. Nesse

genótipo, de modo semelhante ao observado no CSF 18, o tratamento controle estabilizou-se no 2º DAS, no entanto, à medida que se aumentou o nível de estresse os demais tratamentos tiveram sua evolução de germinação estabilizada aos quatro, seis e oito DAS, respectivamente, nos potenciais hídricos de -0,2, -0,4 e -0,8 MPa.

A diminuição do potencial hídrico afetou linearmente, de forma significativa ( $P \leq 0,01$ ), todas as variáveis analisadas em ambos os genótipos (Figura 2). Resultados semelhantes foram obtidos por Torres (1997), que trabalhando com sementes de sorgo, também observou redução na qualidade fisiológica das sementes em função do estresse hídrico. Isto confirma o relato de Carvalho e Nakagawa (2000), os quais afirmam que a germinação, que é caracterizada como um processo irreversível pode ser considerada como um dos estádios mais críticos durante o ciclo da vida da planta.

Comparando-se os resultados de vigor na primeira contagem (Figura 2A) com os de germinação na contagem final do teste (Figura 2B), percebe-se que o vigor das sementes de sorgo foi mais afetado que a sua germinação, à medida que se aumentaram as concentrações das soluções de PEG-6000. Esse fato tornou-se mais evidente no nível de potencial osmótico de -0,8 MPa, uma vez que se detectaram reduções de 55% e 74% no total de sementes germinadas na primeira contagem para os genótipos CSF 18 e CSF 20, respectivamente, enquanto observaram-se reduções menores, de 37% e 60% no número sementes de sorgo germinadas na contagem final, respectivamente, para os genótipos CSF 18 e CSF 20.

Dell'Aquila (1992) afirma que a habilidade do embrião para sintetizar novas proteínas durante a germinação pode ser um importante processo sensível à hidratação, pois a síntese protéica nos tecidos embrionários é reduzida com o aumento do déficit hídrico. Se o potencial hídrico do substrato de germinação for inferior a -1,5 MPa, os tecidos não crescem e o padrão de síntese protéica e ácidos nucléicos muda significativamente (Dell'Aquila e Spada, 1992). Portanto, há a necessidade de que haja um nível de hidratação adequado durante a fase de

embebição das sementes, de modo que este venha a permitir a reativação dos processos metabólicos, culminando no crescimento do eixo embrionário (Marcos Filho, 2005).

O aumento do déficit hídrico através do incremento nas concentrações de PEG-6000 na solução do substrato foi responsável por decréscimos significativos nos valores médios do índice de velocidade de germinação e aumentos significativos no tempo médio de germinação (Figura 2C e 2D). Portanto, a redução do potencial osmótico da solução do substrato também influenciou a germinação tornando-a mais lenta, em especial no genótipo CSF 20, em detrimento de efeitos menos drásticos sobre o genótipo CSF 18. Braccini et al. (1996) e Moterle et al. (2006) também relataram atraso na germinação de sementes ocasionado pelo déficit hídrico induzido por PEG-6000. Esses fatos podem ser explicados pela diminuição no metabolismo das sementes em função da menor disponibilidade de água para a digestão das reservas e translocação dos produtos metabolizados, sendo estes processos caracterizados por Bewley e Black (1994) por um padrão trifásico da germinação. Para esses autores, o estresse hídrico pode reduzir tanto a porcentagem quanto a velocidade de germinação, com uma grande variação de respostas entre as espécies, desde aquelas muito sensíveis, até as mais resistentes. Dessa forma, sementes resistentes possuem a vantagem ecológica de estabelecer plântulas em áreas onde sementes sensíveis à seca não podem fazê-lo.

### **Estresse salino**

A estabilização da germinação das sementes de ambos os genótipos de sorgo ocorreu por volta do 2º DAS, com exceção para os tratamentos salinos a 300 mM de NaCl, para o genótipo CSF 18, e a 150 mM de NaCl, para o CSF 20, tendo a germinação estabilizada aos 3º e 4º DAS, respectivamente (Figura 3). Portanto, os genótipos estudados tiveram comportamentos diferentes em relação às concentrações salinas. Na germinação de sorgo sob

condições de salinidade, semelhantemente ao que foi observado no experimento com estresse hídrico, o genótipo CSF 18 mostrou-se mais tolerante que o CSF 20. Estes resultados corroboram com a afirmação de Shannon (1997), pois conforme este autor a tolerância à salinidade varia entre espécies, entre variedades/genótipos de uma mesma espécie e até mesmo entre estádios fenológicos de um mesmo genótipo.

Os tratamentos de salinidade provavelmente reduziram o potencial osmótico da solução do substrato, notadamente a 150 mM e 300 mM de NaCl, afetando o processo de embebição das sementes de sorgo, sendo este efeito mais marcante no 2º DAS, atrasando a germinação. Segundo O'Leary (1995), a ocorrência excessiva de sais solúveis no substrato acarreta redução do potencial osmótico e, como consequência, redução do gradiente de potencial hídrico entre o substrato e a semente, dificultando o processo de embebição e comprometendo a germinação. Contudo, Tobe et al. (2000) afirmam que a inibição da germinação ocasionada pela salinidade se deve tanto ao efeito osmótico, ou seja, à “seca fisiológica” produzida, como ao efeito tóxico, resultante da concentração de íons no protoplasma.

A primeira contagem de germinação foi similar em ambos os genótipos, apresentando comportamento linear inversamente proporcional ao incremento na concentração de NaCl (Figura 4A). Observaram-se, por outro lado, diferenças no vigor dos genótipos estudados, de modo que a partir do nível de 150 mM de NaCl, as reduções causadas pela salinidade foram mais drásticas no genótipo CSF 20 do que no genótipo CSF 18. Desse modo, os resultados obtidos demonstram que o teste de primeira contagem de germinação pode ser eficiente para avaliar o vigor de sementes de sorgo submetidas à salinidade. De forma semelhante, Dantas et al. (2007), avaliando a germinação e vigor de sementes de diferentes cultivares de feijão submetidas ao estresse salino, constataram que a primeira contagem de germinação foi um método eficaz para a predição do vigor e diferenciação do nível de tolerância das cultivares ao estresse. Moterle et al. (2006), trabalhando com milho-pipoca, observaram que o estresse



salino proporcionou variações nesse parâmetro de acordo com a cultivar analisada, podendo-se constatar que há um comportamento germinativo diferenciado em função do genótipo estudado.

No teste de germinação foi observado efeito linear inversamente proporcional à salinidade, ou seja, a germinação das sementes foi reduzida à medida que se elevou o nível de NaCl do substrato, alcançando valores, respectivamente, de 33,5 e 15,0% à 300 mM de NaCl nos genótipos CSF 18 e CSF 20 (Figura 4B). Estes resultados concordam com aqueles obtidos por Prisco et al. (1975), que observaram diminuição da germinação de sementes de sorgo em função da elevação da concentração de sais existentes no substrato.

De acordo com Braccini et al. (1996), a diminuição acentuada da germinação das sementes de soja em maiores concentrações de NaCl deve-se à menor quantidade de água absorvida pelas sementes em função da redução do potencial osmótico das soluções. Essa relação também foi verificada por Smith et al. (1989) com sementes de sorgo e milho que tiveram sua germinação uniformemente diminuída com a redução do potencial osmótico, sendo que no potencial de -1,2 MPa não houve sementes germinadas.

À semelhança do que ocorreu com o vigor na primeira contagem e o teste de germinação, novamente o incremento na concentração de NaCl do substrato promoveu um maior decréscimo na velocidade de germinação das sementes de sorgo, representada pela redução no índice de velocidade de germinação e incremento no tempo médio de germinação das sementes (Figura 4C e 4D). Os dados se ajustaram em equações de regressão lineares, que mostram que o genótipo CSF 20 apresentou germinação mais lenta que o CSF 18 em função do estresse salino. Atraso na germinação de sementes ocasionado pelo excesso de sais também foi observado por outros autores em diversas culturas de importância econômica (Braccini et al., 1996; Moterle et al., 2006; Dantas et al., 2007). A diminuição do processo de absorção de água e a entrada dos íons em quantidade suficiente para provocarem toxicidade às

sementes, especialmente o  $\text{Na}^+$  e o  $\text{Cl}^-$ , são apontadas como as principais causas da redução da velocidade dos processos fisiológicos e bioquímicos (Tobe et al., 2000; Flowers, 2004).

Analisando-se os dois experimentos, observa-se que a germinação e o vigor do sorgo foram mais afetados pela salinidade do que pelo estresse hídrico. Esses resultados diferem daqueles de Braccini et al. (1996) que observaram, em sementes de soja, que o PEG-6000 proporcionou efeitos mais drásticos sobre a germinação e vigor das sementes que o NaCl. Todavia, esse fato deve-se, certamente, porque no referido ensaio os autores utilizaram esses agentes osmóticos nos mesmos potenciais e o PEG-6000, por ser um soluto não permeável, induz um déficit hídrico maior. Em contrapartida, no presente trabalho, os valores de potencial osmótico foram diferentes em ambos os experimentos. Utilizando-se a equação de Van't Hoff, citada por Salisbury e Ross (1992), observa-se que as concentrações de NaCl utilizadas no ensaio de estresse salino proporcionaram valores de potencial osmótico bem mais negativos (-0,32, -0,62 e -1,23 MPa) que aqueles obtidos com o PEG-6000 (-0,2, -0,4 e -0,8 MPa).

Os sais de alta solubilidade, tais como o NaCl, exercem menor efeito sobre a “seca fisiológica” no processo germinativo do que o PEG-6000, pois as sementes ao absorverem água do substrato absorvem também os sais, os quais provocam redução do potencial osmótico celular e, conseqüentemente, favorecem o aumento da absorção de água pelas sementes por manterem o gradiente de potencial hídrico entre a semente e o substrato, processo conhecido como “ajustamento osmótico” (Munns, 2002). Quanto ao polietilenoglicol (PEG-6000 e 8000), por outro lado, as moléculas são muito grandes para ultrapassar as paredes celulares, ou seja, este agente osmótico não é absorvido pelas sementes e, por conseguinte, proporciona maior estresse hídrico (Bradford, 1995).

De modo geral, as variáveis mais influenciadas negativamente pelos estresses aplicados foram a primeira contagem de germinação, bem como o índice de velocidade de germinação e

o tempo médio de germinação, verificando-se assim que o déficit hídrico e o excesso de sais proporcionaram uma redução significativa no vigor e velocidade de germinação das sementes de sorgo, principalmente naquelas do genótipo CSF 20 (Figuras 2 e 4). Os resultados obtidos neste experimento divergem daqueles obtidos por Lacerda et al. (2003) e Silva et al. (2003), os quais trabalhando com os mesmos genótipos de sorgo forrageiro na fase de crescimento vegetativo relataram que o genótipo CSF 18 era mais sensível à salinidade do que o CSF 20. Entretanto, comumente têm sido relatadas na literatura diferenças no nível de tolerância ao estresse hídrico (Rauf et al., 2007; Szira et al., 2008) e salino (Chartzoulakis e Klapaki, 2000; Almodares et al., 2007) de várias culturas de importância econômica em função do estágio de desenvolvimento.

Portanto, os dados aqui obtidos revelaram que o genótipo CSF 18, apesar de mais sensível à salinidade que o CSF 20 durante a fase de crescimento vegetativo, apresentou maior tolerância ao estresse salino durante a fase de germinação. Conforme Munns (2002), essas discrepâncias podem estar relacionadas com a espécie, genótipo ou cultivar utilizado, o estágio de desenvolvimento em que o estresse foi aplicado, os níveis e a forma de aplicação de sais e o tempo e duração do estresse.

## CONCLUSÕES

Os estresses hídrico e salino afetaram negativamente o desempenho das sementes de sorgo, reduzindo a germinação e vigor.

Os genótipos mostraram respostas diferenciadas quanto às condições de déficit hídrico e salinidade, sendo que as sementes de sorgo do genótipo CSF 18 apresentaram melhor germinação e vigor em relação às do genótipo CSF 20.

## REFERÊNCIAS

ALMODARES, A.; HADI, M.R.; DOSTI, B. Effects of salt stress on germination percentage and seedling growth in sweet sorghum cultivars. **Journal of Biological Sciences**, Melbourne, v.7, n.8, 1492-1495, 2007.

BANZATTO, D.A.; KRONKA, S.N. **Experimentação agrícola**. 4.ed. Jaboticabal: UNESP, 2006. 237p.

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

BRACCINI, A.L.; RUIZ, H.A.; BRACCINI, M.C.L.; REIS, M.S. Germinação e vigor de sementes de soja sob estresse hídrico induzido por soluções de cloreto de sódio, manitol e polietilenoglicol. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.18, n.1, p.10-16, 1996.

BRADFORD, K.J. Water relations in seed germination. In: KIGEL, J.; GALILI, G. (ed.). **Seed development and germination**. New York: Marcel Dekker Inc., 1995. p.351-396.

BRASIL, Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365p.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p.

CHARTZOULAKIS, K.; KLAPAKI, G. Response of two greenhouse pepper hybrids to NaCl salinity during different growth stages. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.86, n.3, p.247-

260, 2000.

DANTAS, B.F.; RIBEIRO, L.S.; ARAGÃO, C.A. Germination, initial growth and cotyledon protein content of bean cultivars under salinity stress. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.29, n.2, p.106-110, 2007.

DELL'AQUILA, A. Water uptake and protein synthesis in germinating wheat embryos under the osmotic stress of polyethylene glycol. **Annals of Botany**, London. v.69, n.2, p.167-171. 1992.

DELL'AQUILA, A.; SPADA, P. Regulation of protein synthesis in germinating wheat embryos under polyethylene glycol and salt stress. **Seed Science Research**, Wallingford. v.2, n.2, p.75-80. 1992.

FLOWERS, T.J. Improving crop salt tolerance. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v.55, n.396, p.307-319, 2004.

LABOURIAU, L.G. **A germinação das sementes**. Washington: Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos, 1983. 174p.

LACERDA, C.F.; CAMBRAIA, J.; CANO, M.A.O.; RUIZ, H.A.; PRISCO, J.T. Solute accumulation and distribution during shoot and leaf development in two sorghum genotypes under salt stress. **Environmental and Experimental Botany**, Paris, v.49, n.2, p.107-120, 2003.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, n.1, p.176-177. 1962.

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

MOTERLE, L.M.; LOPES, P.C.; BRACCINI, A.L.; SCAPIM, C.A. Germinação de sementes e crescimento de plântulas de cultivares de milho-pipoca submetidas ao estresse hídrico e salino. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.28, n.3, p.169-176, 2006.

MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant Cell Environment**, Oxford, v.25, n.2, p.239-250, 2002.

O'LEARY, J.W. Adaptive components of salt tolerance. In: PESSARAKLI, M. (Ed.) **Handbook of plant and crop physiology**. New York: Marcel Dekker, Inc., 1995. p.577-585.

PRISCO, J.T.; BARBOSA, L.; FERREIRA, L.G.R. Efeitos da salinidade na germinação e vigor de plântulas de *Sorghum bicolor* (L) Moench. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.5, n.1, p.13-17, 1975.

RAUF, M.; MUNIR, M.; UL HASSAN, M.; AHMAD, M.; AFZAL, M. Performance of wheat genotypes under osmotic stress at germination and early seedling growth stage. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v.6, n.8, p.971-975, 2007.

SALISBURY, F.B.; ROSS, C.W. **Plant physiology**. 4.ed. California: Wadsworth Publishing Company, 1992. 682p.

SHANNON, M.C. Genetics of salt tolerance in higher plants. In: JAIWALI, P.K.; SINGH, R.P.; GULATI, A. (Ed.). **Strategies for improving salt tolerance in higher plants**. Oxford: BIJ, 1997, p.265-289.

SILVA, D.; PRUSKI, F.F. **Recursos hídricos e desenvolvimento sustentável da agricultura**. Brasília: MMA/SBH/ABEAS, 1997. 252p.

SILVA, J.V.; LACERDA, C.F.; AZEVEDO NETO, A.D.; COSTA, P.H.A.; ENÉAS FILHO, J.; PRISCO, J.T.; GOMES FILHO, E. Crescimento e osmoregulação em dois genótipos de sorgo submetidos a estresse salino. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.34, n.2, p.125-131, 2003.

SMITH, R.L.; HOVELAND, C.S.; HANA, W.W. Water stress and temperature in relation to seed germination of pearl millet and sorghum. **Agronomy Journal**, Madison, v.81, n.2, p.303-305, 1989.

SZIRA, F.; BÁLINT, A.F.; BÖRNER, A.; GALIBA, G. Evaluation of Drought-Related Traits and Screening Methods at Different Developmental Stages in Spring Barley. **Journal of Agronomy and Crop Science**, Berlin, v.194, n.5, p.334-342, 2008.

TABOSA, J.N.; COLAÇO, W.; REIS, O.V.; SIMPLÍCIO, J.B.; CARVALHO, H.W.L.; DIAS, F.M. Sorghum genotypes evaluation under salinity levels and gamma ray. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.6, n.3, p.339-350, 2007.

TABOSA, J.N.; REIS, O.V.; BRITO, A.R.M.B.; MONTEIRO, M.C.D.; SIMPLÍCIO, J.B.; OLIVEIRA, J.A.C.; SILVA, F.G.; AZEVEDO NETO, A.D.; DIAS, F.M.; LIRA, M.A.; TAVARES FILHO, J.J.; NASCIMENTO, M.M.A.; LIMA, L.E.; CARVALHO, H.W.L.; OLIVEIRA, L.R. Comportamento de cultivares de sorgo forrageiro em diferentes ambientes agroecológicos dos Estados de Pernambuco e Alagoas. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.1, n.2., p.47-58, 2002.

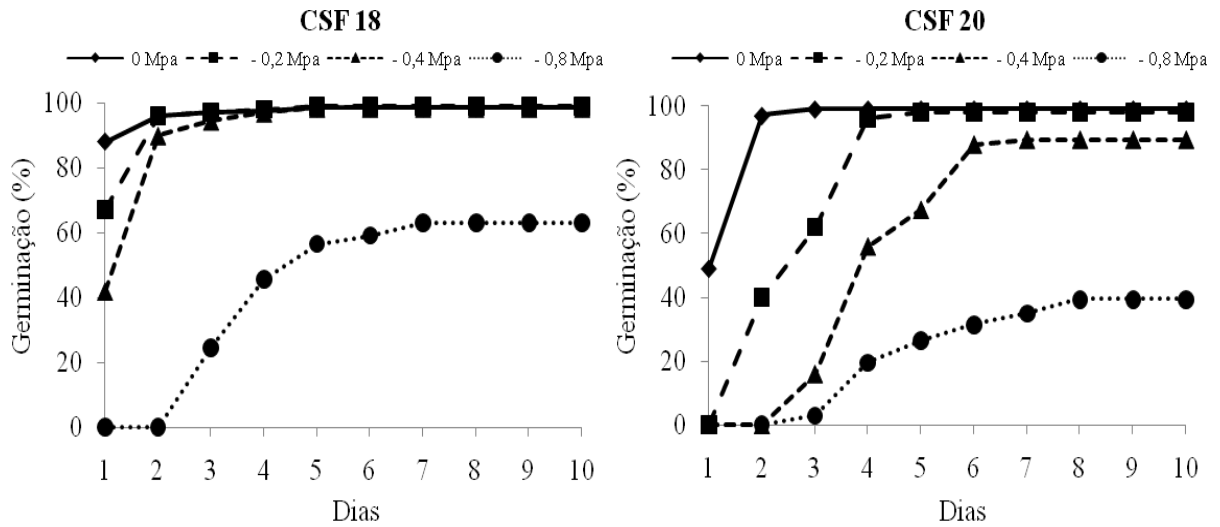
TOBE, K.; LI, X.; OMASA, K. Seed germination and radicle growth of a halophyte, *Kalidium caspicum* (Chenopodiaceae). **Annals of Botany**, London. v.85, n.3, p.391-396, 2000.

TORRES, S.B. Qualidade fisiológica de sementes de sorgo através do teste de estresse hídrico. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.27, n.1, p.31-35, 1997.

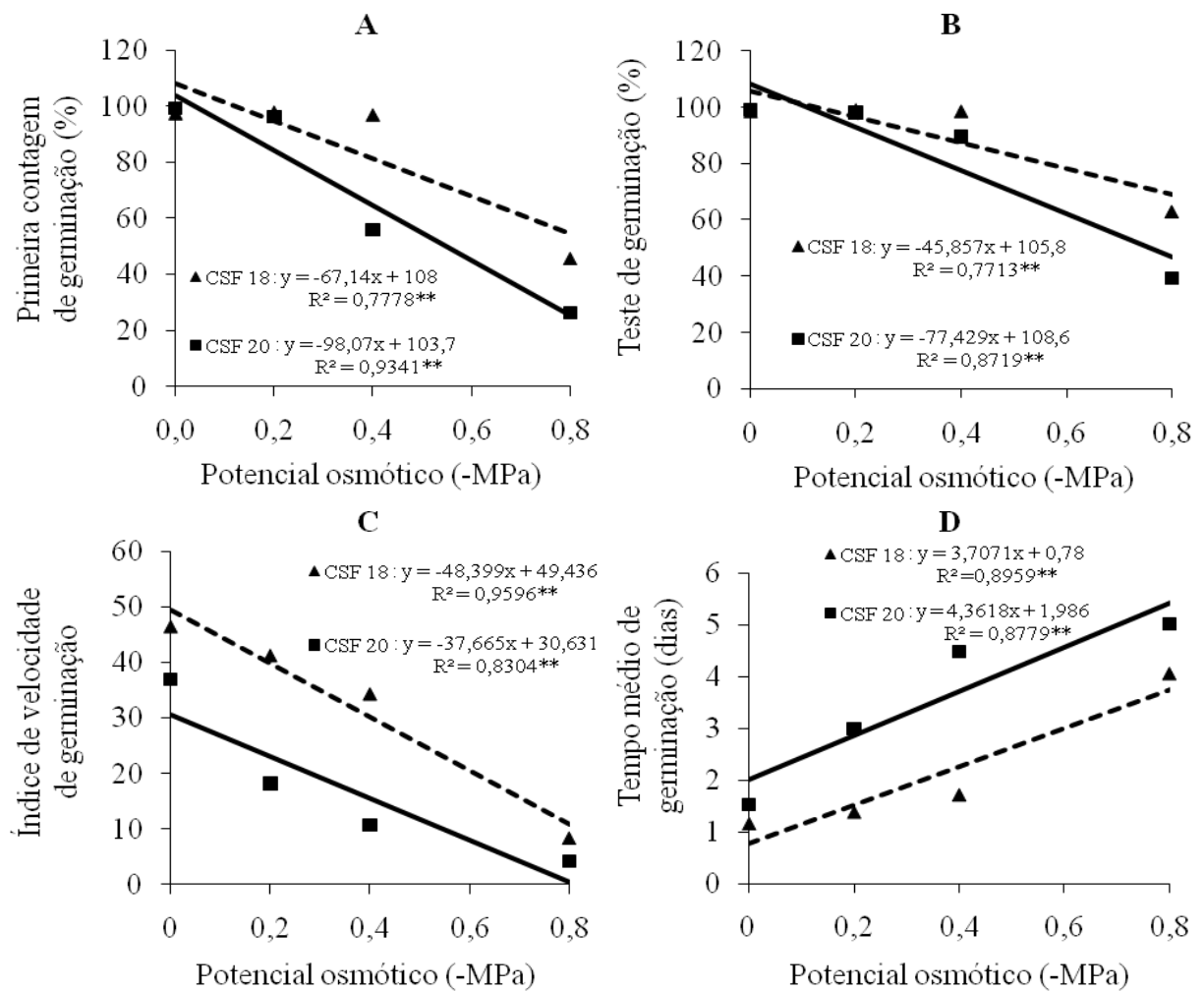
VERSLUES, P.E.; AGARWAL, M.; KATIYAR-AGARWAL, S.; ZHU, J.; ZHU, J.K. Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stress that affect plant water status. **The Plant Journal**, Oxford, v.45, n.4, p.523-539, 2006.

VON PINHO, R.G.; VASCONCELOS, R.C.; BORGES, I.D.; RESENDE, A.V. Influência da altura de corte das plantas nas características agronômicas e valor nutritivo das silagens de milho e de diferentes tipos de sorgo. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.5, n.2, p.266-279, 2006.

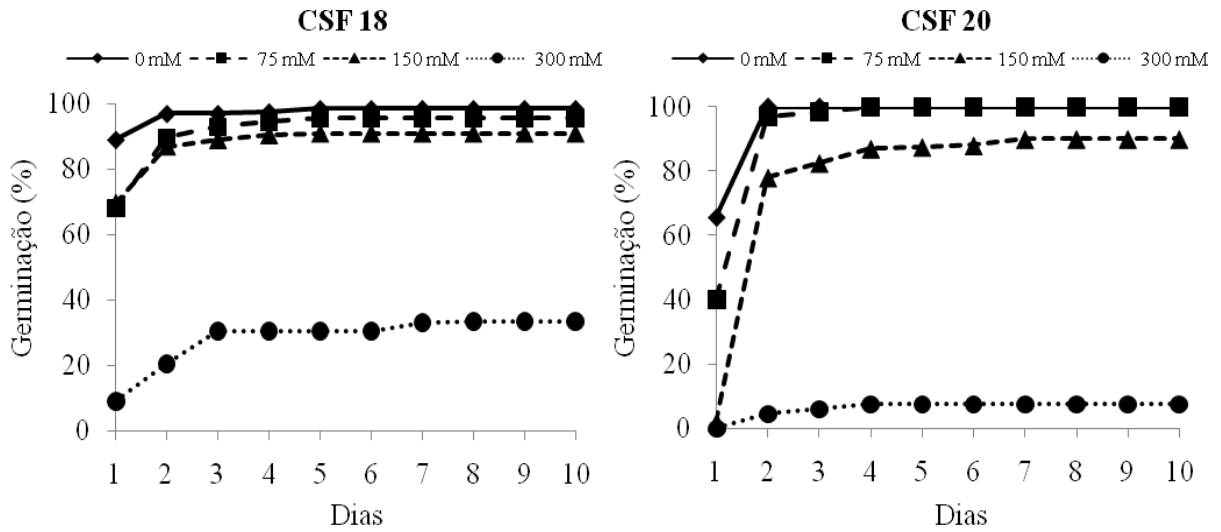




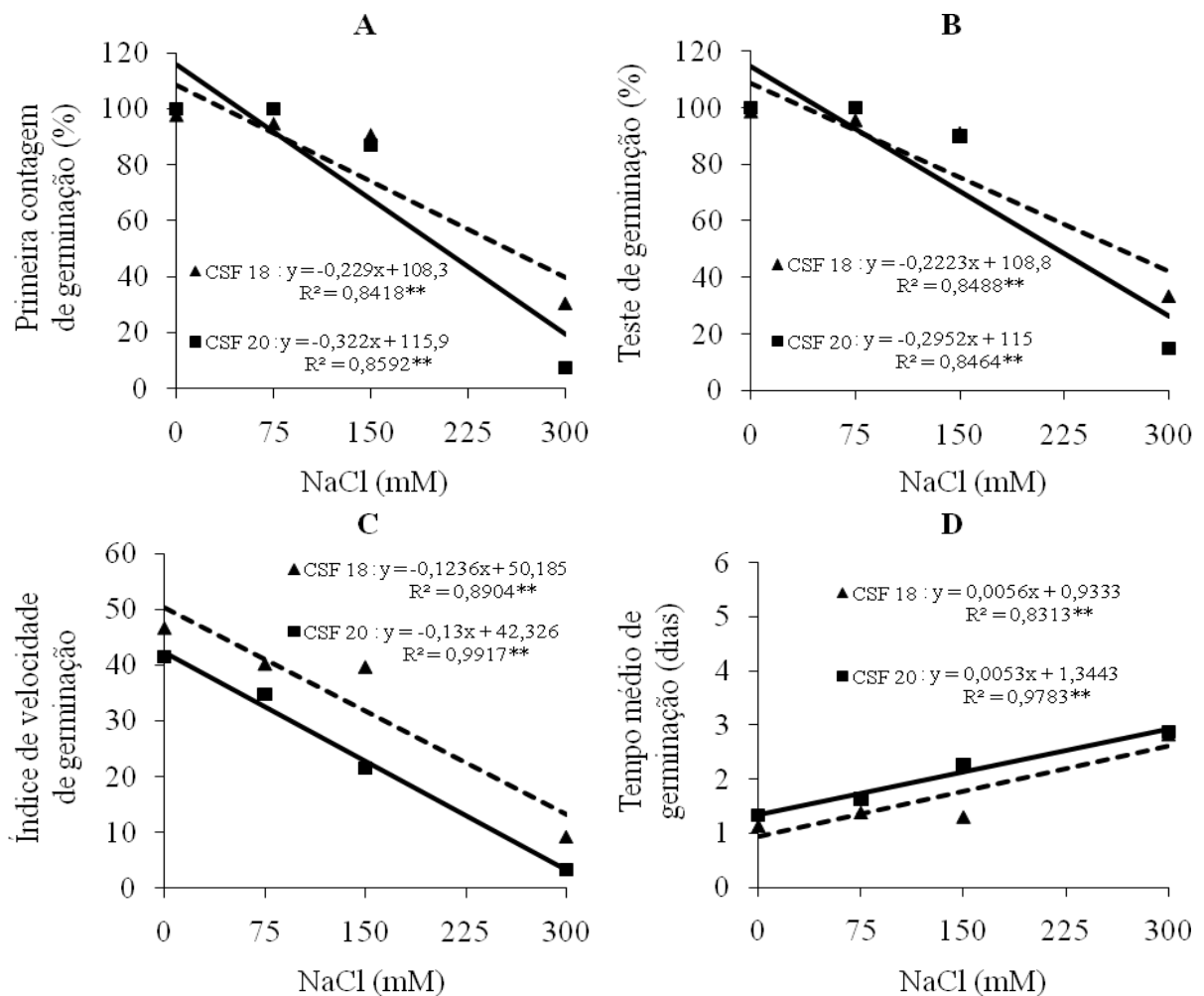
**FIGURA 1.** Evolução da germinação de sementes de dois genótipos de sorgo (CSF 18 e CSF 20) sob diferentes níveis de estresse hídrico.



**FIGURA 2.** Primeira contagem (A), teste (B), índice de velocidade (C) e tempo médio (D) de germinação de sementes de dois genótipos de sorgo (CSF 18 e CSF 20) sob diferentes níveis de estresse hídrico.\*\* Significativo a 1% de probabilidade.



**FIGURA 3.** Evolução da germinação de sementes de dois genótipos de sorgo (CSF 18 e CSF 20) sob diferentes níveis de estresse salino.



**FIGURA 4.** Primeira contagem (A), teste (B), índice de velocidade (C) e tempo médio (D) de germinação de sementes de dois genótipos de sorgo (CSF 18 e CSF 20) sob diferentes níveis de estresse salino.\*\* Significativo a 1% de probabilidade.

## Capítulo II

(Artigo aceito para publicação na Revista Brasileira de Sementes, v. 32, n. 1, p.xx-xx, 2010)

EFEITO DO CONDICIONAMENTO OSMÓTICO NA GERMINAÇÃO E  
VIGOR DE SEMENTES DE SORGO COM DIFERENTES QUALIDADES  
FISIOLÓGICAS

*Alexandre Bosco de Oliveira<sup>1</sup>, Enéas Gomes-Filho<sup>2</sup>*

RESUMO – O objetivo dessa pesquisa foi avaliar o efeito do condicionamento osmótico na germinação e no vigor de sementes de sorgo, cultivar IPA 1011, com diferentes qualidades fisiológicas. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com quatro repetições, no esquema fatorial 2 x 2, constando de quatro tratamentos: 1. sementes envelhecidas; 2. sementes não envelhecidas; 3. sementes envelhecidas e condicionadas osmoticamente e 4. sementes não envelhecidas e condicionadas osmoticamente. A qualidade das sementes foi avaliada por meio do teor de água (TA), massa de mil sementes (MMS), primeira contagem (PCG), teste de germinação (TG), índice de velocidade (IVG) e tempo médio de germinação (TMG), envelhecimento acelerado (TEA), teste de frio (TF), condutividade elétrica (TCE) e lixiviação de potássio (TLK). Os resultados mostraram que o envelhecimento artificial afeta negativamente o desempenho das sementes de sorgo, podendo tais efeitos serem parcialmente revertidos pelo condicionamento osmótico, sendo que essa técnica não influencia a germinação, mas promove benefícios no vigor das sementes de qualidade fisiológica superior e inferior.

Termos para indexação: *Sorghum bicolor*, condicionamento osmótico, potencial germinativo.

---

<sup>1</sup> Eng<sup>o</sup>. Agrônomo, MSc., doutorando em Agronomia/Fitotecnia, CCA/UFC, bolsista do CNPq, Depto de Fitotecnia, CCA/UFC, Caixa Postal 12.168, 60356-001, Fortaleza-CE, aleufc@gmail.com.

<sup>2</sup> Eng<sup>o</sup>. Químico, Prof. Dr., Depto de Bioquímica e Biologia Molecular, CC/UFC, Caixa Postal 6039, 60455-970, Fortaleza-CE, egomesf@ufc.br, autor para correspondência.

## EFFECTS OF THE OSMOCONDITIONING ON THE GERMINATION AND VIGOR OF SORGHUM SEEDS WITH DIFFERENT PHYSIOLOGICAL QUALITIES

**ABSTRACT** – This research was conducted to evaluate the effect of osmotic conditioning on the germination and vigour of seeds of sorghum, cultivar IPA 1011, with different physiological qualities. The experimental design was completely randomized in four replications in a factorial 2 x 2, consisting of four treatments: 1. aged seeds, 2. seed not aged, 3. seed aging and osmoconditioning and 4. seed aging and not osmoconditioning. The quality of seeds was evaluated by means of water content (WC), mass of thousand seeds (MTS), the first germination count (FGC), germination pattern test (GPT), germination speed index (GSI), germination mean time (GMT), accelerated aging test (AAT), cold test (CT), electrical conductivity test (ECT) and leaching of potassium test (LPT). The results showed that the artificial aging negatively affects the performance of sorghum seeds, and such effects are partially reversed by priming, and this technique does not influence germination, but further benefits in seed vigour with top and bottom physiological qualities.

Index terms: *Sorghum bicolor*, osmotic conditioning, germination potential.

### INTRODUÇÃO

O sorgo granífero constitui-se atualmente numa importante alternativa para a alimentação animal em nosso país, especialmente em regiões de baixa disponibilidade de água, por apresentar plantas com elevada produção de grãos e com relativa tolerância à seca e

a temperaturas elevadas. Além disso, as novas cultivares disponíveis no mercado têm alta produtividade, resistência às doenças e boa estabilidade de produção, diminuindo riscos de perdas para o produtor (Mariguele e Silva, 2002). Entretanto, dentre os fatores limitantes, pode-se destacar a dificuldade de se obter sementes com elevada qualidade física, fisiológica, genética e sanitária capazes de proporcionar o estabelecimento adequado de lavouras com populações de plantas uniformes e vigorosas (Carvalho et al., 2000).

O uso de tratamentos pré-semeadura vem sendo estudado como alternativa para proporcionar maior germinação das sementes e emergência de plântulas mais rápida e uniforme no campo. Dentre os tratamentos utilizados, destaca-se o *priming* ou condicionamento osmótico, técnica proposta inicialmente por Heydecker et al. (1975), que envolve o controle da hidratação das sementes, em tempo suficiente para permitir que os processos preparatórios essenciais à germinação ocorram sem que haja protrusão da radícula. Em seguida, as sementes podem ser desidratadas.

O condicionamento osmótico permite o desdobramento de reservas e a síntese de metabólitos necessários à germinação, fazendo com que ocorra uma germinação mais rápida das sementes, diminuindo o seu tempo de exposição às condições desfavoráveis, tais como ataques por microrganismos e deficiência hídrica, dentre outras (Marcos Filho, 2005). Apesar dessa técnica ter sido proposta inicialmente para sementes de hortaliças, trabalhos recentes têm mostrado efeitos benéficos desse tratamento na germinação de sementes e no desenvolvimento inicial de plântulas de outras importantes culturas sob condições ideais ou adversas, conforme observado por Murungu et al. (2005) em milho e algodão, Oliveira et al. (2007) em milho doce e Patanè et al. (2009) em sorgo.

A qualidade fisiológica do lote de sementes é um dos fatores que pode influenciar significativamente nos efeitos do condicionamento osmótico. Segundo Carvalho et al. (2000), a germinação de sementes de sorgo não apresenta resposta significativa ao uso do

condicionamento osmótico com polietilenoglicol (PEG-6000), quando as sementes apresentam alto padrão de qualidade fisiológica. Entretanto, estes autores observaram um aumento de 7 pontos percentuais na germinação de sementes envelhecidas artificialmente (42 °C por 96 h) após o condicionamento osmótico. Essa técnica, realizada com PEG e água do mar, também permitiu um aumento da germinação de sementes de aspargo com baixa qualidade fisiológica (Bittencourt *et al.*, 2005). Resultados semelhantes a esses foram obtidos por Nascimento e Aragão (2004) e Pereira *et al.* (2008) em sementes de melão e cenoura, respectivamente. Essas informações evidenciam um possível efeito favorável do condicionamento osmótico em sementes com qualidade fisiológica inferior. Por outro lado, Medeiros Filho *et al.* (2000), avaliando o vigor de sementes de sorgo osmocondicionadas submetidas ou não ao envelhecimento artificial, constataram através do teste de tetrazólio (Krzyzanowski *et al.*, 1991) que em sementes de qualidade superior o *priming* em PEG-6000 foi mais eficiente do que a imersão apenas em água.

O trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar os efeitos do condicionamento osmótico na germinação e vigor de sementes de sorgo granífero, cultivar IPA 1011, com diferentes qualidades fisiológicas.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no período de março a abril de 2009, nos Laboratórios de Análise de Sementes e de Fisiologia Vegetal pertencentes, respectivamente, aos Departamentos de Fitotecnia e de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal do Ceará (UFC), em Fortaleza, CE. Foram utilizadas sementes de sorgo granífero [*Sorghum bicolor* (L) Moench], cultivar IPA 1011, safra 2008, cedidas pela Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), em Recife, PE, e armazenadas em frascos de vidro contendo

sílica gel, à temperatura de 8 °C.

Para aplicação dos tratamentos, o lote inicial de sementes foi dividido em dois sublotes: em um deles, as sementes foram submetidas ao envelhecimento acelerado de acordo com metodologia descrita por Miranda et al. (2001) para sementes de sorgo, utilizando gerbox adaptado em incubadora BOD a 43 °C, sob umidade relativa do ar próxima de 100%, por 72 horas; o outro sublote de sementes permaneceu sem tratamento (sementes não envelhecidas) e foi utilizado como controle. Após esse procedimento, a metade das sementes de cada um desses sublotes foi submetida ao tratamento de condicionamento osmótico.

Para o condicionamento osmótico das sementes foi empregada a metodologia descrita por Foti et al., 2002 e Patanè et al., 2009, para sementes de sorgo. Para tanto, as sementes foram colocadas em béqueres de 400 mL contendo 200 mL de solução de PEG-6000 a 250 g L<sup>-1</sup> a qual, segundo Michel e Kaufmann (1973), corresponde a um potencial osmótico de -0,86 MPa a 15°C, onde permaneceram por 48 horas. Para a definição deste tempo de condicionamento, foram feitas curvas de absorção de água das sementes envelhecidas e não envelhecidas. Para isso, quatro subamostras de 50 sementes de cada sublote foram postas sobre duas folhas de papel de filtro mata-borrão saturadas com água destilada e colocadas no interior de caixas gerbox (11 x 11 x 3,5 cm) transparentes, com tampas, as quais foram mantidas em câmara de germinação, sob escuro contínuo e temperatura de 15 °C, durante 48 horas. A absorção de água (*AbA*) pelas sementes foi medida nos tempos de embebição de 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 18, 24, 30, 36, 42 e 48 horas. Ao final de cada tempo, as sementes eram retiradas, enxugadas com papel toalha e pesadas, para obtenção do peso úmido. A *AbA*, em percentagem, foi calculada empregando-se a fórmula  $AbA = \left( \frac{P_f - P_i}{P_i} \right) \times 100$ , onde,  $P_f$  representa o peso final das sementes a cada tempo e  $P_i$  o peso inicial das sementes antes da embebição.



O condicionamento osmótico foi conduzido em uma incubadora, sob escuro contínuo e aeração constante, a fim de garantir condições normais de respiração das sementes (Bujalski e Nienow, 1991). Na parte inferior de cada béquer foi fixada uma mangueira estreita, com pedra porosa anexada na ponta, a qual se manteve conectada a uma pequena bomba de aquário, responsável pela insuflação de ar na solução. Após o condicionamento, as sementes foram cuidadosamente lavadas e, em seguida, secas com papel de filtro mata-borrão, por 72 horas, em ambiente de laboratório. As sementes foram desinfetadas em solução de hipoclorito de sódio a 1%, por cinco minutos e utilizadas nos experimentos.

As sementes de cada tratamento foram avaliadas por meio dos seguintes parâmetros ou testes:

**Teor de água (TA)** - foi determinado com base na massa úmida, segundo metodologia descrita por Brasil (1992), utilizando-se quatro subamostras de cinco gramas de sementes para cada tratamento.

**Massa de mil sementes (MMS)** - foram utilizadas oito subamostras de cem sementes para cada tratamento, a partir das quais se estimou a massa de mil sementes, conforme recomendado por Brasil (1992).

**Primeira contagem de germinação (PCG)** - foi determinada juntamente com o teste de germinação, registrando-se a porcentagem de plântulas normais no quarto dia após a instalação do ensaio, conforme as Regras de Análises de Sementes (Brasil, 1992).

**Teste de germinação (TG)** - utilizaram-se 200 sementes por tratamento, em quatro repetições de 50 sementes distribuídas em rolos de papel umedecido com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato seco. A avaliação foi realizada no décimo dia após a semeadura, considerando-se germinadas as sementes que emitiram raiz primária. Os resultados foram expressos em porcentagem média com base no número de plântulas normais (Brasil, 1992).

**Índice de velocidade de germinação (IVG)** - calculado pelo somatório do número de sementes germinadas a cada dia, dividido pelo número de dias decorridos entre a semeadura e a germinação, de acordo com a fórmula definida por Maguire (1962).

**Tempo médio de germinação (TMG)** - obtido através de contagens diárias das sementes germinadas até o décimo dia após a semeadura e calculado através de fórmula proposta por Labouriau (1983), sendo os resultados expressos em dias.

**Teste de envelhecimento acelerado (TEA)** - utilizaram-se 200 sementes por subote, em quatro repetições de 50 sementes, distribuídas numa camada única e uniforme, sobre tela de alumínio fixada em caixa de plástico (gerbox), contendo no fundo 40 mL de água destilada. As caixas plásticas foram mantidas a 43 °C, durante 72 horas (Miranda et al., 2001). Após esse período, foi instalado o teste de germinação e a avaliação foi realizada quatro dias após a semeadura, computando-se a percentagem de plântulas normais (Brasil, 1992).

**Teste de frio (TF)** - foi conduzido utilizando-se rolo de papel, sem solo, conforme recomendações de Cícero e Vieira (1994), em que quatro repetições de 50 sementes foram distribuídas em rolos de papel umedecido com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato seco. Após a semeadura, os rolos foram colocados no interior de sacos plásticos e vedados com fita adesiva, sendo mantidos em câmara regulada a 10 °C, durante sete dias. Após este período, os rolos foram retirados dos sacos plásticos e transferidos para um germinador à temperatura constante de 25 °C, onde permaneceram por quatro dias, quando então foi calculada a porcentagem de plântulas normais.

**Teste de condutividade elétrica (TCE)** - quatro repetições de 50 sementes, para cada lote, foram pesadas e colocadas para embeber em copos plásticos (capacidade de 200 mL) contendo água destilada e mantidas em germinador durante 24 horas à temperatura constante de 25 °C (Vieira e Krzyzanowski, 1999). A leitura da condutividade elétrica da solução foi realizada em condutivímetro da Marca Analyser, modelo 650, sendo os resultados expressos

em  $\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$  de sementes.

**Teste de lixiviação de potássio (TLK)** – utilizou-se o mesmo procedimento adotado para o TCE, com exceção do tempo de embebição das sementes, que neste teste foi de 60 minutos. As leituras foram realizadas em fotômetro de chama MicroNal, modelo B463, sendo os resultados expressos em ppm de potássio por grama de semente (Marcos Filho, 2005).

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições de 50 sementes, em esquema fatorial  $2 \times 2$ , tendo como tratamentos a combinação de dois sublotes com sementes de diferentes qualidades fisiológicas (envelhecidas e não envelhecidas) e de dois grupos distintos (submetidos ou não ao osmocondicionamento). A análise de variância e a comparação de médias foram realizadas através do teste F e Tukey, respectivamente, ambos ao nível de 5% de probabilidade (Banzatto e Kronka, 2006).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes envelhecidas e não envelhecidas apresentaram curvas de absorção de água semelhantes (Figura 1). A fase de maior velocidade de absorção ocorreu do início até duas horas de embebição, enquanto a fase de menor velocidade de absorção ocorreu entre 24 e 48 horas de embebição. Com base nesta curva, estabeleceu-se o tempo de 48 horas para o tratamento de condicionamento osmótico em presença de PEG-6000, tendo em vista a alta percentagem de absorção de água nesse tempo. A água é necessária para a digestão das reservas e translocação dos produtos metabolizados, sendo estes processos caracterizados por um padrão trifásico da germinação (Bewley e Black, 1994). Nesse experimento, também se observou que as sementes não envelhecidas emergiram a radícula com 30 horas de embebição, enquanto que para as sementes envelhecidas isso só ocorreu com 42 horas após a embebição (Figura 1). Esse comportamento pode estar relacionado com uma redução na

divisão e expansão celular em função do envelhecimento das sementes, resultando em uma germinação mais lenta (Sveinsdóttir et al., 2009).

O TA das sementes aumentou significativamente em função dos procedimentos de envelhecimento artificial e de condicionamento osmótico (Figura 2A). Isto evidencia que em ambos os processos houve aumento na absorção de água pelas sementes, uma vez que aquelas não envelhecidas e não condicionadas (testemunha) apresentaram teor de água inferior aos das sementes dos demais tratamentos. Estes resultados estão de acordo com a afirmação de Marcos Filho (1999) de que, durante o envelhecimento, as sementes são submetidas à condições que favorecem seu umedecimento - alta temperatura e elevada umidade relativa do ar.

A MMS de ambos os sublotes de sementes, envelhecidas e não envelhecidas, submetidas ou não ao condicionamento osmótico, foram similares (Figura 2B). Desse modo, apesar das sementes terem absorvido água em quantidades distintas, esta variação não foi suficiente para exercer efeito significativo sobre a variável em questão. A relevância da MMS deve-se a sua utilização para calcular a densidade de semeadura, por ocasião do plantio no campo, bem como, o peso da amostra de trabalho para a análise de pureza em laboratório. Entretanto os resultados obtidos demonstram que para a cultivar em questão, tais parâmetros não seriam afetados.

Os valores de PCG, TG e IVG foram significativamente reduzidos em função do envelhecimento artificial das sementes, porém não foram afetados pelo condicionamento osmótico das sementes de sorgo (Figuras 3A, 3B e 3C). Para sementes não envelhecidas, o valor médio da PCG foi de 85%, enquanto para aquelas submetidas a esse procedimento foi 59%. A redução nessa variável foi concordante com o maior tempo para emersão da radícula das sementes envelhecidas em relação às não envelhecidas, como observado na Figura 1. Além disso, o IVG das sementes não envelhecidas foi superior àquele das envelhecidas, com

valor médio de 7,7 para estas últimas e de 10,8 para as primeiras. A diminuição dos valores deste índice após o envelhecimento natural ou artificial de sementes tem sido atribuída a uma série de alterações metabólicas que ocorrem nas sementes após o envelhecimento acelerado (Sveinsdóttir et al., 2009). Esses resultados demonstram que o envelhecimento artificial foi eficiente para promover a deterioração das sementes, refletida pela menor velocidade de germinação e menores valores de germinação na primeira e na última contagem. Reduções consideráveis nas variáveis em questão também foram observadas por Miranda et al. (2001) em sementes de sorgo submetidas ao envelhecimento acelerado. Quanto ao condicionamento osmótico das sementes de sorgo, Patanè et al. (2009) também constataram que não houve diferença significativa no percentual de germinação de sementes submetidas ou não a esse tratamento. Comportamento semelhante foi observado por Lanteri et al. (1996), Carvalho et al., (2000) e Kikuti et al. (2002) em sementes de pimentão, sorgo e algodão, respectivamente. Esses autores, de forma semelhante ao que foi constatado no presente ensaio, observaram redução significativa na porcentagem de germinação influenciada apenas pela qualidade fisiológica das sementes.

Um dos sintomas mais importantes do declínio da qualidade fisiológica das sementes é o aumento do intervalo da germinação da primeira e da última semente, ou seja, a desuniformidade de emergência entre plântulas de um mesmo lote (Oliveira et al., 2009). Assim, a utilização de técnicas que possam acelerar e, conseqüentemente, trazer uniformidade da germinação das sementes, poderá trazer grandes benefícios para os agricultores (Heydecker e Coolbear, 1977). Contudo no experimento em questão não se observou efeito benéfico da técnica do *priming* sobre a velocidade de germinação das sementes. Resultados similares foram obtidos por Carvalho et al. (2000) em sementes de sorgo, cv. EA-166, submetidas ao condicionamento fisiológico com PEG-6000.

A variável TMG não foi influenciada por nenhum dos fatores avaliados neste

experimento, demonstrando que as sementes de sorgo, cv. IPA 1011 se mostraram insensíveis aos processos de envelhecimento artificial e de condicionamento osmótico (Figura 3D). Dessa maneira, observou-se que o condicionamento osmótico não trouxe vantagem quanto à germinação resultado contrário ao observado por Carvalho et al. (2000), que verificaram efeito favorável na germinação de sementes de sorgo de menor potencial germinativo. Por outro lado, os resultados obtidos na presente pesquisa foram semelhantes aos observados por Kikuti et al. (2002), que relataram que o condicionamento osmótico não foi promissor na melhoria da qualidade fisiológica de sementes de algodão. Essas divergências podem estar relacionadas às diferentes metodologias e materiais genéticos utilizados nos experimentos que envolvem a técnica de condicionamento osmótico de sementes, cujo protocolo deve ser estabelecido criteriosamente em função de cada espécie, ou até mesmo, para cada variedade ou cultivar isoladamente.

As sementes com qualidade fisiológica superior (não envelhecidas) apresentaram resposta positiva ao condicionamento osmótico, aumentando o percentual de sementes germinadas no TEA de 45% para 64% (Figura 4A). Contudo, o mesmo comportamento não foi verificado para as sementes envelhecidas, as quais não tiveram os valores no TEA influenciados por esse tratamento. Os resultados obtidos, portanto, corroboram com aqueles encontrados por Lanteri et al. (1996), os quais relataram em sua pesquisa que o condicionamento osmótico de sementes não submetidas ao envelhecimento artificial induziu as células embrionárias a entrarem na fase de síntese de DNA e, por conseguinte, aumentarem a taxa de multiplicação celular, o que não foi constatado pelos autores nas sementes de baixo vigor. Concordando com os dados obtidos no presente estudo (Figura 4A), outros trabalhos na literatura têm relatado que, sob condições de alta umidade e alta temperatura proporcionadas pelo TEA, o condicionamento com PEG-6000 proporciona melhor desempenho das sementes em relação à testemunha (Medeiros Filho et al., 2000; Kikuti et al., 2005).

Seguindo o mesmo padrão que se observou para o TEA, o desempenho no teste de frio das sementes de sorgo não envelhecidas foi beneficiado pelo tratamento de *priming*, com um acréscimo de 17 pontos percentuais em relação à testemunha (Figura 4B). Tais resultados estão de acordo com aqueles obtidos por Kikuti et al. (2005), tendo em vista que para o TF tais autores encontraram um aumento de 44% na porcentagem de plântulas normais oriundas de sementes osmocondicionadas em relação à testemunha. Os resultados aqui obtidos confirmam os benefícios do osmocondicionamento de sementes de boa qualidade fisiológica sobre o percentual e a velocidade de germinação quando estas são semeadas em condições inadequadas de temperatura (Foti et al., 2002; Patanè et al., 2009). Andrade et al. (1994) também salientaram a sensibilidade das sementes de sorgo em relação às condições de estresse como o teste de envelhecimento acelerado e teste de frio. Os resultados aqui obtidos, portanto, demonstram que o vigor das sementes não apresenta resposta significativa ao uso do condicionamento osmótico com PEG-6000 quando estas apresentam baixo padrão de qualidade fisiológica.

O condicionamento osmótico das sementes de sorgo, tanto envelhecidas como não envelhecidas, promoveu redução significativa no nível de material exsudado na solução utilizada para análise no TCE (Figura 4C). O condicionamento osmótico reduziu o valor da condutividade elétrica do exsudado das sementes não envelhecidas de 44,3 para 23,5  $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ , enquanto nas sementes envelhecidas essa redução foi de 56,8 para 44,3  $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ . Por esses resultados, infere-se que houve reestruturação do sistema de membranas durante o processo de condicionamento osmótico, impedindo que os solutos fossem lixiviados da semente para a água. Comportamento semelhante foi observado por Kikuti et al. (2002) em sementes osmocondicionadas de algodão.

Miranda et al. (2001), trabalhando com sementes de sorgo, observaram que os testes de vigor aplicados às sementes comparativamente aos testes de germinação, proporcionaram

informações mais detalhadas sobre os níveis de qualidade dos diferentes lotes de sementes, principalmente, o TCE. Portanto, destaca-se a importância da utilização conjunta dos resultados de vários testes para a avaliação do potencial fisiológico de sementes, conforme considerou Marcos Filho (1999).

Apesar de ter ocorrido redução da condutividade elétrica da solução de exsudação das sementes osmocondicionadas, independente da qualidade fisiológica destas, os teores de  $K^+$  nessa solução, durante o TLK, decresceram significativamente apenas nas sementes envelhecidas, os quais diminuíram de 18,5 para 15,0 ppm  $g^{-1}$ . Este fato pode estar relacionado com a natureza do material exsudato pela semente de melhor qualidade fisiológica, a qual, certamente, não tinha o  $K^+$  como principal elemento lixiviado. Outro aspecto importante a se destacar é que ainda não há na literatura um protocolo específico para avaliação do vigor de sementes de sorgo através do TLK, porém trabalhos anteriores com outras cultivares de sorgo têm mostrado efeitos benéficos do *priming* sobre as sementes de qualidade fisiológica inferior (Carvalho et al. 2000; Medeiros Filho et al., 2000).

De modo geral, analisando os resultados encontrados neste ensaio, cabe ressaltar a afirmação de Lanteri et al. (1996), de que o condicionamento osmótico de sementes de qualidade fisiológica inferior tem diferentes efeitos na germinação, dependendo do nível de deterioração destas. Heydecker e Coolbear (1977) complementam que lotes de sementes com qualidade fisiológica distintas, respondem diferentemente ao condicionamento osmótico e ressaltam a importância de se relacionar as vantagens do condicionamento osmótico à qualidade fisiológica das sementes.

## CONCLUSÕES

O envelhecimento artificial afeta negativamente o desempenho das sementes de sorgo,



podendo tais efeitos serem parcialmente revertidos pela técnica do condicionamento osmótico.

O osmocondicionamento não influencia a germinação, mas promove benefícios no vigor das sementes de qualidade fisiológica superior e inferior.

## REFERÊNCIAS

ANDRADE, R.V.; AZEVEDO, J.T.; BORBA, C.S.; OLIVEIRA, A.C. Teste de vigor em sementes de sorgo para predizer o armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, v.16, n.1, p.102-106. 1994.

BANZATTO, D.A.; KRONKA, S.N. **Experimentação agrícola**. 4.ed. Jaboticabal: UNESP, 2006. 237p.

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

BITTENCOURT, M.L.C.; DIAS, D.C.F.S.; DIAS, L.A.S.; ARAÚJO, E.F. Germination and vigour of primed asparagus seeds. **Scientia Agricola**, v.62, n.4, p.319-324, 2005.

BRASIL, Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365p.

BUJALSKI, W.; NIENOW, A.W. Large-scale osmotic priming of onion seeds: a comparison of different strategies for oxygenation. **Scientia Horticulturae**, v.46, n.1/2, p.13-24, 1991.

CARVALHO, L.F.; MEDEIROS FILHO, S.; ROSSETTI, A.G.; TEÓFILO, E.M. Condicionamento osmótico em sementes de sorgo. **Revista Brasileira de Sementes**, v.22,

n.1, p.185-192, 2000.

CÍCERO, S.M.; VIEIRA, R.D. Teste de frio. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. (ed.) **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p.151-164.

FOTI, S.; COSENTINO, S.L.; PATANÈ, C.; D'AGOSTA, G. Effect of osmoconditioning upon seed germination of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) under low temperatures. **Seed Science and Technology**, v.30, n.3, p.521-533, 2002.

HEYDECKER, W.; COOLBEAR, P. Seed treatments for improved performance survey and attempted prognosis. **Seed Science and Technology**, v.5, n.2, p.353-425, 1977.

HEYDECKER, W.; HIGGINS, J.; TURNER, I.J. Invigoration of seeds? **Seed Science and Technology**, v.3, n.1, p.881-888, 1975.

KIKUTI, A.L.P.; OLIVEIRA, J.A.; MEDEIROS FILHO, S.; FRAGA, A.C. Armazenamento e qualidade fisiológica de sementes de algodão submetidas ao condicionamento osmótico. **Ciência e Agrotecnologia**, v.26, n.2, p.439-443, 2002.

KIKUTI, A.L.P.; KIKUTI, H.; MINAMI, K. Condicionamento fisiológico em sementes de pimentão. **Revista Ciência Agronômica**, v.36, n.2, p.243-248, 2005.

KRZYZANOWSKI, F.C.; FRANÇA NETO, J.B.; HENNING, J.B. Relato dos testes de vigor disponíveis para grandes culturas. **Informativo ABRATES**, v.1, n.2, p.20-27, 1991.

LABOURIAU, L.G. **A germinação das sementes**. Washington: Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos, 1983. 174p.

LANTERI, S.; NADA, E.; BELLETTI, P.; QUAGLIOTTI, L. BINO, R.J. Effects of controlled deterioration and osmoconditioning on germination and nuclear replication in seeds

of pepper (*Capsicum annum* L.). **Annals of Botany**, v.77, n.6, p.591-597, 1996.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, n.1, p.176-177, 1962.

MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (eds.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. Cap.3, p.1-24.

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

MARIGUELE, K.H.; SILVA, P.S.M. Avaliação dos rendimentos de grãos e forragem de cultivares de sorgo granífero. **Revista Caatinga**, v.15, n.1/2, p.13-18, 2002.

MEDEIROS FILHO, S.; CARVALHO, L.F.; TEÓFILO, E.M.; ROSSETTI, E.M. Efeito do condicionamento no vigor de sementes de sorgo. **Revista Ciência Agronômica**, v.31, n.1/2, p.33-42, 2000.

MICHEL, B.E.; KAUFMANN, M.R. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. **Plant Physiology**, v.51, n.6, p.914-916, 1973.

MIRANDA, D.M.; NOVENBRE, A.D.L.C.; CHAMMA, H.M.C.P. Avaliação do potencial fisiológico de sementes de sorgo pelo teste de envelhecimento acelerado. **Revista Brasileira de Sementes**, v.23, n.1, p.226-231, 2001.

MURUNGU, F.S.; NYAMUGAFATA, P.; CHIDUZA, C.; CLARK, L.J.; WHALLEY, W.R. Effects of seed priming and water potential on germination of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) and maize (*Zea mays* L.) in laboratory assays. **South African Journal of Plant and Soil**, v.2, n.1, p.64-70, 2005.

NASCIMENTO, W. M.; ARAGÃO, F. A. S. Muskmelon seed priming in relation to seed vigor. **Scientia Agricola**, v.61, n.1, p.114-117, 2004.

OLIVEIRA, A.B.; MEDEIROS FILHO, S.; BEZERRA, A.M.E.; BRUNO, R.L.A. Emergência de plântulas de *Copernicia hospita* Martius em função do tamanho da semente, do substrato e ambiente. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.1, p.281-287, 2009.

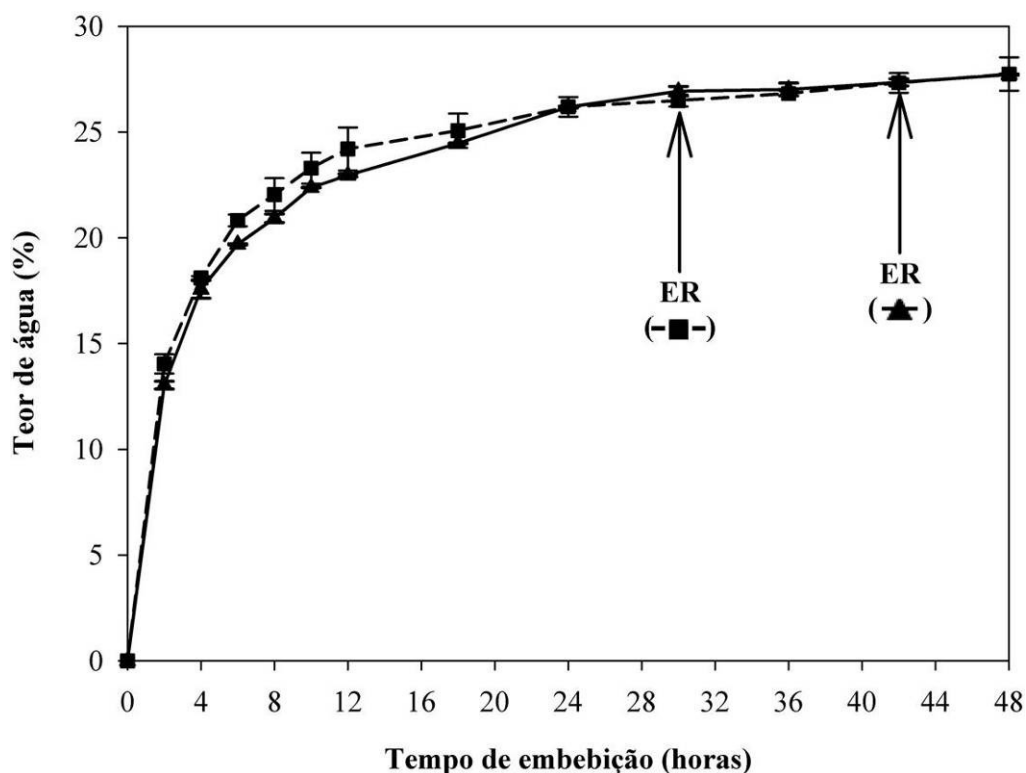
OLIVEIRA, A.S.; SILVA-MANN, R.; SANTOS, M.F.; GOIS, I.B.; BARRETTO, M.C.V. Condicionamento osmótico em sementes de milho doce submetidas ao armazenamento. **Revista Ciência Agronômica**, v.38, n.4, p.444-448, 2007.

PATANÈ, C.; CAVALLARO, V.; COSENTINO, S.L. Germination and radicle growth in unprimed and primed seeds of sweet sorghum as affected by reduced water potential in NaCl at different temperatures. **Industrial Crops and Products**, v.30, n.1, p.1-8, 2009.

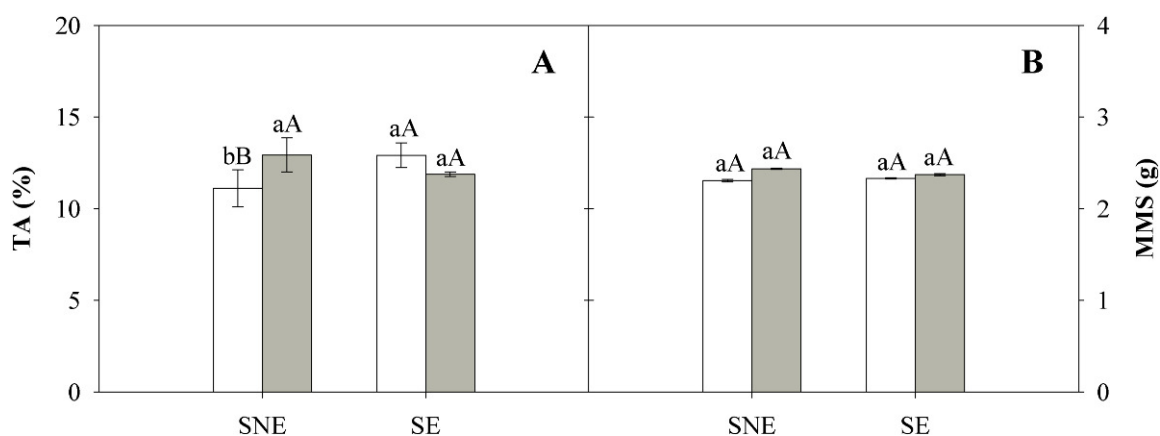
PEREIRA, M.D.; DIAS, D.C.F.S.; DIAS, L.A.S.; ARAÚJO, E.F. Germinação e vigor de sementes de cenoura osmocondicionadas em papel umedecido e solução aerada. **Revista Brasileira de Sementes**, v.30, n.2, p.137-145, 2008.

SVEINSDÓTTIR, H.; YAN, F.; ZHU, Y.; PEITER-VOLK, T.; SCHUBERT, S. Seed ageing-induced inhibition of germination and post-germination root growth is related to lower activity of plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase in maize roots. **Journal of Plant Physiology**, v.166, n.1, p.128-135, 2009.

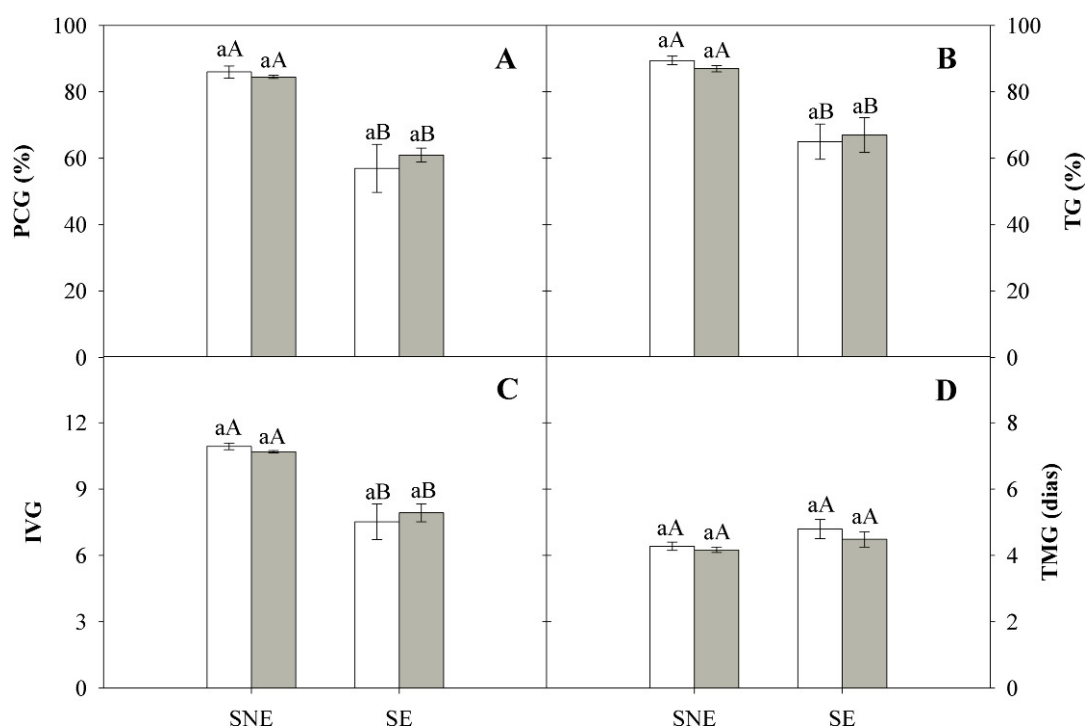
VIEIRA, R.D.; KRZYZANOWSKI, F.C. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (eds). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES. 1999. Cap.4. p.1-26.



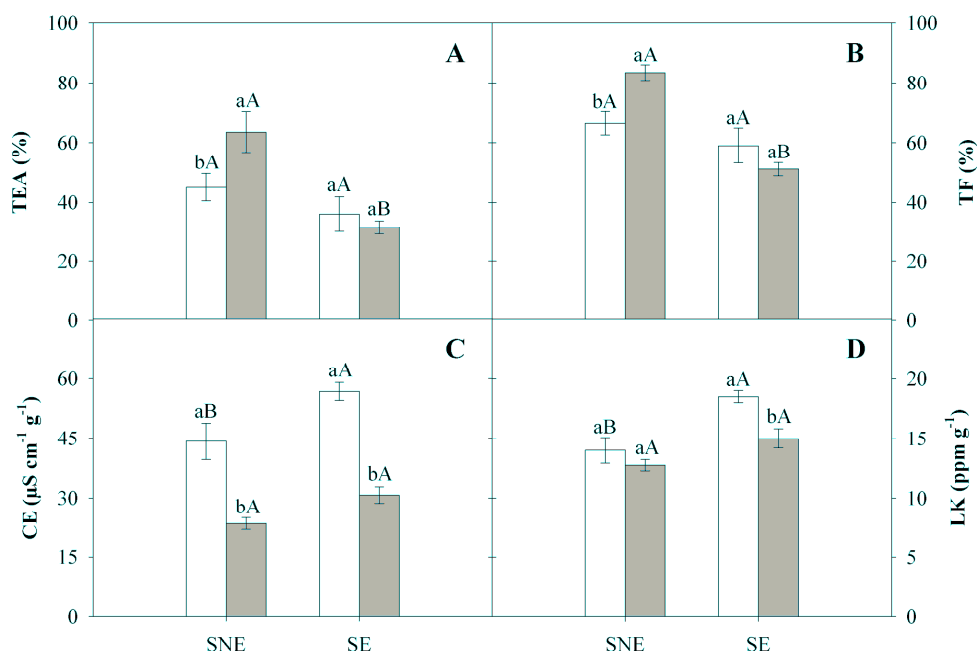
**FIGURA 1.** Curva de embebição de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, submetidas (▲) ou não (■) ao envelhecimento artificial. ER – Emergência da radícula. As barras verticais representam o erro padrão da média.



**FIGURA 2.** Teor de água (TA, A) e massa de mil sementes (MMS, B) de dois sublotes de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas (SNE) e envelhecidas (SE) artificialmente e submetidas (■) ou não (□) ao condicionamento osmótico. Colunas de cores distintas com letras minúsculas iguais, para sementes de mesma qualidade fisiológica, ou colunas de mesma cor com letras maiúsculas iguais, para sementes com diferentes qualidades fisiológicas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras verticais representam o erro padrão da média.



**FIGURA 3. Primeira contagem (PMG, A), germinação (TG, B), índice de velocidade (IVG, C) e tempo médio (TMG, D) de germinação de dois sublotes de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas (SNE) e envelhecidas (SE) artificialmente e submetidas (◻) ou não (□) ao condicionamento osmótico. Colunas de cores distintas com letras minúsculas iguais, para sementes de mesma qualidade fisiológica, ou colunas de mesma cor com letras maiúsculas iguais, para sementes com diferentes qualidades fisiológicas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras verticais representam o erro padrão da média.**



**FIGURA 4.** Valores médios obtidos nos testes de envelhecimento acelerado (TEA, A), de frio (TF, B), de condutividade elétrica (TCE, C) e de lixiviação de potássio (TLK, D) de dois sublotes de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas (SNE) e envelhecidas (SE) artificialmente e submetidas (■) ou não (□) ao condicionamento osmótico. Colunas de cores distintas com letras minúsculas iguais, para sementes de mesma qualidade fisiológica, ou colunas de mesma cor com letras maiúsculas iguais, para sementes com diferentes qualidades fisiológicas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras verticais representam o erro padrão da média.

## Capítulo III

(Artigo submetido para publicação na Revista Ciência e Agrotecnologia)



# ESTABELECIMENTO DE PLÂNTULAS DE SORGO ORIUNDAS DE SEMENTES OSMOCONDICIONADAS DE DIFERENTES QUALIDADES FISIOLÓGICAS<sup>1</sup>

## **Sorghum seedlings establishment from primed seeds with different physiological qualities**

Alexandre Bosco de Oliveira<sup>7</sup>

Enéas Gomes-Filho<sup>8</sup>

### RESUMO

O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito do condicionamento osmótico na emergência e crescimento inicial de plântulas provenientes de sementes de sorgo, cultivar IPA 1011, com diferentes qualidades fisiológicas. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com quatro repetições, no esquema fatorial 2 x 2, constando de quatro tratamentos: 1. sementes envelhecidas; 2. sementes não envelhecidas; 3. sementes envelhecidas e condicionadas osmoticamente e 4. sementes não envelhecidas e condicionadas osmoticamente. Para avaliar o estabelecimento das plântulas em canteiro, foram analisados os standes inicial (EI) e final (EF), o índice de velocidade (IVE) e o tempo médio (TME) de emergência, as massas da matéria seca da raiz (MSR), da parte aérea (MSPA) e total (MST), bem como a relação MSPA/MSR. As sementes osmocondicionadas do subote não envelhecido apresentaram maiores valores para as variáveis EI, EF, MSPA e MST, refletindo o efeito benéfico do condicionamento osmótico sobre o estabelecimento das plântulas oriundas de sementes de qualidade superior. O condicionamento osmótico de sementes de qualidade superior promove incrementos no porcentual de emergência e na produção de massa seca de plântulas no campo.

---

<sup>1</sup> Parte da tese de doutorado do primeiro autor.

<sup>2</sup> Eng. Agrônomo, Professor da Universidade Estadual do Piauí – Rua Almir Benvindo, s/n – Malvinas – 64.860-000 – Uruçuí, PI – aleufc@gmail.com

<sup>3</sup> Eng<sup>o</sup>. Químico, Prof. Dr., Depto de Bioquímica e Biologia Molecular, CC/UFC, Caixa Postal 6039, 60455-970, Fortaleza-CE, egomesf@ufc.br

**Termos para indexação:** *Sorghum bicolor*, envelhecimento de sementes, *priming*, emergência de plântulas, crescimento inicial.

### ABSTRACT

The purpose of this work was to evaluate the effect of the priming on emergence and early growth of sorghum seedlings from seeds, cv. IPA 1011, with different physiological qualities. The experimental design was a completely randomized design with four replications and a 2 x 2, consisting of four treatments: 1. aged seeds, 2. aging seeds 3. aged seeds and osmotically conditioned and 4. aging seeds and osmotically conditioned. To assess the emergence in the field, we analyzed the initial (IS) and end (ES) stand, velocity index (VIE) and mean time (MTE) of emergency, dry weight of root (DWR), shoot (DWS) and total (DWT) and the ratio DWS/DWR. Seeds primed from subplot not aged showed higher values for the variables IS, ES, DWS and DWT, reflecting the beneficial effect of priming on seedlings establishment from high quality seeds. The conditioning of high quality seeds promotes increases in the rate of emergence and dry matter production of seedlings on field.

**Index terms:** *Sorghum bicolor*, seeds aging, priming, seedlings emergence, early growth.

### INTRODUÇÃO

O sorgo é uma planta que pode ser comparada ao milho, em relação ao seu valor agrônômico e nutritivo. No entanto, em termos de exigências e produção, o sorgo aparece como uma alternativa interessante, uma vez que é mais adaptado à seca, dada a sua capacidade de recuperar-se e produzir grãos após um período de estiagem, produzindo mais matéria seca em áreas de solo menos fértil, quando comparado ao milho (Rodrigues et al., 2002). Por sua facilidade de cultivo, resistência à seca, rapidez de estabelecimento e crescimento e, principalmente, por sua facilidade de manejo para corte ou pastejo direto, além

do bom valor nutritivo e da alta produção de forragem ou de grãos, o sorgo têm sido muito bem aceitos pelos pecuaristas (Gontijo Neto et al., 2002). Entretanto, dentre os fatores limitantes de sua produtividade pode-se destacar a dificuldade de se obter sementes com elevada qualidade física, fisiológica, genética e sanitária capazes de proporcionar o estabelecimento adequado de lavouras com populações de plantas uniformes e vigorosas (Carvalho et al., 2000).

Visando solucionar esse problema, diversos tratamentos pré-semeadura têm sido utilizados, dentre eles o condicionamento osmótico ou *priming*, que consiste na hidratação controlada das sementes em uma solução osmótica, de modo a estimular seu metabolismo sem, contudo, permitir a emissão da raiz primária (Heydecker & Coolbear, 1977). Dessa forma, ativa-se a degradação de reservas, bem como sua translocação e assimilação, permitindo que as sementes alcancem um estado metabólico relativamente uniforme ao se interromper o fornecimento de água (Santos et al., 2008).

Várias pesquisas relatam efeitos positivos do condicionamento osmótico no aumento da velocidade de germinação e emergência, proporcionando maior uniformidade do estande, além de proporcionar o estabelecimento das plântulas em condições adversas (Harris et al., 2001; Foti et al., 2002; Costa & Vilela, 2006; Bejandi et al., 2009; Patanè et al., 2009). Conforme Pereira et al. (2009), o condicionamento osmótico das sementes de cenoura em solução de polietilenoglicol 6000 (PEG-6000) aumentou a emergência de plântulas em campo e o desempenho sob temperatura sub e supra-ótima. Trabalhando com sementes de *Echinacea purpurea* (L.) Moench. condicionadas com PEG-6000, Chiu et al. (2006) observaram que esse procedimento proporcionou aumentos na porcentagem e reduções no tempo médio de emergência das plântulas. Carvalho et al. (2000) também relataram efeitos benéficos do condicionamento osmótico, o qual promoveu aumento na velocidade de emergência e na capacidade de estabelecimento das plântulas de sorgo.

Diversos trabalhos têm demonstrado que o vigor das sementes é o componente de qualidade mais influenciado pelo *priming*. Por essa razão, esse tratamento tem sido comumente designado na literatura como revigoração de sementes. O vigor das sementes, com frequência, eleva-se com o condicionamento osmótico, bem como a taxa, sincronia e porcentagem de emergência das plântulas, revelando resultados superiores àqueles obtidos com sementes não tratadas de várias espécies (Marcos Filho, 2005).

O trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar os efeitos do condicionamento osmótico na emergência e crescimento inicial de plântulas de sorgo granífero, cultivar IPA 1011, com diferentes qualidades fisiológicas.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no período de março a abril de 2009, nos Laboratórios de Análise de Sementes e de Fisiologia Vegetal da Universidade Federal do Ceará (UFC), em Fortaleza, CE. Foram utilizadas sementes de sorgo granífero [*Sorghum bicolor* (L) Moench], cultivar IPA 1011, safra 2008, cedidas pela Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), em Recife, PE, e armazenadas em frascos de vidro com sílica gel, à 8 °C.

Para aplicação dos tratamentos, o lote inicial de sementes foi dividido em dois sublotos: em um deles, as sementes foram submetidas ao envelhecimento acelerado de acordo com metodologia descrita por Miranda et al. (2001) para sementes de sorgo, as quais foram distribuídas numa camada única e uniforme, sobre tela de alumínio fixada em caixa de plástico (gerbox), contendo no fundo 40 mL de água destilada. As caixas plásticas foram mantidas em incubadora BOD a 43 °C, sob umidade relativa do ar próxima de 100%, por 72 horas; o outro sublote de sementes permaneceu sem tratamento (sementes não envelhecidas) e foi utilizado como controle. Após esse procedimento, a metade das sementes de cada um desses sublotos foi submetida ao tratamento de condicionamento osmótico.

Para o condicionamento osmótico das sementes foi empregada a metodologia descrita por Foti et al., 2002 e Patanè et al., 2009, para sementes de sorgo. Para tanto, as sementes foram colocadas em béqueres de 400 mL contendo 200 mL de solução de PEG-6000 a 250 g L<sup>-1</sup> a qual, segundo Michel & Kaufmann (1973), corresponde a um potencial osmótico de -0,86 MPa a 15 °C, onde permaneceram por 48 horas. Para a definição do tempo de condicionamento foram feitas curvas de absorção de água das sementes envelhecidas e não envelhecidas, tendo-se observado que 48 horas era o tempo em que as sementes atingiram o máximo de absorção de água (dados não apresentados).

O condicionamento osmótico foi conduzido em uma incubadora, sob escuro contínuo e aeração constante, a fim de garantir condições normais de respiração das sementes (Bujalski & Nienow, 1991). Na parte inferior de cada béquer foi fixada uma mangueira estreita, com pedra porosa anexada na ponta, a qual se manteve conectada a uma pequena bomba de aquário, responsável pela insuflação de ar na solução. Após o condicionamento, as sementes foram cuidadosamente lavadas e, em seguida, secas com papel de filtro mata borrão, por 72 horas, em ambiente de laboratório. As sementes foram desinfectadas em solução de hipoclorito de sódio a 1%, por cinco minutos e utilizadas nos experimentos.

O estabelecimento de plântulas no campo foi avaliado por meio das seguintes variáveis:

**Estande inicial (EI)** - utilizaram-se 200 sementes por tratamento, que foram semeadas, aleatoriamente, em quatro repetições de 50 sementes. A semeadura foi realizada em canteiros de alvenaria contendo substrato de terra e areia na proporção de 1:1. O teste foi conduzido em temperatura ambiente, com irrigações feitas manualmente. Consideraram-se emergidas as plântulas que apresentavam o coleóptilo totalmente acima do nível do solo. O estande inicial foi determinado registrando-se a porcentagem de plântulas normais emergidas no quarto dia após a instalação do ensaio, seguindo metodologia utilizada por Carvalho et al. (2000) para plântulas de sorgo.

**Estande final (EF)** - foi conduzido juntamente com a avaliação do estande inicial, isto é, usando o mesmo grupo de plântulas emergidas no canteiro. Contudo, foram computadas as plântulas emergidas aos 12 dias após a semeadura, obtendo-se o estande final, o qual foi expresso em percentagem de plântulas emergidas (Brasil, 1992).

**Índice de velocidade de emergência (IVE)** - as leituras foram realizadas diariamente, iniciando-se após quatro dias da semeadura, computando-se o número de plântulas emergidas a cada dia, até a estabilização da emergência. O índice de velocidade de emergência foi determinado pelo somatório do número de plântulas normais emergidas diariamente e dividido pelo número de dias decorridos entre a semeadura e a emergência (Maguire, 1962).

**Tempo médio de emergência (TME)** - obtido através de contagens diárias das plântulas normais emergidas até o décimo segundo dia após a semeadura e calculado através de fórmula proposta por Labouriau (1983), sendo os resultados expressos em dias.

**Massa da matéria seca das raízes (MSR) e da parte aérea (MSPA)** - foram utilizadas as plântulas obtidas na avaliação do estande final, das quais foram coletadas as 25 mais uniformes de cada repetição, sendo as plântulas separadas em raiz e parte aérea. Foi realizada a secagem do material em estufa com circulação forçada de ar, a 80 °C por 72 horas. Posteriormente este foi pesado em uma balança de precisão com quatro casas decimais, sendo obtido a massa total da parcela. Este valor foi dividido pelo número de amostras (25 plântulas), resultando na massa da matéria seca da raiz (MSR) e da parte aérea (MSPA) por plântula. Os valores foram expressos em miligramas.

**Massa da matéria seca total (MST)** - obteve-se a massa total da plântula através da soma dos valores de MSR com os de MSPA, sendo estes expressos em miligramas.

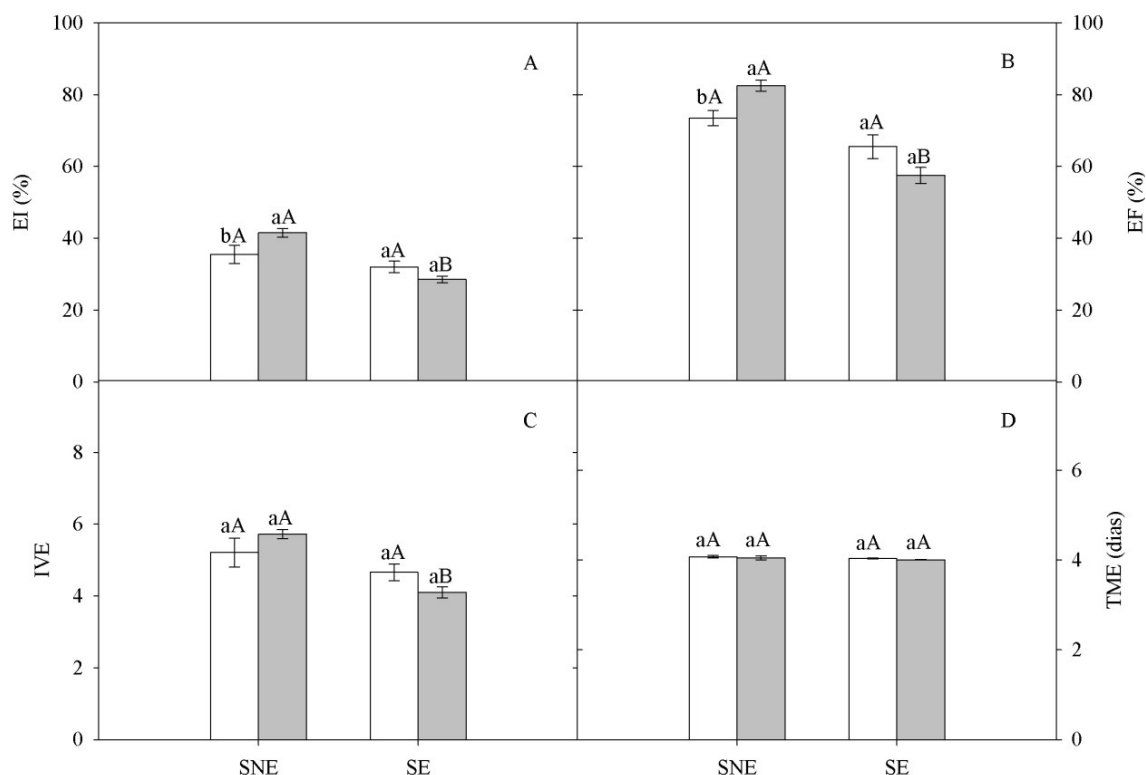
**Razão entre MSPA e MSR (MSPA/MSR)** - foi determinada utilizando-se as variáveis obtidas anteriormente, através do quociente obtido entre os valores de MSPA e de MSR.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com quatro

repetições de 50 sementes, em esquema fatorial 2 x 2, tendo como tratamentos a combinação de dois sublotos de sementes com diferentes qualidades fisiológicas (envelhecidas e não envelhecidas) e de dois grupos distintos (submetidos ou não ao osmocondicionamento). A análise de variância e a comparação de médias foram realizadas através do teste F e Tukey, respectivamente, ambos a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Aos quatro dias após a semeadura, aproximadamente 42% das sementes osmocondicionadas do lote de maior vigor, ou seja, sementes não envelhecidas, haviam germinado e produzido plântulas normais (Figura 1A). Esse percentual foi superior àquele das sementes desse mesmo lote não submetidas ao osmocondicionamento ( $P \leq 0,05$ ), o que mostra, portanto, que este tratamento foi eficiente em aumentar percentual de plântulas de sorgo emergidas na primeira contagem, representadas pela variável EI. Todavia, cabe aqui afirmar que o condicionamento osmótico só foi eficiente em aumentar o percentual de plântulas emergidas no EI proveniente de sementes de maior vigor, uma vez que o *priming* efetuado em sementes envelhecidas não mostrou efeito significativo. Deve-se ressaltar que 32 e 35% das plântulas oriundas de sementes não condicionadas, submetidas e não submetidas ao envelhecimento precoce, respectivamente, formaram o EI desses tratamentos, os quais não diferiram significativamente entre si.



**Figura 1.** Estande inicial (EI, A), estande final (EF, B), índice de velocidade (IVE, C) e tempo médio (TME, D) de emergência das plântulas oriundas de dois sublotes de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas (SNE) e envelhecidas (SE) artificialmente e submetidas (■) ou não (□) ao condicionamento osmótico. Colunas de cores distintas com letras minúsculas iguais, para sementes de mesma qualidade fisiológica, ou colunas de mesma cor com letras maiúsculas iguais, para sementes com diferentes qualidades fisiológicas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras verticais representam o erro padrão da média.

Os resultados observados em sementes não envelhecidas corroboram com o relato de Del Giúdice et al. (1999) que, trabalhando com sementes de soja, constataram que as que foram submetidas ao condicionamento osmótico com PEG-6000, a -0,8 MPa por 4 dias a 25 °C, apresentaram melhores resultados de germinação e de emergência das plântulas. De modo semelhante, Pereira et al. (2009) observaram incrementos no percentual de emergência de plântulas em campo em resposta ao condicionamento osmótico das sementes de cenoura com soluções de PEG-6000. Cabe, portanto, ressaltar que dentre os estudos que têm sido realizados com o intuito de reduzir o tempo necessário entre a semeadura e a emergência das plântulas, tratamentos como o condicionamento osmótico ou *priming*, têm apresentado resultados bastante promissores (Chiu et al., 2006; Santos et al., 2008). O condicionamento



osmótico permite maior uniformidade e velocidade de emergência pelo acúmulo de solutos (açúcares, ácidos orgânicos e íons) provenientes do início do metabolismo da semente, resultando em maior turgescência na reidratação e promovendo a protusão da raiz primária em menor tempo (Marcos Filho, 2005).

Em sementes não submetidas ao envelhecimento artificial observou-se que o EF daquelas condicionadas osmoticamente (82,5%) foi significativamente superior àquelas que não passaram por tal procedimento (73,5%) (Figura 1B). Esses resultados corroboram com a afirmação de Marcos Filho (2005), o qual relata que a taxa, sincronia e porcentagem de emergência das plântulas mostram-se elevadas com o uso do *priming*. Comportamento diferente foi observado para as sementes submetidas ao envelhecimento artificial, nas quais o tratamento de condicionamento osmótico não mostrou efeito significativo com relação à variável EF (Figura 1B). Esse comportamento foi semelhante ao observado pelos inventores da técnica do condicionamento osmótico, que não verificaram resposta satisfatória desse procedimento em lotes de sementes de cebola envelhecidas, com germinação abaixo de 60% (Heydecker & Coolbear, 1977). Tais resultados mostram que, dependendo da espécie e da qualidade fisiológica dos lotes de sementes, podem ocorrer diferentes respostas ao condicionamento osmótico. No entanto, como enfatizam Lanteri et al. (2000), danos celulares severos desenvolvidos na fase que precede a morte da semente são irreversíveis, e, portanto, não podem ser reparados de forma eficiente. Nesse contexto, é importante lembrar que os lotes de sementes de baixa qualidade frequentemente requerem um maior tempo para germinação e emergência das plântulas. Tal fato torna as plântulas mais sensíveis às adversidades climáticas, reduzindo a porcentagem final de emergência e, normalmente, promovendo um estande desuniforme (Lanteri et al., 2000).

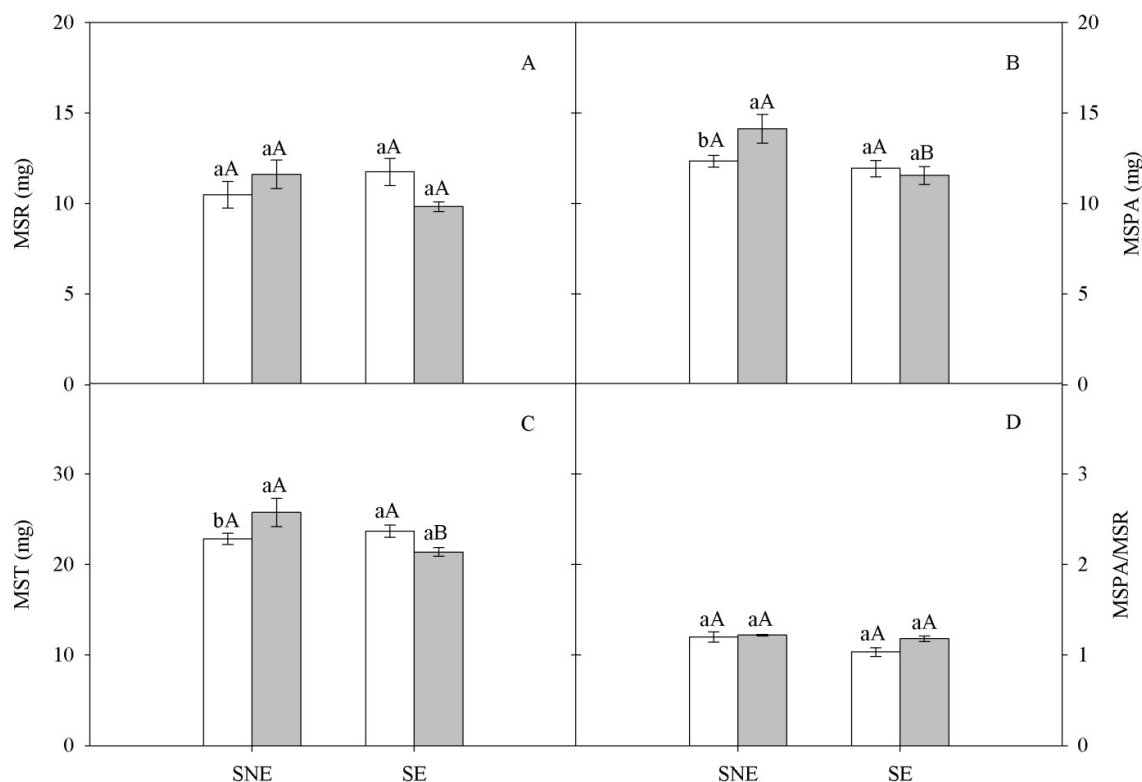
Os dados de IVE de plântulas oriundas de sementes submetidas ou não ao *priming*, em ambos os níveis de vigor, foram semelhantes, mostrando que esta variável não foi afetada

pelo condicionamento das sementes (Figura 1C). No entanto, as sementes osmocondicionadas de baixo vigor apresentaram valores de IVE significativamente inferiores às de maior vigor. De forma semelhante, Costa & Vilela (2006), trabalhando com o condicionamento osmótico de sementes de beterraba, relataram que para lotes de sementes de qualidade fisiológica alta e média, o osmocondicionamento com PEG-6000 promoveu, de maneira geral, benefícios ao desempenho das sementes, com diminuição do tempo de germinação a 20 °C e aumentos dos índices de velocidade de germinação a 20 °C e de emergência de plântulas. Carvalho et al. (2000) também aplicaram o condicionamento osmótico em sementes de sorgo e constataram aumento na velocidade de emergência e capacidade de estabelecimento das plântulas, sendo que as sementes envelhecidas e não envelhecidas comportaram-se de maneira diferente quanto a germinação e ao vigor.

No que diz respeito à variável TME, foram encontrados valores similares para todos os tratamentos, não havendo, portanto, influência significativa do envelhecimento e/ou condicionamento de sementes sobre o tempo médio necessário para a emergência das plântulas de sorgo, estando em torno de quatro dias após a semeadura (Figura 1D). Essa ausência de efeito do *priming* de sementes sobre o TME pode ter ocorrido em virtude dos fatores envolvidos no condicionamento osmótico variarem amplamente em função das características das sementes de diferentes espécies e cultivares e, possivelmente, entre lotes de uma dada cultivar, bem como em função dos processos fisiológicos e bioquímicos envolvidos (Marcos Filho, 2005). Além disso, há relatos na literatura de que o condicionamento osmótico de sementes em soluções com potenciais osmóticos muito negativos, como foi efetuado no presente ensaio, pode não ser eficiente em diminuir o tempo médio de emergência das plântulas. Concordando com isso, Posse et al. (2001) relatam que soluções salinas com potencial osmótico mais negativo, que previnem a germinação durante o tratamento, resultaram em menores reduções no  $T_{50}$  (tempo médio para ocorrência de 50% de

germinação). Conforme Smith & Cobb (1991), o grau de hidratação das sementes está correlacionado com o potencial osmótico da solução. De acordo com esses autores, sementes incubadas em soluções com potencial hídrico menos negativo possuem um maior conteúdo de umidade e potencialmente maior atividade metabólica. Por outro lado, para alguns pesquisadores, a melhor combinação dos fatores envolvidos no tratamento e sua otimização devem ser feitas por tentativas para cada lote de sementes (Heydecker & Coolbear, 1977).

Com relação à biomassa das raízes, não observou-se efeito significativo dos fatores avaliados, quais sejam, envelhecimento e/ou condicionamento de sementes, sobre a variável MSR (Figura 2A). Esses resultados demonstram que a produção de biomassa radicular das plântulas não foi diretamente influenciada pelos tratamentos das sementes. Logo, nas condições em que foi realizado o experimento, o crescimento das raízes pode ter sido influenciado por uma interação de fatores inerentes não só às sementes, mas às condições edafo-climáticos do ambiente. Klepper (1990) concorda que a capacidade das raízes em explorar o solo depende de suas características físicas e químicas, tais como o impedimento mecânico ao seu crescimento, a umidade, a textura e a fertilidade. O suprimento de água e nutrientes, a temperatura, a resistência mecânica, a aeração do solo e as interações entre esses fatores influenciam o crescimento das raízes e suas funções (Oliveira et al., 2009).



**Figura 2.** Massa da matéria seca da raiz (MSR, A), da parte aérea (MSPA, B) e total (MST, C) e razão entre massa seca da parte aérea e raiz (MSPA/MSR, D) de plântulas oriundas de dois sublotes de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas (SNE) e envelhecidas (SE) artificialmente e submetidas (■) ou não (□) ao condicionamento osmótico. Colunas de cores distintas com letras minúsculas iguais, para sementes de mesma qualidade fisiológica, ou colunas de mesma cor com letras maiúsculas iguais, para sementes com diferentes qualidades fisiológicas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras verticais representam o erro padrão da média.

Os dados de MSPA obtidos de plântulas provenientes de sementes envelhecidas de sorgo mostram que não houve diferença significativa nos valores dessa variável entre sementes submetidas ou não ao *priming* (Figura 6B). No entanto, quando essa técnica foi aplicada nas plântulas oriundas de sementes de maior vigor verificou-se que a mesma foi eficiente em promover incremento significativo na produção de biomassa da parte aérea das plântulas, representado pelo acréscimo em torno de 13% na MSPA das plântulas oriundas de sementes osmocondicionadas. Concordando com esses resultados, Chiu et al. (2006) também constataram benefícios no estabelecimento das plântulas de *Echinacea purpurea* (L.) Moench. em resposta ao condicionamento osmótico das sementes. Bejandi et al. (2009), trabalhando com o condicionamento osmótico de sementes de soja, observaram que esse procedimento

propiciou melhorias na taxa média e porcentagem de emergência no campo, conteúdo relativo de clorofila e de água das folhas, época de maturação, comprimento da parte aérea e produtividade de grãos. Estes autores verificaram que os maiores valores para essas variáveis, exceto época de maturação, foram observados nos tratamentos com condicionamento osmótico.

A MST (Figura 2C) apresentou comportamento semelhante ao da MSPA (Figura 2B), podendo-se inferir que os acréscimos nos valores de MSPA foram suficientes para exercer efeito significativo sobre os valores de MST, uma vez que não houve efeito significativo dos tratamentos sobre a produção de massa seca das raízes. De maneira semelhante ao que foi aqui relatado, Harris et al. (2001) demonstraram que o condicionamento osmótico de sementes promoveu melhorias substanciais no estabelecimento de plântulas de arroz, milho e grão-de-bico, resultando em rápido desenvolvimento, precocidade na floração e maturidade dos grãos e aumento da produtividade. Este exemplo mostra que intervenções de baixo custo e baixo risco, tais como o condicionamento osmótico de sementes, têm proporcionado impactos positivos sobre os sistemas de produção extensivos e, por conseguinte, nos aspectos econômicos dos mesmos.

De acordo com a Figura 2D, nota-se que apesar dos diferentes comportamentos do crescimento das plântulas de sorgo, nos diferentes tratamentos, essas divergências não acarretaram alterações na relação MSPA/MSR. Esta relação esteve em torno de 1,2 em todos os tratamentos avaliados. Valores semelhantes a esse foram encontrados por Lacerda et al. (2006) em plantas de dois genótipos de sorgo forrageiro aos 15 dias de cultivo em sistema hidropônico, e significam que o crescimento e o desenvolvimento do sistema radicular das plântulas de sorgo são influenciados pelas interações entre o solo-raiz e parte aérea-raiz. Assim, quando as raízes se desenvolvem em ambiente heterogêneo elas podem reagir a essa heterogeneidade apresentando alta plasticidade fenotípica (Taiz & Zeiger, 2009). Portanto,

como no ensaio em questão, as plântulas oriundas de sementes submetidas a diferentes tratamentos foram mantidas sob as mesmas condições edafo-climáticas, ou seja, em ambiente homogêneo, não houve grandes variações na produção de biomassa de raízes, o que influenciou diretamente sobre os resultados da razão MSPA/MSR.

## CONCLUSÕES

O condicionamento osmótico é recomendado para sementes de sorgo com qualidade fisiológica superior, o qual proporciona benefícios na emergência e estabelecimento de plântulas, em relação àquelas não condicionadas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BEJANDI, T. K.; SEDGHI, SHARIFI, R. S.; NAMVAR, A.; MOLAEI, P. Seed priming and sulfur effects on soybean cell membrane stability and yield in saline soil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.44, n.9, p.1114-1117, sep. 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365p.

BUJALSKI, W.; NIENOW, A.W. Large-scale osmotic priming of onion seeds: a comparison of different strategies for oxygenation. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.46, n.1/2, p.13-24, jan./fev. 1991.

CARVALHO, L.F.; MEDEIROS FILHO, S.; ROSSETTI, A.G.; TEÓFILO, E.M. Condicionamento osmótico em sementes de sorgo. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.22, n.1, p.185-192, jan./mar. 2000.

CHIU, K.Y.; CHUANG, S.J.; SUNG, J.M. Both anti-oxidation and lipid-carbohydrate conversion enhancements are involved in priming-improved emergence of Echinacea purpurea seeds that differ in size. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.108, n.2, p.220-226, apr. 2006.

COSTA, C. J.; VILLELA, F. A. Condicionamento osmótico de sementes de beterraba. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 28, n. 1, p. 21-29, jan./ago. 2006.

DEL GIÚDICE, M.P.; REIS, M.S.; SEDIYAMA, C.S.; SEDIYAMA, T.; MOSQUIM, P.R. Efeito do condicionamento osmótico na germinação de sementes de dois cultivares de soja. **Revista Ceres**, Viçosa, v.46, n.266, p.435-444, ago./set. 1999.

FOTI, S.; COSENTINO, S.L.; PATANÈ, C.; D'AGOSTA, G. Effect of osmoconditioning upon seed germination of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) under low temperatures. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.30, n.3, p.521-533, oct. 2002.

GONTIJO NETO, M.M.; OBEID, J.A.; PEREIRA, O.G.; CECON, P.R.; CÂNDIDO, M.J. D.; MIRANDA, L.F. Híbridos de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) cultivados sob níveis crescentes de adubação. rendimento, proteína bruta e digestibilidade *in vitro*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.31, n.4, p.1640-1647, jul./ago. 2002.

HARRIS, D.; RAGHUWANSHI, B.S.; GANGWAR, J.S.; SINGH, S.C.; JOSHI, K.D.; RASHID, A.; HILLINGTON, P.A. Participatory evaluation by farmers of 'on-farm' seed priming in wheat in India, Nepal and Pakistan. **Experimental Agriculture**, Bangor, v.37, n.3, p.403-415, jul. 2001.

HEYDECKER, W.; COOLBEAR, P. Seed treatments for improved performance survey and attempted prognosis. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.5, n.2, p.353-425, jul. 1977.

KLEPPER, B. Root growth and water uptake. In: STEWART, D. R.; NIELSEN, D. R. (Eds.) **Irrigation of agricultural crops**. Madison: ASA/CSSA/SSSA, 1990. p. 282-322.

LABOURIAU, L.G. **A germinação das sementes**. Washington: Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos, 1983. 174p.

LACERDA, C.F.; MORAIS, H.M.M.; PRISCO, J.T.; GOMES-FILHO, E.; BEZERRA, M.A. Interação entre salinidade e fósforo em plantas de sorgo forrageiro. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.37, n.3, p.258-263, jul./set. 2006.

LANTERI S.; PORTIS E.; BERGERVOET H. W.; GROOT S. P. C. Molecular markers for the priming of pepper seeds (*Capsicum annuum* L.). **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, London, v. 75, n. 5, p. 607-611, apr. 2000.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, n.1, p.176-177, mar. 1962.

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

MICHEL, B.E.; KAUFMANN, M.R. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. **Plant Physiology**, Lancaster, v.51, n.5, p.914-916, may. 1973.

MIRANDA, D.M.; NOVENBRE, A.D.L.C.; CHAMMA, H.M.C.P. Avaliação do potencial fisiológico de sementes de sorgo pelo teste de envelhecimento acelerado. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.23, n.1, p.226-231, jan./jun. 2001.

OLIVEIRA, A.B.; MEDEIROS FILHO, S.; BEZERRA, A.M.E. Efeito do tamanho da semente, substrato e ambiente na produção de mudas de *Copernicia hospita* Martius. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.33, n.6, p.1527-1533, nov./dez. 2009.

PATANÈ, C.; CAVALLARO, V.; COSENTINO, S.L. Germination and radicle growth in unprimed and primed seeds of sweet sorghum as affected by reduced water potential in NaCl at different temperatures. **Industrial Crops and Products**, Whashington DC, v.30, n.1, p.1-8, jan. 2009.

PEREIRA, M.D.; DIAS, D.C.F.S.; DIAS, L.A.S.; ARAÚJO, E.F. Primed carrot seeds performance under water and temperature stress. **Scientia Agricola**, v.66, n.2, p.174-179, mar./apr. 2009.

POSSE, S.C.P.; SILVA, R.F; SILVA, H.D.V.; CATUNDA, P.H.A. Efeito do condicionamento osmotico na germinação de sementes de pimentão (*Capsicum annuum* L.) submetidas a baixa temperatura. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.23, n.1, p.123-127, jan./jun. 2001.

RODRIGUES, P.H.M.; SENATORE, A.N.; ANDRADE, S.J.T.; RUZANTE, J.M.; LUCCI, C.S.; LIMA, F.R. Efeitos da adição de inoculantes microbianos sobre a composição bromatológica e perfil fermentativo da silagem de sorgo produzida em silos experimentais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.31, n. 6, p. 2373-2379, nov./dez. 2002.

SANTOS, M.C.A.; AROUCHA, E.M.M.; SOUZA, M.S.; SILVA, R.F.; SOUSA, P.A. Condicionamento osmótico de sementes. **Revista Caatinga**, Mossoró, v.21, n.2, p.1-6, mai./jun. 2008

SMITH, P T., COBB, B.G. Accelerated germination of peppers seed by priming with salt solutions and water. **HortScience**, Alexandria, v.26, n.4, p.417-419, apr. 1991.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 884p.



## Capítulo IV

(Artigo submetido para publicação na Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira)

**Salinidade, germinação e estabelecimento de plântulas de sorgo provenientes de sementes envelhecidas e osmocondicionadas**

Alexandre Bosco de Oliveira <sup>(1)</sup>, José Tarquinio Prisco <sup>(2)</sup> Joaquim Enéas-Filho <sup>(2)</sup> e Enéas Gomes-Filho <sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> Universidade Estadual do Piauí, Centro de Ciências Agrárias, Rua Almir Benvindo, s/n, Malvinas 64.860-000, Uruçuí, PI, Brasil. E-mail: aleufc@gmail.com

<sup>(2)</sup> Universidade Federal do Ceará, Depto. de Bioquímica e Biologia Molecular e Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Salinidade (INCTSal), Caixa Postal 6039, 60455-970, Fortaleza, CE, Brasil. E-mail: jtprisco@uol.com.br, joaquime@ufc.br, egomesf@ufc.br

Resumo – O objetivo desse experimento foi avaliar o efeito do estresse salino na absorção de água, germinação e crescimento inicial de plântulas provenientes de sementes de sorgo envelhecidas artificialmente e osmocondicionadas. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com quatro repetições, no esquema fatorial 2 x 2 x 4, constando de dezesseis tratamentos: dois lotes de sementes (envelhecidas ou não); dois tipos de sementes (osmocondicionadas ou não) e quatro níveis de estresse salino (0, 100, 200 ou 300 mM de NaCl). Foram avaliados os seguintes parâmetros: taxa de absorção de água pelas sementes, primeira contagem, teste padrão e índice de velocidade de germinação, bem como os comprimentos da parte aérea e da raiz e as matérias seca da parte aérea e das raízes. O estresse salino afeta negativamente o desempenho das sementes de sorgo granífero, reduzindo a absorção de água, a germinação de sementes e o crescimento inicial das plântulas. O condicionamento osmótico promove a atenuação dos efeitos deletérios da salinidade na germinação e crescimento inicial de plântulas oriundas de sementes não envelhecidas, porém essa técnica não é recomendada para a germinação de sementes de baixo vigor sob altos níveis de NaCl.

Termos para indexação: *Sorghum bicolor*, envelhecimento artificial, condicionamento osmótico, estresse salino.

### **Effect of salt stress on germination and establishment of sorghum seedling from aged primed seeds**

Abstract – The aim of this study was to evaluate the effect of salt stress on water uptake, germination and early growth of seedlings from artificially primed and aged sorghum seeds. The experiment was a completely randomized design with four replications in factorial (2 x 2 x 4) consisting of sixteen treatments: two groups of seeds (aged or not), two types of seeds (primed or not) and four levels of salinity (0, 100, 200 or 300 mM NaCl). We evaluated the following parameters: rate of water absorption by seeds, first germination count, germination pattern test and germination speed index, well as the shoot and root length and shoot and root dry matter. Salt stress adversely affects the performance of sorghum seeds reducing the water uptake, the seed germination and seedlings early growth. The osmotic conditioning promotes the mitigation of the deleterious effects of the salinity on germination and early growth of seedlings from seeds not aged but this technique is not recommended for low vigor seeds germination under high levels of NaCl.

Index terms: *Sorghum bicolor*, accelerated aging, osmotic conditioning, salt stress.

### **Introdução**

Apesar de sua tolerância ao déficit hídrico, o sucesso na implementação da cultura do sorgo no Nordeste brasileiro depende também da capacidade da planta de crescer em solos com excesso de sais dissolvidos (Lacerda et al., 2003; Oliveira & Gomes-Filho, 2009). Como se sabe, a salinização dos solos é um problema relevante na agricultura, principalmente nas regiões semi-áridas, onde o uso frequente da água de irrigação de baixa qualidade, associada

às elevadas temperaturas e baixas taxas de precipitação pluviométrica características dessas regiões pode conduzir ao aumento de sais tóxicos na solução do solo (Gheyi, 2000).

Lotes de sementes de baixa qualidade frequentemente requerem um maior tempo para germinação e emergência das plântulas. Tal fato torna as plântulas mais sensíveis às adversidades climáticas, reduzindo a porcentagem final de emergência e, normalmente, promovendo um estande desuniforme (Miranda et al., 2001). Portanto, muitos estudos têm sido realizados com o intuito de reduzir o tempo necessário entre a semeadura e a emergência das plântulas, bem como aumentar a tolerância das sementes às condições adversas durante a germinação. Um dos tratamentos mais promissores é o condicionamento osmótico, também denominado *priming* ou osmocondicionamento, que consiste na hidratação controlada de sementes até um determinado nível, de modo a permitir a ocorrência das etapas iniciais do processo de germinação, sem, contudo, ocorrer a protrusão da radícula (Santos et al., 2008).

Melhorias no desempenho germinativo em condições de estresses abióticos têm sido relatadas na literatura como respostas diretas do condicionamento de sementes, tais como observado por Fanti & Perez (2003), que mostraram que o condicionamento osmótico aumentou o limite máximo de tolerância ao estresse hídrico; Pereira et al. (2009), que constataram que o tratamento das sementes de cenoura em soluções de PEG-6000 aumentou a emergência de plântulas em campo e o desempenho sob temperatura sub e supra-ótima; e Patanè et al. (2009), que verificaram que o osmocondicionamento de sementes de sorgo sacarino atenuou os efeitos deletérios provocados pelos estresses salino e térmico durante a germinação e crescimento da radícula.

O objetivo desta pesquisa foi avaliar a absorção de água, a germinação e o crescimento inicial de plântulas de sorgo provenientes de sementes envelhecidas artificialmente e osmocondicionadas, sob condições de estresse salino.

## **Material e Métodos**

Foram utilizadas sementes de sorgo granífero [*Sorghum bicolor* (L.) Moench], cultivar IPA 1011, safra 2008, cedidas pela Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), Recife, PE, e armazenadas em frascos de vidro contendo sílica gel, à temperatura de 8 °C. Para aplicação dos tratamentos, o lote inicial de sementes foi dividido em dois sublotes: em um deles, as sementes foram submetidas ao envelhecimento acelerado de acordo com metodologia descrita por Miranda et al. (2001) para sementes de sorgo, as quais foram distribuídas em uma camada única e uniforme sobre tela de alumínio fixada no interior de caixas plásticas transparentes de 11 x 11 x 3,5 cm (gerbox), com tampa, contendo 40 mL de água, sendo mantidas em incubadora BOD a 43 °C, sob umidade relativa do ar próxima de 100%, por 72 horas; o outro sublote de sementes permaneceu sem tratamento (sementes não envelhecidas) e foi utilizado como controle. Após esse procedimento, a metade das sementes de cada um desses sublotes foi submetida ao tratamento de condicionamento osmótico.

A metodologia e a concentração da solução de PEG-6000 empregadas para o condicionamento osmótico foram baseadas em trabalhos anteriores com germinação de sementes de sorgo osmocondicionadas (Foti et al., 2002; Patanè et al., 2009). Durante o *priming*, as sementes foram colocadas em béqueres de 400 mL contendo 200 mL de solução de PEG-6000 a 250 g L<sup>-1</sup>, a qual, segundo Michel & Kaufmann (1973), corresponde a um potencial osmótico de - 0,86 MPa a 15 °C, que foi a temperatura na qual as sementes foram deixadas por 48 horas de embebição nessa solução osmótica. O condicionamento osmótico foi conduzido em uma incubadora, sob escuro contínuo e aeração constante, a fim de garantir condições normais de respiração das sementes. Na parte inferior de cada béquer foi fixada uma mangueira estreita, com pedra porosa anexada na ponta, a qual se manteve conectada a uma pequena bomba de aquário, responsável pela insuflação de ar na solução.

Após o condicionamento, as sementes foram cuidadosamente lavadas; primeiro com água da torneira e depois com água destilada, sendo finalmente secas com papel de filtro

mata-borrão, por 72 horas, em ambiente de laboratório. Em seguida, as sementes foram desinfetadas em solução de hipoclorito de sódio a 1%, por cinco minutos e utilizadas nos experimentos de germinação e vigor.

Foram realizadas curvas de absorção de água das sementes envelhecidas e não envelhecidas, submetidas ou não ao *priming* e germinadas na presença ou ausência de estresse salino. Para isso, quatro subamostras de aproximadamente 4 g de sementes de cada tratamento foram postas sobre duas folhas de papel de filtro mata-borrão saturadas com água destilada (controle) ou solução de NaCl a 100 mM (estresse salino) e colocadas no interior de caixas gerbox (11 x 11 x 3,5 cm) transparentes com tampas, as quais foram mantidas em câmara de germinação, sob escuro contínuo e temperatura de 25 °C. A absorção de água (*AbA*) pelas sementes de cada tratamento foi medida nos tempos de embebição de 24, 48 e 72 horas. Ao final de cada tempo, as sementes eram retiradas, enxugadas com papel toalha e pesadas, para obtenção do peso úmido. A *AbA*, em porcentagem, foi calculada empregando-se a fórmula

$$AbA = \left( \frac{P_f - P_i}{P_i} \right) \times 100, \text{ onde, } P_f \text{ representa o peso final das sementes a cada tempo e } P_i \text{ o peso}$$

inicial das sementes antes da embebição. Foram ajustadas equações de regressão da taxa de absorção de água como variável dependente do tempo de embebição.

A qualidade fisiológica das sementes envelhecidas ou não envelhecidas e submetidas ou não ao osmocondicionamento foi avaliada sob condições de estresse salino (NaCl a 0, 100, 200 e 300 mM), por meio dos testes descritos a seguir.

Primeira contagem de germinação - foram utilizadas 200 sementes por tratamento, com quatro repetições de 50 sementes distribuídas em rolos de papel umedecidos com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato seco. Foi determinada juntamente com o teste de germinação, registrando-se a porcentagem de plântulas normais no quarto dia após a instalação do ensaio, data estabelecida pelas Regras de Análises de

Sementes (RAS) para a realização desse teste, conforme Brasil (1992).

Teste de germinação - A avaliação foi realizada no décimo dia após a semeadura, considerando-se germinadas as sementes que emitiram raiz primária. Os resultados foram expressos em porcentagem, com base no número de plântulas normais (Brasil, 1992).

Índice de velocidade de germinação - calculado pelo somatório do número de sementes germinadas a cada dia, dividido pelo número de dias decorridos entre a semeadura e a germinação, de acordo com a fórmula de Maguire (1962).

Utilizando-se as mesmas plântulas obtidas na avaliação da qualidade fisiológica das sementes, as quais foram coletadas aos 10 dias após a semeadura, selecionaram-se as 25 mais uniformes de cada repetição e estas foram separadas em raiz e parte aérea. A partir desse material determinaram-se as variáveis a seguir, as quais foram utilizadas para avaliar o crescimento inicial das plântulas:

Comprimento da parte aérea e da raiz – obtido com o auxílio de uma régua graduada em centímetros. Os dados foram somados e divididos pelo número de amostras (25 plântulas), resultando no comprimento médio da parte aérea e da raiz por plântula, cujos valores foram expressos em centímetros;

Massa da matéria seca da parte aérea e das raízes - determinadas após a secagem das diferentes partes das plântulas em estufa com circulação forçada de ar, a 80 °C por 72 horas. Posteriormente, este material foi pesado em uma balança de precisão de quatro casas decimais, sendo obtido a massa total de cada parcela, o qual foi dividido pelo número de amostras (25 plântulas), resultando nas massas secas da parte aérea e das raízes por plântula. Os valores destas variáveis foram expressos em miligramas.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições de 50 sementes, em esquema fatorial 2 x 2 x 4, tendo como tratamentos a combinação de dois sublotes de sementes com diferentes qualidades fisiológicas

(envelhecidas e não envelhecidas), dois grupos distintos (submetidas ou não ao osmocondicionamento) e quatro níveis de estresse salino (0, 100, 200 e 300 mM de NaCl). Foram ajustadas equações de regressão das características avaliadas como variáveis dependentes do nível de estresse salino e a análise de variância foi realizada através do teste F a 1% de probabilidade.

### **Resultados e Discussão**

Os resultados da marcha de absorção de água das sementes de sorgo indicam que houve variação na absorção de água pelas sementes submetidas às diferentes interações de tratamentos de condicionamento osmótico, envelhecimento precoce e estresse salino (Figura 1). Esse comportamento indica que os fatores avaliados neste ensaio exerceram influência direta sobre a primeira fase da germinação das sementes, isto é, a embebição.

A absorção de água pela semente está diretamente associada à disponibilidade hídrica, potencial mátrico do substrato, potencial osmótico da solução que umedece o substrato, temperatura e características intrínsecas da semente (Ruas et al., 2010). Segundo Bewley & Black (1994), é necessário que seja atingido um grau mínimo de umidade para haver germinação, como por exemplo, 30,0%, 26,5%, 33,4% e 29,4% para sementes de milho, arroz, algodão e mamona.

Com 72 horas de embebição em água destilada, observou-se que as sementes não envelhecidas e osmocondicionadas apresentaram absorção de água superior àquelas que não foram submetidas ao condicionamento osmótico ( $P \leq 0,01$ ) (Figura 1A). Todavia, as sementes submetidas ou não ao *priming*, provenientes de sementes envelhecidas artificialmente (Figura 1C), apresentaram comportamento semelhante em todo o período de absorção de água. Esses resultados mostram que o condicionamento osmótico promoveu incremento na taxa de absorção de água somente nas sementes de vigor superior, ou seja, naquelas que não foram submetidas ao envelhecimento acelerado. De acordo com Khan (1992), o aumento na taxa de



absorção de água, pode ser decorrente do acúmulo de solutos provenientes do início do metabolismo das sementes durante o condicionamento osmótico, resultando em maior turgescência das sementes quando reidratadas.

Nas sementes de vigor superior submetidas ao estresse salino com NaCl a 0,1 M (Figura 1B), verificou-se que a absorção de água foi menor nas sementes que não foram osmocondicionadas, constatando-se, portanto, que o condicionamento osmótico foi eficiente na manutenção de uma embebição adequada, o que conseqüentemente, possibilita uma germinação mais rápida. Diversos trabalhos de pesquisa têm sugerido que os efeitos do tratamento de condicionamento osmótico das sementes são mais marcantes quando o ambiente apresenta-se desfavorável ou quando as sementes são submetidas a uma determinada condição de estresse, induzida por temperaturas sub ou supra-ótimas, déficit hídrico ou elevada salinidade do meio (Foti et al., 2002; Murungu et al., 2005; Bejandi et al., 2009; Patanè et al., 2009; Pereira et al., 2009). Por outro lado, nas sementes de menor vigor (envelhecidas artificialmente) submetidas ao estresse salino, verificou-se que as que não foram submetidas ao condicionamento osmótico apresentaram taxa de absorção de água superior àquelas que foram osmocondicionadas (Figura 1D). É possível que esta maior absorção de água esteja correlacionada com o fato de que sementes envelhecidas e deterioradas são mais sensíveis aos danos de embebição, já que as membranas celulares encontram-se enfraquecidas, perdem sua integridade e tornam-se mais suscetíveis à rápida entrada de água (Sveinsdóttir et al., 2009).

Os parâmetros utilizados para a avaliação da qualidade fisiológica das sementes de sorgo foram diretamente influenciados pelos tratamentos utilizados no presente estudo, de modo que o comportamento germinativo, no que diz respeito à velocidade e ao percentual de sementes germinadas na primeira contagem e na contagem final variaram em função das interações entre os fatores avaliados (Figura 2). Com relação à primeira contagem de

germinação, o grupo de sementes de maior vigor apresentou resposta positiva ao condicionamento osmótico (Figura 2A), uma vez que esse tratamento promoveu a manutenção de altos níveis de germinação na primeira contagem, mesmo sob condições de estresse salino promovido pelo NaCl nas concentrações de 100 e 200 mM. Em contrapartida, as sementes não condicionadas apresentaram reduções substanciais nessa variável a partir do menor nível de sal aplicado ao substrato, confirmando o efeito atenuador do *priming* sobre esse estresse abiótico na fase de germinação. O aumento do nível de tolerância a estresses abióticos promovido pelo condicionamento osmótico de sementes, também foi encontrado por Murungu et al. (2005), em sementes de algodão e milho submetidas a condições de déficit hídrico, e por Patanè et al. (2009), em sementes de sorgo sob estresse salino. Por outro lado, as sementes osmocondicionadas do sublote envelhecido nos níveis de salinidade de 100 e 200 mM de NaCl apresentaram valores de primeira contagem de germinação inferiores àqueles das sementes desse mesmo sublote que não passaram pelo procedimento do *priming* (Figura 2B). Portanto o osmocondicionamento de sementes de baixo vigor não é recomendado para germinação em condições de estresse salino, visto que essa técnica corroborou em salientar ainda mais os efeitos deletérios do estresse salino sobre a variável em questão. Fanti & Perez (2003), em pesquisa com sementes osmocondicionadas de paineira submetidas ao estresse hídrico e envelhecimento artificial, também constataram redução no vigor das sementes em função da combinação desses fatores estressantes.

O condicionamento osmótico das sementes de maior vigor foi responsável pelos maiores percentuais de germinação, em função do aumento da salinidade, que os observados para as sementes desse mesmo sublote que não foram osmocondicionadas (Figura 2C). Diante desses resultados, cabe ressaltar que durante o *priming*, parte das reservas é mobilizada, aumentando dessa forma a concentração de substâncias osmoticamente ativas, com a redução do potencial hídrico celular (Khan, 1992). Este fato pode ter conferido às sementes

osmocondicionadas uma vantagem em relação às não osmocondicionadas, permitindo um melhor desempenho sob estresse salino. Os maiores valores do teste padrão de germinação obtidos neste experimento para sementes não envelhecidas e que foram expostas ao *priming*, podem estar relacionados com o que é relatado em Lanteri et al. (1996). De acordo com esses autores, o condicionamento osmótico de sementes não submetidas ao envelhecimento artificial induziu as células embrionárias a entrarem na fase de síntese de DNA e, por conseguinte, aumentarem a taxa de multiplicação celular, o que não foi constatado pelos autores nas sementes envelhecidas artificialmente.

Os valores do índice de velocidade de germinação nos diferentes grupos de sementes (expostas ou não ao envelhecimento precoce), independentemente destas serem ou não condicionadas, indicaram decréscimos significativos com o aumento dos níveis de NaCl no meio germinativo (Figura 2E e 2F). No entanto, os valores desse índice nas sementes de maior vigor submetidas ao condicionamento osmótico foram superiores àqueles das sementes não submetidas a esse tratamento, com diferenças substanciais em função do aumento nos níveis de estresse. A maior vantagem da técnica de condicionamento osmótico parece ser a emergência da radícula em menor tempo, ficando as sementes menos sujeitas às condições adversas do ambiente, principalmente temperaturas inadequadas, baixa disponibilidade de água e excesso de sais no solo (Bejandi et al., 2009). O aumento do índice de velocidade de germinação das sementes condicionadas, do subote não envelhecido, pode ser decorrente do acúmulo de solutos provenientes do início do metabolismo das sementes durante o condicionamento, resultando em maior turgescência quando reidratadas e promovendo, deste modo, a emergência da radícula em menor tempo (Khan, 1992). Assim, os resultados apresentados no presente estudo concordam com o relato de Perez & Jardim (2005), os quais verificaram em sua pesquisa com sementes condicionadas de paineira (*Chorisia speciosa* St.-Hil) que estas apresentaram maior velocidade de germinação sob condições de estresses

salino e térmico. Por outro lado, o condicionamento osmótico das sementes envelhecidas artificialmente provocou decréscimos significativos no índice de velocidade de germinação, principalmente quando submetidas ao tratamento com 100 mM de NaCl (Figura 2F). De acordo com Sveinsdóttir et al. (2009), a redução da capacidade germinativa e do vigor das sementes submetidas ao envelhecimento acelerado está associada com a oxidação dos lipídios e redução na síntese de determinadas proteínas, levando ao decréscimo nos teores de ácidos graxos, bem como no conteúdo dos fosfolipídios presentes nas membranas celulares.

O comprimento da parte aérea decresceu fortemente com o aumento da salinidade, tanto em plântulas provenientes de sementes não envelhecidas como nas envelhecidas artificialmente (Figura 3A e 3B). No entanto, naquelas oriundas de sementes de maior vigor e que foram osmocondicionadas, o comprimento da parte aérea foi maior independentemente do nível de NaCl empregado (Figura 3A). O mesmo, contudo, não ocorreu com as plântulas oriundas de sementes de mais baixo vigor em que o condicionamento osmótico praticamente não exerceu efeito no comprimento da parte aérea (Figura 3B). De forma semelhante, alguns trabalhos na literatura têm demonstrado que o vigor das sementes é o componente de qualidade mais influenciado pelo condicionamento osmótico (Carvalho et al., 2000; Fanti & Perez, 2003). Os maiores valores médios de comprimento da parte aérea encontrados em plântulas provenientes de sementes condicionadas e não envelhecidas estão possivelmente relacionados com a habilidade desse tratamento em aumentar a velocidade de estabelecimento das plântulas, característica essa que parece ser a base para o processo de tolerância a uma série de condições ambientais adversas, como temperaturas supra-ótimas, salinidade e seca (Khan, 1992).

O comprimento da raiz seguiu comportamento semelhante ao observado para o da parte aérea, contudo as diferenças entre os tratamentos foram menos visíveis, com destaque para o caso das plântulas oriundas de sementes de maior vigor submetidas ao *priming*, as

quais, sob condições de salinidade, apresentaram os maiores valores dessa medida de crescimento (Figura 3C e 3D). É importante destacar, que o comprimento da raiz, tanto de plântulas oriundas de sementes envelhecidas como não envelhecidas, mesmo sob o maior nível de estresse (300 mM de NaCl), apresentou valores médios mensuráveis (Figura 3C e 3D), enquanto o comprimento da parte aérea (Figura 3A e 3B) foi afetado de tal forma na presença dessa quantidade de sal, que apresentou valores nulos. Em outras palavras, o estresse provocado pelo NaCl afetou mais severamente a parte aérea do que as raízes, pois mesmo quando as sementes foram expostas ao maior nível de salinidade houve formação e desenvolvimento inicial da radícula das plântulas de sorgo, mas a parte aérea não se desenvolveu. Esses resultados são concordantes com os observados em outros trabalhos relatados na literatura, como indicado nas pesquisas de Almodares et al. (2007) em sementes de sorgo sacarino, de Rauf et al. (2007) em trigo e de Conus et al. (2009) em milho.

O estresse salino afetou drasticamente a produção de matéria seca da parte aérea das plântulas oriundas, tanto de sementes envelhecidas, como não envelhecidas (Figura 4A e 4B). No entanto, as maiores reduções foram observadas naquelas provenientes de sementes não envelhecidas e não osmocondicionadas, enquanto que as plântulas oriundas desse mesmo subote de sementes e que foram submetidas ao condicionamento osmótico conseguiram ter os efeitos da salinidade sobre esta variável razoavelmente atenuados até o nível de 200 mM de NaCl (Figura 4A). Seguindo a mesma tendência do que foi observado nesse trabalho, Patanè et al. (2009), trabalhando com o osmocondicionamento de sementes de sorgo sacarino submetidas à estresses abióticos, sugeriram que o *priming* pode ser uma alternativa para atenuar os efeitos dos estresses salino e térmico durante a germinação e crescimento inicial das plântulas. Contudo, tais efeitos somente foram evidentes em plântulas oriundas de sementes de maior vigor, pois, como visto na Figura 4B, o osmocondicionamento não exerceu efeito significativo na matéria seca da parte aérea das plântulas oriundas de sementes

envelhecidas.

Independentemente do vigor das sementes, a matéria seca da parte aérea (Figura 4A e 4B) foi mais afetada pela salinidade do que a matéria seca das raízes (Figura 4C e 4D), sendo que na primeira observou-se que os dados seguiram uma linha de tendência quadrática, com decréscimos maiores a partir do nível de salinidade de 200 mM de NaCl, enquanto que para as raízes verificou-se comportamento linear inversamente proporcional ao incremento da concentração de NaCl. A maior redução na biomassa da parte aérea pela salinidade (Figura 4) foi condizente com a maior redução no comprimento da parte aérea em relação ao comprimento das raízes por esse mesmo estresse (Figura 3), dados que demonstram a parte aérea é mais afetada pela salinidade que as raízes. O aumento na relação massa seca das raízes/massa seca da parte aérea tem sido observado em plântulas submetidas a estresse salino, o qual ocorre devido à maior inibição da produção de matéria seca da parte aérea em relação à das raízes (Conus et al., 2009). Cabe ressaltar que uma resposta imediata de plantas crescendo em ambiente salino é a redução na taxa de expansão das folhas, sendo que quando o estresse se torna mais severo a expansão foliar pode parar. Esse comportamento já foi confirmado por Lacerda et al. (2003) em pesquisa com plantas jovens de sorgo cultivadas sob estresse salino.

As sementes envelhecidas, submetidas ou não ao *priming* apresentaram valores de massa seca da parte aérea e das raízes similares (Figura 4B e 4D), mostrando que essa técnica não promoveu a atenuação dos efeitos do estresse salino nas sementes de vigor inferior. Fanti & Perez (2003), trabalhando com sementes de paineira, também mostraram efeitos negativos na interação entre envelhecimento e osmocondicionamento destas. Estes autores afirmam que o envelhecimento das sementes ocasiona atraso no processo germinativo, menor crescimento do embrião e aumento da suscetibilidade a estresses ambientais, levando eventualmente à perda de viabilidade.

### Conclusões

1. O estresse salino provocado pelo NaCl afeta negativamente o desempenho das sementes de sorgo granífero, reduzindo a absorção de água, germinação das sementes e crescimento inicial das plântulas.
2. O condicionamento osmótico promove a atenuação dos efeitos deletérios da salinidade na germinação e crescimento inicial de plântulas oriundas de sementes não envelhecidas.
3. A técnica do osmocondicionamento não é recomendada para germinação de sementes de baixo vigor sob altos níveis de NaCl.

### Referências

- ALMODARES, A.; HADI, M.R.; DOSTI, B. Effects of salt stress on germination percentage and seedling growth in sweet sorghum cultivars. **Journal of Biological Sciences**, v.7, p.1492-1495, 2007.
- BEJANDI, T.K.; SEDGHI, SHARIFI, R.S.; NAMVAR, A.; MOLAEI, P. Seed priming and sùlfur effects on soybean cell membrane stability and yield in saline soil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, p.1114-1117, 2009.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. New York: Plenum, 1994. 445p.
- BRASIL, Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365p.
- CARVALHO, L.F.; MEDEIROS FILHO, S.; ROSSETTI, A.G.; TEÓFILO, E.M. Condicionamento osmótico em sementes de sorgo. **Revista Brasileira de Sementes**, v.22, p.185-192, 2000.
- CONUS, L.A.; CARDOSO, P.C.; VENTUROSOS, L.R.; SCALON, S.P.Q. Germinação de sementes e vigor de plântulas de milho submetidas ao estresse salino por diferentes sais. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, p.67-74, 2009.

FANTI, S.C.; PEREZ, S.C.J.G.A. Efeito do estresse hídrico e envelhecimento precoce na viabilidade de sementes osmocondicionadas de paineira (*Chorisia speciosa*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38, p.537-543, 2003.

FOTI, S.; COSENTINO, S.L.; PATANÈ, C.; D'AGOSTA, G. Effect of osmoconditioning upon seed germination of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) under low temperatures. **Seed Science and Technology**, v.30, p.521-533, 2002.

GHEYI, H.R. Problema de salinidade na agricultura irrigada. In: OLIVEIRA, T.S.; ASSIS, R.N.; ROMERO, R.E.; SILVA, J.R.C. (Eds.). **Agricultura, sustentabilidade e o semi-árido**. Fortaleza: DCS/UFC, 2000. p.329-346.

KHAN, A.A. Preplant physiological seed conditioning. **Horticultural Review**, v.13, p.131-181, 1992.

LACERDA, C.F.; CAMBRAIA, J.; OLIVA, M.A.; RUIZ, H.A. Osmotic adjustment in roots and leaves of two sorghum genotypes under NaCl stress. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.15, p.113-118, 2003.

LANTERI, S.; NADA, E.; BELLETTI, P. Effects of controlled deterioration and osmoconditioning on germination and nuclear replication in seeds of pepper (*Capsicum annuum* L.). **Annals of Botany**, v.77, p.591-597, 1996.

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

MICHEL, B.E.; KAUFMANN, M.R. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. **Plant Physiology**, v.51, p.914-916, 1973.

MIRANDA, D.M.; NOVENBRE, A.D.L.C.; CHAMMA, H.M.C.P. Avaliação do potencial fisiológico de sementes de sorgo pelo teste de envelhecimento acelerado. **Revista Brasileira de Sementes**, v.23, p.226-231, 2001.

MURUNGU, F.S.; NYAMUGAFATA, P.; CHIDUZA, C.; CLARK, L.J.; WHALLEY, W.R.



Effects of seed priming and water potential on germination of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) and maize (*Zea mays* L.) in laboratory assays. **South African Journal of Plant and Soil**, v.2, p.64-70, 2005.

OLIVEIRA, A.B.; GOMES-FILHO, E. Germinação e vigor de sementes de sorgo forrageiro sob estresse hídrico e salino. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, p.48-56, 2009.

PATANÈ, C.; CAVALLARO, V.; COSENTINO, S.L. Germination and radicle growth in unprimed and primed seeds of sweet sorghum as affected by reduced water potential in NaCl at different temperatures. **Industrial Crops and Products**, v.30, p.1-8, 2009.

PEREIRA, M.D.; DIAS, D.C.F.S.; DIAS, L.A.S.; ARAÚJO, E.F. Primed carrot seeds performance under water and temperature stress. **Scientia Agricola**, v.66, p.174-179, 2009.

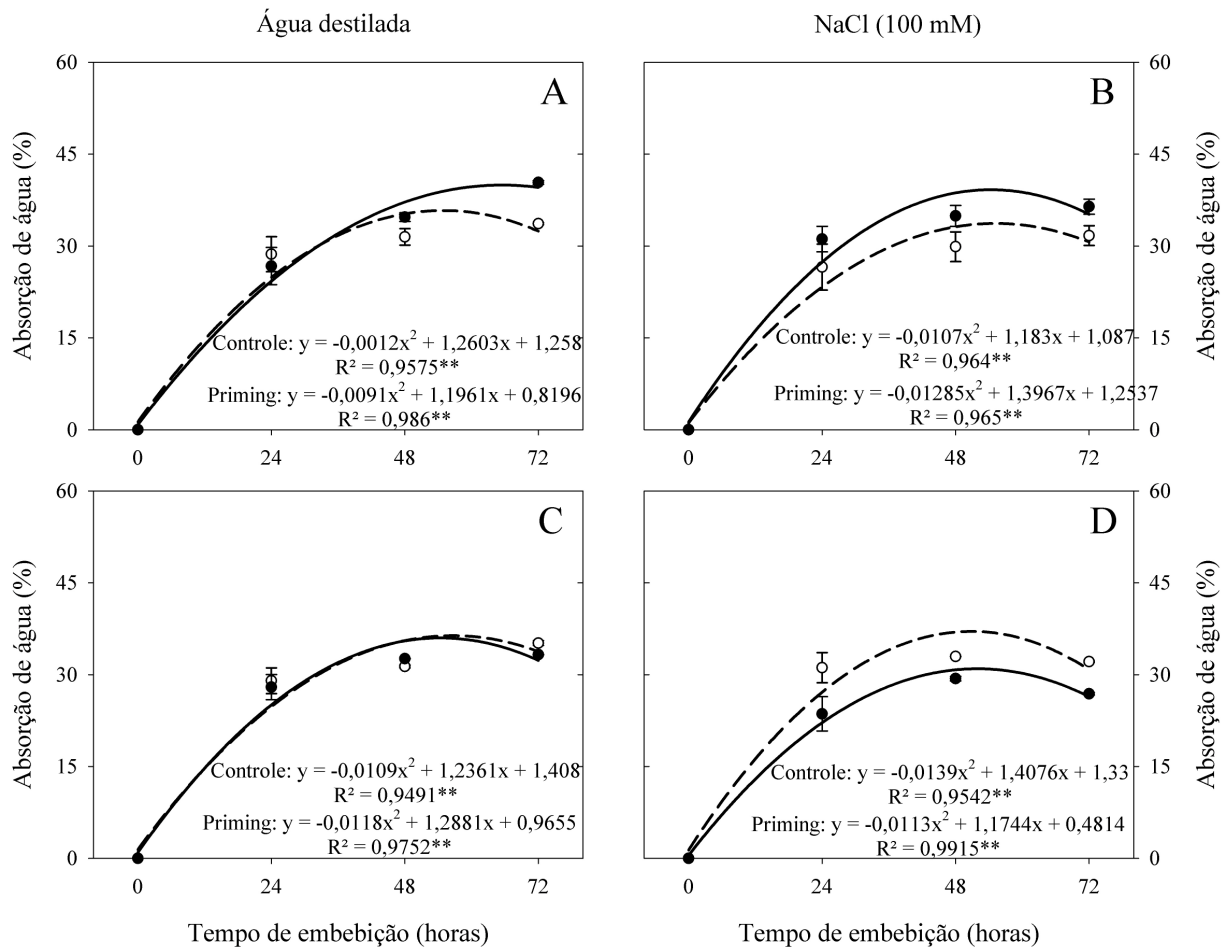
PEREZ, S.C.J.G.A.; JARDIM, M.M. Viabilidade e vigor de sementes de paineira após armazenamento, condicionamento e estresses salino e térmico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, p.587-593, 2005.

RAUF, M.; MUNIR, M.; UL HASSAN, M.; AHMAD, M.; AFZAL, M. Performance of wheat genotypes under osmotic stress at germination and early seedling growth stage. **African Journal of Biotechnology**, v.6, p.971-975, 2007.

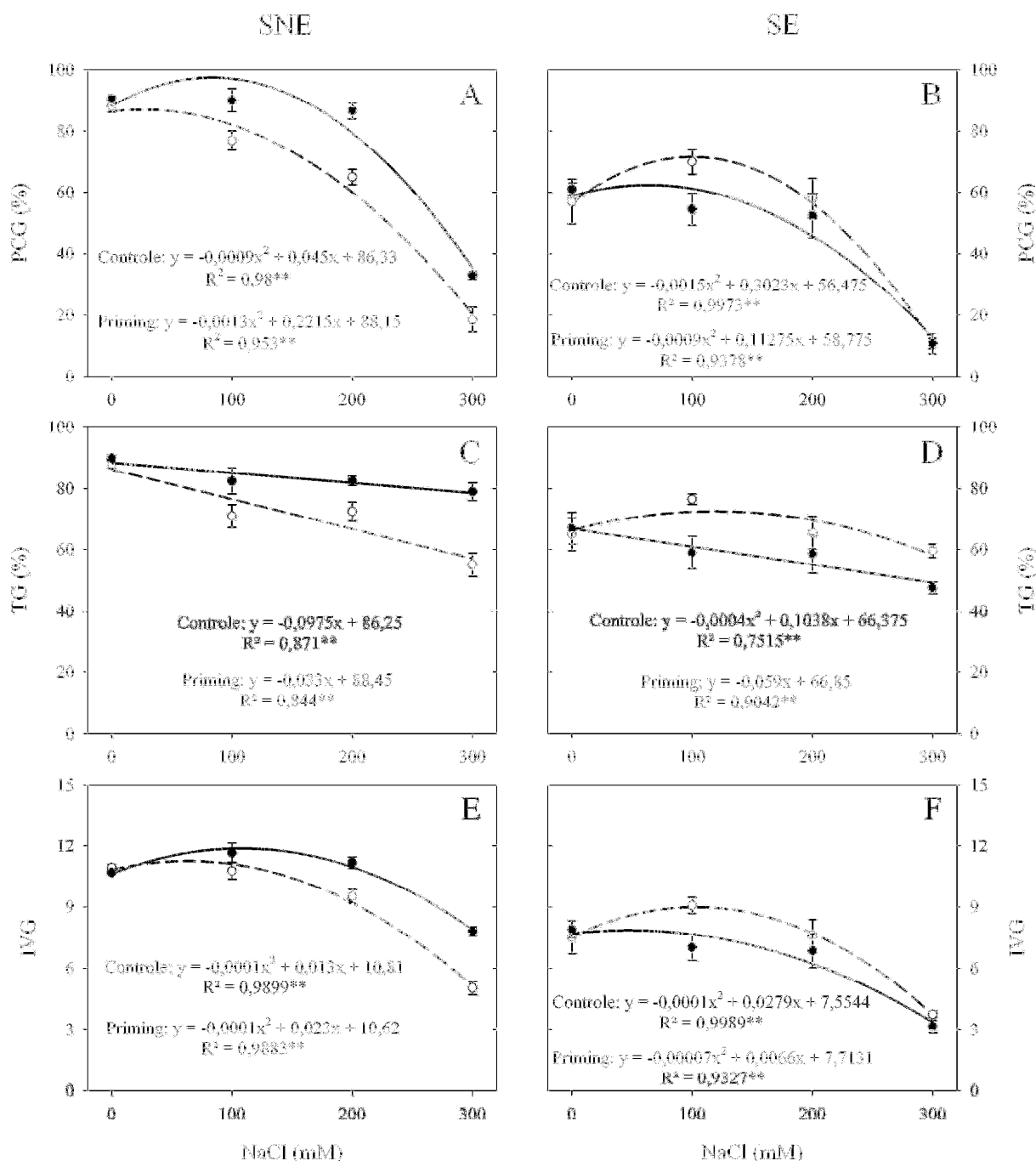
RUAS, R.A.A.; NASCIMENTO, G.B.; BERGAMO, E.P.; DAUR JÚNIOR, R.H.; ARRUDA, R.G. Embebição e germinação de sementes de crambe (*Crambe abyssinica*). **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.40, p.1-5, 2010.

SANTOS, M.C.A.; AROUCHA, E.M.M.; SOUZA, M.S.; SILVA, R.F.; SOUSA, P.A. Condicionamento osmótico de sementes. **Revista Caatinga**, v.21, p.1-6, 2008.

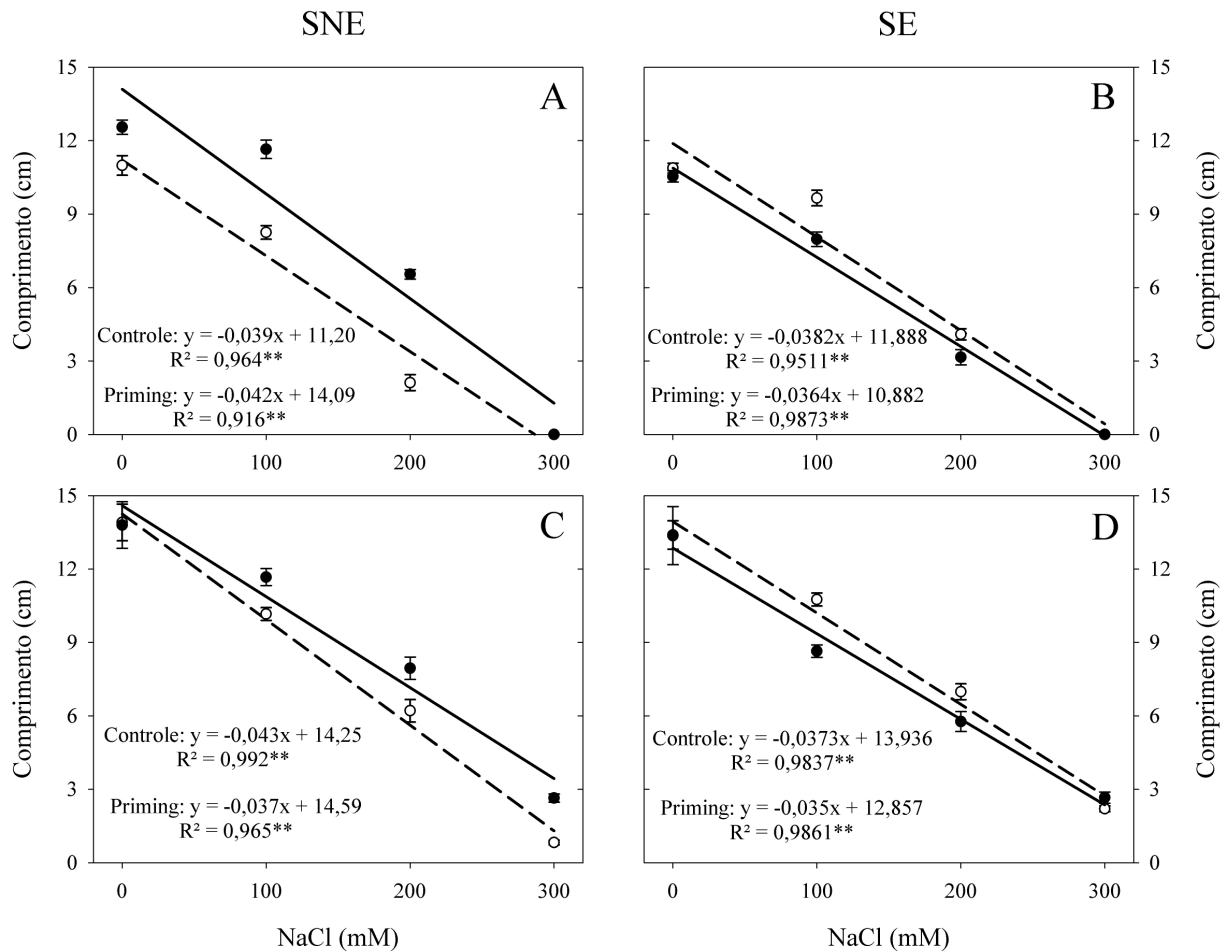
SVEINSDÓTTIR, H.; YAN, F.; ZHU, Y.; PEITER-VOLK, T.; SCHUBERT, S. Seed ageing-induced inhibition of germination and post-germination root growth is related to lower activity of plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase in maize roots. **Journal of Plant Physiology**, v.166, p.128-135, 2009.



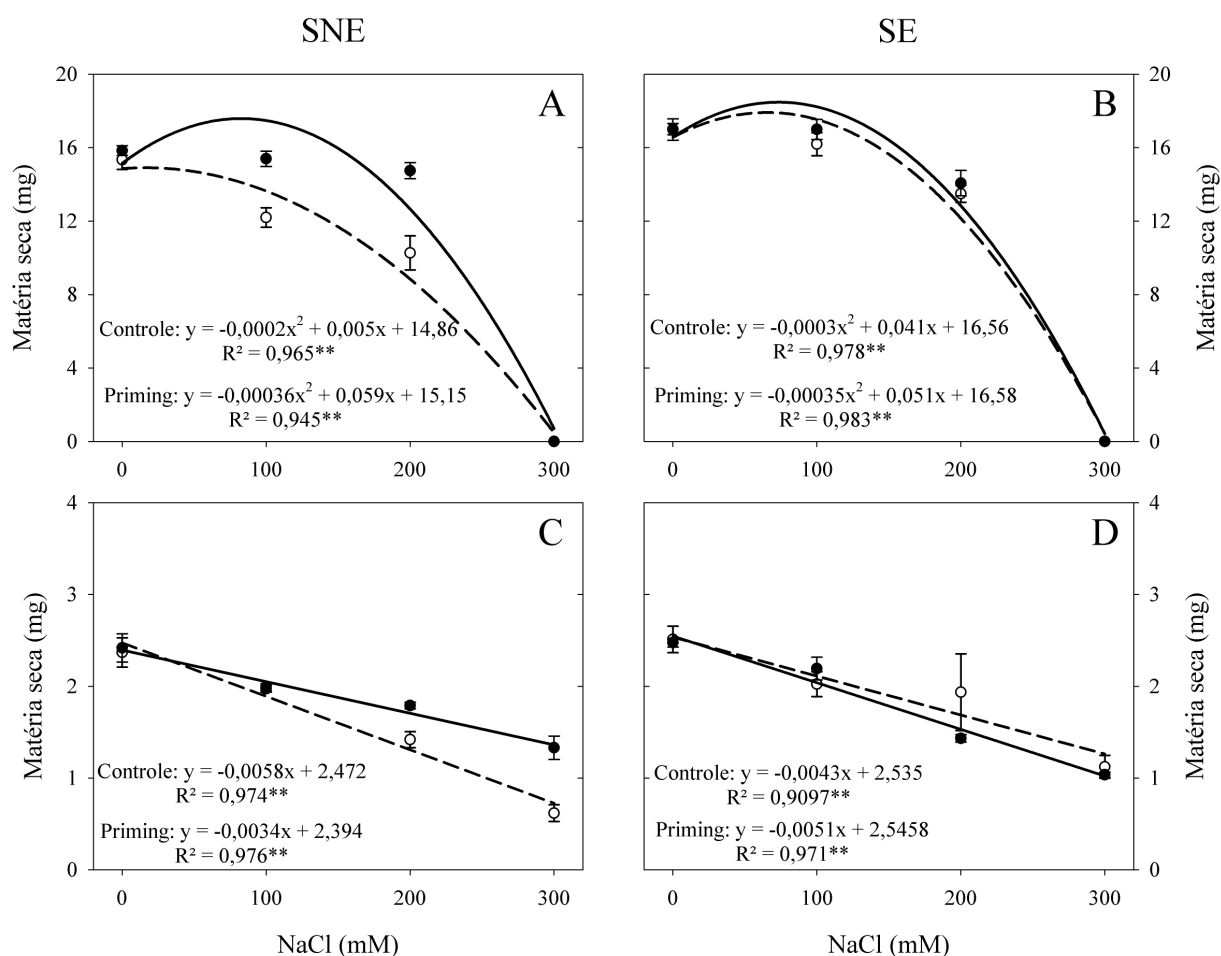
**Figura 1.** Curva de embebição em água destilada ou em solução de NaCl a 0,1 M de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas (A e B) e envelhecidas artificialmente (C e D) e submetidas (●) ou não (○) ao condicionamento osmótico. \*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F. As barras verticais representam o erro padrão da média.



**Figura 2.** Primeira contagem (PCG, A e B), teste padrão (TG, C e D) e índice de velocidade (IVG, E e F) de germinação de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas (SNE) e envelhecidas (SE) artificialmente, submetidas (●) ou não (○) ao condicionamento osmótico, em função de concentrações crescentes de NaCl. \*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F. As barras verticais representam o erro padrão da média.



**Figura 3.** Comprimento da parte aérea (A e B) e da raiz (C e D) de plântulas oriundas de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas (SNE) e envelhecidas (SE) artificialmente, submetidas (●) ou não (○) ao condicionamento osmótico, em função de concentrações crescentes de NaCl. \*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F. As barras verticais representam o erro padrão da média.



**Figura 4.** Massa da matéria seca da parte aérea (A e B) e da raiz (C e D) de plântulas oriundas de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas (SNE) e envelhecidas (SE) artificialmente, submetidas (●) ou não (○) ao condicionamento osmótico, em função de concentrações crescentes de NaCl. \*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F. As barras verticais representam o erro padrão da média.

## Capítulo V

(Dados não publicados)

**Alterações citoquímicas durante a germinação de sementes de sorgo envelhecidas artificialmente e osmocondicionadas, sob estresse salino**

**RESUMO**

O objetivo desse experimento foi avaliar as alterações citoquímicas em sementes envelhecidas e osmocondicionadas de sorgo durante a germinação na ausência ou presença de NaCl a 100 mM. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com quatro repetições, no esquema fatorial 2 x 2 x 2, constando de oito tratamentos: dois lotes de sementes (envelhecidas ou não); dois tipos de sementes (osmocondicionadas ou não) e duas condições de germinação (presença ou ausência de NaCl). Quatro subamostras de 50 sementes de cada sublote foram postas sobre duas folhas de papel de filtro mata borrão saturadas com água destilada e colocadas no interior de caixas gerbox (11 x 11 x 3,5 cm) transparentes, com tampas, as quais foram mantidas em câmara de germinação, sob escuro contínuo e temperatura de 25 °C, durante 72 horas. As análises citoquímicas foram feitas em sementes embebidas por 0, 24, 48 e 72 horas. As células das sementes de sorgo apresentaram formatos irregulares, variando de elíptico ao arredondado, sendo que a coloração com o azul de toluidina também revelou a presença de núcleos, principalmente em sementes osmocondicionadas, indicando que algumas células apresentaram intensa atividade celular. O cotilédone e o endosperma da semente de sorgo apresentam como principal substância de reserva as proteínas e o amido, respectivamente, sendo que as análises citoquímicas não revelaram grandes variações nestas reservas durante o processo germinativo.

Palavras-chave: *Sorghum bicolor*, envelhecimento artificial, *priming*, morfologia interna, NaCl.

## ABSTRACT

### **Cytochemical changes during the germination of artificial aged and primed sorghum seeds under salt stress conditions**

The aim of this study was to evaluate the rate of water absorption and cytochemical changes in primed and aged seeds of sorghum during germination under absence or presence of 100 mM NaCl. The experiment was a completely randomized design with four replications and a 2 x 2 x 2, with eight treatments: two groups of seeds (aged or not), two types of seeds (primed or not) and two germination conditions (presence or absence of NaCl). Four replicates of 50 seeds from each batch were placed on two sheets of filter paper, blotting paper saturated with distilled water and placed inside gerboxes (11 x 11 x 3.5 cm) transparent lids, which were kept in a germination chamber under continuous darkness and 25 °C for 72 hours. The cytochemical analysis characterization was measured in the soaking times of 0, 24, 48 and 72 hours. The sorghum seeds cells showed irregular shapes, ranging from elliptical to rounded, and the staining with the toluidine blue also revealed the presence of nuclei, especially in primed seeds, indicating that some cells showed high cellular activity. The cotyledon and endosperm of sorghum seeds have as major substance reserve the proteins and starch, respectively, and the cytochemical analysis revealed wide variations in these reserves during the germinative process.

Keywords: *Sorghum bicolor*, accelerated aging, *priming*, internal morphology, NaCl.



## 1. INTRODUÇÃO

A influência nociva dos sais na agricultura, apesar de se refletir diretamente na produção das culturas, se manifesta primeiramente na germinação. O excesso de sais diminui o potencial hídrico do meio dificultando a absorção de água pela semente. Posteriormente, processos como os de divisão e alongamento celular, bem como o de mobilização das reservas, os quais são indispensáveis para a germinação, são também afetados (SOLTANI; GHOLIPOOR; ZEINALI, 2006; VOIGT *et al.*, 2009).

O processo germinativo constitui-se em uma fase crítica, influenciada por uma série de fatores em que há a necessidade da presença de um conjunto de condições favoráveis para que possa ser realizado de forma satisfatória (WINDAUER; ALTUNA; BENECH-ARNOLD, 2007). Neste processo, a primeira etapa na sequência de eventos que culminam com a retomada do crescimento do embrião é a embebição. A absorção de água pela semente dá início a uma série de processos físicos, fisiológicos e bioquímicos que, na ausência de fatores limitantes, resultam na emergência da plântula (MARCOS FILHO, 2005).

O controle da hidratação das sementes pode ser realizado através de diferentes métodos de condicionamento fisiológico das sementes, tais como o de embebição simples (mediante o equilíbrio com o vapor de água da atmosfera), o de embebição em substrato úmido, ou ainda podendo-se fazer a embebição por imersão direta das sementes em água. Além disso, o uso de substâncias químicas osmoticamente ativas como uma forma de controlar a entrada de água na semente é um método que tem sido amplamente difundido (FINCH-SAVAGE, 2004; HALMER, 2004). O agente osmótico mais comumente utilizado é o polietilenoglicol - PEG, em virtude do mesmo não ser fitotóxico, não atravessar o sistema de membranas e, portanto, não ser metabolizado pelas sementes (HONGBO *et al.*, 2005).

Durante o condicionamento osmótico (ou *priming*) a semente hidrata-se lentamente, o que permite um maior tempo para a reparação ou reorganização das membranas plasmáticas, possibilitando a formação dos tecidos de maneira mais ordenada e reduzindo os riscos de danos ao eixo embrionário (McDONALD, 2000; WINDAUER; ALTUNA; BENECH-ARNOLD, 2007). Alguns trabalhos na literatura relatam que o aumento no vigor de sementes osmocondicionadas ocorre em razão da eficiência desse tratamento em reparar a organização estrutural da membrana plasmática durante a embebição (HSU *et al.*, 2003; CHIU; CHUANG; SUNG, 2006).

Em razão do grande número de pesquisas visando melhorar a germinação das sementes sob condições adversas empregando tratamentos como os de osmocondicionamento ou de pré-hidratação (FOTI *et al.*, 2002; ASHRAF; FOOLAD, 2005; KAYA *et al.*, 2006; PATANÈ; CAVALLARO; COSENTINO, 2009), torna-se fundamental o conhecimento das alterações citoquímicas que ocorrem durante o processo germinativo nessas condições. Mudanças morfológicas nas sementes, durante a germinação são normalmente acompanhadas por mudanças fisiológicas (YU-QIN; SONG-QUAN, 2008), e algumas dessas alterações metabólicas nos compostos de reserva podem ser detectadas *in situ* por meio de técnicas citoquímicas específicas (JORDAAN, 2008). Algumas mudanças estruturais relacionadas à degradação das reservas em sementes têm sido descritas (STONE; GIFFORD, 1997). Em soja, mudanças nos compostos de reserva foram detectadas *in situ* nos cotilédones durante a germinação (CORTELAZZO; VIDAL, 1991). Em jacarandá, resultados citoquímicos sugerem similar padrão de degradação das reservas de lipídios e proteínas durante a germinação e estabelecimento das plântulas (SILVA; CORTELAZZO; DIETRICH, 1997). Portanto, as análises citoquímicas constituem uma ferramenta relevante para a avaliação do consumo de reservas da semente durante a germinação.

Considerando que o sorgo é um modelo vegetal interessante para os estudos de estresses abióticos, bem como uma cultura com grande potencial de cultivo no semi-árido nordestino (OLIVEIRA; GOMES-FILHO, 2009), o presente estudo teve por objetivo caracterizar, através de análises citoquímicas, o processo de mobilização de reservas durante a germinação de sementes submetidas ou não ao envelhecimento precoce e/ou ao *priming*, sob condições controle e de estresse salino.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no período de agosto a outubro de 2009, nos Laboratórios de Análise de Sementes e de Biologia Vegetal, pertencentes, respectivamente, aos Departamentos de Fitotecnia e de Biologia da Universidade Federal do Ceará (UFC), em Fortaleza, CE. Foram utilizadas sementes de sorgo granífero [*Sorghum bicolor* (L) Moench], cultivar IPA 1011, safra 2008, cedidas pela Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), em Recife, PE, armazenadas em frascos de vidro contendo sílica gel à temperatura de 8 °C.

## 2.1. Condições experimentais

Para aplicação dos tratamentos, o lote inicial de sementes foi dividido em dois sublotos: em um deles, as sementes foram submetidas ao envelhecimento acelerado de acordo com metodologia descrita por Miranda, Novembre e Chamma (2001) para sementes de sorgo, as quais foram distribuídas numa camada única e uniforme sobre tela de alumínio fixada no interior de caixas plásticas transparentes de 11 x 11 x 3,0 cm (gerbox), com tampa, contendo no fundo 40 mL de água, mantidas em incubadora BOD a 43 °C, sob umidade relativa do ar próxima de 100%, por 72 horas; o outro sublote de sementes permaneceu sem tratamento (sementes não envelhecidas) e foi utilizado como controle. Após esse procedimento, a metade das sementes de cada um desses sublotos foi submetida ao tratamento de condicionamento osmótico.

Para o condicionamento osmótico das sementes foi empregada a metodologia descrita por Foti *et al.*, 2002 e Patanè, Cavallaro e Cosentino (2009), para sementes de sorgo. Para tanto, as sementes foram colocadas em béqueres de 400 mL contendo 200 mL de solução de PEG-6000 a 250 g L<sup>-1</sup> a qual, segundo Michel e Kaufmann (1973), corresponde a um potencial osmótico de - 0,86 MPa a 15 °C, quando permaneceram por 48 horas. Para a definição desse tempo foram feitas curvas de absorção de água das sementes envelhecidas e não envelhecidas, conforme metodologia descrita em Oliveira e Gomes-Filho (2010).

O condicionamento osmótico foi conduzido em uma incubadora, sob escuro contínuo e aeração constante, a fim de garantir condições normais de respiração das sementes (BUJALSKI; NIENOW, 1991). Na parte inferior de cada béquer foi fixada uma mangueira estreita, com pedra porosa anexada na ponta, a qual se manteve conectada a uma pequena bomba de aquário, responsável pela insuflação de ar na solução. Após o condicionamento, as sementes foram cuidadosamente lavadas e, em seguida, secas com papel de filtro mata borrão, por 72 horas, em ambiente de laboratório. As sementes foram desinfetadas em solução de hipoclorito de sódio a 1%, por cinco minutos e utilizadas nos experimentos.

Para a análise do processo germinativo sob condições controle ou de estresse salino, em diferentes períodos de embebição, quatro subamostras de aproximadamente quatro gramas de sementes de cada tratamento foram postas sobre duas folhas de papel de filtro mata

borrão saturadas com água destilada (controle) ou solução de NaCl a 100 mM (estresse salino) e colocadas no interior de caixas gerbox (11 x 11 x 3,5 cm) transparentes com tampas, as quais foram mantidas em câmara de germinação, sob escuro contínuo e temperatura de 25 °C. Cada conjunto de tratamentos foi semeado em três dias consecutivos, de modo a proporcionar a obtenção de cortes histológicos nos tempos de embebição de 24, 48 e 72 horas, os quais foram utilizados nas análises citoquímicas

## **2.2. Análises citoquímicas**

### **2.2.1. Fixação e processamento pós-fixação**

O material coletado, seções transversais de sementes com 24, 48 e 72 horas de embebição, foi submetido à fixação em solução de paraformaldeído a 4% e glutaraldeído a 1% em tampão fosfato de sódio a 0,1 M, pH 7,2, por 24 horas, sendo posteriormente mantidos a 4 °C (KARNOVSKY, 1965). Completado o tempo de fixação em solução de paraformaldeído/glutaradeído, o excesso de fixador foi removido através de três lavagens de 10 min cada com tampão fosfato a 0,1 M, pH 7,2. Logo após, as amostras foram lavadas rapidamente com água destilada por três vezes. Posteriormente, as amostras foram expostas à desidratação em bateria crescente de etanol, iniciando com etanol a 40% e terminando com etanol a 100%, com duração de 1 hora para cada solução. Após a desidratação, os cortes foram primeiramente pré-infiltrados por embebição em resina-álcool etílico 1:1 por 24 horas. Em seguida, o material foi incluído em resina pura (Historesin Embedding Kit – Jung). Ao final da preparação do material, foram feitos cortes seriados de 5 µm, em um micrótomo automático Leica RM 2065.

### **2.2.2. Colorações**

a) Azul de toluidina

O azul de toluidina é um corante metacromático utilizado para detectar radicais aniônicos totais, tais como aqueles dos componentes da parede celular. A coloração com azul de toluidina (AT) a 0,025% pH 4,0, ocorreu durante 15 min, à temperatura ambiente, sendo os cortes seguidamente foram submetidos à lavagens rápidas em água destilada e secagem ao ar livre (VIDAL, 1970). Ao final, os cortes foram montados entre lâmina e lamínulas em entelan.

#### b) Xylidine Ponceau

O xylidine Ponceau (XP) é um corante utilizado para detectar radicais catiônicos totais (VIDAL, 1977), tais como aqueles presentes nas proteínas, possibilitando a identificação de corpos protéicos. A solução de XP foi preparada a 0,1% em ácido acético glacial a 3%, sendo o pH ajustado para 2,5. A coloração com XP foi realizada durante 15 min à temperatura ambiente, seguindo-se de lavagem em solução de ácido acético 3% por 15 min e duas lavagens rápidas em água destilada, secagem ao ar e montagem em entelan (CORTELAZZO; VIDAL, 1991).

#### c) Reação com lugol

A reação com lugol é utilizada para detecção de amido, possibilitando a identificação de grânulos de amido com uma coloração azul negra ou marrom muito escuro (BERLYN; MIKSCHE, 1976). A solução de lugol foi preparada na proporção de 1:1 (iodeto de potássio: iodo) dissolvidos em 100 mL de água destilada. Pingou-se uma gota da solução de lugol sobre os cortes incluídos em resina, que foram montados entre lâmina e lamínula em entelan, após o tempo de 5 minutos.

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A coloração com azul de toluidina (AT) foi utilizada para a análise morfológica das células cotiledonares das sementes de sorgo, em cortes longitudinais, nos quais foram

verificados padrões semelhante de coloração em todas as condições analisadas (Figura 1). Observaram-se paredes celulares finas coradas pelo AT, que não foram alteradas mesmo com os tratamentos de condicionamento osmótico, envelhecimento artificial e exposição ao sal. A coloração com azul de toluidina também revelou paredes celulares finas das células cotiledonares de *Copaifera langsdorfii* e *Moringa oleifera*, como foi verificado por Gallão, Damasceno e Brito (2006) e Guerra, Medeiros Filho e Gallão (2006), respectivamente. Em cotilédones de sementes quiescentes de *Phaseolus vulgaris*, foram observados elementos aniônicos corados no citoplasma, bem como paredes celulares corados com AT (CORTELAZZO; COUTINHO; GRANJEIRO, 2005).

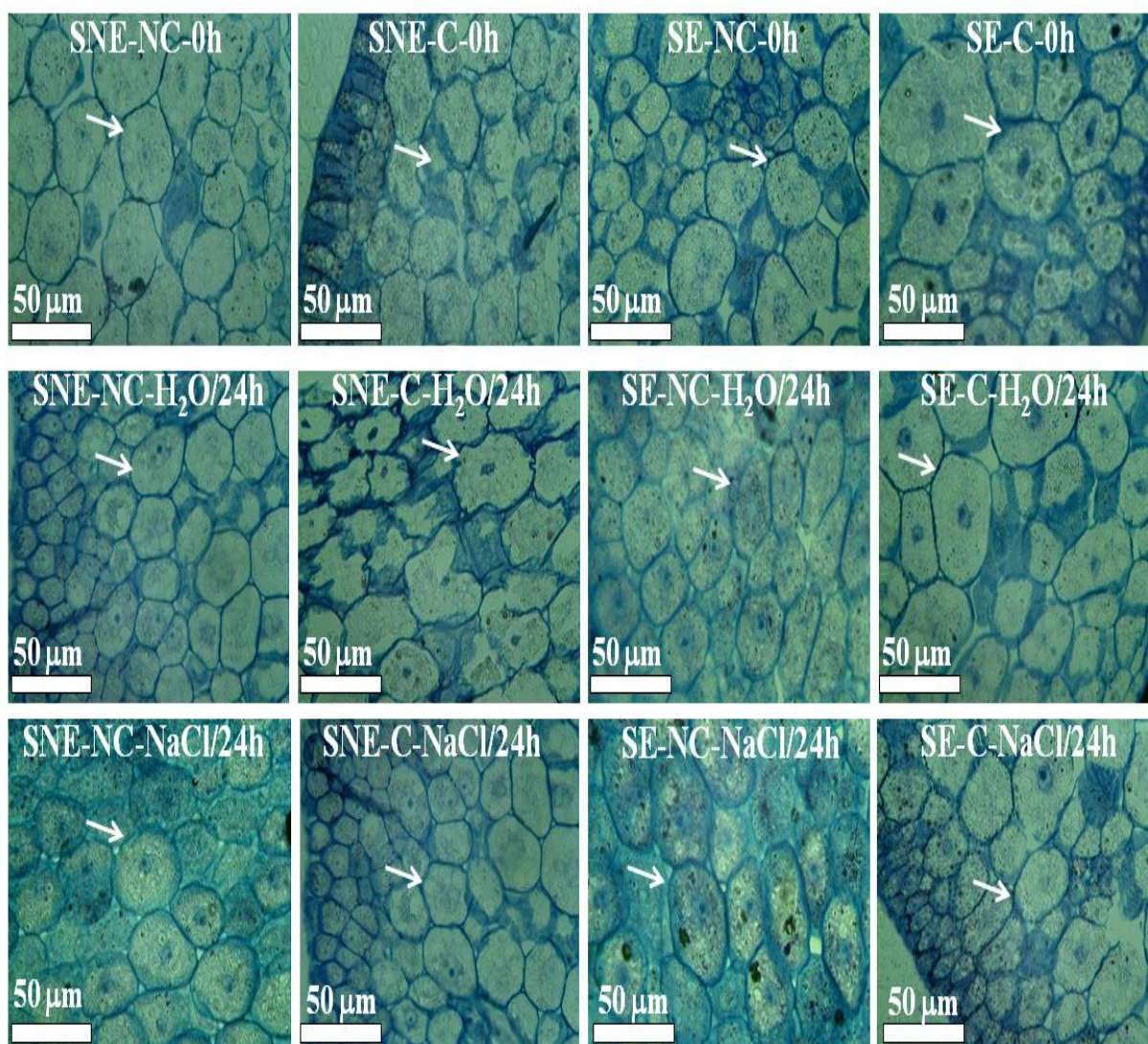


Figura 1. Cortes transversais de sementes de sorgo coradas com o azul de toluidina, evidenciando a parede celular e o formato das células (→). SNE – semente não envelhecida; SE – semente envelhecida; NC – semente não condicionada; C – semente condicionada; 0h – semente quiescente; H<sub>2</sub>O/24h – semente embebida em água por 24 h; NaCl/24h – semente embebida em solução de NaCl a 100 mM por 24 h.

As células apresentaram formatos irregulares, variando do elíptico ao arredondado (Figura 1). Os cortes que apresentaram maior variação no formato e tamanho da célula foram os das sementes envelhecidas e osmocondicionadas, seja na semente quiescente, ou com 24 horas de embebição na ausência e na presença de NaCl. A coloração pelo AT também revelou a presença de núcleos, indicando que algumas células apresentavam intensa atividade celular, o que pode ser relacionado ao osmocondicionamento das sementes, uma vez que os tratamentos que envolviam as sementes de qualquer nível de qualidade fisiológica (envelhecida ou não) que foram sujeitas ao condicionamento osmótico e embebidas em água destilada apresentaram os núcleos corados mais intensamente (Figura 1). Os resultados obtidos, portanto, corroboram em parte com aqueles encontrados por Lanteri; Nada e Belletti (1996), os quais relataram em sua pesquisa que o condicionamento osmótico de sementes não submetidas ao envelhecimento artificial induziu as células embrionárias a entrarem na fase de síntese de DNA e, por conseguinte, aumentarem a taxa de multiplicação celular. Estudos bioquímicos indicam que o metabolismo do RNA e a síntese de proteínas também são aumentados pelo condicionamento osmótico, sugerindo que este tratamento deixa disponível às sementes precursores utilizados para a síntese de macromoléculas (KHAN, 1992). Concordando com os dados obtidos no presente estudo, outros trabalhos na literatura têm relatado que, sob condições de alta umidade e alta temperatura proporcionadas pelo envelhecimento acelerado, o condicionamento com PEG-6000 proporciona melhor desempenho das sementes em relação à testemunha, como observado por Medeiros Filho *et al.* (2000) e por Kikuti, Kikuti e Minami (2005) em sementes de sorgo e de pimentão, respectivamente.

As análises citoquímicas com o corante xyloidine Ponceau (XP) detectaram a presença de proteínas no citoplasma das células cotiledonares das sementes de sorgo, armazenadas em vacúolos de reserva, sendo observadas poucas alterações nessas células nos diferentes tratamentos analisados (Figura 2). Esses corpos protéicos se apresentavam como corpúsculos globulares com pequenas dimensões, distribuídos por todo o citoplasma. A presença de muitos corpúsculos globulares, intensamente corados por XP, também foi observada no citoplasma das células cotiledonares de *Cesalpinia peltophoroides* (CORTE *et al.*, 2006) e *Prosopis juliflora* (GALLÃO *et al.*, 2007).



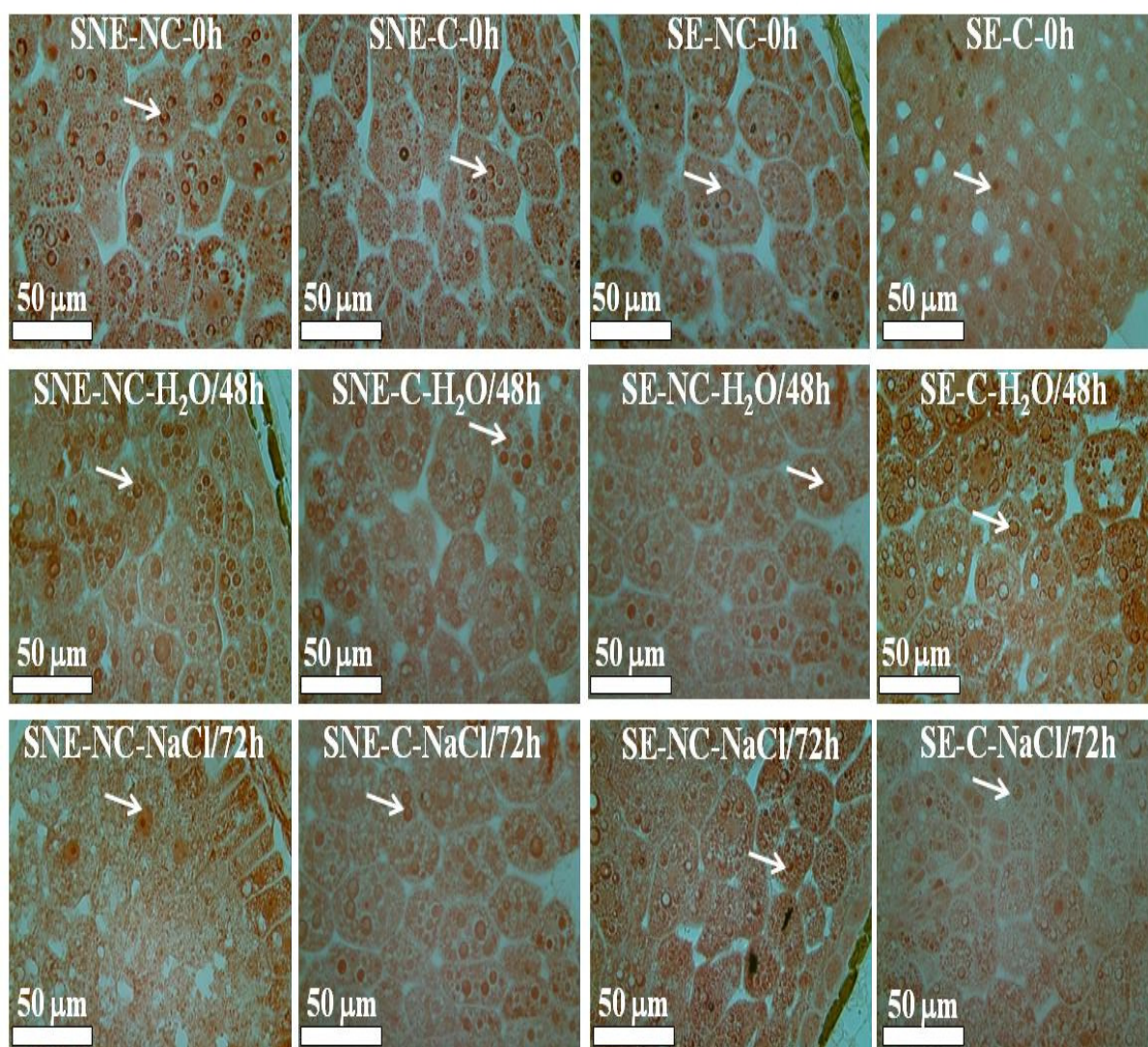


Figura 2. Cortes transversais de sementes de sorgo coradas com o xylydine ponceau, evidenciando os corpos protéicos nas células cotiledonares (→). SNE – semente não envelhecida; SE – semente envelhecida; NC – semente não condicionada; C – semente condicionada; 0h – semente quiescente; H<sub>2</sub>O/48h – semente embebida em água por 48 h; NaCl/72h – semente embebida em solução de NaCl a 100 mM por 72 h.

Observou-se redução do número de corpos proteicos nos cortes das sementes envelhecidas e osmocondicionadas, tanto nas quiescentes, como nas embebidas por 72 horas em solução salina (Figura 2). Tal efeito pode ter sido causado pelo envelhecimento artificial das sementes de sorgo, uma vez que, de maneira semelhante, Cortelazzo, Coutinho e Granjeiro (2005), avaliando as alterações citoquímicas em cotilédones das sementes de *Phaseolus vulgaris* submetidas ao envelhecimento acelerado, observaram a perda do conteúdo protéico e uma maior desorganização desses glóbulos quando comparado às sementes frescas e submetidas ao armazenamento.

As células do endosperma praticamente não foram coradas pelo XP (Figura 3),



podendo tal comportamento estar relacionado com o fato de que essa região possui como fonte principal de reserva o amido, o que é confirmado pela intensa coloração da região endospermática das sementes de sorgo com o lugol (Figuras 4 e 5). Gallão, Damasceno e Brito (2006) obtiveram resultados contrastantes ao deste ensaio, os quais relataram pouca quantidade de amido detectada na análise morfológica de sementes de moringa. No entanto, segundo esses autores, é possível que o amido não tenha sido detectado devido à grande quantidade de proteína presente no endosperma, impedindo sua visualização.

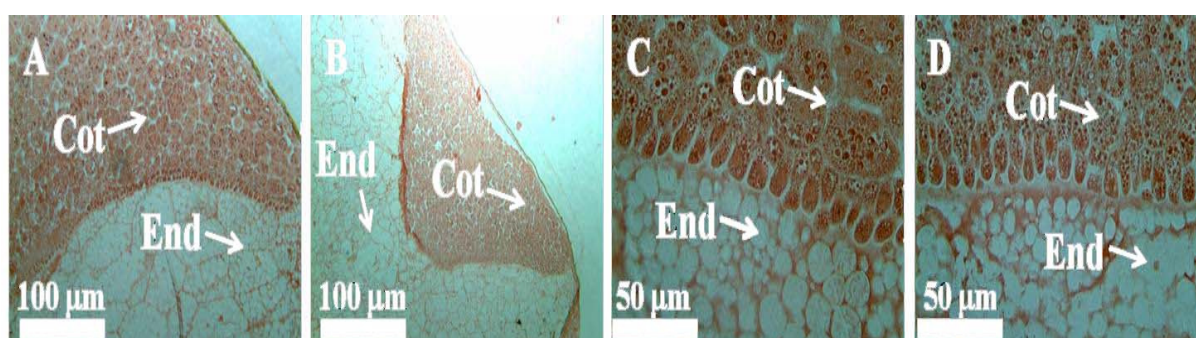


Figura 3. Cortes transversais de sementes de sorgo coradas com o xylydine ponceau, evidenciando (→) a região endospermática (End) e cotilédonar (Cot). Semente quiescente submetida (B e D) ou não (A e C) ao envelhecimento artificial.

Os cortes transversais das sementes de sorgo coradas com lugol evidenciaram no endosperma e nos cotilédones a presença de grânulos de amido no citoplasma dessas células (Figura 4). Entretanto, observou-se um padrão de coloração diferenciado entre os tecidos da semente, sendo que o endosperma apresentou abundante quantidade de grânulos de amido com formato arredondado, intensamente corados pelo lugol, preenchendo todo o citoplasma das suas células. Essa grande quantidade de amido detectada nas sementes de sorgo através da coloração com o lugol confirma o relato de Antunes *et al.* (2007), os quais avaliaram 33 genótipos de sorgo e verificaram que os teores de amido variaram de 62,07 a 78,74%, sendo, portanto, o amido a principal reserva do grão de sorgo.

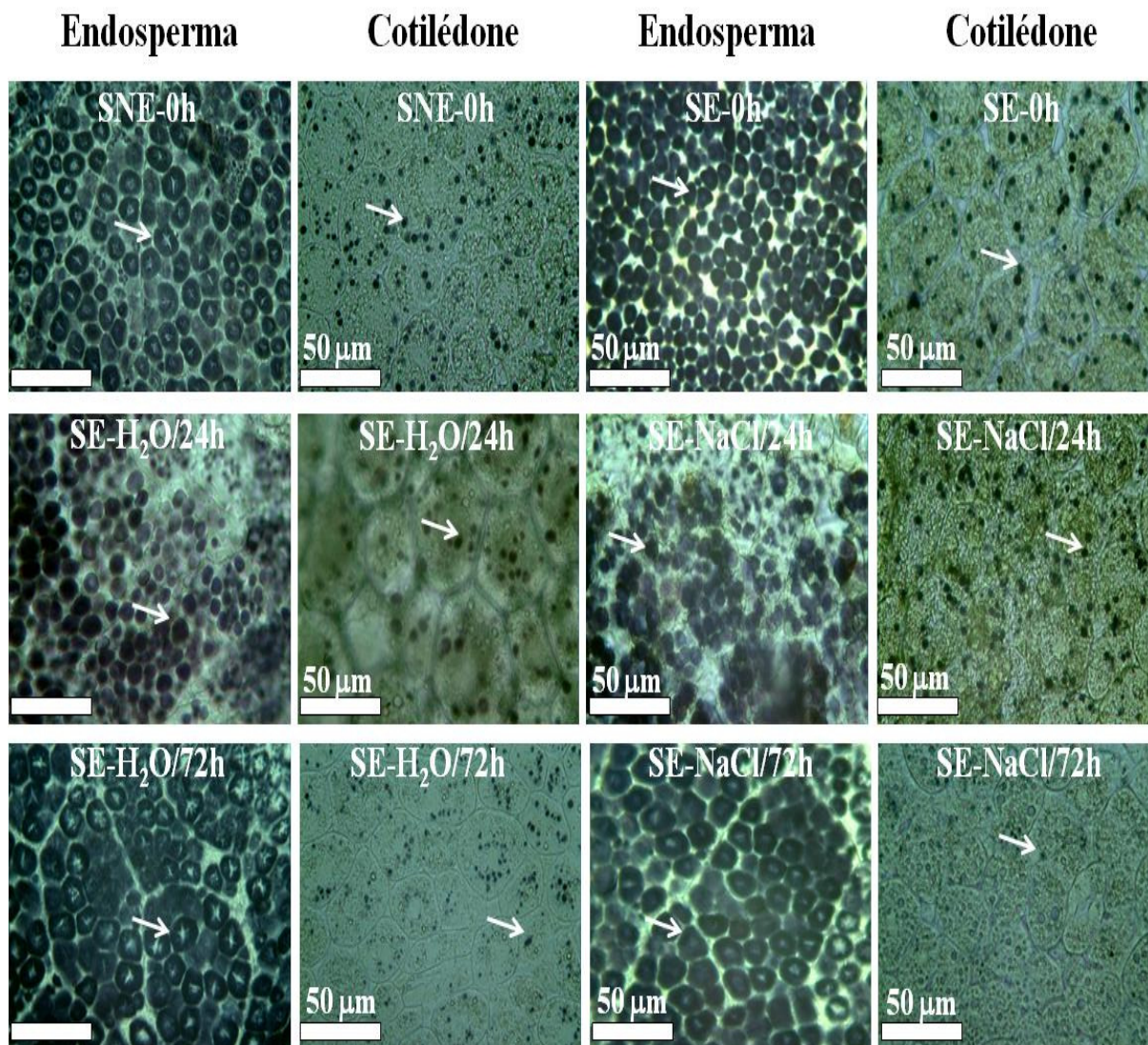


Figura 4. Cortes transversais de sementes de sorgo coradas com lugol. Endosperma e cotilédone das sementes, evidenciando os grânulos de amido (→). SNE – semente não envelhecida; SE – semente envelhecida; 0h – semente quiescente; H<sub>2</sub>O/24h – semente embebida em água por 24 h; NaCl/24h – semente embebida em solução de NaCl a 100 mM por 24 h. H<sub>2</sub>O/72h – semente embebida em água por 72 h; NaCl/72h – semente embebida em solução de NaCl a 100 mM por 72 h.

No endosperma não foram verificadas diferenças marcantes no tamanho dos grânulos de amido em virtude dos tratamentos realizados, isto é, do envelhecimento artificial e condicionamento osmótico das sementes, bem como, da exposição das mesmas ao sal, indicando que essa reserva se manteve praticamente constante, mesmo sob condição de estresse salino. Uma exceção a esse comportamento ocorreu para os tratamentos com a semente não osmocondicionada e osmocondicionada com 48 h de exposição ao sal, onde foi verificada redução do número dos grânulos de amido dessas células (Figura 5). Resultados divergentes foram obtidos por Silva *et al.* (2008) em sementes de trigo, os quais observaram que os teores de amido da semente aumentaram em função da exposição das mesmas ao



estresse salino.

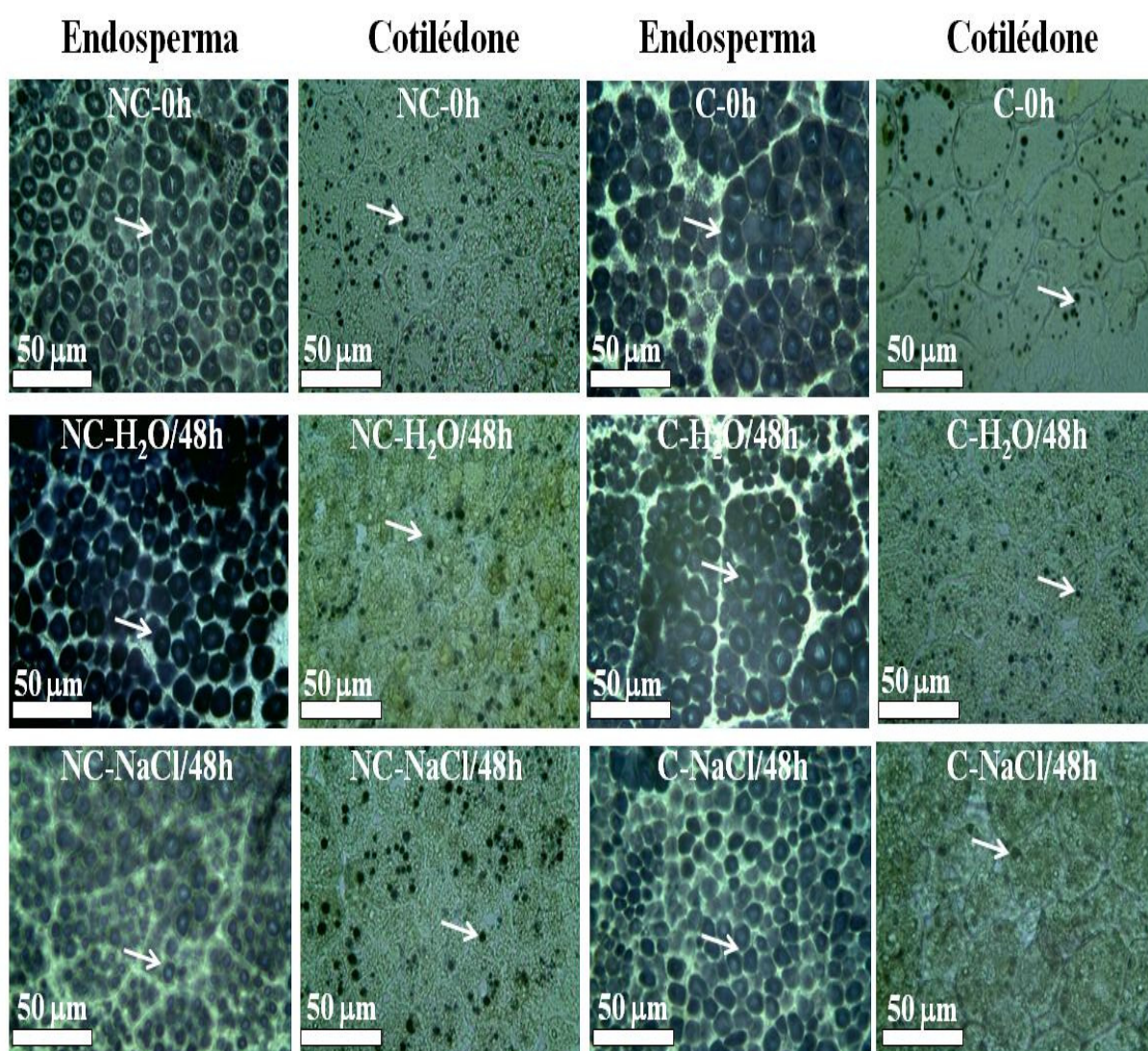


Figura 5. Cortes transversais de sementes de sorgo coradas com lugol. Endosperma e cotilédone das sementes, evidenciando os grânulos de amido (→). NC – semente não condicionada; C – semente condicionada; 0h – semente quiescente; H<sub>2</sub>O/48h – semente embebida em água por 48 h; NaCl/48h – semente embebida em solução de NaCl a 100 mM por 48 h.

Com relação aos cotilédones, as suas células também revelaram coramento positivo do citoplasma com lugol, entretanto, diferentemente do endosperma, os grânulos de amido se apresentaram em menor número, com dimensões muito menores do que os observados no endosperma, com formato semelhante a pontos escuros (Figuras 4 e 5). Adicionalmente, nos cotilédones, observou-se também redução no número desses grânulos, especialmente nos casos de sementes envelhecidas, após 24 (Figura 4F) e 72 horas de embebição em água destilada (Figura 4J) e em presença de NaCl (Figura 4L), bem como na semente osmocondicionada germinando sob estresse salino (Figura 5J). Durante a formação

das substâncias de reserva das sementes de *Bixa orellana*, os grânulos de amido se apresentavam pequenos e em pequena quantidade, porém, com o avanço da maturação das sementes, estes adquiriram formato arredondado e se apresentavam em maior número (AMARAL; PEREIRA; CORTELAZZO, 2001). Por outro lado, durante a germinação das sementes, foi observada redução do número dos grânulos de amido e mudança no seu formato devido a sua mobilização durante o desenvolvimento da nova plântula (AMARAL; PEREIRA; CORTELAZZO, 2001).

O amido é uma das mais importantes formas de reserva de carbono nas plantas, em termos de quantidade, universalidade de sua distribuição e importância comercial (BUCKERIDGE *et al.*, 2004). Teixeira e Machado (2008), estudando a localização das reservas de *Caesalpinia echinata* e *Caesalpinia ferreae*, observaram que o amido é a principal reserva que se acumula nas células dos tecidos de reserva dessas espécies. Em *Prosopis juliflora*, os grânulos de amido aumentaram até 24 h de embebição da semente, diminuindo logo em seguida após 72 horas (GALLÃO *et al.*, 2007). Nas sementes de *Phaseolus vulgaris*, submetidas ao envelhecimento acelerado, observou-se perda do conteúdo celular e decréscimo do diâmetro dos grânulos de amido quando comparado às sementes secas e estocadas (CORTELAZZO; COUTINHO; GRANJEIRO, 2005). De forma discordante, por não ter sido observado grandes alterações na morfologia das sementes de sorgo, mesmo quando expostas as condições de estresse, pode-se dizer que estas não sofreram danos morfológicos que pudessem comprometer os componentes de reserva de suas sementes.

#### 4. CONCLUSÕES

As células das sementes de sorgo apresentaram formatos irregulares, variando do elíptico ao mais arredondado, sendo que a coloração com o azul de toluidina também revelou a presença de núcleos, principalmente em sementes osmocondicionadas, indicando que algumas células apresentaram intensa atividade celular.

O cotilédone e o endosperma da semente de sorgo apresentam como principais substâncias de reserva as proteínas e o amido, respectivamente, sendo que as análises citoquímicas não revelaram grandes variações nestas reservas durante o processo germinativo.

Os tratamentos aplicados às sementes, ou seja, o envelhecimento artificial e o condicionamento osmótico, bem como a exposição destas ao estresse salino, resultaram em

poucas mudanças morfológicas e citoquímicas visíveis durante o período em que o experimento foi avaliado.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, L. I. V.; PEREIRA, M. F. D. A.; CORTELAZZO, A. L. Formação das substâncias de reserva durante o desenvolvimento de sementes de urucum (*Bixa orellana* L. - bixaceae). **Acta Botanica Brasílica**, v. 15, n.1, p. 125-132, 2001.

ANTUNES, R. C.; RODRIGUEZ, N. M.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUES, J. A. S.; BORGES, I.; BORGES, A. L. C. C.; SALIBA, E. O. S. Composição bromatológica e parâmetros físicos de grãos de sorgo com diferentes texturas do endosperma. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.5, p.1351-1354, 2007.

ASHRAF, M.; FOOLAD, M. R. Pre-sowing seed treatment - A shotgun approach to improve germination, plant growth, and crop yield under saline and non-saline conditions. **Advances in Agronomy**, v.88, p.223-271, 2005.

BERLYN, G. P.; MIKSCH, J. P. **Botanical microtechnique and cytochemistry**. Ames, Iowa State University, 1976. p.121-276.

BUCKERIDGE, M. S.; AIDAR, M. P. M.; SANTOS, H. P.; TINÉ, M. A. S. **Mobilização de Reservas**. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETT, F (eds). Germinação do básico ao aplicado. Artmed: Porto Alegre, 2004, p. 251-262.

BUJALSKI, W.; NIENOW, A.W. Large-scale osmotic priming of onion seeds: a comparison of different strategies for oxygenation. **Scientia Horticulturae**, v.46, n.1/2, p.13-24, 1991.

CHIU, K. Y.; CHUANG, S. J.; SUNG, J. M. Both anti-oxidation and lipid-carbohydrate conversion enhancements are involved in priming-improved emergence of *Echinacea purpurea* seeds that differ in size. **Scientia Horticulturae**, v. 108, p. 220–226, 2006.

CORTE, V. B.; LIMA E BORGES, E. E.; PONTES, C. A.; LEITE, I. T. A.; VENTRELLA, M. C.; MATHIAS, A. A. Mobilização de reservas durante a germinação das sementes e crescimento das plântulas de *Caesalpinia peltophoroides* Benth. (Leguminosae-Caesalpinoideae). **Revista Árvore**, v.30, n.6, p.941-949, 2006.

CORTELAZZO, A. L.; VIDAL, B. C. Soybean seed proteins: Detection *in situ* and mobilization during germination. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 14, n. 1, p. 27-33, 1991.

CORTELAZZO, A. L.; COUTINHO, J.; GRANJEIRO, P. A. Storage and ageing of french beans (*Phaseolus vulgaris* L.): Effect on seed viability and vigor. **Brazilian Journal Morphology Science**, v.22, n.2, p. 121-128, 2005.

FINCH-SAVAGE, W. E., **The use of population-based threshold models to describe and predict the effects of seeded environments on germination and seedling emergence of crops**. In: BENECH-ARNOLD, R.L.; SANCHEZ, R. (Eds.), Handbook of Seed Physiology. Food Product Press, NY, 2004. p.51–84.

FOTI, S.; COSENTINO, S. L.; PATANÈ, C.; D'AGOSTA, G. Effect of osmoconditioning upon seed germination of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) under low temperatures. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.30, n.3, p.521–533, 2002.

GALLÃO, M. I.; DAMASCENO, L. F.; BRITO, E. S. Avaliação química e estrutural da semente de moringa. **Revista Ciência Agronômica**, v. 37, n.1, p. 106-109, 2006.

GALLÃO, M. I.; VIEIRA, I. G. P.; MENDES, F. N. P.; SOUZA, A. S. N.; BRITO, E. S. Reserve mobilisation in mesquite (*Prosopis juliflora*) seed (Leguminosae). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 87, p. 2012-2018, 2007.

GUERRA, M. E.; MEDEIROS FILHO, S.; GALLÃO, M. I. Morfologia de sementes, de plântulas e da germinação de sementes de *Copaifera langsdorfii* Desf. (Leguminosae-Caesalpinioideae). **Revista Cerne**, v.12, n.4, p.322-328, 2006.

HALMER, P., **Methods to improve seed performance in the field**. In: BENECH-ARNOLD, R.L.; SANCHEZ, R. (Eds.), Handbook of Seed Physiology. Food Product Press, NY, 2004. p.125–156.

HONGBO, S.; ZONGSUO, L.; MINGAN, S.; BOCHU, W. Impacts of PEG-6000 pretreatment for barley (*Hordeum vulgare* L.) seeds on the effect of their mature embryo in vitro culture and primary investigation on its physiological mechanism. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.41, n.2-3, p.73-77, mar. 2005.

HSU, C. C.; CHEN, C. L.; CHEN, J. J.; SUNG, J. M. Accelerated aging enhanced lipid peroxidation in bitter melon seeds and effects of priming and hot water soaking treatments. **Scientiae Horticulturae**, v.98, n.3, p.201–212, 2003.

JORDAAN, A. Ultrastructure and histochemistry of seeds of *Colophospermum mopane* during imbibition. **South African Journal of Botany**, v.74, p.591-597, 2008.

KARNOVSKY, M. J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology**, v.27, p.137, 1965.

KAYA, M. D.; OKÇU, G.; ATAĞ, M.; ÇIKILI, Y.; KOLSARICI, Ö. Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). **European Journal of Agronomy**, v.24, n.4, p.291-295, may. 2006.

KHAN, A. A. Preplant physiological seed conditioning. **Horticultural Review**, Edinburgh, v. 13, p. 131-181, 1992.

KIKUTI, A. L. P.; KIKUTI, H.; MINAMI, K. Condicionamento fisiológico em sementes de pimentão. **Revista Ciência Agronômica**, v.36, n.2, p.243-248, 2005.

LANTERI, S.; NADA, E.; BELLETTI, P. Effects of controlled deterioration and osmoconditioning on germination and nuclear replication in seeds of pepper (*Capsicum annuum* L.). **Annals of Botany**, London, v. 77, n. 66, p. 591-597, 1996.

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

MEDEIROS FILHO, S.; CARVALHO, L. F.; TEÓFILO, E. M.; ROSSETTI, E. M. Efeito do condicionamento no vigor de sementes de sorgo. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 31, n. 1/2, p. 33-42, 2000.

McDONALD, M. B. **Seed priming**. In: BLACK, M., BEWLEY, J.D. (Eds.), *Seed Technology and Its Biological Basis*. Sheffield Academic Press, Sheffield, England, 2000. p.287-325.

MICHEL, B. E.; KAUFMANN, M. R. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. **Plant Physiology**, Lancaster, v.51, n.6, p.914-916, 1973.

MIRANDA, D. M.; NOVENBRE, A. D. L. C.; CHAMMA, H. M. C. P. Avaliação do potencial fisiológico de sementes de sorgo pelo teste de envelhecimento acelerado. **Revista Brasileira de Sementes**, v.23, n.1, p.226-231, 2001.

OLIVEIRA, A. B.; GOMES-FILHO, E. Germinação e vigor de sementes de sorgo forrageiro sob estresse hídrico e salino. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 31, n. 3, p. 48-56, 2009.

OLIVEIRA, A. B.; GOMES-FILHO, E. Efeito do condicionamento osmótico na germinação e vigor de sementes de sorgo com diferentes qualidades fisiológicas. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n.1, p. xx-xx, 2010 (Prelo).

PATANÈ, C.; CAVALLARO, V.; COSENTINO, S. L. Germination and radicle growth in unprimed and primed seeds of sweet sorghum as affected by reduced water potential in NaCl at different temperatures. **Industrial Crops and Products**, Whashington DC, v. 30, n. 1, p. 1-8, 2009.

SILVA, T. R. G.; CORTELAZZO, A. L.; DIETRICH, S. M. C. Cytological aspects of storage mobilization in seeds of *Dalbergia miscolobium* during germination and plantlet growth. **Ciência e Cultura**, v. 49, n. 3, p. 170-176, 1997.

SILVA, R. N.; DUARTE, G. L.; LOPES, N. F.; MORAES, D. M.; PEREIRA, A. L. A. Composição química de sementes de trigo (*Triticum aestivum* L.) submetidas a estresse salino na germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, v.30, n.1, p.215-220, 2008.

SOLTANI, A.; GHOLIPOOR, M.; ZEINALI, E. Seed reserve utilization and seedling growth of wheat as affected by drought and salinity. **Environmental and Experimental Botany**, Paris, v.55, n.1-2, p.195-200, 2006.

STONE, S. L.; GIFFORD, D. J. Structural and biochemical changes in loblolly pine (*Pinus taeda* L.) seeds during germination and early-seedling grown. I. Storage protein reserves. **International Journal of Plant Science**, v. 158, n. 6, p. 727-737, 1997.

TEIXEIRA, S. P.; MACHADO, S. R. Storage sites in seeds of *caesalpinia echinata* and *c. Ferrea* (leguminosae) with considerations on nutrients flow. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.51, n. 1 : p.127-136, 2008.

VIDAL B. C. Dichroism in collagen bundles stained with xylydine Ponceau 2R. **Annalytical Histochemistry**, v. 15. p. 289-296, 1970.

VIDAL B. C. Acid glycosaminoglycans and endochondral ossification: microspectrophotometric evaluation and macromolecular orientation. **Cell Molecular Biology**. v.22, p.45- 64, 1977.



VOIGT, E. L.; ALMEIDA, T. D.; CHAGAS, R. M.; PONTE, L. F. A.; VIÉGAS, R. A.; SILVEIRA, J. A. G. Source–sink regulation of cotyledonary reserve mobilization during cashew (*Anacardium occidentale*) seedling establishment under NaCl salinity. **Journal of Plant Physiology**, Lancaster, v.166, n.1, p.80-89, jan. 2009.

WINDAUER, L.; ALTUNA, A.; BENECH-ARNOLD, R. Hydrotime analysis of *Lesquerella fendleri* seed germination responses to priming treatments. **Industrial Crops and Products**, v.25, n.1, p.70-74, 2007.

YU-QIN; M.; SONG-QUAN, S. Early morphological and physiological events occurring during germination of maize seeds. **Agricultural Sciences in China**, v.7, n.8, p.950-957, 2008.

## Capítulo VI

(Dados não publicados)

**Alterações fisiológicas e bioquímicas de plântulas de sorgo provenientes de sementes submetidas ou não ao envelhecimento artificial e ao osmocondicionamento, cultivadas sob estresse salino**

**RESUMO**

Este trabalho teve por objetivo o estudo das alterações fisiológicas e bioquímicas de plântulas de sorgo provenientes de sementes, submetidas ou não ao envelhecimento e ao osmocondicionamento, sob condições de estresse salino. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com quatro repetições, no esquema fatorial 2 x 2 x 3, constando de 12 tratamentos: dois lotes de sementes (envelhecidas ou não); dois tipos de sementes (osmocondicionadas ou não) e três níveis de salinidade (0, 100 e 200 mM de NaCl). O osmocondicionamento com polietilenoglicol 6000 (ou *priming*) de sementes de maior qualidade promoveu o aumento da sobrevivência das plântulas sob condições de alta salinidade (200 mM de NaCl), mas quando essa técnica foi aplicada em sementes envelhecidas ocorreu redução na sobrevivência de plântulas cultivadas na presença de NaCl a 100 e 200 mM. Em sementes de menor qualidade fisiológica o osmocondicionamento proporcionou atenuação dos efeitos negativos da salinidade (NaCl a 100 mM) sobre o desenvolvimento das plântulas. Dentre os solutos orgânicos avaliados, a prolina foi o que mais contribuiu para a osmorregulação das folhas em condições de salinidade, sendo seus teores aumentados em função do *priming* de sementes. As enzimas catalase e peroxidase do guaiacol atuaram na proteção das plântulas contra os danos oxidativos causados pelo envelhecimento acelerado das sementes e pela salinidade na solução de cultivo das plântulas.

Palavras-chave: *Sorghum bicolor*, envelhecimento acelerado, *priming*, salinidade, osmorregulação, enzimas antioxidantes.

## ABSTRACT

### **Physiological and biochemical changes in sorghum seedlings from artificial aged and primed seeds, growth under salt stress**

The aim of this work was the study of physiological and biochemical changes in seedlings from primed and aged seeds of sorghum under ideal conditions and salt stress. The experiment was a completely randomized design with four replications and a 2 x 2 x 2, with eight treatments: two groups of seeds (aged or not), two types of seeds (primed or not) and two growth conditions (presence or absence of NaCl). The priming of seeds of higher quality promoted the increase of seedling survival under conditions of high salinity (NaCl at 200 mM), but when this technique was applied in aged seeds caused a reduction in survival of the seedlings grown in the presence of NaCl at 100 and 200 mM. In seeds of lower quality physiological the priming provided attenuation of the negative effects of salinity (NaCl at 100 mM) on the development of seedlings. Among the organic solutes evaluated, proline was the largest contributor to osmoregulation of the leaves under saline conditions, and their levels increased by the priming of seeds. The enzymes catalase and guaiacol peroxidase acted to protect the seedlings against oxidative damage caused by the accelerated aging of seeds and by the salinity in the solution culture seedlings.

**Keywords:** *Sorghum bicolor*, accelerated aging, *priming*, salinity, osmoregulation, antioxidant enzymes.

## 1. INTRODUÇÃO

A utilização de sementes de alta qualidade é um pré-requisito para o estabelecimento rápido e uniforme das plântulas no campo com consequências no estande, na produtividade e na qualidade do produto colhido. A qualidade da semente é particularmente crítica quando são utilizadas novos cultivares ou híbridos, pois devido ao alto custo, há necessidade de melhores técnicas para se obter melhor emergência. Visando melhoria na qualidade das sementes e rápido e uniforme estabelecimento de plântulas, diferentes tipos de tratamentos têm sido propostos, dentre eles, o condicionamento osmótico (BRADFORD, 1986).

Em geral, o vigor das sementes mostra-se elevado com o uso do condicionamento osmótico, bem como a taxa, sincronia e porcentagem de emergência das plântulas, e os resultados são superiores aos obtidos com sementes não tratadas de várias espécies, particularmente sob condições de estresse, como temperatura sub ou supra ótima (WARREN; BENNETT, 1997), déficit hídrico ou salinidade (PILL; FRETT; MORNEAU, 1991).

Nas regiões áridas e semi-áridas, o déficit hídrico e o excesso de sais no solo têm limitado a produção agrícola. Esses fatores afetam negativamente a germinação, o estande das plantas, o desenvolvimento vegetativo das culturas, a produtividade e, nos casos mais graves, causam a morte das plântulas (SILVA; PRUSKI, 1997).

O estresse salino afeta virtualmente todos os aspectos da fisiologia e metabolismo das plantas (ZHU, 2002). Os efeitos deletérios da salinidade no crescimento das plantas estão associados com a redução do potencial osmótico da solução do solo (estresse hídrico), distúrbios nutricionais, efeito específico de alguns íons (estresse iônico) ou uma combinação desses fatores (ASHRAF, 1994).

As respostas das plantas à salinidade ocorrem tanto a nível celular quanto da planta como um todo. Tais respostas incluem o acúmulo seletivo ou a exclusão de íons, o controle na absorção dos íons pelas raízes, a síntese de solutos compatíveis, mudanças na rota fotossintética, alteração na estrutura das membranas, indução de enzimas antioxidantes e de hormônios vegetais (PARIDA; DAS, 2005).

O sorgo é reconhecido por sua tolerância moderada aos estresses hídrico (TABOSA *et al.*, 2002) e salino (TABOSA *et al.*, 2007), podendo constituir em uma alternativa para cultivos sob tais condições. O uso do sorgo se justifica, também, por suas características bromatológicas que, à semelhança do milho, possibilitam fermentação

adequada e conseqüente armazenamento sob forma de silagem, pelos teores elevados de carboidratos solúveis e, até mesmo, de proteína bruta, em algumas variedades, e por suas características agrônômicas que, entre outras, incluem elevada produtividade de biomassa (VON PINHO *et al.*, 2006).

Esta pesquisa foi desenvolvida com o objetivo de estudar as alterações fisiológicas e bioquímicas de plântulas de sorgo provenientes de sementes, submetidas ou não ao envelhecimento e ao osmocondicionamento, sob condições ideais e de estresse salino.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Condução do experimento**

#### **2.1.1. Envelhecimento e condicionamento das sementes**

Foram utilizadas sementes de sorgo granífero [*Sorghum bicolor* (L) Moench], cultivar IPA 1011, safra 2008, cedidas pela Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), em Recife, PE, e armazenadas em frascos de vidro contendo sílica gel, à temperatura de 8 °C.

Para aplicação dos tratamentos, o lote inicial de sementes foi dividido em dois sublotos: em um deles, as sementes foram submetidas ao estresse de temperatura (43 °C), sob umidade relativa do ar próxima de 100%, por 72 horas, de acordo com a metodologia para envelhecimento artificial de sementes de sorgo, recomendada por Miranda, Novembre e Chamma (2001); o outro sublote de sementes permaneceu sem nenhum tratamento (sementes não envelhecidas) e que serviu de controle. Após esse procedimento, a metade das sementes de cada um desses sublotos foi submetida ao tratamento de condicionamento osmótico.

A metodologia e a concentração da solução de PEG-6000 para o condicionamento osmótico foram baseadas em recomendações de pesquisas anteriores com a germinação de sementes de sorgo osmocondicionadas (FOTI *et al.*, 2002; PATANÈ; CAVALLARO; COSENTINO, 2009). Durante o *priming*, as sementes foram colocadas em béqueres de 400 mL contendo 200 mL de solução de PEG-6000 a 250 g L<sup>-1</sup> a qual, segundo Michel e

Kaufmann (1973), corresponde a um potencial osmótico de  $-0,86$  MPa a  $15$  °C, que foi a temperatura em que as sementes foram deixadas por 48 horas de embebição nessa solução osmótica. O condicionamento osmótico foi conduzido em uma incubadora, sob escuro contínuo e aeração constante, a fim de garantir condições normais de respiração das sementes (BUJALSKI; NIENOW, 1991). Na parte inferior de cada béquer foi fixada uma mangueira estreita, com pedra porosa anexada na ponta, a qual se manteve conectada a uma pequena bomba de aquário, responsável pela insuflação de ar na solução.

Após o condicionamento, as sementes foram cuidadosamente lavadas; primeiro com água da torneira e depois com água destilada, sendo finalmente secas com papel de filtro mata-borrão, por 72 horas, em ambiente de laboratório. Em seguida, as sementes foram desinfectadas em solução de hipoclorito de sódio a 1%, por cinco minutos e utilizadas nos experimentos de germinação e vigor.

### **2.1.2. Condições de cultivo e coleta**

O experimento foi conduzido em casa de vegetação pertencente ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da UFC, durante os meses de junho e julho de 2009. Durante o período experimental, as medidas de temperatura e de umidade relativa do ar no interior da casa de vegetação foram registradas com um termohigrógrafo, sendo observados os valores médios de  $29,4 \pm 2,6$  °C e  $72,7 \pm 6,4\%$ , respectivamente.

Na sementeira utilizaram-se 200 sementes por tratamento, em quatro repetições de 50 sementes distribuídas entre três folhas de papel mata borrão umedecido com água desionizada ou soluções de NaCl a 100 e 200 mM na proporção de 2,5 vezes a massa do substrato seco.

Dez dias após a sementeira (DAS), as plântulas mais uniformes de cada repetição, foram transferidas para recipientes plásticos contendo 10 L de solução nutritiva de Hoagland diluída 1:2 (controle) ou contendo NaCl nas concentrações de 100 ou 200 mM de NaCl (tratamentos de estresse). Foram cultivadas 12 plântulas por vaso, sendo as soluções nutritivas mantidas sob aeração constante e substituídas em intervalos de 5 dias. O pH foi ajustado para 5,5, com NaOH a 0,1 M ou HCl a 0,1 M. A quantidade de água transpirada pelas plantas foi repostada diariamente nos vasos, utilizando-se para isso água destilada.

Aos 14 DAS, as plântulas foram coletadas, divididas em parte aérea e raízes, e

em seguida, pesadas e imediatamente congeladas em nitrogênio líquido. Esse material foi armazenado a -25 °C e posteriormente liofilizado.

## **2.2. Variáveis analisadas**

Os parâmetros de crescimento foram avaliados para todos os tratamentos utilizados, enquanto para as análises fisiológicas e bioquímicas avaliaram-se apenas as plântulas cultivadas em solução nutritiva sem NaCl e com esse sal na concentração de 100 mM. Isto ocorreu em função dos severos danos causados pelo maior nível de salinidade (200 mM), onde houve alta mortalidade das plântulas e redução substancial na produção de biomassa das mesmas, de tal modo que, após a liofilização, não se obteve material vegetal suficiente para a avaliação do tratamento com maior nível de estresse.

### **2.2.1. Parâmetros de crescimento**

O percentual de sobrevivência das plântulas foi avaliado aos 14 dias de cultivo, por ocasião da coleta do experimento, quando calculou-se a porcentagem de plântulas normais aos 24 DAS, baseando-se em comparações visuais com o estande como um todo. As plântulas mortas foram descartadas, não sendo utilizadas para as demais análises.

No momento da coleta, as plântulas foram pesadas para obtenção da massa da matéria fresca da parte aérea (MFPA) e das raízes (MFR). Após a retirada de toda a água presente no material vegetal, através de liofilização deste, obteve-se a massa da matéria seca da parte aérea (MSPA) e das raízes (MSR). A partir da soma dos valores dessas variáveis foram obtidas as matérias fresca (MFT) e seca (MST) total, bem como as relações MFPA/MFR e MSPA/MSR.

### **2.2.2. Determinação de solutos inorgânicos**



Os teores dos íons sódio, potássio, cloreto e nitrato foram determinados apenas na parte aérea das plântulas, em função da pequena quantidade de material de raízes. Estes foram preparados a partir da homogeneização de 100 mg do material liofilizado, finamente triturado, com 10 mL de água desionizada, durante 20 min, sob agitação constante. Em seguida, o homogenato foi centrifugado a 3.000 x g por 10 min, sendo o sobrenadante coletado e filtrado em papel de filtro (extrato). Os teores de sódio e potássio no extrato foram determinados por fotometria de chama, segundo Malavolta, Vitti e Oliveira (1989), os de cloreto conforme o método de Gaines, Parker e Gascho (1984) e os de nitrato segundo Cataldo *et al.* (1975).

Para a determinação do teor de cloreto, a 3 mL do extrato, convenientemente diluído em água desionizada, foram adicionados 0,5 mL do reagente formado por  $\text{Hg}(\text{SCN})_2$  a 13,2 mM, em metanol, e  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$  a 20,2%, na proporção de 4:1 (v/v). Após vigorosa agitação em agitador do tipo “vortex” e repouso por 15 min, foram feitas leituras de absorvância em 460 nm.

A reação para determinação do teor de nitrato foi preparada em tubo de ensaio contendo 100  $\mu\text{L}$  do extrato (convenientemente diluído) acrescido de 200  $\mu\text{L}$  de solução de ácido salicílico a 5 % (p/v), em ácido sulfúrico concentrado. Após vigorosa agitação em agitador do tipo “vortex”, adicionaram-se lentamente 4700  $\mu\text{L}$  de NaOH a 2 N aos tubos e, em seguida, estes foram deixados em repouso até atingirem a temperatura ambiente por cerca de 20 minutos. Em seguida, foram feitas leituras de absorvância a 410 nm. O branco foi feito usando no ensaio água desionizada em substituição ao extrato.

Para a determinação dos íons sódio e potássio realizou-se uma única leitura do extrato, enquanto para a determinação de cloreto e nitrato cada extrato foi dosado em duplicata. As concentrações de cloreto e nitrato foram estimadas a partir de curvas padrão com concentrações crescentes de NaCl e  $\text{NO}_3^-$ , respectivamente. Os teores de potássio e nitrato foram expressos em  $\text{mmol.g}^{-1}$  MS e os de sódio e cloreto em  $\mu\text{mol.g}^{-1}$  MS.

### **2.2.3. Determinação de solutos orgânicos**

Para preparação dos extratos, os tecidos liofilizados foram homogeneizados por 10 min, em almofariz resfriado, com tampão de extração na proporção de 20 mg  $\text{mL}^{-1}$  para folhas e de 10 mg  $\text{mL}^{-1}$  para raízes. O tampão de extração foi composto de fosfato de potássio

a 100 mM (pH 7,0), ascorbato a 1 mM e ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA; sal dissódico) a 0,1 mM. O homogenato resultante foi filtrado em tecido de musselina e centrifugado a 20.000 g durante 15 min. Todas as operações acima foram conduzidas à temperatura de aproximadamente 4 °C.

Os solutos orgânicos (prolina, N-aminossolúveis, proteínas e carboidratos solúveis) foram determinados nos extratos obtidos com material proveniente da parte aérea e das raízes das plantas. Esses extratos também foram utilizados para a determinação da peroxidação dos lipídios e atividade das enzimas do sistema de defesa antioxidativo.

#### a) Concentração de prolina livre

A concentração de prolina livre foi determinada de acordo com Bates, Waldren e Teare (1973). Em uma alíquota de 1,0 mL do extrato, convenientemente diluído com o tampão de extração, foram adicionados 1,0 mL do reagente da ninhidrina ácida (1,25 g de ninhidrina, dissolvida em 30 mL de ácido acético glacial e 20 mL de ácido fosfórico a 6 M) e 1,0 mL de ácido acético glacial. Os tubos de ensaio foram hermeticamente fechados e, após homogeneização da mistura de reação, foram deixados em banho maria com água fervente. A reação foi interrompida colocando-se os tubos de ensaio em banho de gelo. Após o resfriamento, foram adicionados 2,0 mL de tolueno ao meio de reação. Após agitação vigorosa da solução, a fase superior menos densa (cromóforo + tolueno) foi aspirada com o auxílio de uma pipeta Pasteur e submetida à leitura de absorvância em 520 nm, sendo o tolueno utilizado como branco. A concentração de prolina foi estimada com base em uma curva padrão ajustada a partir de concentrações crescentes de prolina.

#### b) Concentração de N-aminossolúveis

Os N-aminossolúveis foram determinados de acordo com o método de Yemm e Cocking (1955). Em tubos de ensaios, foram adicionados 0,5 mL do extrato, convenientemente diluído com o tampão de extração, 0,25 mL de tampão citrato a 0,2 M (pH 5,0), 0,5 mL de KCN a 0,2 mM, em metilcelosolve a 100%, e 0,1 mL de ninhidrina a 5%, em metilcelosolve a 100%. Em seguida, os tubos foram fechados, agitados vigorosamente e colocados em banho-maria com água fervente por 20 min. A reação foi interrompida abruptamente colocando-se os tubos em banho de gelo e, após resfriamento, foram adicionados 0,65 mL de etanol a 60%. A concentração de N-aminossolúveis foi estimada

através de leituras de absorvância em 570 nm, com base em uma curva padrão ajustada a partir de concentrações crescentes de glicina.

#### c) Concentração de proteínas solúveis

Para a determinação dos teores de proteínas solúveis foi usada uma alíquota de 100  $\mu\text{L}$  do extrato, convenientemente diluído com o tampão de extração, na qual adicionou-se 1 mL do reagente composto de *coomassie brilliant blue* G-250 a 0,01% (p/v) em etanol a 4,75% (v/v) e ácido fosfórico a 8,5% (p/v) (BRADFORD, 1976). As proteínas solúveis foram estimadas pelas medidas de absorvância a 595 nm, utilizando-se como branco água desionizada. Os resultados foram calculados através de uma curva de calibração utilizando-se como padrão a albumina sérica bovina (BSA). Cada repetição foi representada por um extrato simples dosado em duplicata.

#### d) Concentração de carboidratos solúveis

Os carboidratos solúveis foram determinados de acordo com Dubois *et al.* (1956). Em uma alíquota de 0,5 mL do extrato, convenientemente diluído com o tampão de extração, foram adicionados 0,5 mL de fenol a 5% e 2,5 mL de ácido sulfúrico concentrado. A mistura foi agitada vigorosamente e deixada em repouso para seu resfriamento. Em seguida, as amostras foram submetidas à quantificação dos carboidratos solúveis por meio de leituras de absorvância em 490 nm. A curva padrão de carboidratos foi obtida utilizando-se a D(+) glucose anidra. A concentração dos solutos orgânicos foi expressa em milimolar (mM).

Para a determinação de solutos orgânicos cada repetição foi representada por um extrato simples dosado em duplicata. Os teores de prolina, N-aminossolúveis e carboidratos solúveis foram expressos em  $\mu\text{mol.g}^{-1}$  MS e de proteínas em  $\text{mg.g}^{-1}$  MS.

### 2.2.4. Enzimas de proteção contra danos oxidativos

#### a) Atividade da dismutase do superóxido

A atividade total da dismutase do superóxido (SOD, E.C. 1.15.1.1) foi

determinada pela medição de sua habilidade de inibir a redução fotoquímica do cloreto de nitroblue tetrazolium (NBT), conforme descrito por Giannopolitis e Ries (1977). A mistura de reação (1,5 mL) continha fosfato de potássio a 50 mM (pH 7,8), EDTA a 0,1  $\mu$ M, metionina a 13 mM, NBT a 75  $\mu$ M, riboflavina a 2  $\mu$ M e 50  $\mu$ L do extrato convenientemente diluído com o tampão de extração. A riboflavina foi adicionada por último e os tubos foram agitados e iluminados com dois tubos fluorescentes de 20 W. A reação foi conduzida por 10 min. A absorbância da mistura de reação foi lida a 560 nm. Uma unidade de atividade (U) da SOD foi definida como a quantidade de enzima necessária para causar uma inibição de 50% na taxa de fotorredução do NBT.

#### b) Atividade da catalase

A catalase (CAT, E.C. 1.11.1.6) teve sua atividade total medida de acordo com o método de Beers Jr. e Sizer (1952), com algumas alterações. A mistura de reação (1,5 mL) consistiu de fosfato de potássio a 100 mM (pH 7,0), EDTA a 0,1  $\mu$ M,  $H_2O_2$  a 20 mM e 150  $\mu$ L do extrato. A reação foi iniciada pela adição do extrato ao meio de reação. A redução na concentração de  $H_2O_2$  foi monitorada a 240 nm, por 6 min, e quantificada por seu coeficiente de extinção molar ( $36 M^{-1} cm^{-1}$ ). Um controle com o meio de reação e o tampão de extração foi usado para correção da decomposição não enzimática do substrato.

#### c) Atividade da peroxidase do ascorbato

Para determinação da atividade total da peroxidase do ascorbato (APX, E.C. 1.11.1.1) foi utilizada a metodologia descrita por Nakano e Asada (1981). A mistura de reação (1,5 mL) foi composta de fosfato de potássio a 50 mM (pH 6,0), EDTA a 0,1  $\mu$ M, ascorbato a 0,5 mM,  $H_2O_2$  a 1 mM e 100  $\mu$ L do extrato convenientemente diluído com o tampão de extração. A reação foi iniciada pela adição de  $H_2O_2$  e a oxidação do ascorbato medida a 290 nm por 1 min. A atividade enzimática foi quantificada usando o coeficiente de extinção molar do ascorbato ( $2,8 M^{-1} cm^{-1}$ ), levando-se em consideração que dois moles de ascorbato são necessários para a redução de 1 mol de  $H_2O_2$  (MCKERSIE; LESHEM, 1994).

#### d) Atividade da peroxidase do guaiacol

A atividade total da peroxidase do guaiacol (GPX, E.C. 1.11.1.7) foi medida

conforme descrito por Urbanek *et al.* (1991), em uma mistura de reação (2 mL) contendo fosfato de potássio a 100 mM (pH 7,0), EDTA a 0,1  $\mu$ M, guaiacol a 5 mM, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 15 mM e 10  $\mu$ L do extrato. A reação foi iniciada pela adição do extrato ao meio de reação e o aumento na absorbância foi medido a 470 nm por 1 min. A atividade enzimática foi quantificada pela quantidade de tetraguaiacol formado, usando seu coeficiente de extinção molar ( $26,6 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ), levando em consideração que quatro moles de guaiacol são necessários para a redução de 1 mol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (PLEWA; SMITH; WAGNER, 1991).

Para a estimativa da atividade das enzimas antioxidativas cada extrato foi dosado em duplicata (repetição). A SOD foi expressa em UA  $\text{g}^{-1}$  MS, enquanto as atividades das enzimas CAT, APX e GPX foram expressas em  $\mu\text{mol g}^{-1}$  MS.

### **2.2.5. Peroxidação de lipídios**

A peroxidação de lipídios foi determinada pela quantificação da concentração de malondialdeído (MDA) produzido pela reação com o ácido tiobarbitúrico (TBA), conforme descrito em Heath e Packer (1968). O extrato foi misturado com igual volume da solução de TBA a 0,5% (p/v) e ácido tricloroacético (TCA) a 20% (p/v). A mistura foi aquecida a 95 °C por 30 min, resfriada em banho de gelo e centrifugada a 3.000 g por 10 min. A absorbância do sobrenadante foi medida a 532 e 600 nm. Após a subtração da absorbância não específica (600 nm), a concentração de MDA foi determinada usando seu coeficiente de extinção molar ( $155 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). Cada repetição constou da dosagem de um extrato simples em duplicata, sendo os resultados expressos em  $\mu\text{mol g}^{-1}$  MS.

### **2.3. Delineamento experimental**

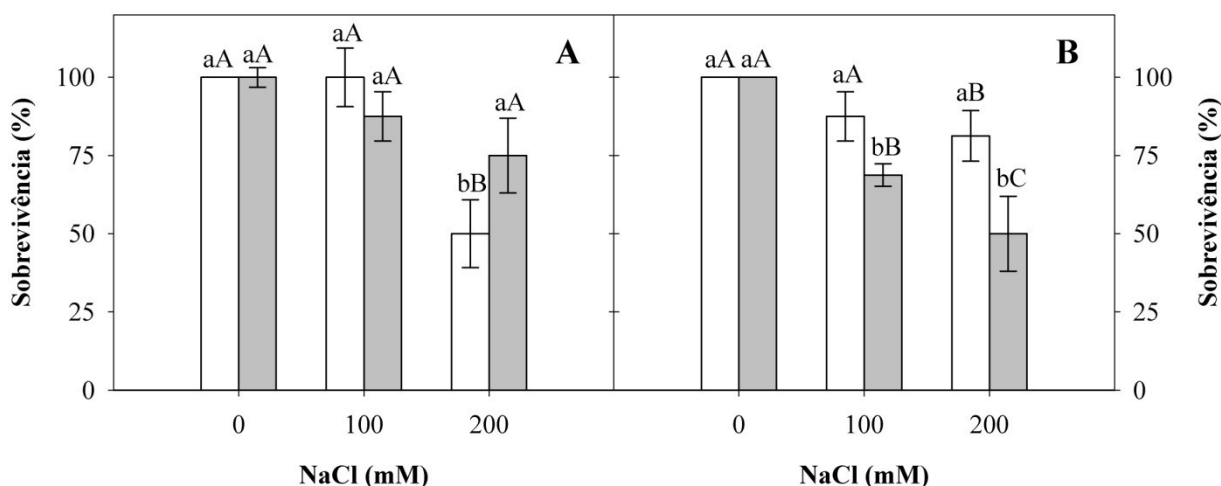
O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições de 12 plântulas, em esquema fatorial 2 x 2 x 3 para os parâmetros de crescimento, tendo como tratamentos a combinação de dois sublotes de sementes com diferentes qualidades fisiológicas (envelhecidas e não envelhecidas), dois grupos de sementes distintas (submetidas ou não ao osmocondicionamento) e três níveis de estresse salino (0, 100 e 200

mM de NaCl). Contudo para as demais variáveis (solutos inorgânicos e orgânicos, peroxidação de lipídios e enzimas antioxidantes), utilizou-se um esquema fatorial  $2 \times 2 \times 2$ , ou seja, o fator salinidade só constou de dois níveis (0 e 100 mM de NaCl). A análise de variância e a comparação de médias foram realizadas através do teste F e Tukey, respectivamente, ambos ao nível de 5% de probabilidade (BANZATTO; KRONKA, 2006).

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **3.1. Parâmetros de crescimento**

Não houve diferença significativa no percentual de sobrevivência das plântulas provenientes de sementes de maior vigor (não envelhecidas artificialmente), submetidas aos tratamentos com 0 e 100 mM de NaCl no meio de cultivo (Figura 1A). A salinidade excessiva, neste experimento representada pelo NaCl em solução nutritiva a 200 mM, promoveu a morte de 50% das plântulas oriundas de sementes que não foram expostas aos procedimentos de envelhecimento e condicionamento osmótico, revelando que este nível de estresse promoveu decréscimos significativos na sobrevivência das plântulas de sorgo. Esses efeitos deletérios do NaCl, entretanto, foram atenuados pelo condicionamento osmótico de sementes, uma vez que aquelas submetidas a esse tratamento mantiveram a porcentagem de sobrevivência em níveis semelhantes aos tratamentos com menores teores desse sal no meio de cultivo. Portanto os resultados obtidos corroboram com a afirmação de Jeller (2002), a qual disserta que diversos benefícios têm sido relatados com o emprego da técnica do condicionamento osmótico, dentre eles, o aumento da possibilidade de se obter uma maior porcentagem de germinação, particularmente sob condições adversas, como baixa disponibilidade hídrica, níveis elevados de salinidade e temperaturas sub e supra-ótimas.



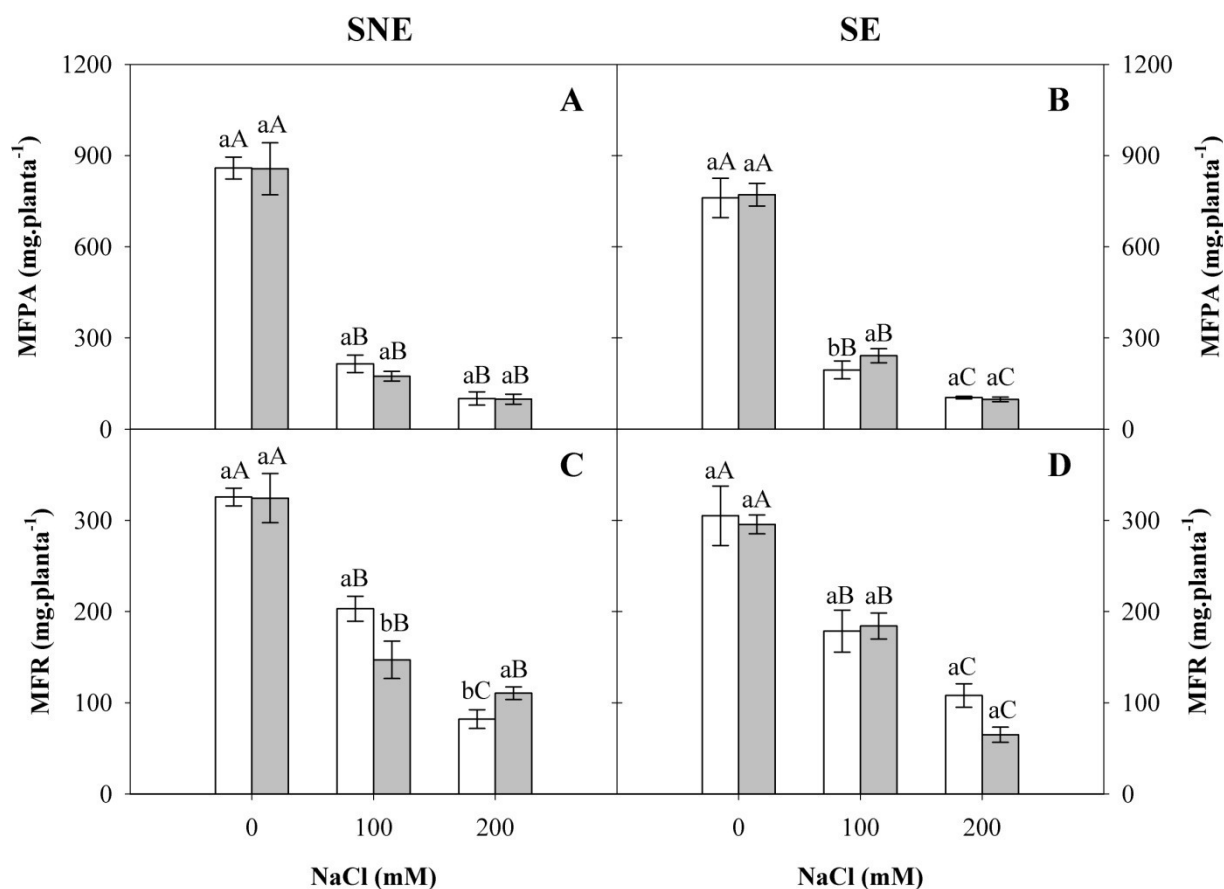
**Figura 1.** Porcentagem de sobrevivência de plântulas oriundas de dois sublotes de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas (A) e envelhecidas (B) artificialmente e submetidas (■) ou não (□) ao condicionamento osmótico, sob diferentes níveis de salinidade. Colunas de cores distintas com letras minúsculas iguais, para plântulas sob o mesmo nível de NaCl, ou colunas de mesma cor com letras maiúsculas iguais, para plântulas sob diferentes níveis de NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras verticais representam o erro padrão da média.

O envelhecimento artificial das sementes proporcionou reduções significativas na sobrevivência de plântulas submetidas ao estresse salino com NaCl a 100 e 200 mM, com maiores decréscimos em plântulas oriundas de sementes osmocondicionadas, nas quais houve efeito significativo já a partir do nível de 100 mM (Figura 1B). Portanto, neste caso, foram constatados efeitos adversos do *priming* sobre a sobrevivência de plântulas em condições de salinidade.

Lotes de sementes de baixa qualidade frequentemente requerem um maior tempo para germinação e emergência das plântulas. Tal fato torna as plântulas mais sensíveis às adversidades climáticas, reduzindo a porcentagem final de emergência e, normalmente, promovendo um estande desuniforme. Além disso, o excesso de sais no meio de cultivo pode afetar negativamente a germinação, o estande das plantas, o desenvolvimento vegetativo das culturas, a produtividade e, nos casos mais graves, causa a morte das plântulas (SILVA; PRUSKI, 1997; OLIVEIRA; GOMES-FILHO, 2009).

O NaCl promoveu decréscimos substanciais nos valores de MFPA em comparação ao tratamento controle (NaCl ausente), todavia, em plântulas oriundas de sementes não envelhecidas, não houve diferença estatística entre os níveis de salinidade aplicados (Figura 2A). O condicionamento osmótico não exerceu efeito significativo ( $P \geq 0,05$ ) sobre esta variável em sementes não envelhecidas, o que por sua vez, não foi verificado em sementes expostas a tal processo, dentre as quais se observou que as osmocondicionadas geraram plântulas com produção de biomassa fresca superior às não condicionadas sob

cultivo na presença de 100 mM de NaCl.



**Figura 2.** Massa da matéria fresca da parte aérea (MFPA, A e B) e das raízes (MFR, C e D) de plântulas oriundas de dois sublotos de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas (SNE) e envelhecidas (SE) artificialmente e submetidas (■) ou não (□) ao condicionamento osmótico, sob diferentes níveis de salinidade. Colunas de cores distintas com letras minúsculas iguais, para plântulas sob o mesmo nível de NaCl, ou colunas de mesma cor com letras maiúsculas iguais, para plântulas sob diferentes níveis de NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras verticais representam o erro padrão da média.

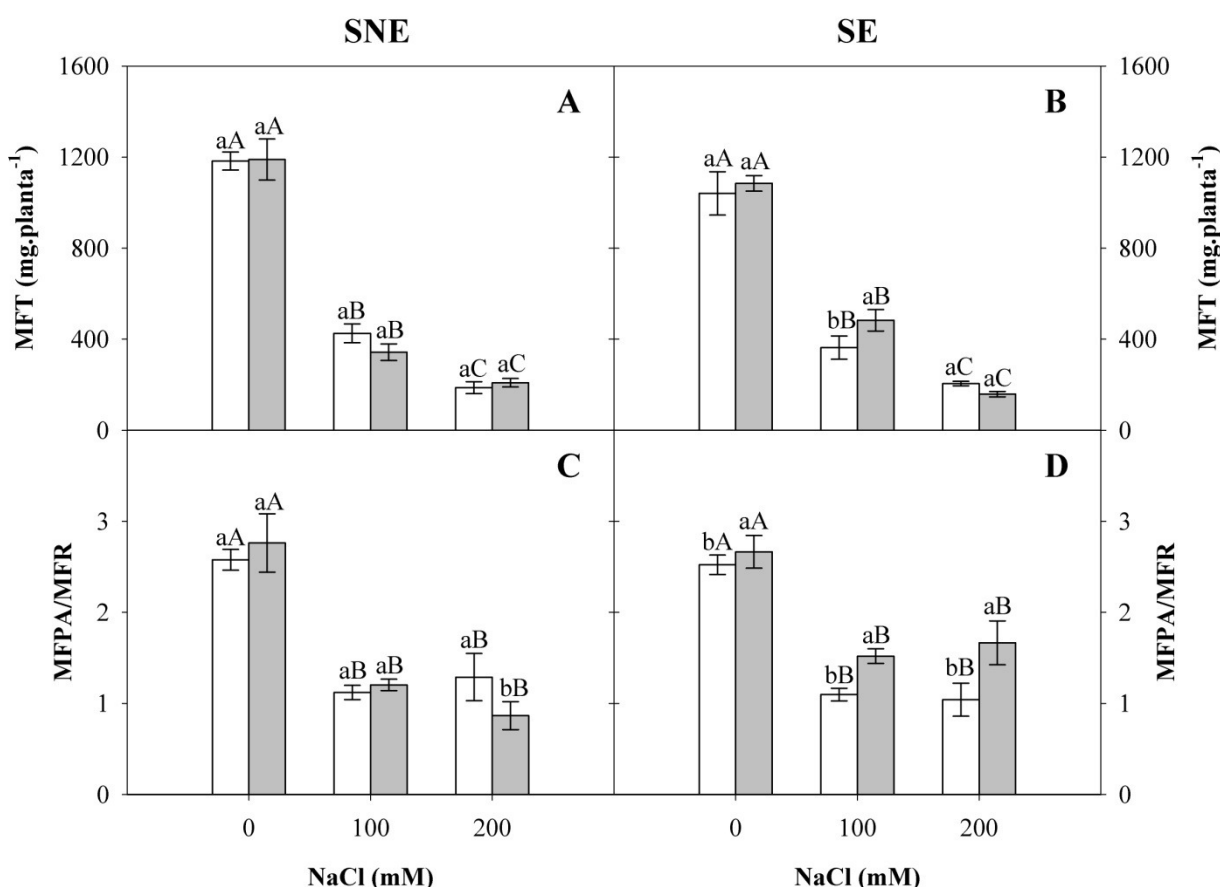
De acordo com os resultados obtidos para MFPA, acredita-se que esses efeitos sejam resultantes de um adiantamento metabólico sofrido pelas sementes osmocondicionadas, que leva a um incremento na quantidade de macromoléculas sintetizadas, como ácidos nucléicos e proteínas (GARCIA; JIMENÉZ; VÁZQUEZ-RAMOS, 1995), envolvendo a ativação ou síntese de novo de enzimas chave envolvidas no processo de germinação (TRIGO; NEDEL; TRIGO, 2000) e até mesmo mecanismos de reparo das membranas com algum grau de desestruturação (FUJIKURA; KARSSSEN, 1992).

Para a MFR de plântulas oriundas de sementes de maior vigor verificou-se que o *priming* atenuou os efeitos deletérios no maior nível de estresse, de modo que não houve diferença entre os níveis de NaCl a 100 e 200 mM ( $P \geq 0,05$ ), fato que não foi constatado em sementes não condicionadas (Figura 2A). No entanto, em sementes envelhecidas não houve



influência deste tratamento sobre a variável em questão. Pode-se acrescentar que, em todos os tratamentos avaliados nessa pesquisa, a MFR foi menos afetada pelo estresse salino do que a MFPA. De acordo com Munns (2002), apesar das raízes estarem diretamente expostas ao agente responsável pelo estresse, elas são menos vulneráveis aos sais do que a parte aérea. A maior redução do crescimento da parte aérea em relação às raízes tem sido observada também em outros trabalhos na literatura com plantas de sorgo, sugerindo que elas se adaptam melhor às condições de salinidade, provavelmente, devido ao ajustamento osmótico mais rápido deste órgão (SILVA *et al.*, 2003; AQUINO *et al.*, 2007).

Os dados de MFT apresentaram comportamento similar ao observado para a MFPA, mostrando que a produção de biomassa fresca da parte aérea exerceu influência significativa sobre a produção de biomassa fresca total da planta, ou seja, os maiores valores obtidos em plântulas provenientes de sementes envelhecidas que foram osmocondicionadas possivelmente ocorreram devido aos maiores valores de MFPA obtidos nesse tratamento (Figura 3A e 3B). Marcelis e Van Hooijdonk (1999), trabalhando com estresse salino em

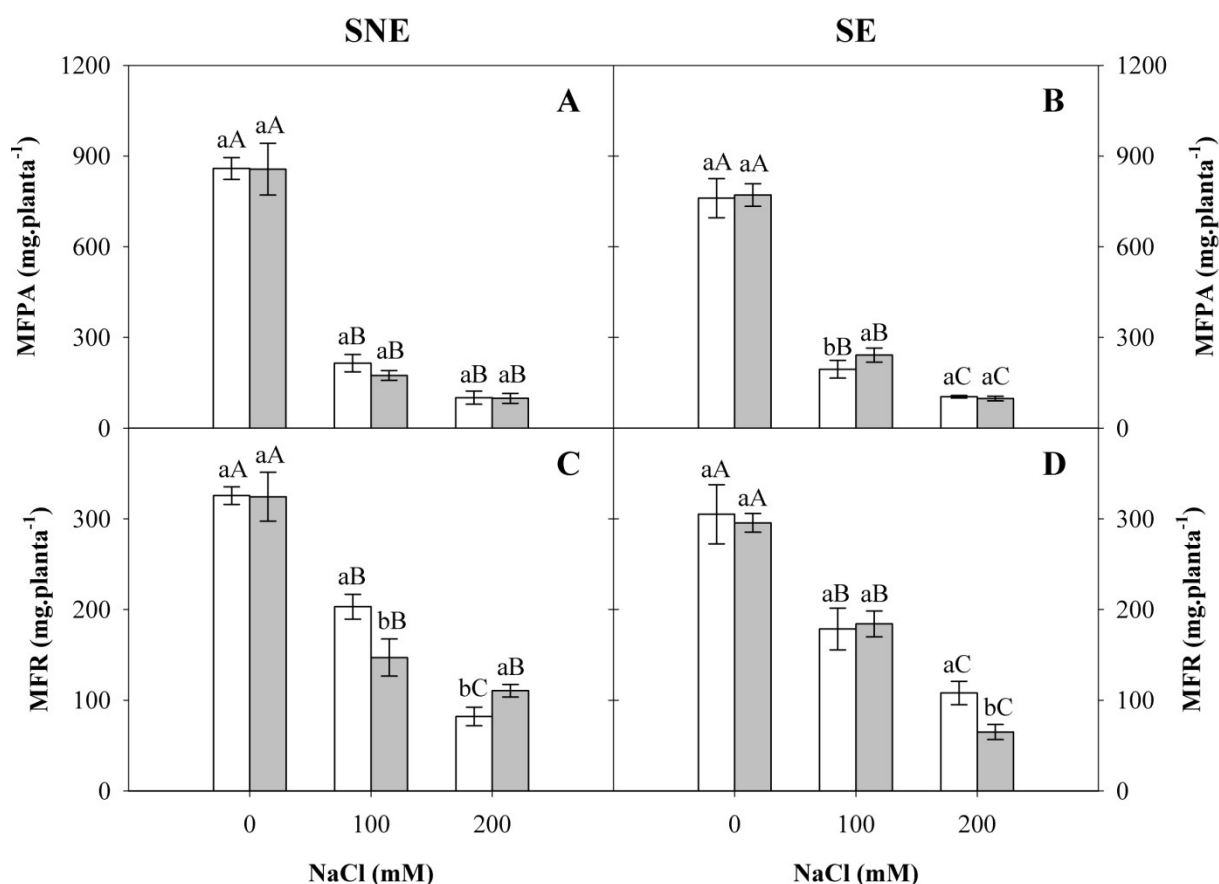


**Figura 3.** Massa da matéria fresca total (MFT, A e B) e razão entre massa da matéria fresca da parte aérea e das raízes (MFPA/MFR, C e D) de plântulas oriundas de dois sublotes de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas (SNE) e envelhecidas (SE) artificialmente e submetidas (■) ou não (□) ao condicionamento osmótico, sob diferentes níveis de salinidade. Colunas de cores distintas com letras minúsculas iguais, para plântulas sob o mesmo nível de NaCl, ou colunas de mesma cor com letras maiúsculas iguais, para plântulas sob diferentes níveis de NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras verticais representam o erro padrão da média.

*Raphanus sativus*, relataram que 80% da redução da produção de biomassa da planta era, provavelmente, resultado do efeito negativo da salinidade sobre o crescimento da folha, reduzindo a área superficial disponível para incidência da energia luminosa utilizada no processo de fotossíntese.

Os dados da razão MFPA/MFR mostraram que o estresse salino promoveu decréscimos significativos nessa variável ( $P \leq 0,05$ ), contudo não houve diferença significativa entre os tratamentos com NaCl a 100 e 200 mM (Figura 3C e 3D). Esta variável foi influenciada significativamente pelo condicionamento das sementes, observando-se melhorias significativas em plântulas geradas de sementes envelhecidas e cultivadas na presença ou ausência de NaCl (0, 100 e 200 mM). Sementes em estágio avançado de deterioração têm apresentado respostas positivas ao osmocondicionamento, permitindo seu melhor aproveitamento. Melhoria no vigor após o condicionamento osmótico tem sido correlacionada com processos de reparo macromolecular durante o tratamento, bem como um balanço metabólico mais favorável das sementes pré-condicionadas no início da germinação (LANTERI; QUAGLIOTTI; BELLETTI, 1998).

A salinidade afetou negativamente a MSPA ( $P \leq 0,05$ ), com efeitos mais prejudiciais em plântulas geradas a partir do grupo de sementes de menor vigor, para as quais se observou reduções significativamente superiores em função do incremento nos teores de sal do meio de cultivo (Figura 4A e 4B). Já nas plântulas provenientes de sementes de maior vigor, não se detectou diferença significativa ( $P \geq 0,05$ ) entre os dois níveis de NaCl (100 e 200 mM) em que as mesmas foram expostas. Apesar disso, o osmocondicionamento foi responsável pelo incremento da MSPA de plântulas desse grupo quando cultivadas sob 100 mM de NaCl. De forma semelhante ao que foi aqui observado, melhorias no desempenho de plântulas cultivadas sob estresses abióticos têm sido relatadas na literatura como respostas diretas do condicionamento de sementes. Fanti e Perez (2003) relataram que o condicionamento osmótico aumentou o limite máximo de tolerância ao estresse hídrico; Pereira *et al.* (2009) constataram que o tratamento das sementes de cenoura com soluções de PEG-6000 aumentou a emergência das plântulas no campo e o desempenho sob temperaturas sub e supra-ótima; Patanè, Cavallaro e Cosentino (2009) verificaram que o osmocondicionamento de sementes de sorgo sacarino atenuou os efeitos deletérios provocados pelos estresses salino e térmico durante a germinação e crescimento da radícula.

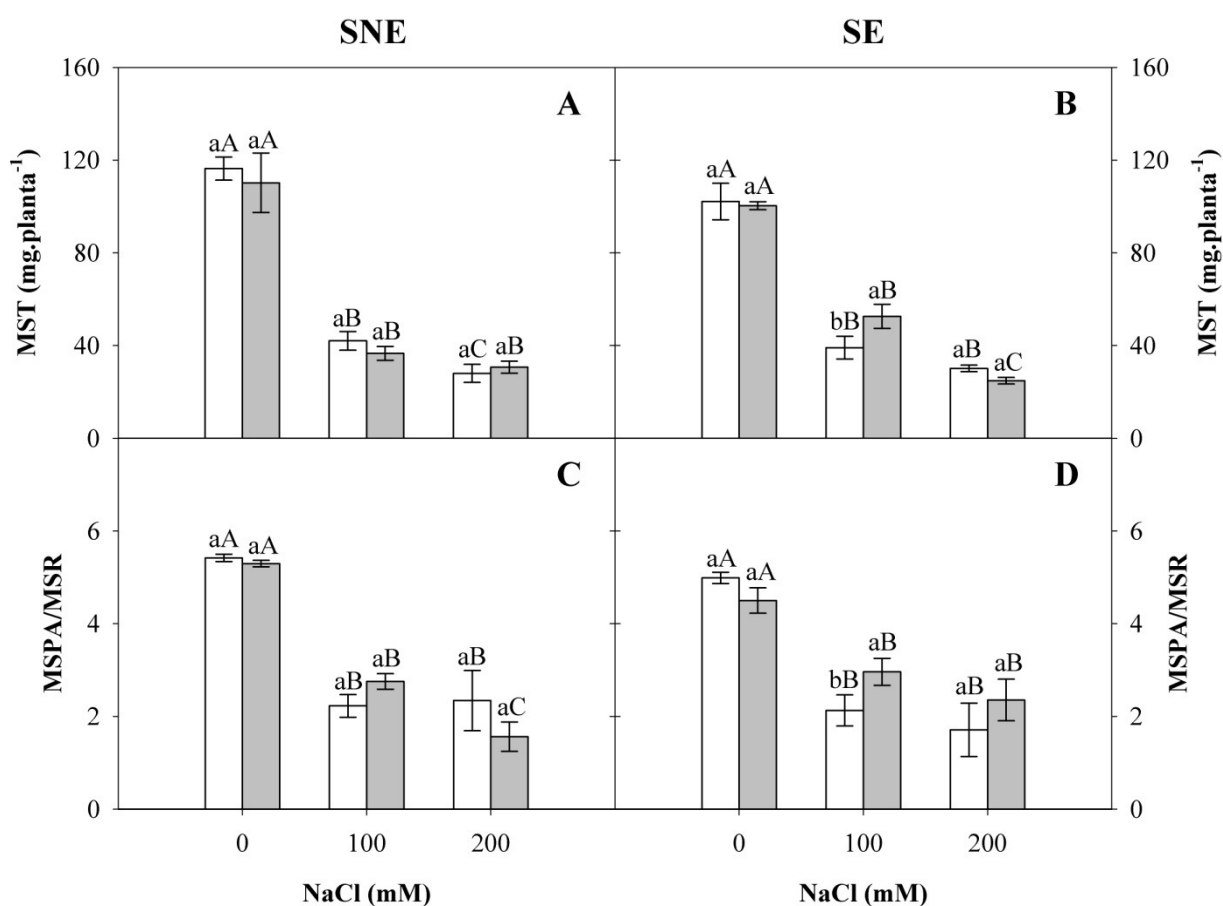


**Figura 4.** Massa da matéria seca da parte aérea (MSPA, A e B) e das raízes (MSR, C e D) de plântulas oriundas de dois sublotes de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas (SNE) e envelhecidas (SE) artificialmente e submetidas (■) ou não (□) ao condicionamento osmótico, sob diferentes níveis de salinidade. Colunas de cores distintas com letras minúsculas iguais, para plântulas sob o mesmo nível de NaCl, ou colunas de mesma cor com letras maiúsculas iguais, para plântulas sob diferentes níveis de NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras verticais representam o erro padrão da média.

Os valores médios de MSR variaram em função dos diferentes fatores avaliados, bem como, houve interação significativa entre os mesmos ( $P \leq 0,05$ ). Foram observados maiores decréscimos em sementes não envelhecidas e não condicionadas (Figura 4C), bem como, em sementes envelhecidas que foram expostas ao *priming* (Figura 4D). Tal ocorrência confirma resultados anteriores e amplamente divulgados na literatura que atribuem efeitos variáveis do condicionamento osmótico entre espécies, cultivares e entre lotes de sementes (COSTA; VILLELA, 2006), o que justifica, em parte, o uso ainda pouco frequente da técnica pela indústria de sementes, mesmo em países desenvolvidos, o que é potencializado pelas dificuldades relativas ao preparo, manuseio, custo e descarte das soluções osmóticas necessárias para o tratamento das sementes (WELBAUM *et al.*, 1998). Além disso, a indústria ainda teria o inconveniente de adaptar e aperfeiçoar diferentes métodos de condicionamento osmótico aos diferentes lotes produzidos a serem comercializados.

O condicionamento osmótico de sementes de maior vigor promoveu a atenuação

do estresse salino em plântulas sob salinidade excessiva (200 mM), as quais apresentaram valores de MST similares àquelas submetidas a níveis intermediários de NaCl a 100 mM (Figura 5A). Em sementes envelhecidas também se verificou efeitos benéficos do *priming*, contudo exclusivamente sob condições de estresse salino com NaCl a 100 mM (Figura 5B). Tais resultados confirmam que o condicionamento osmótico foi eficiente em promover a adaptação das plântulas de sorgo ao estresse salino. De maneira semelhante ao que foi constatado nesse experimento, Halpin-igham e Sundstrom (1992) relataram em sua pesquisa com plântulas provenientes de sementes condicionadas de pimentão, que o *priming* aumentou o desenvolvimento das mesmas, especialmente o desenvolvimento do hipocótilo, o qual foi bastante aumentado.



**Figura 5.** Massa da matéria seca total (MST, A e B) e razão entre massa da matéria fresca da parte aérea e das raízes (MSPA/MSR, C e D) de plântulas oriundas de dois sublotes de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas (SNE) e envelhecidas (SE) artificialmente e submetidas (■) ou não (□) ao condicionamento osmótico, sob diferentes níveis de salinidade. Colunas de cores distintas com letras minúsculas iguais, para plântulas sob o mesmo nível de NaCl, ou colunas de mesma cor com letras maiúsculas iguais, para plântulas sob diferentes níveis de NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras verticais representam o erro padrão da média.

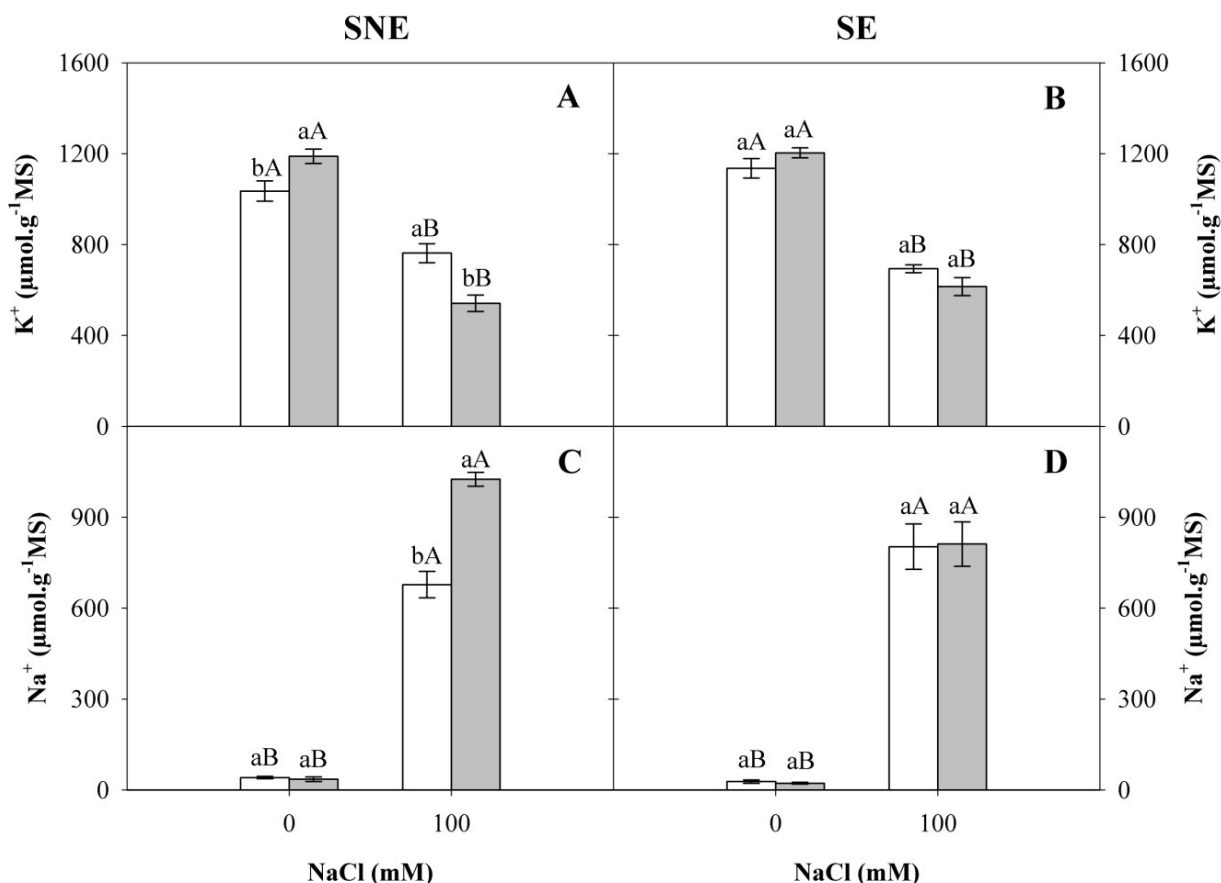
A salinidade provocou reduções significativas na razão MSPA/MSR (Figura 5C e 5D), destacando-se as plântulas oriundas de sementes não envelhecidas e osmocondicionadas, que apresentaram decréscimos nos valores dessa variável de maneira diretamente proporcional ao incremento nos níveis de NaCl da solução de cultivo. Nos demais tratamentos não houve diferença significativa para essa variável nas plântulas cultivadas na presença de diferentes concentrações desse sal (100 e 200 mM de NaCl). Contudo, as sementes não envelhecidas e sujeitas ao condicionamento osmótico produziram plântulas com razão MSPA/MSR significativamente superior àquelas não condicionadas sob cultivo em solução nutritiva com NaCl a 100 mM. Tendo em vista que houve maiores efeitos da salinidade sobre a produção de biomassa da parte aérea do que a das raízes, pode-se deduzir que a razão MSPA/MSR de plântulas de sorgo sofreu relevante influência da MSPA, uma vez que esta variável foi mais afetada pelos tratamentos avaliados do que a MSR.

Provavelmente as menores reduções na MSPA/MSR ocorridas em plântulas oriundas de sementes envelhecidas e osmocondicionadas, sob estresse salino, podem ter sido um dos fatores responsáveis pela menor sensibilidade destas ao NaCl, isto é, essa variável pode ter sido um marcador morfofisiológico para a adaptação destas plântulas ao estresse. Esta menor redução do crescimento das raízes pode resultar na ampliação da área de absorção de nutrientes e água do solo, de forma a minimizar os efeitos prejudiciais do sal (FERREIRA; TÁVORA; FERREYRA, 2001). A salinidade afeta a produção de biomassa e altera a partição de fotoassimilados entre as diferentes partes das plantas, sendo essas respostas decorrentes dos efeitos osmóticos, tóxicos e nutricionais (MUNNS, 2002; SILVA *et al.*, 2003; AQUINO *et al.*, 2007). De acordo com Paranychianakis e Chartzoulakis (2005), os efeitos negativos da salinidade sobre o crescimento das plantas estão associados a sua interferência nos processos de assimilação líquida por unidade de área foliar, de translocação de carboidratos para tecidos drenos e no desvio de fontes de energia para outros processos, tais como: ajustamento osmótico, síntese de solutos compatíveis, reparo de danos causados pela salinidade e manutenção dos processos metabólicos básicos.

### **3.2. Determinação de solutos inorgânicos**

Os teores de potássio na parte aérea de plântulas de sorgo apresentaram comportamento variável naquelas oriundas de sementes de maior vigor (não envelhecidas),

sendo observado acréscimos e decréscimos na concentração desse íon na ausência e presença de NaCl, respectivamente (Figura 6A). Para as sementes submetidas ao condicionamento, este



**Figura 6.** Teores de potássio ( $K^+$ , A e B) e sódio ( $Na^+$ , C e D) na parte aérea de plântulas oriundas de dois sublotos de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas (SNE) e envelhecidas (SE) artificialmente e submetidas (■) ou não (□) ao condicionamento osmótico, sob diferentes níveis de salinidade. Colunas de cores distintas com letras minúsculas iguais, para plântulas sob o mesmo nível de NaCl, ou colunas de mesma cor com letras maiúsculas iguais, para plântulas sob diferentes níveis de NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras verticais representam o erro padrão da média.

comportamento não foi verificado no subplote envelhecido, no qual não houve influência significativa do condicionamento osmótico nos teores desse íon (Figura 6B). Todavia, em plântulas provenientes de sementes de ambos os grupos de vigor foram observadas reduções significativas nos teores de  $K^+$  em condições de salinidade, independentemente de terem sido ou não submetidas ao *priming*. Portanto, a ausência de alteração nos teores de potássio na parte aérea das plântulas de sorgo oriundas de sementes envelhecidas, em função do condicionamento destas em PEG-6000, pelo menos no estágio de desenvolvimento estudado, pode representar uma resposta adaptativa, desde que o  $K^+$  é um íon essencial para a atividade de muitas enzimas, bem como para a regulação da turgescência e força iônica celulares (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Em plântulas mantidas sob estresse salino não foram observados aumentos nos teores  $K^+$  em função do condicionamento das sementes em PEG-6000 (Figura 6A e 6B), o que contrasta com os resultados obtidos por Sivritepe, Sivritepe e Eris (2003), os quais realizaram o *priming* de sementes de melão com NaCl e concluíram que este tratamento aumenta a tolerância de plântulas ao estresse salino, devido ao acúmulo de  $K^+$  e  $Ca^+$ , induzindo a osmorregulação pelo acúmulo de solutos orgânicos. Estas divergências podem estar relacionadas com o fato observado por Oliveira e Gomes-Filho (2009) em sementes de sorgo, que constataram um possível ajustamento osmótico em sementes submetidas ao estresse com NaCl, não sendo verificado isso naquelas que germinaram na presença de PEG-6000. Cabe aqui ressaltar que os sais de alta solubilidade, tais como o NaCl, exercem menor efeito sobre a “seca fisiológica” no processo germinativo do que o PEG-6000, pois as sementes ao absorverem água do substrato absorvem também os sais, os quais provocam redução do potencial osmótico celular e, conseqüentemente, favorecem o aumento da absorção de água pelas sementes por manterem o gradiente de potencial hídrico entre a semente e o substrato, processo conhecido como “ajustamento osmótico” (MUNNS, 2002). Quanto ao polietilenoglicol (PEG-6000 e 8000), por outro lado, as moléculas são muito grandes para ultrapassar as paredes celulares, ou seja, este agente osmótico não é absorvido pelas sementes e, por conseguinte, não proporciona essa osmoregulação (BRADFORD, 1995).

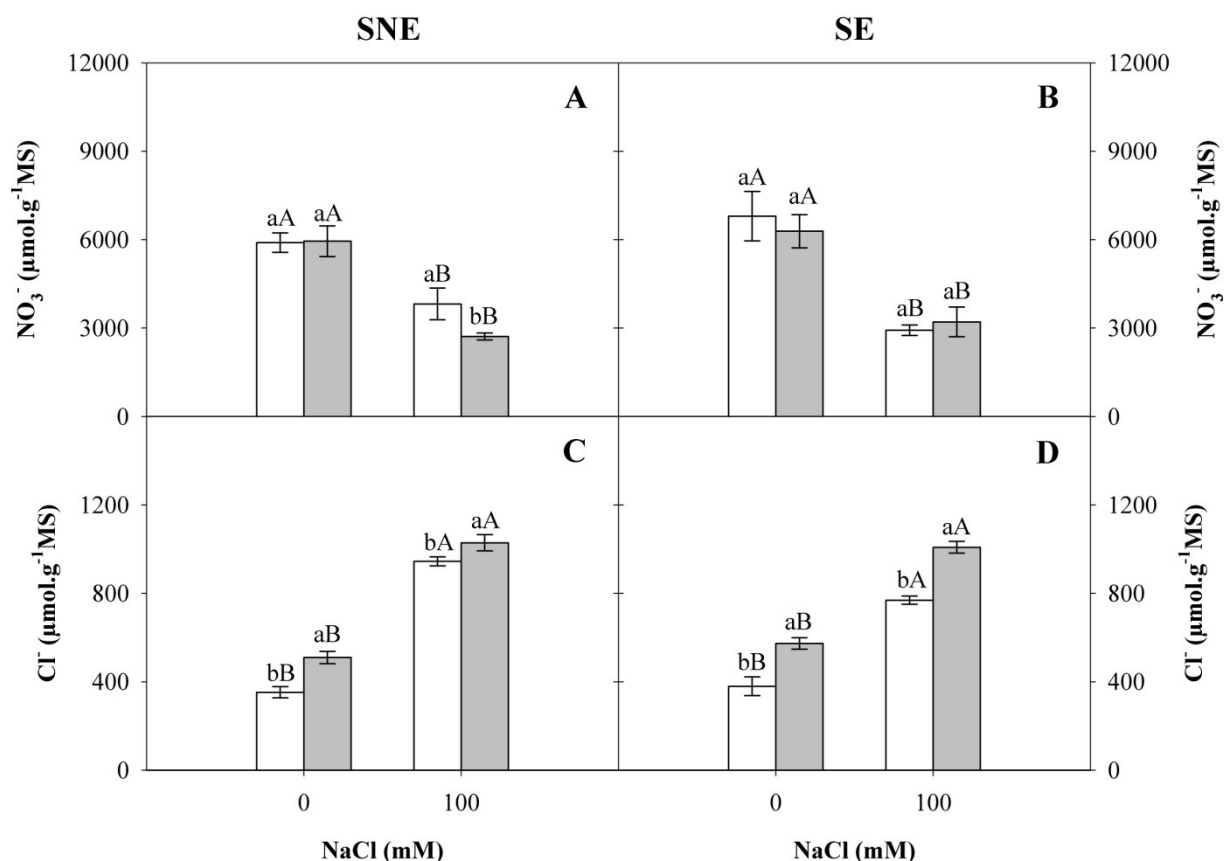
Os resultados sobre os teores de  $K^+$ , em condições de estresse salino, são conflitantes. Enquanto alguns autores observaram aumentos, tais como Erdei e Taleisnik (1993) em plantas de milho e Silva (1998) em feijão de corda, outros observaram diminuições, dentre os quais se pode relatar Azevedo Neto *et al.* (2004) e Lacerda *et al.* (2005), em plântulas de milho e sorgo, respectivamente. De acordo com Flowers (2004), essas divergências ocorrem em função de diversos fatores, tais como, manejo da cultura, idade das plantas, intensidade e duração do estresse.

Os teores de  $Na^+$ , tanto em sementes não envelhecidas como nas envelhecidas, osmocondicionadas ou não, aumentaram fortemente a concentração desse íon em função da salinidade (Figura 6C e 6D). O condicionamento osmótico das sementes de maior vigor promoveu um aumento no teor desse cátion na parte aérea das plântulas cultivadas na presença de NaCl (Figura 6C). Os teores de sódio na parte aérea das plântulas (Figura 6C e 6D) apresentaram comportamento inversamente proporcional aos dos teores de potássio (Figura 6A e 6B), isto é, os maiores valores de  $Na^+$  foram encontrados nas que apresentaram menores valores de  $K^+$  (Figura 6B). Deste modo, a redução no teor de  $K^+$  nas folhas deve ter

sido resultante, em grande parte, da menor absorção de  $K^+$ , causada pela competição dos íons  $Na^+$  pelos mesmos sítios do sistema de transporte na membrana plasmática das células radiculares (MARSCHNER, 1995). Portanto, a maior redução nos teores de  $K^+$  e os acréscimos nos teores de  $Na^+$  no tratamento em que se utilizaram sementes não envelhecidas e condicionadas pode estar relacionado com a menor eficiência na absorção radicular, provavelmente em função do menor desenvolvimento das raízes (Figura 4C), proporcionando uma menor seletividade na absorção do  $K^+$  em relação ao  $Na^+$ . Nesse contexto, a manutenção de níveis mais adequados de  $K^+$  nos tecidos fotossintetizantes parece ser uma característica importante para a adaptação à salinidade (SILVA *et al.*, 2003; LACERDA *et al.*, 2005).

Não foi detectada influência do *priming* sobre os teores de  $NO_3^-$  em plântulas cultivadas na ausência de NaCl (Figura 7A e 7B). Já na presença desse sal, observaram-se reduções significativas os teores de  $NO_3^-$  na parte aérea das plantas, em especial quando se realizou o osmocondicionamento de sementes não envelhecidas (Figura 7A). Estes resultados indicam que o estresse salino afetou negativamente o acúmulo de nitrato na parte aérea das plântulas, os quais corroboram com aqueles obtidos por Meloni, Gulotta e Oliva (2004), uma vez que estes autores, trabalhando com salinidade em plantas de algaroba (*Prosopis alba*), relataram decréscimos nos níveis de nitrato na parte aérea das mesmas em função desse estresse. De maneira similar, Feijão (2009) observou redução na concentração de  $NO_3^-$  em plântulas de milho cultivadas na presença de NaCl. Esse comportamento também foi registrado por Silva *et al.* (2009) em folhas de plantas jovens de pinhão manso. A redução dos níveis de  $NO_3^-$  com a salinidade pode ser explicada devido ao aumento da absorção e acúmulo de  $Cl^-$  nas plantas, que frequentemente vem acompanhado por decréscimo no teor de  $NO_3^-$  na parte aérea. Comportamento este atribuído a um efeito antagônico do cloreto sobre a absorção de nitrato ou à redução na absorção de água (WHITE; BROADLEY, 2001).





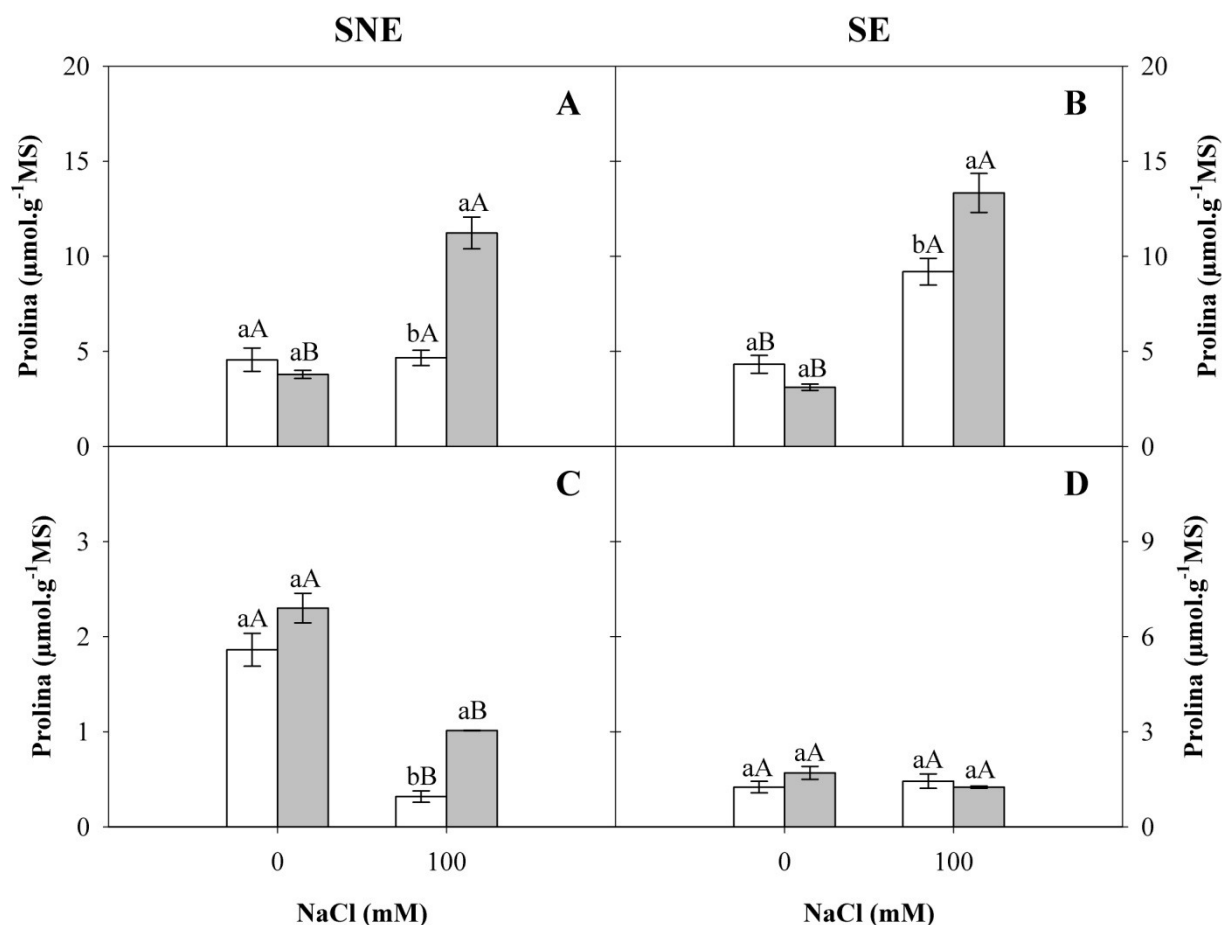
**Figura 7.** Teores de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ , A e B) e cloreto ( $\text{Cl}^-$ , C e D) na parte aérea de plântulas oriundas de dois sublotos de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas (SNE) e envelhecidas (SE) artificialmente e submetidas (■) ou não (□) ao condicionamento osmótico, sob diferentes níveis de salinidade. Colunas de cores distintas com letras minúsculas iguais, para plântulas sob o mesmo nível de NaCl, ou colunas de mesma cor com letras maiúsculas iguais, para plântulas sob diferentes níveis de NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras verticais representam o erro padrão da média.

Os teores de cloreto na parte aérea aumentaram sob condições de estresse, tanto em plântulas provenientes de sementes não envelhecidas como nas envelhecidas artificialmente (Figura 6C e 6D). Além disso, foi observado um aumento nos teores de  $\text{Cl}^-$  em função do osmocondicionamento das sementes, nas plântulas de qualquer tratamento. Comparando-se os dados apresentados nas Figuras 6 e 7 pode-se constatar que os teores de  $\text{Cl}^-$  em termos absolutos foram aproximadamente iguais àqueles do  $\text{Na}^+$  quando foi adicionado NaCl à solução nutritiva, contudo, em relação ao controle, os aumentos nos teores de  $\text{Na}^+$  foram superiores aos do  $\text{Cl}^-$ . Diante desses resultados, cabe ressaltar que durante o *priming*, parte das reservas é mobilizada, aumentando desta forma a concentração de substâncias osmoticamente ativas, com a redução do potencial hídrico celular (KHAN, 1992). Este fato pode ter conferido às sementes osmocondicionadas um maior acúmulo de íons, permitindo um possível ajustamento osmótico nas plântulas, pelo menos naquelas provenientes de sementes de menor vigor, uma vez que nesse tratamento foram verificadas melhorias

significativas nos parâmetros de crescimento de plântulas cultivadas em condições de estresse salino a 100 mM de NaCl (Figuras 2B a 5B). O ajuste osmótico, através do acúmulo de solutos orgânicos e inorgânicos, é um mecanismo que as plantas desenvolveram para obter água do ambiente externo, que possui baixo potencial hídrico (TAIZ; ZEIGER, 2004). De acordo com Munns e Tester (2008), a compartimentalização dos solutos inorgânicos no vacúolo, é um componente do ajustamento osmótico necessário para a aclimação ou adaptação à salinidade. Entretanto, apesar de ter-se observado, no presente estudo, que a salinidade provocou aumento nos teores dos íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ , e redução na concentração de  $\text{K}^+$  e  $\text{NO}_3^-$  nas folhas, principalmente em plântulas oriundas de sementes envelhecidas e sujeitas ao *priming*, há a necessidade de serem feitos estudos mais detalhados, nos quais se avaliem os teores de íons nas raízes e os potenciais osmóticos foliar e radicular, a fim de avaliar se tal comportamento ocorreu em função de um desequilíbrio nutricional consequente do estresse, ou de um ajuste osmótico da planta com o intuito de reduzir o estresse osmótico causado pela salinidade.

### 3.3. Determinação de solutos orgânicos

O condicionamento osmótico promoveu incremento nos teores de prolina na parte aérea das plântulas mantidas sob estresse salino, sendo que em plântulas cultivadas na ausência de NaCl não houve diferença entre aquelas de sementes submetidas e não submetidas ao *priming* (Figura 8A e 8B). Nas plântulas oriundas de sementes não osmocondicionadas, o estresse salino somente promoveu aumento nos teores de prolina naquelas oriundas de sementes envelhecidas artificialmente, não sendo observada qualquer alteração pela salinidade nos teores de prolina nas plântulas de sementes não envelhecidas. Esses dados sugerem, portanto, uma possível atuação desse soluto orgânico como osmorregulador nas plântulas de sorgo (ASHRAF; HARRIS, 2004). No entanto, tais acréscimos não foram verificados em raízes de plântulas estressadas, provenientes de sementes envelhecidas, de modo que não se observou diferença significativa entre os tratamentos (Figura 8D). Por outro lado, no tratamento com sementes de maior vigor, verificou-se que nas raízes houve redução nos teores de prolina devido ao NaCl, todavia, com menores decréscimos em função do condicionamento osmótico (Figura 8C).



**Figura 8.** Teores de prolina na parte aérea (A e B) e raízes (C e D) de plântulas oriundas de dois sublotes de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas (SNE) e envelhecidas (SE) artificialmente e submetidas (■) ou não (□) ao condicionamento osmótico, sob diferentes níveis de salinidade. Colunas de cores distintas com letras minúsculas iguais, para plântulas sob o mesmo nível de NaCl, ou colunas de mesma cor com letras maiúsculas iguais, para plântulas sob diferentes níveis de NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras verticais representam o erro padrão da média.

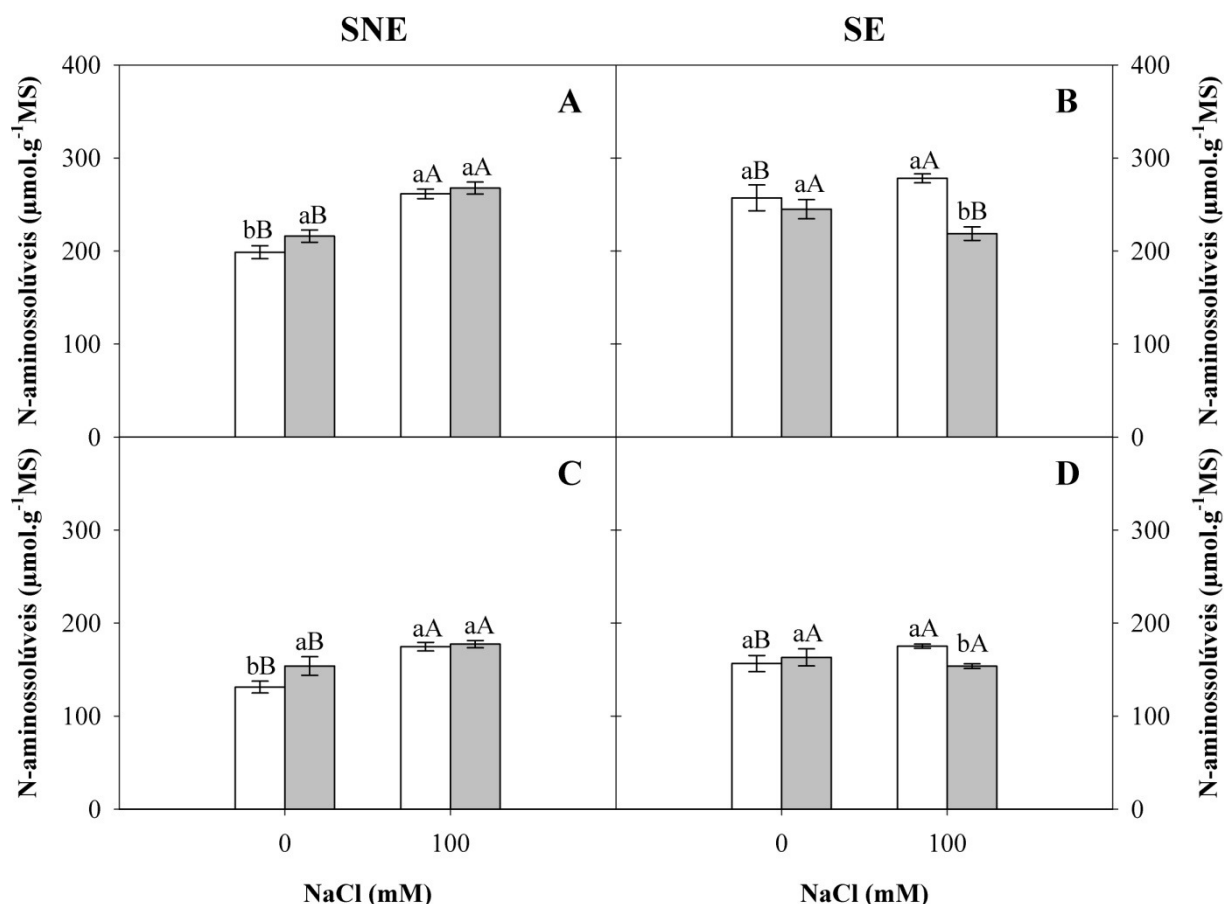
Trabalhando com pinhão-mansão, Silva *et al.* (2009), de maneira concordante com o que foi observado nas plântulas oriundas de sementes envelhecidas no presente estudo, relataram incrementos significativos na concentração de prolina nas folhas de plântulas cultivadas em solução nutritiva com 100 mM de NaCl. Embora alguns autores acreditem que o acúmulo desse soluto seja consequência da redução no seu consumo em função das injúrias provocadas pela salinidade (SERRAJ; SINCLAIR, 2002; LACERDA *et al.*, 2003), isto não parece ter ocorrido no experimento aqui apresentado, visto que foi constatado grande acúmulo de prolina no tratamento que apresentou maior tolerância ao estresse (Figuras 4B e 5B). Neste caso, sugere-se que os teores de prolina possivelmente contribuíram para o ajustamento osmótico, pelo menos na parte aérea, papel esse atribuído por outros autores (LACERDA *et al.*, 2001; ASHRAF; HARRIS, 2004).

É importante destacar que, em termos absolutos, o tratamento de condicionamento

osmótico em sementes de menor vigor, dentre os estudados, foi aquele que apresentou a mais elevada concentração de prolina na parte aérea de plântulas cultivadas na presença de NaCl a 100 mM (Figura 8B), o que pode representar um mecanismo importante para ajustamento osmótico dessas plântulas ao estresse salino, além de poder contribuir para mitigar os efeitos deletérios dos íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  na estabilidade das membranas (ASHRAF; HARRIS, 2004). Sivritepe Sivritepe e Eris (2003) sugerem que o condicionamento osmótico de sementes aumenta a tolerância de plântulas ao estresse salino, devido, dentre outros fatores, a osmorregulação proporcionada pelo acúmulo de solutos orgânicos.

Os resultados obtidos para os teores de prolina podem estar diretamente relacionados com as concentrações dos íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  na parte aérea das plântulas (Figuras 6 e 7), visto que ambas as variáveis se comportaram de maneira similar. Isto pode indicar uma provável compartimentalização desses íons no vacúolo das células em função da reestruturação da membrana do tonoplasto, promovida pelo tratamento do *priming*, ao qual têm sido atribuídas as propriedades de reparação ou reorganização das membranas, síntese de macromoléculas e aumento na atividade de várias enzimas (MARCOS-FILHO, 2005). Por causa da compartimentalização dos íons, solutos orgânicos compatíveis com as atividades metabólicas celulares, tais como a prolina, são sintetizados e acumulados no citosol, a fim de ajustar seu potencial hídrico com aquele do vacúolo (TESTER; DAVENPORT, 2003; TAIZ; ZEIGER, 2004). Além de sua participação no ajustamento osmótico, esses solutos orgânicos podem proteger processos fisiológicos como a fotossíntese e ter um papel na estabilização da estrutura de proteínas e membranas, e na remoção de ROS (HASEGAWA, *et al.* 2000; CHEN; MURATA, 2002).

De modo geral, as concentrações de N-aminossolúveis aumentaram na parte aérea das plântulas em resposta ao NaCl, com exceção das geradas de sementes com qualidade inferior (envelhecidas) sujeitas ao *priming* com PEG-6000, onde tais concentrações foram reduzidas em função da exposição a este sal. Nas raízes não foi detectada diferença nos teores desses compostos em função da salinidade.



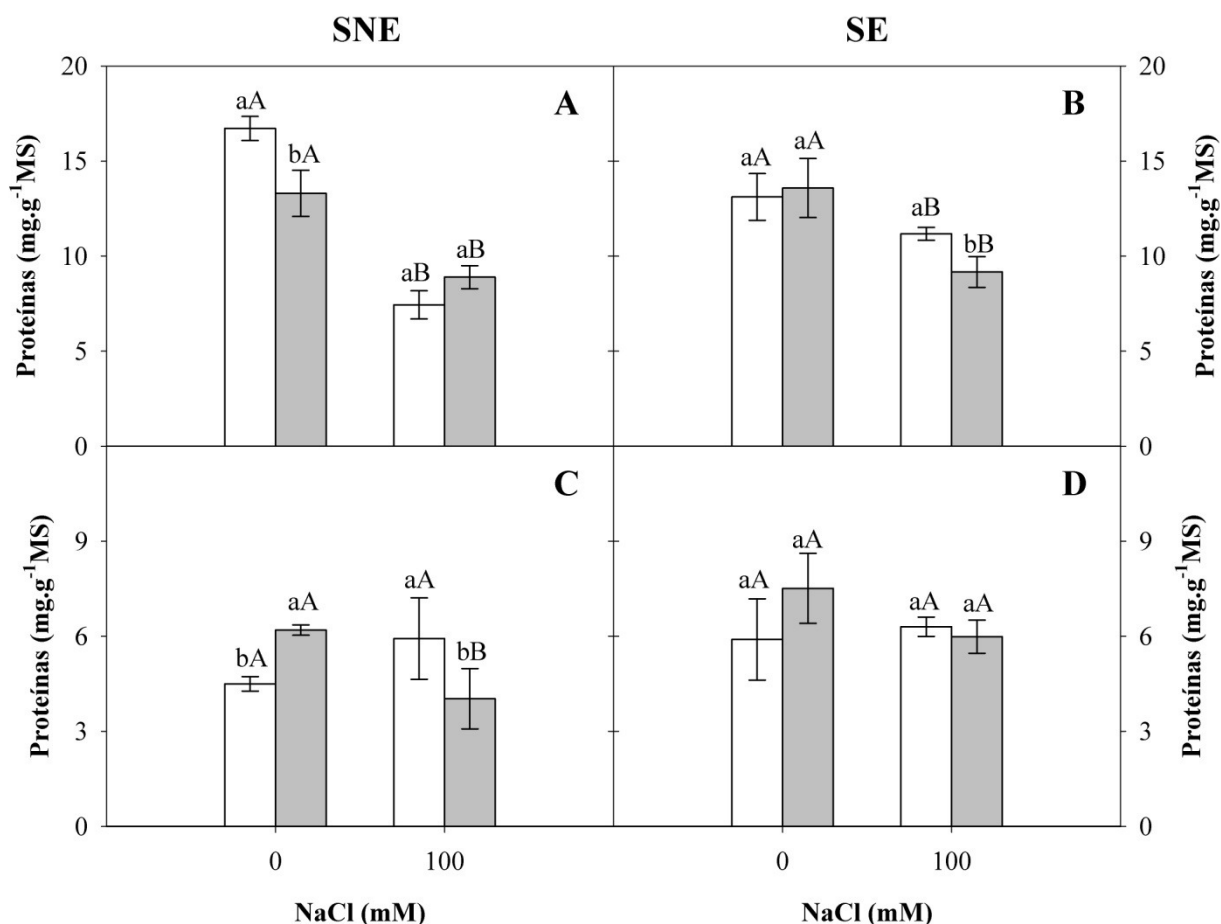
**Figura 9.** Teores de N-aminossolúveis na parte aérea (A e B) e raízes (C e D) de plântulas oriundas de dois sublotos de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas (SNE) e envelhecidas (SE) artificialmente e submetidas (■) ou não (□) ao condicionamento osmótico, sob diferentes níveis de salinidade. Colunas de cores distintas com letras minúsculas iguais, para plântulas sob o mesmo nível de NaCl, ou colunas de mesma cor com letras maiúsculas iguais, para plântulas sob diferentes níveis de NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras verticais representam o erro padrão da média.

O acúmulo de compostos contendo N-aminossolúveis que, geralmente, ocorre durante a exposição das plantas à salinidade (SINGH, 2006) pode funcionar como um dreno para o excesso de nitrogênio acumulado devido à redução no crescimento (GILBERT *et al.*, 1998). Tais compostos podem também funcionar como solutos compatíveis no ajustamento osmótico ou servirem como fonte de carbono e nitrogênio (HANSON; HITZ, 1982).

Os resultados aqui apresentados dão suporte a afirmação de Gilbert *et al.* (1998), uma vez que os tratamentos que apresentaram maior inibição do crescimento, em função do estresse salino, também apresentaram maiores aumentos na concentração de N-aminossolúveis. Comportamento similar também foi observado por Praxedes (2008), trabalhando com genótipos de feijão de corda em cultivo hidropônico sob estresse salino. Portanto, tais compostos provavelmente tiveram pouca importância no ajuste osmótico, visto que não foi observada qualquer correlação entre a concentração foliar de N-aminossolúveis

(Figura 9A e 9B) e a manutenção do crescimento (Figuras 2 a 5).

A concentração de proteínas solúveis na parte aérea das plântulas foi reduzida em função da presença do NaCl na solução de cultivo, sendo observado decréscimo superior, em termos absolutos, no tratamento com sementes de maior qualidade e não submetidas ao *priming* (Figura 10A). Esses resultados explicam o aumento nos teores de N-aminossolúveis na parte aérea das plântulas oriundas de sementes do subote não envelhecido em resposta a salinidade (Figura 9A), o qual deve ter sido causado pela degradação e/ou redução na síntese protéica, já que ocorreu uma queda nos níveis de proteínas totais desse tratamento. Dados semelhantes foram obtidos por Lacerda *et al.* (2003) em sorgo forrageiro, Silveira *et al.* (2003) trabalhando com cajueiro e por Silva *et al.* (2009) em plantas jovens de pinhão-manso expostas a 100 mM de NaCl.



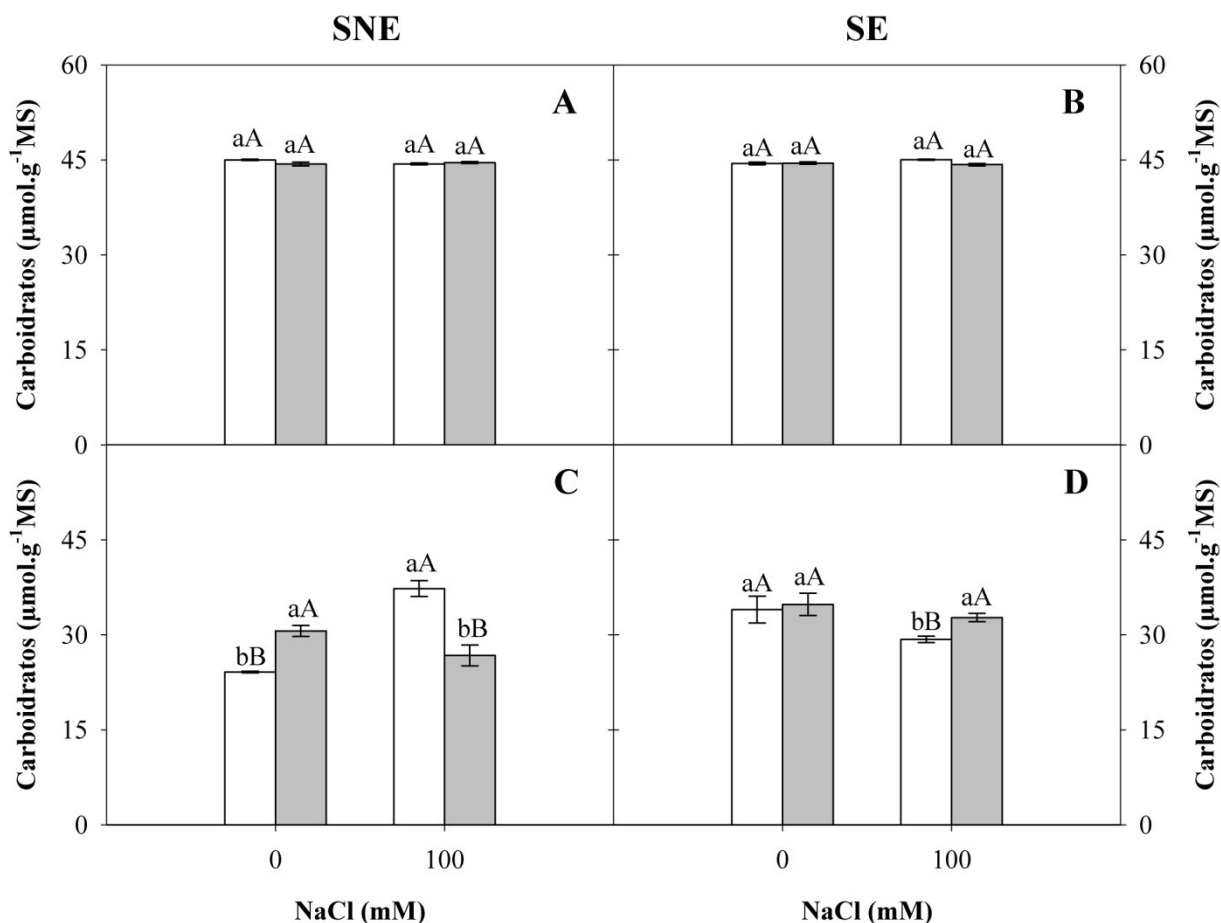
**Figura 10.** Teores de proteínas solúveis na parte aérea (A e B) e raízes (C e D) de plântulas oriundas de dois subotes de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas (SNE) e envelhecidas (SE) artificialmente e submetidas (■) ou não (□) ao condicionamento osmótico, sob diferentes níveis de salinidade. Colunas de cores distintas com letras minúsculas iguais, para plântulas sob o mesmo nível de NaCl, ou colunas de mesma cor com letras maiúsculas iguais, para plântulas sob diferentes níveis de NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras verticais representam o erro padrão da média.

Em plantas submetidas a estresse salino, geralmente, se verifica uma redução na quantidade total de proteínas (PARIDA; DAS; MITTRA, 2004), embora algumas proteínas possam ser induzidas (ALI; SRIVASTAVA; IQBAL, 1999; MANSOUR, 2000). Conforme Ashraf e Harris (2004), as proteínas que são induzidas pela salinidade têm sido identificadas em plantas, sendo classificadas em dois grupos distintos: proteínas específicas do estresse salino, que se acumulam apenas em presença de salinidade e proteínas associadas a estresses que se acumulam em resposta à salinidade e a outros estresses tais como calor, frio, seca e elevadas ou baixas concentrações de nutrientes. De acordo com Singh (2006), algumas proteínas que se acumulam em plantas crescendo sob condições salinas podem funcionar como uma reserva de nitrogênio para ser utilizada quando o estresse chegar ao fim.

No presente trabalho, as modificações nos teores de proteínas pela salinidade variaram em função dos tratamentos, de modo que os procedimentos de envelhecimento artificial e do pré-tratamento com o PEG-6000 tiveram efeitos substanciais. Nas raízes das plântulas oriundas de sementes de maior vigor, por exemplo, observou-se que o *priming* proporcionou aumento ou redução no total de proteínas em função, respectivamente, da ausência ou presença do NaCl na solução de cultivo (Figura 10C). Já nas raízes das plântulas geradas de sementes de qualidade inferior não houve influência significativa de nenhum dos fatores analisados sobre essa variável (Figura 10D). O incremento na concentração de proteínas solúveis em raízes das plântulas mantidas na ausência de NaCl, causado pelo *priming*, corroboram com a afirmação de Khan (1992), o qual disserta que incrementos nas atividades enzimáticas e metabólicas são características comuns durante o condicionamento osmótico e parecem estar relacionadas com o revigoração das sementes durante a germinação subsequente. Alguns autores têm demonstrado que o condicionamento osmótico de sementes de algumas espécies tem promovido aumentos bastante significativos no teor de proteínas solúveis, em comparação com sementes não tratadas (SMITH; COOB, 1992; BRACCINI *et al.*, 1997; BRACCINI *et al.*, 2000). Esses pesquisadores observaram ainda que o incremento na síntese de proteínas poderia estar relacionado com a maior capacidade germinativa e desempenho em condição de campo apresentado pelas sementes osmocondicionadas. Khan (1992) verificou que duas vezes mais aminoácidos foram incorporados em proteínas, durante as primeiras 24 horas de embebição das sementes de pimentão em soluções de PEG (condicionamento osmótico), em comparação com sementes embebidas em água.

Os níveis de carboidratos solúveis não foram alterados na parte aérea das plântulas em resposta aos tratamentos aplicados (Figura 11A e 11B). Os resultados obtidos

por Costa *et al.* (2003) assemelham-se a estes, os quais trabalhando com sete cultivares de feijão de corda com tolerâncias diferenciais à salinidade, crescendo em solução nutritiva contendo NaCl a 75 mM, constataram que os níveis de carboidratos solúveis nas folhas não foram alterados pela salinidade.



**Figura 11.** Teores de carboidratos solúveis na parte aérea (A e B) e raízes (C e D) de plântulas oriundas de dois sublotos de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas (SNE) e envelhecidas (SE) artificialmente e submetidas (■) ou não (□) ao condicionamento osmótico, sob diferentes níveis de salinidade. Colunas de cores distintas com letras minúsculas iguais, para plântulas sob o mesmo nível de NaCl, ou colunas de mesma cor com letras maiúsculas iguais, para plântulas sob diferentes níveis de NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras verticais representam o erro padrão da média.

Nas raízes houve variação significativa nas concentrações de carboidratos, com exceção do tratamento envolvendo sementes envelhecidas que foram osmocondicionadas, cujas plântulas não sofreram influência significativa sobre essa variável em função da salinidade, devido ao incremento nesses teores em resposta ao *priming* (Figura 11C e 11D). Esse fato pode estar relacionado com os possíveis efeitos negativos da salinidade sobre o crescimento das plântulas pertencentes aos demais tratamentos, os quais estão associados a sua interferência nos processos de assimilação líquida por unidade de área foliar, de

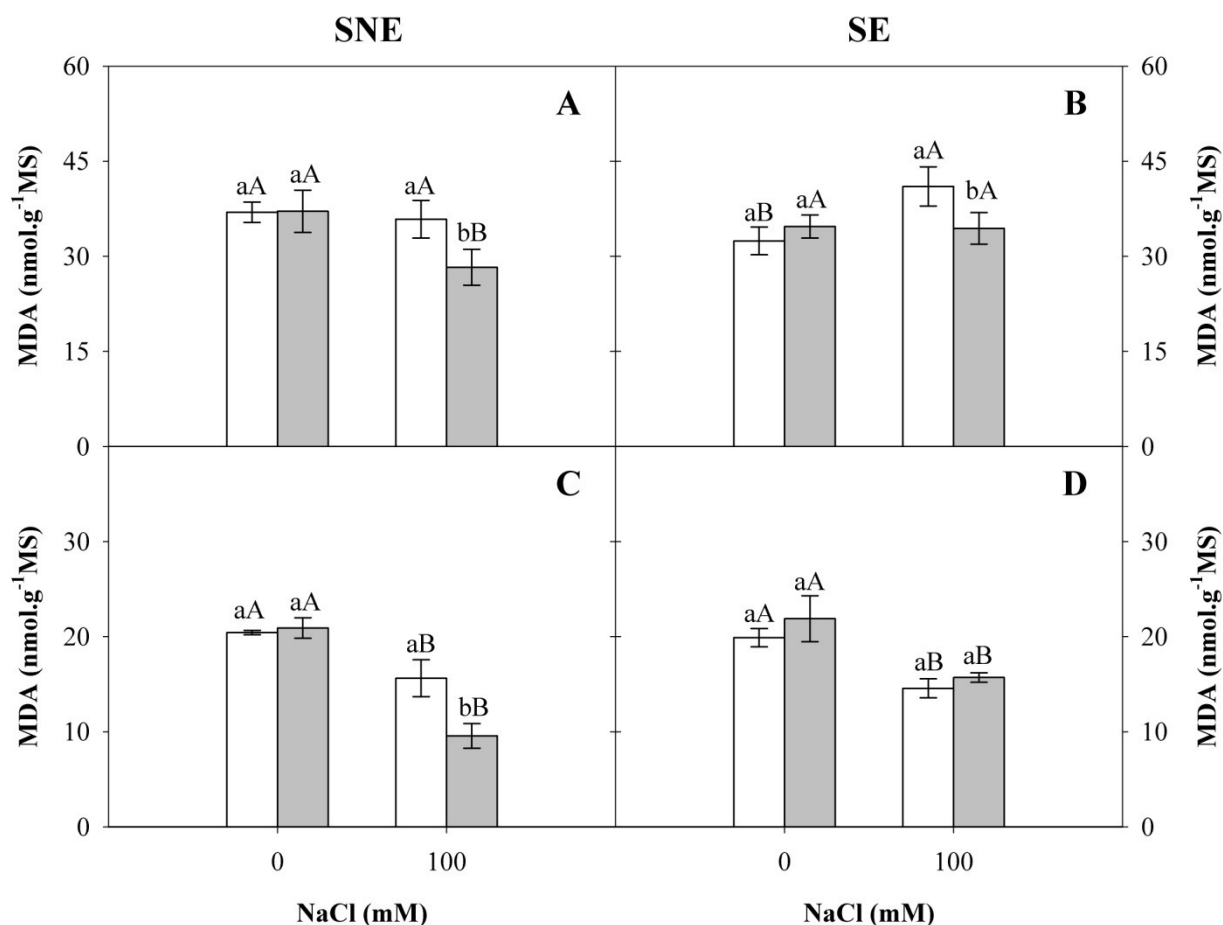


translocação de carboidratos para tecidos drenos e no desvio de fontes de energia para outros processos, tais como: ajustamento osmótico, síntese de solutos compatíveis, reparo de danos causados pela salinidade e manutenção dos processos metabólicos básicos (PARANYCHIANAKIS; CHARTZOULAKIS, 2005).

De acordo com Munns (2005), muitos solutos se acumulam em condições de estresses abióticos simplesmente porque o suprimento de assimilados pelas folhas excede sua demanda pelos tecidos em crescimento. Portanto, uma hipótese para a manutenção ou aumento dos níveis de carboidratos solúveis observado nas raízes em alguns tratamentos do experimento aqui apresentado, mesmo em altas concentrações de sais, é que esse acúmulo de carboidratos pode ser resultado de uma redução na sua demanda pelos tecidos em crescimento. Em contraposto, vários autores relatam mudanças nos teores de carboidratos, em plantas submetidas à salinidade, que sugerem um papel desses solutos na adaptação das mesmas ao estresse salino (KEREPESI; GALIBA, 2000; GARG *et al.*, 2002).

### **3.4. Peroxidação de lipídios**

A concentração de malondialdeído (MDA), um subproduto da peroxidação dos lipídios e que se correlaciona com os danos oxidativos nas membranas (BOR; ÖZDEMIR; TÜRKAN, 2003; PINHEIRO *et al.*, 2004), foi afetada pelo estresse salino na parte aérea e nas raízes de plântulas de sorgo (Figura 12). Entretanto, o condicionamento osmótico das sementes foi eficiente em reduzir os níveis de MDA em plântulas cultivadas na presença de NaCl. Em plântulas cultivadas na ausência desse sal não foram verificadas diferenças entre sementes sujeitas ou não ao osmocondicionamento, indicando que esse tratamento proporcionou redução na peroxidação de lipídios de membrana apenas naquelas expostas ao estresse salino. Concordando com esses resultados, o *priming* tem sido reportado como reparador de danos em sementes deterioradas como resultado da peroxidação de lipídios (McDONALD, 1999), e sugere-se que isto é consequência da maior atividade desidrogenásica e menor formação de peróxidos (RUDRAPAL; NAKAMURA, 1988).



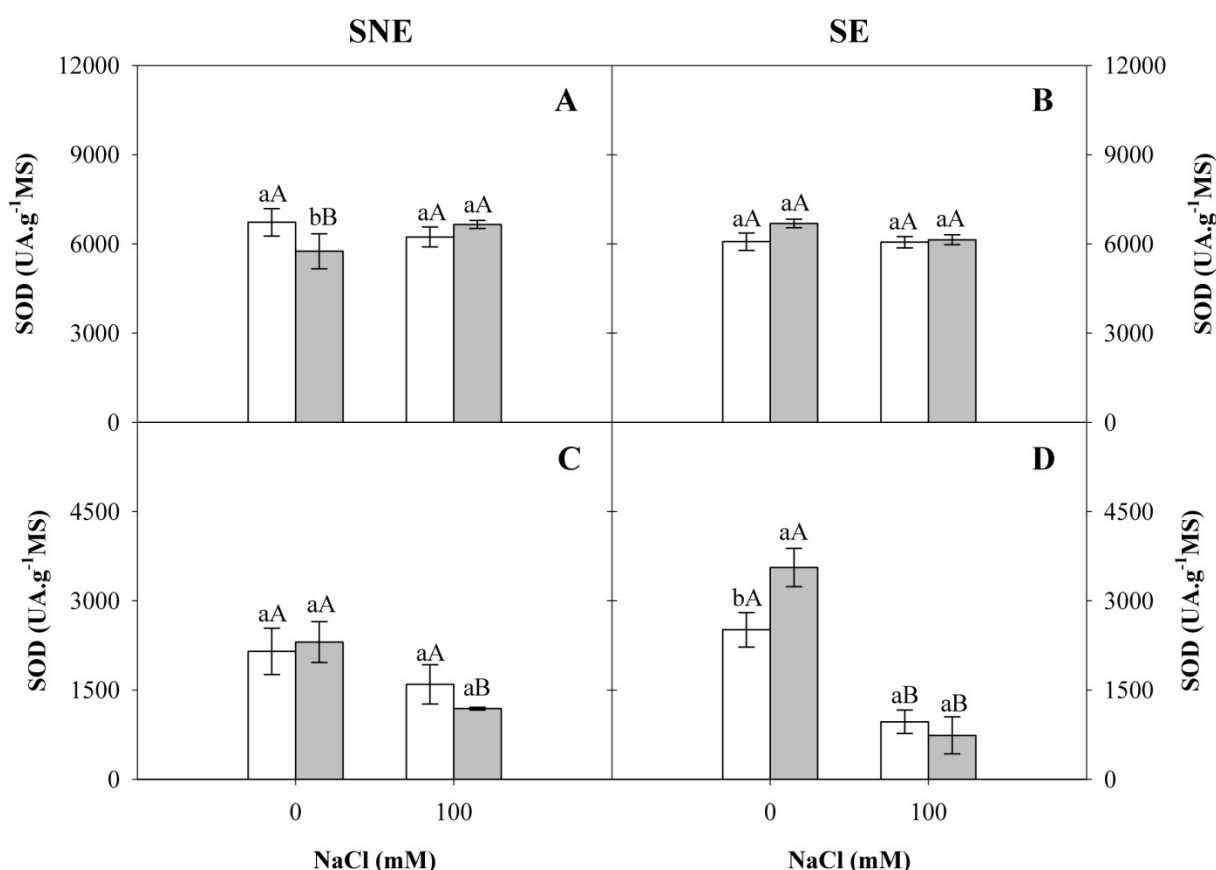
**Figura 12.** Concentração de malondialdeído (MDH) na parte aérea (A e B) e raízes (C e D) de plântulas oriundas de dois sublotos de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas (SNE) e envelhecidas (SE) artificialmente e submetidas (■) ou não (□) ao condicionamento osmótico, sob diferentes níveis de salinidade. Colunas de cores distintas com letras minúsculas iguais, para plântulas sob o mesmo nível de NaCl, ou colunas de mesma cor com letras maiúsculas iguais, para plântulas sob diferentes níveis de NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras verticais representam o erro padrão da média.

As melhorias obtidas em plântulas oriundas de sementes osmocondicionadas, no que diz respeito à menor peroxidação de lipídios, representadas pelos menores teores de MDA observados nesses tratamentos, têm sido atribuídas à atividade antioxidativa e à conversão dos lipídios a carboidratos, promovida pelo *priming* através do aumento da atividade de enzimas como a liase do isocitrato e sintase do malato, no primeiro processo, e SOD, CAT e APX, peroxidase e redutase da glutatona, no segundo processo, respectivamente (CHIU; CHUANG; SUNG, 2006). De acordo com Khan (1992), incrementos nas atividades enzimáticas e metabólicas são características comuns durante o condicionamento osmótico e parecem estar relacionadas com o revigoramento das sementes durante a germinação subsequente. Jeng e Sung (1994) ressaltam que essa técnica tem sido associada aos incrementos em várias enzimas de proteção contra danos oxidativos, tais como a dismutase do superóxido, catalase e peroxidase, as quais podem capturar os radicais livres prevenindo a

peroxidação de lipídios.

### 3.5. Enzimas de proteção contra danos oxidativos

As plantas desenvolveram vários mecanismos de defesa para se protegerem dos danos oxidativos, sendo o sistema enzimático antioxidativo um dos mais importantes (MITTLER, 2002). A SOD, que é considerada a primeira linha de defesa contra as espécies reativas de oxigênio nas plantas (ALSCHER; ERTURK; HEATH, 2002), apresentou decréscimo em resposta ao condicionamento de sementes não envelhecidas, de modo que na parte aérea e nas raízes das plântulas constataram-se reduções significativas, respectivamente, na ausência e presença do estresse salino (Figura 13A e 13C). Em plântulas do subote



**Figura 13.** Atividade da dismutase do superóxido (SOD) na parte aérea (A e B) e raízes (C e D) de plântulas oriundas de dois subotes de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas (SNE) e envelhecidas (SE) artificialmente e submetidas (■) ou não (□) ao condicionamento osmótico, sob diferentes níveis de salinidade. Colunas de cores distintas com letras minúsculas iguais, para plântulas sob o mesmo nível de NaCl, ou colunas de mesma cor com letras maiúsculas iguais, para plântulas sob diferentes níveis de NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras verticais representam o erro padrão da média.

constituído de sementes envelhecidas não se detectou diferença entre os tratamentos na parte aérea (Figura 13B), enquanto nas raízes houve decréscimo na atividade da SOD em função da salinidade, em sementes submetidas ou não ao condicionamento osmótico (Figura 13D). Neste sublte, sob ausência de NaCl, foi verificado incremento na atividade dessa enzima em resposta ao osmocondicionamento. Goel, Goel e Sheoran (2003), avaliando as mudanças na atividade das enzimas do estresse oxidativo em sementes de algodão submetidas ao envelhecimento artificial, constataram que a atividade enzimática da SOD foi reduzida em função desse procedimento. Comportamento semelhante foi observado por Hsu *et al.* (2003) em sementes de grão de bico submetidas ao envelhecimento artificial e ao *priming*.

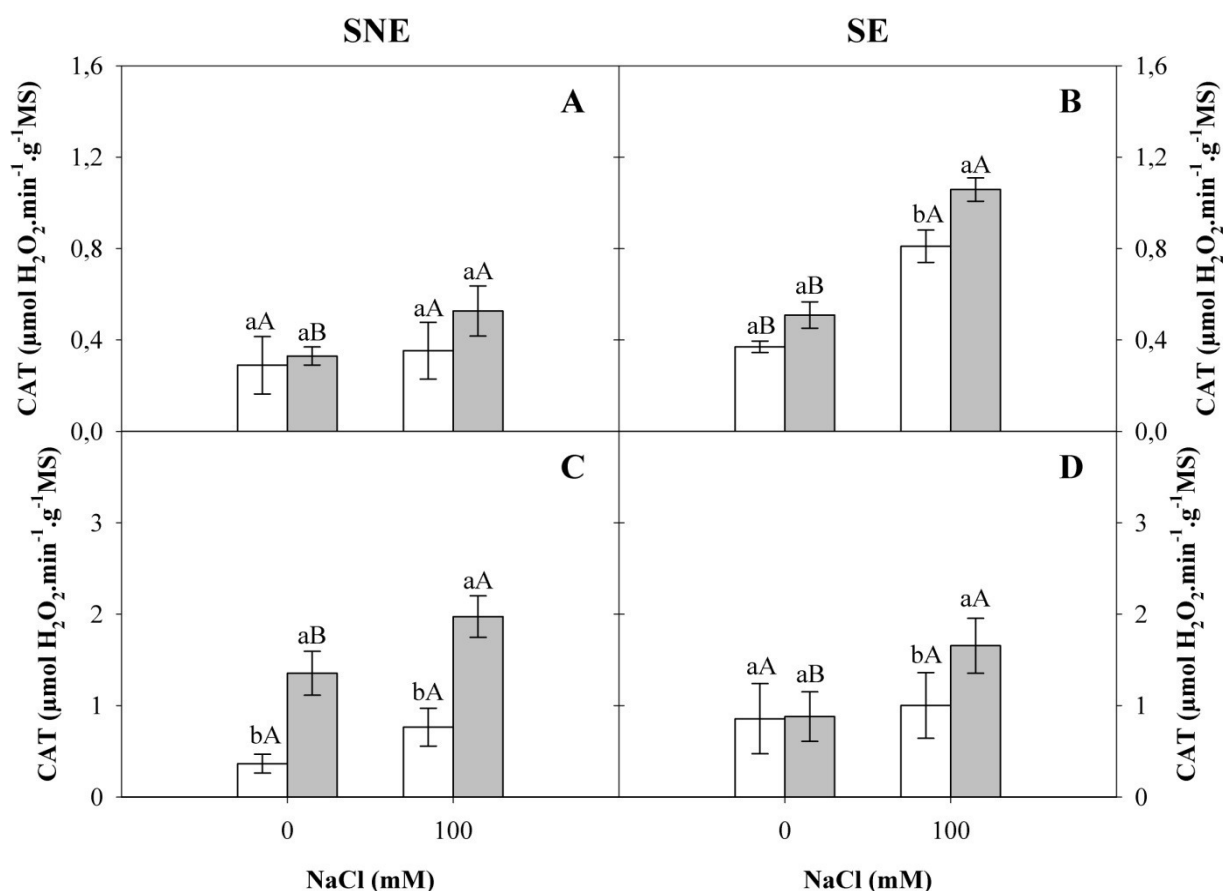
As reduções observadas na atividade da SOD nas raízes das plântulas oriundas de sementes envelhecidas sob tratamentos salinos (Figura 13D) podem estar relacionadas com a observação de Cavalcanti *et al.* (2007), visto que tais autores relataram inibição nessa atividade enzimática devida a alta concentração de sais no meio de cultivo. Os autores sugerem que o efeito osmótico ou iônico pode ter afetado diretamente a integridade da proteína SOD e, conseqüentemente, causado redução na atividade. Nesse contexto, embora os teores de Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> nas raízes não tenham sido determinados no presente estudo, talvez o decréscimo na atividade da SOD esteja relacionado com o fato de que o sal inibe diretamente a atividade desta enzima *in vivo* (DIONÍSIO-SESE; TOBITA, 1998).

De modo semelhante aos dados obtidos neste experimento nas raízes de plântulas provenientes de sementes que não passaram por nenhum tratamento, ou seja, não envelhecidas e não osmocondicionadas (controle), outros pesquisadores têm relatado que nas raízes observa-se que a atividade dessa enzima é pouco afetada pelo estresse salino (AZEVEDO NETO *et al.*, 2006; CAVALCANTI *et al.*, 2007), podendo ocorrer também inibição (SHALATA *et al.*, 2001; KHAN; SINGHA; PANDA, 2002). Comparando-se as respostas dessa enzima em folhas e raízes de plantas submetidas ao estresse salino, submetidas aos diferentes fatores aplicados no trabalho aqui apresentado, observa-se que elas são diferentes, ou seja, as folhas e raízes respondem de forma independente ao excesso de sais. Comportamento similar foi obtido por AZEVEDO NETO *et al.* (2006) trabalhando com milho e por Cavalcanti *et al.* (2007) em feijão de corda.

Não houve resposta de nenhum dos tratamentos aplicados a sementes sobre a atividade da SOD na parte aérea das plântulas cultivadas na presença do NaCl (Figura 13A e 13B). Nesse sentido, vale ressaltar que nas folhas o efeito do estresse salino na atividade da

SOD varia de acordo com a espécie estudada, forma e tempo de exposição ao estresse salino (PRAXEDES, 2008). Contudo, observa-se, em geral, aumento em sua atividade (SAIRAM; SRIVASTAVA, 2002; SONG *et al.* 2006; PRAXEDES, 2008), podendo também ocorrer reduções em alguns casos (LIANG *et al.*, 2003). Demiral e Türkan (2005), não observaram modificações pela salinidade na atividade da SOD em cultivares de *Oriza sativa* L. com diferentes graus de tolerância ao estresse salino. Por outro lado, Vaidyanathan *et al.* (2003) observaram uma maior atividade da SOD em um cultivar sensível de *Oriza sativa* L. submetido à salinidade, enquanto Sairam, Rao e Srivastava (2002), em estudos com *Triticum aestivum* L., encontraram maior atividade dessa enzima no cultivar tolerante. Tais estudos sugerem que o papel da SOD na tolerância ao estresse ainda é incerto.

O condicionamento osmótico promoveu incrementos significativos na atividade da CAT na parte aérea e nas raízes de plântulas submetidas ao estresse salino, bem como, também proporcionou o aumento na atividade dessa enzima nas raízes de plântulas não estressadas provenientes de sementes de qualidade superior (Figura 14). É provável que essa



**Figura 14.** Atividade da catalase (CAT) na parte aérea (A e B) e raízes (C e D) de plântulas oriundas de dois sublotos de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas (SNE) e envelhecidas (SE) artificialmente e submetidas (■) ou não (□) ao condicionamento osmótico, sob diferentes níveis de salinidade. Colunas de cores distintas com letras minúsculas iguais, para plântulas sob o mesmo nível de NaCl, ou colunas de mesma cor com letras maiúsculas iguais, para plântulas sob diferentes níveis de NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras verticais representam o erro padrão da média.

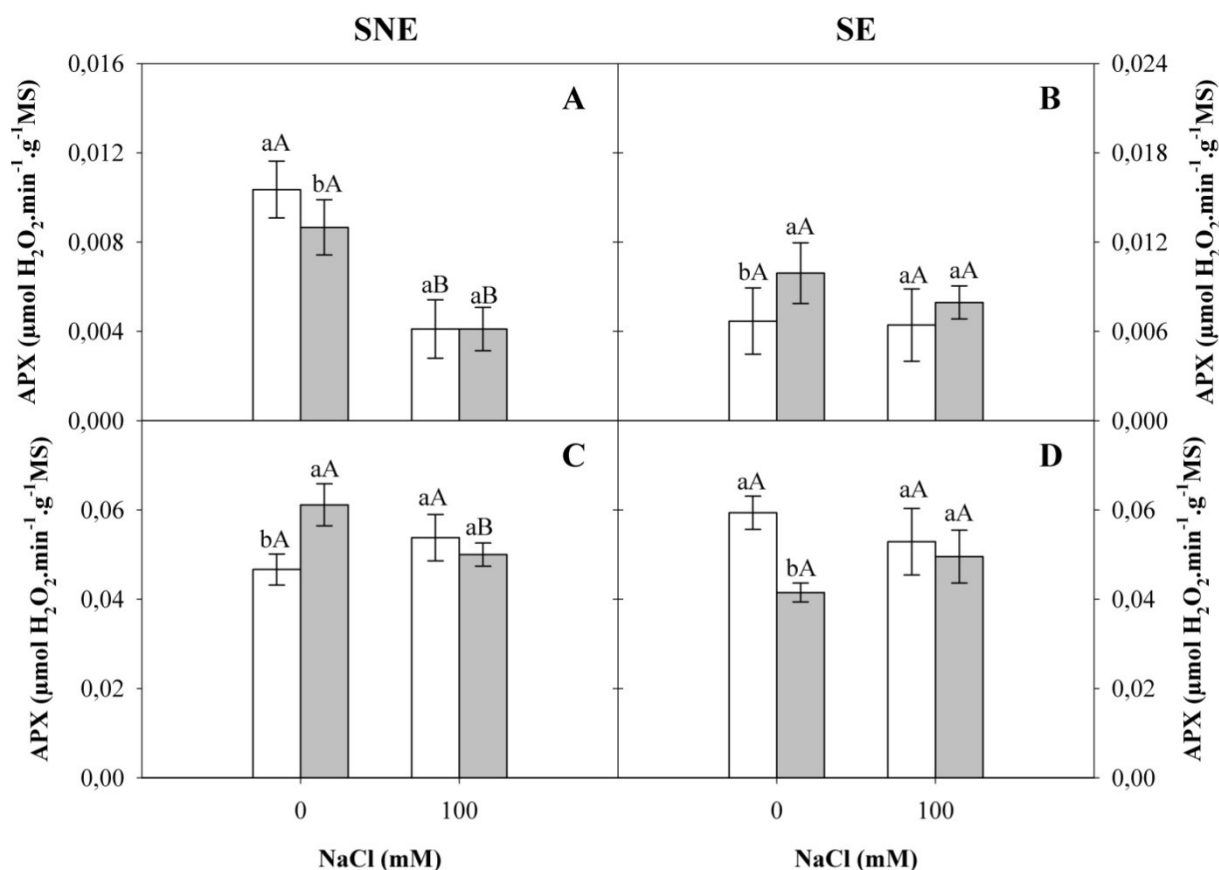
enzima tenha atuado na proteção contra os danos na peroxidação de lipídeos de membranas sob condições de estresse salino, uma vez que juntamente com esse incremento na atividade da catalase promovida pelo *priming* com PEG-6000, também foram verificadas reduções nos níveis de MDA (Figura 12A, 12B e 12C). Cabe aqui ressaltar que a CAT tem sido considerada como uma enzima de grande relevância na proteção das plantas contra as espécies reativas de oxigênio (MITTLER, 2002). Esta é uma das principais enzimas removedoras de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (VAIDYANATHAN *et al.*, 2003), o qual pode levar à formação do radical hidroxil ( $\cdot$ OH), causando a peroxidação dos lipídios (LOGGINI *et al.*, 1999) e das membranas celulares, prejudicando o crescimento das plantas. Portanto, o grande aumento em atividade da CAT na parte aérea e radicular das plântulas de sorgo, principalmente naquelas mantidas sob estresse salino, induzido pelo pré-tratamento das sementes com PEG-6000, pode ter contribuído para minimizar os efeitos deletérios da salinidade no crescimento das plantas.

O aumento na atividade da CAT em plântulas provenientes de sementes osmocondicionadas mostra que o tratamento das sementes pode ter sido responsável por uma indução na síntese dessa enzima, proporcionando menores danos oxidativos em plantas cultivadas sob estresse salino, o qual pode ser um fator responsável pelo aumento das ROS (AZEVEDO NETO *et al.*, 2006). Na parte aérea das plântulas observou-se maior aumento em atividade da CAT naquelas provenientes de sementes envelhecidas e condicionadas (Figura 14B). De maneira similar ao que foi observado neste estudo com a CAT, o osmocondicionamento tem sido associado aos incrementos em várias enzimas de proteção contra danos oxidativos, tais como a dismutase do superóxido, catalase e peroxidase, as quais podem capturar os radicais livres prevenindo a peroxidação de lipídios (JENG; SUNG, 1994). Trabalhando com sementes de *Echinacea purpurea* (L.) Moench. condicionadas em PEG-6000, Chiu, Chuang e Sung (2006) observaram que esse procedimento proporcionou aumentos na porcentagem e redução no tempo médio de emergência de plântulas em resposta ao incremento nas atividades de enzimas antioxidativas e decréscimo nos níveis de peróxido e malondialdeído.

Os acréscimos na atividade da CAT observados nos tratamentos em que foram utilizadas sementes condicionadas podem estar relacionados com o incremento no nível de ROS verificado em sementes durante o *priming* (NAGLREITER *et al.*, 2005), os quais podem ter atuado como mensageiros secundários nas respostas ao estresse salino, pois como a produção das ROS é inerente ao metabolismo celular normal, a pesquisa tem focalizado mais recentemente o possível papel sinalizador destas espécies químicas (AZEVEDO NETO *et al.*, 2006). Em plantas, tem sido aceito que as ROS, ao lado de outros mediadores tais como o

$\text{Ca}^{2+}$ , atuam como mensageiros secundários nas respostas aos estresses bióticos e abióticos e na sinalização hormonal (PEI *et al.*, 2000). Dessa forma, devido às diversas condições de estresse causarem o desequilíbrio redox celular, os sinais redox são considerados, atualmente, reguladores chave do metabolismo, morfologia e desenvolvimento vegetais (FOYER; NOCTOR, 2003). Mylona, Polidoros e Scandalios (2007), em concordância com o fato destacado, observaram um aumento na atividade das enzimas CAT e SOD em sementes de milho germinadas na presença de substâncias xenobióticas capazes de gerar ROS. Estes autores sugerem que o aumento da concentração de ROS foi responsável pela indução da atividade dessas enzimas. Semelhantemente, Azevedo Neto *et al.* (2006) relataram efeitos benéficos do pré-tratamento de sementes de milho com peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) no crescimento inicial das plantas cultivadas sob estresse salino.

A atividade da APX em plântulas cultivadas na ausência de NaCl variou nas diferentes partes da plântula em função do condicionamento osmótico das sementes, sendo observadas reduções na parte aérea e incrementos nas raízes daquelas oriundas de sementes do subote de qualidade superior (Figura 15A e 15C). Naquelas de menor qualidade, entretanto, constatou-se comportamento inverso, caracterizado por acréscimos e decréscimos na atividade dessa enzima na parte aérea e nas raízes, respectivamente, causados pelo condicionamento osmótico. Devido a tais divergências não foi possível estabelecer uma correlação entre a atividade da APX e o tratamento de *priming* das sementes. Chiu, Chuang e Sung (2006), por outro lado, verificaram aumento na atividade da APX de sementes de *Echinacea purpurea* (L.) Moench. em resposta ao *priming*. Entretanto, essas divergências entre resultados possivelmente estão correlacionadas com a grande quantidade de fatores que estão envolvidos na técnica do condicionamento, os quais podem variar amplamente de um trabalho para outro. Conforme Bradford (1986), para se obter condições favoráveis ao condicionamento osmótico é importante verificar a temperatura, a concentração da solução (potencial osmótico), o período de duração do tratamento, a intensidade de luz, a densidade de gases envolvidos, o método e o período de secagem após o tratamento, e outros fatores que podem influenciar a extensão do condicionamento osmótico. Para esse autor, tais fatores variam amplamente em função das características das sementes de diferentes espécies e cultivares e, possivelmente, entre lotes de uma dada cultivar, bem como em função dos processos fisiológicos e bioquímicos envolvidos.



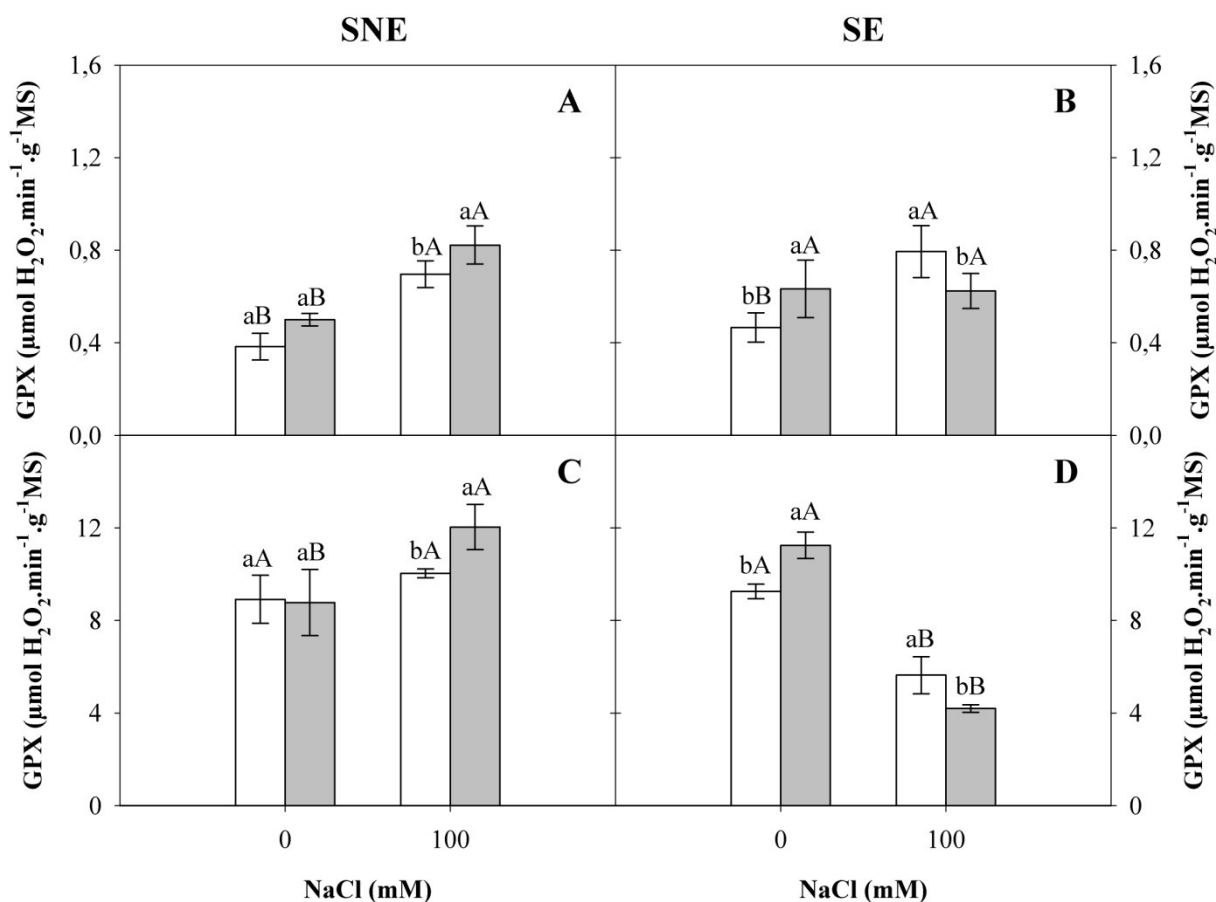
**Figura 15.** Atividade da peroxidase do ascorbato (APX) na parte aérea (A e B) e raízes (C e D) de plântulas oriundas de dois sublotes de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas (SNE) e envelhecidas (SE) artificialmente e submetidas (■) ou não (□) ao condicionamento osmótico, sob diferentes níveis de salinidade. Colunas de cores distintas com letras minúsculas iguais, para plântulas sob o mesmo nível de NaCl, ou colunas de mesma cor com letras maiúsculas iguais, para plântulas sob diferentes níveis de NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras verticais representam o erro padrão da média.

A APX, que da mesma forma que a CAT, é considerada uma das principais enzimas envolvidas na tolerância contra danos oxidativos em plantas submetidas a estresses ambientais (MITTLER, 2002), comportou-se diferentemente desta última, de modo que o condicionamento osmótico de sementes de sorgo não exerceu influência significativa na atividade da APX nas diferentes partes das plântulas submetidas à salinidade. O balanço entre as atividades da SOD e da APX e/ou CAT é considerado de grande importância para o controle dos níveis celulares do radical superóxido e do peróxido de hidrogênio (MITTLER, 2002). Assim, no presente experimento, as maiores atividades da CAT e a ausência de resposta na atividade da APX em função da salinidade podem estar relacionadas com o fato de a APX ter maior afinidade pelo peróxido de hidrogênio que a CAT, o que levou Mittler (2002) a sugerir que ela deva ser responsável por uma modulação fina na sinalização contra espécies reativas de oxigênio, enquanto a CAT estaria envolvida na remoção de seu excesso durante o estresse oxidativo. Nesse contexto, diante do aumento da atividade da CAT



observado neste trabalho, sugere-se que o estresse oxidativo pode ter sido severo o bastante para induzir aumento significativo na atividade desta enzima. Os resultados aqui encontrados indicam, portanto, que a APX não deve ter exercido um papel relevante na proteção contra danos oxidativos e que sua atividade não foi estimulada pelo nível de estresse sofrido pelas plantas.

O *priming* com PEG-6000 promoveu incrementos na atividade da GPX em plântulas provenientes de sementes envelhecidas, cultivadas na ausência de NaCl (Figura 16 B e 16C), e naquelas oriundas de sementes de maior vigor que foram sujeitas à salinidade (Figura 16A e 16D). Estes resultados revelam que o aumento da atividade da GPX,



**Figura 16.** Atividade da peroxidase do guaiacol (GPX) na parte aérea (A e B) e raízes (C e D) de plântulas oriundas de dois sublotes de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, não envelhecidas (SNE) e envelhecidas (SE) artificialmente e submetidas (■) ou não (□) ao condicionamento osmótico, sob diferentes níveis de salinidade. Colunas de cores distintas com letras minúsculas iguais, para plântulas sob o mesmo nível de NaCl, ou colunas de mesma cor com letras maiúsculas iguais, para plântulas sob diferentes níveis de NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras verticais representam o erro padrão da média.

possivelmente, está relacionado com a atenuação dos danos de peroxidação de lipídios de membrana causados pelo envelhecimento artificial das sementes e pelo estresse salino nas

plântulas, fato confirmado pela manutenção de níveis de MDA semelhantes em plântulas osmocondicionadas sujeitas ou não à salinidade e oriundas de sementes que passaram ou não pelo procedimento de envelhecimento precoce (Figura 12). Resultados concordantes com estes foram obtidos por Tilden e West (1985), os quais constataram que os efeitos nocivos provocados pelo envelhecimento acelerado foram revertidos pela embebição lenta durante o condicionamento osmótico das sementes de soja. Segundo eles, o *priming* reduziu os valores do teste de condutividade elétrica das sementes e aumentou a porcentagem de germinação daquelas de baixo vigor, sugerindo que o mecanismo de reversão foi, provavelmente, metabólico. Este aparente “rejuvenescimento” das sementes foi aceito pelos autores como sendo evidência para o processo de reparação metabólica de alguns componentes subcelulares bem como da membrana plasmática.

Em sementes de qualidade superior não foi observado efeito significativo do condicionamento sobre a atividade da APX em plântulas crescendo na ausência de NaCl (Figura 16A e 16C). Em contrapartida, naquelas de menor qualidade (envelhecidas), submetidas a 100 mM desse sal, observou-se uma redução nessa atividade enzimática em resposta ao tratamento do *priming* de sementes (Figura 16B e 16D). Diante da redução na atividade enzimática da APX nesses tratamentos pode-se inferir que a interação entre diferentes fatores (envelhecimento, condicionamento e salinidade) talvez tenha afetado negativamente a produção dessa proteína. Dados que concordam com os resultados nesse experimento foram relacionados por Brandão Júnior (1996), que trabalhando com sementes de milho observou que com o envelhecimento há um declínio na atividade de enzimas que removem os peróxidos, contribuindo com o processo de deterioração das mesmas. Fanti e Perez (2003), de modo similar, registraram efeitos negativos do osmocondicionamento em sementes envelhecidas de paineira (*Chorisia speciosa*) quando as mesmas foram postas para germinar sob condições de estresse hídrico.

A GPX tem sido relatada como outra importante peroxidase envolvida na proteção contra os danos oxidativos (LIN; KAO, 2002). Vários trabalhos têm demonstrado ocorrer aumento na atividade da GPX em resposta ao estresse salino de longa duração (AZEVEDO NETO *et al.*, 2006; CAVALCANTI *et al.*, 2007). Essa enzima, juntamente com a CAT, deve ter tido papel importante na proteção das plântulas contra os danos oxidativos causados pelo envelhecimento acelerado das sementes e pela salinidade na solução de cultivo das plântulas, fato comprovado, respectivamente, nas oriundas de sementes envelhecidas e cultivadas sob ausência de salinidade e naquelas de sementes não envelhecidas e mantidas sob estresse.

#### 4. CONCLUSÕES

O condicionamento osmótico das sementes de melhor qualidade promoveu o aumento da sobrevivência das plântulas sob condições de alta salinidade (200 mM de NaCl), mas quando essa técnica foi aplicada em sementes envelhecidas ocorreu redução na sobrevivência de plântulas cultivadas na presença de NaCl a 100 e 200 mM.

Em sementes de mais baixa qualidade fisiológica o osmocondicionamento com PEG-6000 proporcionou atenuação dos efeitos negativos da salinidade (NaCl a 100 mM) sobre o desenvolvimento das plântulas.

Não foi possível avaliar se o acúmulo de íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  na parte aérea ocorreu em função de um desequilíbrio nutricional consequente do estresse ou de um ajuste osmótico da planta com o intuito de reduzir o estresse osmótico.

Dentre os solutos orgânicos avaliados, a prolina foi a que mais contribuiu para a osmorregulação das folhas em condições de salinidade, sendo seus teores aumentados em função do *priming* das sementes.

As enzimas catalase e peroxidase do guaiacol atuaram na proteção das plântulas contra os danos oxidativos causados pelo envelhecimento acelerado das sementes e pela salinidade na solução de cultivo das plântulas.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALI, G.; SRIVASTAVA, P. S.; IQBAL, M. Proline accumulation, protein pattern and photosynthesis in regenerants grow under NaCl stress. **Biologia Plantarum**, Praga, v. 42, p. 89-95, 1999.

ALSCHER, R. G.; ERTURK, N.; HEATH, L. S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. **Journal of Experimental Botany**, v.53, n.372, p.1331-1341. 2002.

AQUINO, A. J. S.; LACERDA, C. F.; BEZERRA, M. A.; GOMES-FILHO, E. G.; COSTA, R. N. T. Crescimento, partição de matéria seca e retenção de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  E  $\text{Cl}^-$  em dois genótipos de sorgo irrigados com águas salinas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.

31, p. 961-971, 2007.

ASHRAF, M. Organic substances responsible for salt tolerance in *Eruca sativa*. **Biologia Plantarum**, Praga, v. 36, p. 255-259. 1994.

ASHRAF, M.; HARRIS, P.J.C. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. **Plant Science**, London, v. 166, p. 3-16, 2004.

AZEVEDO NETO, A. D.; PRISCO, J. T.; ENÉAS-FILHO, J.; LACERDA, C. F.; SILVA, J. V.; COSTA, P. H. A.; GOMES-FILHO, E. Effects of salt stress on plant growth, stomatal response and solute accumulation of different maize genotypes. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Lancaster, v. 16, p. 31-38, 2004.

AZEVEDO NETO, A. D.; PRISCO, J. T.; ENÉAS FILHO, J.; ABREU, C. E. B.; GOMES-FILHO, E. Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. **Environmental and Experimental Botany**, Paris, v.56, p.87-94. 2006.

BANZATTO, D.A.; KRONKA, S.N. **Experimentação agrícola**. 4.ed. Jaboticabal: UNESP, 2006. 237p.

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

BEERS JR, R. F.; SIZER, I. W. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. **Journal of Biological Chemistry**, v.195, n.133-140. 1952.

BOR, M.; ÖZDEMİR, F.; TÜRKAN, I. The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritima* L. **Plant Science**, London, v.164, p.77-84. 2003.

BRACCINI, A. L.; REIS, M. S.; MOREIRA, M. A.; SCAPIM, C. A. Avaliação das alterações bioquímicas em sementes de soja durante o condicionamento osmótico. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 19, n. 1, p. 116-125, 1997.

BRACCINI, A. L.; REIS, M. S.; MOREIRA, M. A.; SEDIYAMA, C. S.; SCAPIM, C. A. Biochemical changes associated to soybean seeds osmoconditioning during storage. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 2, p. 433-477, 2000.

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

BRADFORD, K. J. Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditions. **HortScience**, Alexandria, v. 21, n. 5, p. 1105-1112, 1986.

BRADFORD, K. J. Water relations in seed germination. In: KIGEL, J.; GALILI, G. (ed.). **Seed development and germination**. New York: Marcel Dekker Inc., 1995. p.351-396.

BRANDÃO JÚNIOR, D. S. **Eletroforese de proteína e isoenzima na avaliação da qualidade de sementes de milho**. 1996. 110 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1996.

BUJALSKI, W.; NIENOW, A.W. Large-scale osmotic priming of onion seeds: a comparison of different strategies for oxygenation. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.46, n.1/2, p.13-24, 1991.

CATALDO, D. A.; HAROON, M.; SCHRADER, L. E.; YOUNGS, V. L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 6, p. 71-80, 1975.

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

CHEN, T. H. H.; MURATA, N. Enhancement of tolerance of abiotic stress by metabolic engineering of betaines and other compatible solutes. **Current Opinion in Plant Biology**. v.5, p. 250-257, 2002.

CHIU, K. Y.; CHUANG, S. J.; SUNG, J. M. Both anti-oxidation and lipid-carbohydrate conversion enhancements are involved in priming-improved emergence of *Echinacea purpurea* seeds that differ in size. **Scientia Horticulturae**, v. 108, p. 220–226, 2006.

COSTA, C. J.; VILLELA, F. A. Condicionamento osmótico de sementes de beterraba. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 28, n. 1, p. 21-29, 2006.

COSTA, P. H. A.; SILVA, J. V.; BEZERRA, M. A.; ENÉAS FILHO, J.; PRISCO, J. T.; GOMES-FILHO, E. Crescimento e níveis de solutos orgânicos e inorgânicos em cultivares de

*Vigna unguiculata* submetidos à salinidade. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, n. 3, p. 289-297. 2003.

DEMIRAL, T.; TÜRKAN, I. Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. **Environmental and Experimental Botany**, Paris, v. 53, p. 247-257, 2005.

DIONISIO-SESE, M. L.; TOBITA, S. Antioxidant resposets of rice seedlings to salinity stress. **Plant Science**, London, v. 135, p. 1-9, 1998.

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

ERDEI, L.; TALEISNIK, E. Changes in water relation parameters under osmotic and salt stresses in maize and sorghum. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 89, p. 381-387, 1993.

FANTI, S. C.; PEREZ, S. C. J. G. A. Efeito do estresse hídrico e envelhecimento precoce na viabilidade de sementes osmocondicionadas de paineira (*Chorisia speciosa*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília v. 38, n. 4, 2003.

FEIJÃO, A. R. **Crescimento, trocas gasosas, partição de íons e metabolismo do nitrogênio em plantas de milho submetidas à salinidade e diferentes fontes de N**. 2009. 111 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.

FERREIRA, R. G.; TÁVORA, F. J. A. F.; FERREYRA, F. F. Distribuição da matéria seca e composição química das raízes, caule e folhas de goiabeira submetida a estresse salino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, p. 79-88, 2001.

FLOWERS, T.J. Improving crop salt tolerance. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v.55, n.396, p.307-319, 2004.

FOTI, S.; COSENTINO, S.L.; PATANÈ, C.; D'AGOSTA, G. Effect of osmoconditioning upon seed germination of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) under low temperatures. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.30, n.3, p.521–533, oct. 2002.

FOYER, C. H.; NOCTOR, G. Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 119,

p. 355-364, 2003.

FUJIKURA, Y.; KARSSSEN, C.M. Effects of controlled deterioration and osmopriming on protein synthesis of cauliflower seeds during early germination. **Seed Science Research**, New York, v. 2, n.1, p.23-31, 1992.

GAINES, T. P.; PARKER, M. B.; GASCHO, G. J. Automated determination of chlorides in soil and plant tissue by sodium nitrate. **Agronomy Journal**, v.76, p.371-374. 1984.

GARCIA, F.C.; JIMENÉZ, L.F.; VÁZQUEZ-RAMOS, J.M. Biochemical and cytological studies on osmoprimed maize seeds. **Seed Science Research**, New York, v. 5, n.1, n.1, p. 15-23, 1995.

GARG, A. K.; KIM, J. -K.; OWENS, T. G.; RANWALA, A. P.; CHOI, Y. D.; KOCHIAN, L. V.; WU, R. J. Trehalose accumulation in rice plants confers high tolerance to different abiotic stresses. **PNAS**, v. 99, p. 15898-15903, 2002.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases. I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, Lancaster, v.59, p.309-314. 1977.

GILBERT, G. A.; GADUSH, M. V.; WILSON, C.; MADORE, M. A. Amino acid accumulation in sink and source tissues of *Coleus blumei* Benth. during salinity stress. **Journal of Experimental Botany**, v.49, n.318, p.107-114. 1998.

GOEL, A.; GOEL, A.K.; SHEORAN, I.S. Changes in oxidative stress enzymes during artificial ageing in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) seeds. **Journal of Plant Physiology**, v.160, p.1093-1100, 2003.

HALPIN-INGHAM, B.; SUNDSTROM, F. J. Pepper seed water content, germination response and respiration following priming treatments. **Seed Science and Tecnology**, Zurich, v. 20, n. 3, p. 589-596, 1992.

HANSON, A.; HITZ, W. Metabolic responses of mesophytes to plant water deficits. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.33, p.163-203. 1982.

HASEGAWA, P. M.; BRESSAN, R. A.; ZHU, J. K.; BOHNERT, H. J. Plant cellular and molecular responses to high salinity. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 51, p. 463-499, 2000.

HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.125, p.189-198. 1968.

HSU, C.C.; CHEN, C.L.; CHEN, J.J.; SUNG, J.M. Accelerated aging enhanced lipid peroxidation in bitter melon seeds and effects of priming and hot water soaking treatments. **Scientiae Horticulturae**, v.98, n.3, p.201–212, 2003.

JELLER, H. Pré-condicionamento em sementes de *Cassia excelsa* Schrad. 2002. 81 f. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2002.

JENG, T. L.; SUNG, J. M. Hydration effect on lipid peroxidation and peroxide scavenging enzyme activity of artificially aged peanut seed. **Seed Science and Technology**, v. 22, p. 531-539, 1994.

KEREPESI, I.; GALIBA, G. Osmotic and stress-induced alteration in soluble carbohydrate content in wheat seedlings. **Crop Science**, v. 40, p. 482-487, 2000.

KHAN, A. A. Preplant physiological seed conditioning. **Horticultural Review**, Edinburgh, v. 13, p. 131-181, 1992.

KHAN, M. H.; SINGHA, K. L. B.; PANDA, S. K. Changes in antioxidant levels in *Oryza sativa* L. roots subjected to NaCl-salinity stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.24, n.2, p.145-148. 2002.

LACERDA, C. F., CAMBRAIA, J., CANO, M. A. O.; RUIZ, H. A. Plant growth and solute accumulation and distribution in two Sorghum genotypes, under NaCl stress. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v.13, n.3, p.270-284, 2001.

LACERDA, C. F.; CAMBRAIA, J.; CANO, M. A. O.; RUIZ, H. A.; PRISCO, J. T. Solute accumulation and distribution during shoot and leaf development in two sorghum genotypes under salt stress. **Environmental and Experimental Botany**, Paris, v.47, n.2, p.107-120, 2003.

LACERDA, C.F.; CAMBRAIA, J.; OLIVA, M.A.; RUIZ, H.A. Changes in growth and in solute concentration in sorghum leaves and roots during salt stress recovery. **Environmental and Experimental Botany**, Paris, v. 54, p. 69-76, 2005.



LANTERI, S.; QUAGLIOTTI, L.; BELLETTI, P. Delayed luminescence and priming-induced nuclear replication of unaged and controlled deteriorated pepper seeds (*Capsicum annuum* L.). **Seed Science and Tecnology**, Zürich, v. 26, n. 1, p. 413-424, 1998.

LIANG, Y.; CHEN, Q.; LIU, Q.; ZHANG, W.; DING, R. Exogenous silicon (Si) increases antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in roots of salt-stressed barley (*Hordeum vulgare* L.). **Journal of Plant Physiology**, v.160, n.10, p.1157-1164. 2003.

LIN, C. C.; KAO, C. H. Osmotic stress-induced changes in cell wall peroxidases activity and hydrogen peroxide level in roots of rice seedlings. **Plant Growth Regulation**, v.37, p.177-183. 2002.

LOGGINI, B.; SCACARTZZA, E.; BRUGNOLI, F.; NAVARRI, IZZO, F. Antioxidative defense system, pigment composition, and photosynthetic efficiency in two wheat cultivars subject to drought. **Plant Physiology**, v. 119, p. 1091-1100, 1999.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato. 1989.

MANSOUR, M. M. F. Nitrogen containing compounds and adaptation of plants to salinity stress. **Biologia Plantarum**, Praga, v. 43, p. 491-500, 2000.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2a ed. London: Academic Press, 1995. 889 p.

MARCELIS, L. F. M.; VAN HOOIJDONK, J. Effect of salinity on growth, water use and nutrient use in radish (*Raphanus sativus* L.). **Plant and Soil**, v. 215, p. 57-64, 1999.

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

McDONALD, M. B. **Seed priming**. IN: M. BLACK, J.D. BEWLEY (Eds.), *Seed Technology and its Biological Basis*, Sheffield Academic Press, Sheffield, UK, 1999, p. 287-325.

MCKERSIE, B. D.; LESHEM, Y. Y. **Stress and Stress Coping in Cultivated Plants**. Londres: Kluwer Academic Publishes. 1994.

MELONI, D. A.; GULOTTA, M. R.; OLIVA, M. A. The effects of salt stress on growth, nitrate reduction and proline and glycinebetaine accumulation in *Prosopis alba*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 16, p. 39-46, 2004.

MICHEL, B.E.; KAUFMANN, M.R. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. **Plant Physiology**, Lancaster, v.51, n.6, p.914-916, 1973.

MIRANDA, D.M.; NOVENBRE, A.D.L.C.; CHAMMA, H.M.C.P. Avaliação do potencial fisiológico de sementes de sorgo pelo teste de envelhecimento acelerado. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.23, n.1, p.226-231, 2001.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v.7, n.9, p.405-410. 2002.

MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant, Cell and Environment**, v. 25, p. 239-250, 2002.

MUNNS, R. Genes and salt tolerance: bringing them together. **New Phytologist**, v. 167, p. 645-663, 2005.

MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, v.59, p.651-681, 2008.

MYLONA, P.V.; POLIDOROS, A.N.; SCANDALIOS, J.G. Antioxidant gene responses to ROS-generating xenobiotics in developing and germinated scutella of maize. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, p. 1301–1312, 2007.

NAGLREITER, C.; REICHENAUER, T. G.; GOODMAN, B. A.; BOLHÀR-NORDENKAMPF, H. R. Free radical generation in *Pinus sylvestris* and *Larix decidua* seeds primed with polyethylene glycol or potassium salt solutions. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 43, p. 117–123, 2005.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidases in spinach chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, v.22, p.887-880. 1981.

OLIVEIRA, A. B.; GOMES-FILHO, E. Germinação e vigor de sementes de sorgo forrageiro sob estresse hídrico e salino. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 31, n. 3, p. 48-56, 2009.

PARANYCHIANAKIS, N. V.; CHARTZOULAKIS, K. S. Irrigation of mediterranean crops with saline water: from physiology to management practices. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 106, p. 171-187, 2005.

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

PARIDA, A. K.; DAS, A. B.; MITTRA, B. Effects of salt on growth, ion accumulation photosynthesis and leaf anatomy of the mangrove, *Bruguiera parviflora*. **Trees-Structure and Function**, v. 18, p.167-174, 2004.

PATANÈ, C.; CAVALLARO, V.; COSENTINO, S. L. Germination and radicle growth in unprimed and primed seeds of sweet sorghum as affected by reduced water potential in NaCl at different temperatures. **Industrial Crops and Products**, Whashington DC, v. 30, n. 1, p. 1-8, 2009.

PEI, Z.-M.; MURATA, Y.; BENNING, G.; THOMINE, S.; KLÜSENER, B.; ALLEN, G. J.; GRILL, E.; SCHROEDER, J. I. Calcium channels activated by hydrogen peroxide mediate abscisic acid signalling in guard cells. **Nature**, v. 406, p. 731-734, 2000.

PEREIRA, M.D.; DIAS, D.C.F.S.; DIAS, L.A.S.; ARAÚJO, E.F. Primed carrot seeds performance under water and temperature stress. **Scientia Agricola**, v.66, n.2, p.174-179, 2009.

PILL, W. G.; FRETT, J. J.; MORNEAU, D. C. Germination and seedling emergence of primed tomato and asparagus seeds under adverse conditions. **HortScience**, Alexandria, v. 26, p. 1160-1162, 1991.

PINHEIRO, H. A.; DAMATTA, F. M.; CHAVES, A. R. M.; FONTES, E. P. B.; LOUREIRO, M. E. Drought tolerance in relation to protection against oxidative stress in clones of *Coffea canephora* subjected to long-term drought. **Plant Science**, London, v.167, p.1307-1314. 2004.

PLEWA, M. J.; SMITH, S. R.; WAGNER, E. D. Diethyldithiocarbamate suppresses the plant activation of aromatic amines into mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase. **Mutation Research**, v.247, p.57-64. 1991.

PRAXEDES, S. C. **Alterações fisiológicas e bioquímicas em dois cultivares de feijão-de-corda com tolerância diferencial à salinidade**. 2008. 145 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia). - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.

RUDRAPAL, D.; NAKAMURA, S. The effect of hydration–dehydration pretreatments on eggplant and radish seed viability and vigour. **Seed Science and Technology**, v. 16, p. 123-130, 1988.

SAIRAM, R. K.; SRIVASTAVA, G. C. Changes in antioxidant activity in sub-cellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long-term salt stress. **Plant Science**, London, v.162, p.897-904, 2002.

SAIRAM, R. K.; RAO, K. V.; SRIVASTAVA, G. C. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. **Plant Science**, London, v. 163, p. 1037-1046, 2002.

SERRAJ, R.; SINCLAIR, T. R. Osmolyte accumulation: can it really help increase crop under drought conditions? **Plant Cell Environment**, Oxford, v.25, p.333-341, 2002.

SHALATA, A.; MITTOVA, V.; VOLOKITA, M.; GUY, M.; TAL, M. Response of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii* to salt-dependent oxidative stress: the root antioxidative system. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.112, p.487-494. 2001.

SILVA, J. V. **Efeitos do CaCl<sub>2</sub> no crescimento e acumulação de osmorreguladores em plantas de feijão-de-corda cv. Pitiúba estressadas com NaCl**. 1998. 103 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1998.

SILVA, D.; PRUSKI, F. F. **Recursos hídricos e desenvolvimento sustentável da agricultura**. Brasília: MMA/SBH/ABEAS, 1997. 252 p.

SILVA J. V.; LACERDA, C. F.; AZEVEDO-NETO, A. D.; COSTA, P. H. A.; PRISCO, J. T.; ENÉAS FILHO, J.; GOMES-FILHO, E. Crescimento e osmoregulação em dois genótipos de sorgo forrageiro submetidos a estresse salino. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 33, n. 2, p. 125-131, 2003.

SILVA, E. N.; SILVEIRA, J. A. G.; RODRIGUES, C. R. F.; LIMA, C. S.; VIÉGAS, R. A. Contribuição de solutos orgânicos e inorgânicos no ajustamento osmótico de pinão-mansão submetido à salinidade. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 5, p. 437-445, 2009.

SILVEIRA, J. A. G.; VIÉGAS, R. A.; ROCHA, I. M. A.; MOREIRA, A. C. O. M.; MOREIRA, R. OLIVEIRA, J. T. A. Proline accumulation and glutamine synthetase activity

are increased by salt-induced proteolysis in cashew leaves. **Journal of Plant Physiology**, v. 160, p. 115-123, 2003.

SIVRITEPE, N.; SIVRITEPE, H. O.; ERIS, A. The effects of NaCl priming on salt tolerance in melon seedlings grown under saline conditions. **Scientia Horticulturae**, v. 97, p. 229-237, 2003.

SMITH, P. T.; COOB, B. G. Physiological and enzymatic characteristics of primed, re-dried, and germinated pepper seeds (*Capsicum annuum* L.). **Seed Science and Technology**, Zürich. v. 20, n. 6, p. 503-513. 1992.

SINGH, L. S. Study on compatible solutes under sodium chloride stress in some wheat genotypes. **Annals of Biology**, v.22, n.2, p.131-136. 2006.

SONG, F. N.; YANG, C. P.; LIU, X. M.; LI, G. B. Effect of salt stress on superoxide dismutase activity of *Tamarix chinensis*. **Journal of Northeast Forestry University**, v.34, n.3, p.54-56. 2006.

TABOSA, J. N.; COLAÇO, W.; REIS, O. V.; SIMPLÍCIO, J. B.; CARVALHO, H. W. L.; DIAS, F. M. Sorghum genotypes evaluation under salinity levels and gamma ray. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.6, n.3, p.339-350, 2007.

TABOSA, J. N.; REIS, O. V.; BRITO, A. R. M. B.; MONTEIRO, M. C. D.; SIMPLÍCIO, J. B.; OLIVEIRA, J. A. C.; SILVA, F. G.; AZEVEDO NETO, A. D.; DIAS, F. M.; LIRA, M. A.; TAVARES FILHO, J. J.; NASCIMENTO, M. M. A.; LIMA, L. E.; CARVALHO, H. W. L.; OLIVEIRA, L. R. Comportamento de cultivares de sorgo forrageiro em diferentes ambientes agroecológicos dos Estados de Pernambuco e Alagoas. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.1, n.2., p.47-58, 2002.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**, 3 ed. Porto Alegre: Artmed. 2004. 719 p.

TESTER M.; DAVENPORT R. Na<sup>+</sup> tolerance and Na<sup>+</sup> transport in higher plants. **Annals of Botany**, London, v. 91, p. 503-527, 2003.

TRIGO, M.F.O.O.; NEDEL, J.L.; TRIGO, L.F.N. Alterações isoenzimáticas em sementes de cebola sob condicionamento osmótico. **Revista Científica Rural**, Bagé, v. 5, n. 1, p. 170-183, 2000.

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

URBANEK, H.; KUZNIAK-GEBAROWSKA, E.; HERKA, K. Elicitation of defense responses in bean leaves by *Botrytis cinerea* polygalacturonase. **Acta Physiologica Plantarum**, v.13, p.43-50. 1991.

VAIDYANATHAN, H.; SIVAKUMAR, P.; CHAKRABARTY, R.; THOMAS, G. Scavenging of reactive oxygen species in NaCl-stressed rice (*Oryza sativa* L.) — differential response in salt-tolerant and sensitive varieties. **Plant Science**, London, v. 165, p. 1411-1418, 2003.

VON PINHO, R. G.; VASCONCELOS, R. C.; BORGES, I. D.; RESENDE, A. V. Influência da altura de corte das plantas nas características agronômicas e valor nutritivo das silagens de milho e de diferentes tipos de sorgo. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.5, n.2, p.266-279, 2006.

WARREN, J. E.; BENNETT, M. A. Seed hydration using the drum priming system. **HortScience**, Alexandria, v. 32, n. 7, p. 1220-1221, 1997.

WELBAUM, G.E.; SHEN, Z.; OLUOCH, M.O.; JETT, L. The evolution and effects of priming vegetable seeds. **Seed Technology**, Lansing, v. 20, n. 2, p.209-235, 1998.

WHITE, P.J.; BROADLEY, M.R. Chloride in soils and its uptake and movement within the plant: a review. **Annals of Botany**, London, v.88, p. 967-988, 2001.

YEMM, E. W.; COCKING, E. C. The determination of aminoacids with ninhidrin. **Analyst**, v.80, p.209-213. 1955.

ZHU, J. K. Salt and drought stress signal transduction in plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 53, p. 247-273, 2002.

## 5. CONCLUSÕES GERAIS

Os genótipos de sorgo apresentam tolerância diferencial aos estresses osmóticos provocados pelo PEG-6000 e pelo NaCl, sendo que a sensibilidade aos mesmos varia em função do estágio de desenvolvimento da planta.

O envelhecimento artificial e o estresse salino promovem efeitos prejudiciais à germinação, vigor e estabelecimento de plântulas de sorgo, os quais podem ser parcialmente atenuados com a técnica do condicionamento osmótico de sementes.

O estresse salino provoca reduções significativas na qualidade fisiológica das sementes e no crescimento inicial das plântulas de sorgo, provocando algumas alterações citoquímicas nas sementes e várias alterações fisiológicas e bioquímicas em plântulas sob cultivo hidropônico.

**ANEXOS**



## CAPÍTULO I

Tabela 1 – Valores sumarizados da análise de variância para primeira contagem (PCG), teste (TG), índice de velocidade (IVG) e tempo médio (TMG) de germinação de sementes de dois genótipos de sorgo (CSF 18 e CSF 20) sob diferentes níveis de estresse hídrico.

| Fontes de variação    | G. L. | Quadrados médios       |                      |                      |                     |
|-----------------------|-------|------------------------|----------------------|----------------------|---------------------|
|                       |       | PCG                    | TG                   | IVG                  | TMG                 |
| Genótipo (G)          | 1     | 1830,125**             | 544,5**              | 1811,6**             | 16,46**             |
| Estresse hídrico (EH) | 3     | 6754,125 <sup>ns</sup> | 6239,5 <sup>ns</sup> | 1744,8 <sup>ns</sup> | 15,23 <sup>ns</sup> |
| G x EH                | 3     | 755,458**              | 241,5**              | 191,53**             | 2,05**              |
| Resíduo               | 24    | 45,04                  | 9,67                 | 5,29                 | 0,034               |
| Total                 | 31    | CV = 8,72              | CV = 3,63            | CV = 9,21            | CV = 6,60           |

\*\*, <sup>ns</sup> - significativo a 1% de probabilidade e não significativo pelo teste F, respectivamente. <sup>ns</sup> - tratamentos quantitativos (o teste F não se aplica). CV - coeficiente de variação em porcentagem.

Tabela 2 – Valores sumarizados da análise de variância para primeira contagem (PCG), teste (TG), índice de velocidade (IVG) e tempo médio (TMG) de germinação de sementes de dois genótipos de sorgo (CSF 18 e CSF 20) sob diferentes níveis de estresse salino.

| Fontes de variação | G. L. | Quadrados médios       |                        |                       |                    |
|--------------------|-------|------------------------|------------------------|-----------------------|--------------------|
|                    |       | PCG                    | TG                     | IVG                   | TMG                |
| Genótipo (G)       | 1     | 171,13 <sup>ns</sup>   | 91,13 <sup>ns</sup>    | 616,51**              | 1,08*              |
| Salinidade (S)     | 3     | 11681,79 <sup>ns</sup> | 10365,13 <sup>ns</sup> | 2183,41 <sup>ns</sup> | 3,98 <sup>ns</sup> |
| G x S              | 3     | 328,13**               | 213,46*                | 78,29**               | 0,34 <sup>ns</sup> |
| Resíduo            | 24    | 65,13                  | 47,04                  | 13,26                 | 0,15               |
| Total              | 31    | CV = 10,63             | CV = 8,80              | CV = 12,31            | CV = 20,91         |

\*\*, <sup>ns</sup> - significativo a 1% de probabilidade e não significativo pelo teste F, respectivamente. <sup>ns</sup> - tratamentos quantitativos (o teste F não se aplica). CV - coeficiente de variação em porcentagem.

## CAPÍTULO II

Tabela 1 – Valores sumarizados da análise de variância para primeira contagem (PCG), teste (TG), índice de velocidade (IVG) e tempo médio (TMG) de germinação de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, em função do envelhecimento artificial e condicionamento osmótico das sementes.

| Fontes de variação  | G. L. | Quadrados médios    |                     |                    |                    |
|---------------------|-------|---------------------|---------------------|--------------------|--------------------|
|                     |       | PCG                 | TG                  | IVG                | TMG                |
| Envelhecimento (E)  | 1     | 2756,25**           | 1980,25**           | 37,98**            | 0,69 <sup>ns</sup> |
| Condicionamento (C) | 1     | 6,25 <sup>ns</sup>  | 0,25 <sup>ns</sup>  | 0,03 <sup>ns</sup> | 0,17 <sup>ns</sup> |
| E x C               | 1     | 30,25 <sup>ns</sup> | 20,25 <sup>ns</sup> | 0,41 <sup>ns</sup> | 0,04 <sup>ns</sup> |
| Resíduo             | 12    | 60,25               | 57,92               | 0,83               | 0,16               |
| Total               | 15    | CV = 10,76          | CV = 9,87           | CV = 9,86          | CV = 9,07          |

\*\* , <sup>ns</sup> - significativo a 1% de probabilidade e não significativo pelo teste F, respectivamente. CV - coeficiente de variação em porcentagem.

Tabela 2 – Valores sumarizados da análise de variância para os testes de envelhecimento acelerado (TEA), de frio (TF), de condutividade elétrica (TCE) e de lixiviação de potássio (TLK) de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, em função do envelhecimento artificial e condicionamento osmótico das sementes.

| Fontes de variação  | G. L. | Quadrados médios  |                   |                     |                    |
|---------------------|-------|-------------------|-------------------|---------------------|--------------------|
|                     |       | TEA               | TF                | TCE                 | TLK                |
| Envelhecimento (E)  | 1     | 1681**            | 1521**            | 390,06**            | 45,56**            |
| Condicionamento (C) | 1     | 196 <sup>ns</sup> | 121 <sup>ns</sup> | 2185,56**           | 22,56**            |
| E x C               | 1     | 529*              | 400*              | 27,56 <sup>ns</sup> | 5,06 <sup>ns</sup> |
| Resíduo             | 12    | 106,84            | 61,5              | 32,77               | 2,31               |
| Total               | 15    | CV = 23,49        | CV = 12,16        | CV = 14,75          | CV = 10,09         |

\*\* , \* e <sup>ns</sup> - significativo a 1% e 5% de probabilidade e não significativo pelo teste F, respectivamente. CV - coeficiente de variação em porcentagem.

## CAPÍTULO III

Tabela 1 – Valores sumarizados da análise de variância para o estande inicial (EI), estande final (EF), índice de velocidade (IVE) e tempo médio (TME) de emergência de plântulas oriundas de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, em função do envelhecimento artificial e condicionamento osmótico das sementes.

| Fontes de variação  | G. L. | Quadrados médios   |                 |                      |                      |
|---------------------|-------|--------------------|-----------------|----------------------|----------------------|
|                     |       | EI                 | EF              | IVE                  | TME                  |
| Envelhecimento (E)  | 1     | 210,25**           | 961**           | 4,71**               | 0,0061 <sup>ns</sup> |
| Condicionamento (C) | 1     | 0,25 <sup>ns</sup> | 1 <sup>ns</sup> | 0,0017 <sup>ns</sup> | 0,0027 <sup>ns</sup> |
| E x C               | 1     | 56,25*             | 225*            | 1,1439 <sup>ns</sup> | 0,0001 <sup>ns</sup> |
| Resíduo             | 12    | 10,92              | 51              | 0,2547               | 0,0029               |
| Total               | 15    | CV = 9,75          | CV = 10,31      | CV = 10,25           | CV = 0,76            |

\*\*,\* e <sup>ns</sup>- significativo a 1% e 5% de probabilidade e não significativo pelo teste F, respectivamente.  
CV – coeficiente de variação em porcentagem.

Tabela 2 - Valores sumarizados da análise de variância para a massa da matéria seca da raiz (MSR), da parte aérea (MSPA) e total (MST) e razão entre massa seca da parte aérea e raiz (MSPA/MSR) de plântulas oriundas de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, em função do envelhecimento artificial e condicionamento osmótico das sementes.

| Fontes de variação  | G. L. | Quadrados médios |                 |                       |                       |
|---------------------|-------|------------------|-----------------|-----------------------|-----------------------|
|                     |       | MSR              | MSPA            | MST                   | MSPA/MSR              |
| Envelhecimento (E)  | 1     | 0 <sup>ns</sup>  | 0,00001*        | 0,00001 <sup>ns</sup> | 0,0417 <sup>ns</sup>  |
| Condicionamento (C) | 1     | 0 <sup>ns</sup>  | 0 <sup>ns</sup> | 0 <sup>ns</sup>       | 0,02751 <sup>ns</sup> |
| E x C               | 1     | 0,00001*         | 0 <sup>ns</sup> | 0,00003*              | 0,01591 <sup>ns</sup> |
| Resíduo             | 12    | 0                | 0               | 0                     | 0,02575               |
| Total               | 15    | CV =12,29        | CV = 8,65       | CV = 8,0              | CV = 13,85            |

\*\*,\* e <sup>ns</sup>- significativo a 1% e 5% de probabilidade e não significativo pelo teste F, respectivamente.  
CV - coeficiente de variação em porcentagem.

## CAPÍTULO IV

Tabela 1 – Valores sumarizados da análise de variância para a primeira contagem (PCG), teste padrão (TG) e índice de velocidade (IVG) de germinação de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, em função do envelhecimento artificial, condicionamento osmótico e estresse salino.

| Fontes de variação  | G. L. | Quadrados médios     |                      |                     |
|---------------------|-------|----------------------|----------------------|---------------------|
|                     |       | PCG                  | G                    | IVG                 |
| Envelhecimento (E)  | 1     | 6889**               | 5076,56**            | 95,79**             |
| Condicionamento (C) | 1     | 121 <sup>ns</sup>    | 162,56 <sup>ns</sup> | 2,14 <sup>ns</sup>  |
| Salinidade (S)      | 3     | 10644 <sup>--</sup>  | 840,73 <sup>--</sup> | 83,71 <sup>--</sup> |
| E x C               | 1     | 36 <sup>ns</sup>     | 473,06**             | 2,36 <sup>ns</sup>  |
| E x S               | 3     | 78,67 <sup>ns</sup>  | 44,56 <sup>ns</sup>  | 0,99 <sup>ns</sup>  |
| C x S               | 3     | 178,67 <sup>ns</sup> | 160,23 <sup>ns</sup> | 2,65*               |
| E x C x S           | 3     | 52,33 <sup>ns</sup>  | 165,73*              | 0,93 <sup>ns</sup>  |
| Resíduo             | 48    | 66,71                | 57,89                | 0,89                |
| Total               | 63    | CV = 14,29           | CV = 10,68           | CV = 12,04          |

\*\*,\* e <sup>ns</sup> - significativo a 1% e 5% de probabilidade e não significativo pelo teste F, respectivamente.

-- tratamentos quantitativos (o teste F não se aplica). CV - coeficiente de variação em porcentagem.

Tabela 2 – Valores sumarizados da análise de variância para a comprimento da radícula (CR) e da parte aérea (CPA) e massa seca da radícula (MSR) e da parte aérea (MSPA) de plântulas provenientes de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, em função do envelhecimento artificial, condicionamento osmótico e estresse salino.

| Fontes de variação  | G. L. | Quadrados médios      |                      |                       |                       |
|---------------------|-------|-----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|
|                     |       | CR                    | CPA                  | MSR                   | MSPA                  |
| Envelhecimento (E)  | 1     | 0,0366 <sup>ns</sup>  | 1,967**              | 0,00000*              | 0,00000 <sup>ns</sup> |
| Condicionamento (C) | 1     | 0,22681 <sup>ns</sup> | 0,083 <sup>ns</sup>  | 0,00000 <sup>ns</sup> | 0,00001**             |
| Salinidade (S)      | 3     | 405,82 <sup>--</sup>  | 404,73 <sup>--</sup> | 0,00001 <sup>--</sup> | 0,00100 <sup>--</sup> |
| E x C               | 1     | 5,89*                 | 7,156**              | 0,00000 <sup>ns</sup> | 0,00000 <sup>ns</sup> |
| E x S               | 3     | 2,94 <sup>ns</sup>    | 0,356 <sup>ns</sup>  | 0,00000 <sup>ns</sup> | 0,00000 <sup>ns</sup> |
| C x S               | 3     | 1,405 <sup>ns</sup>   | 0,622 <sup>ns</sup>  | 0,00000 <sup>ns</sup> | 0,00000 <sup>ns</sup> |
| E x C x S           | 3     | 1,64 <sup>ns</sup>    | 1,199**              | 0,00000 <sup>ns</sup> | 0,00000 <sup>ns</sup> |
| Resíduo             | 48    | 1,08                  | 0,2624               | 0,00000               | 0,00000               |
| Total               | 63    | CV = 13,01            | CV = 8,59            | CV = 16,58            | CV = 8,22             |

\*\*,\* e <sup>ns</sup> - significativo a 1% e 5% de probabilidade e não significativo pelo teste F, respectivamente.

-- tratamentos quantitativos (o teste F não se aplica). CV - coeficiente de variação em porcentagem.

## CAPÍTULO VI

Tabela 1 – Valores sumarizados da análise de variância para a porcentagem de sobrevivência (PS), massa fresca da parte aérea (MFPA), das raízes (MFR) e total (MFT) e razão MFPA/MFR de plântulas oriundas de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, em função do envelhecimento artificial, condicionamento osmótico e estresse salino.

| Fontes de variação  | G. L. | Quadrados médios    |          |                      |           |                      |
|---------------------|-------|---------------------|----------|----------------------|-----------|----------------------|
|                     |       | PS                  | MFPA     | MFR                  | MFT       | MFPA/MFR             |
| Envelhecimento (E)  | 1     | 8138**              | 2,6779** | 0,2618**             | 4614416** | 10,48**              |
| Condicionamento (C) | 1     | 208,3 <sup>ns</sup> | 0,7530** | 0,0697**             | 1280848** | 2,9515*              |
| Salinidade (S)      | 2     | 843,1*              | 0,1612** | 0,0255**             | 308237**  | 0,2466 <sup>ns</sup> |
| E x C               | 1     | 117,2 <sup>ns</sup> | 0,3502** | 0,0059*              | 446912**  | 2,5592**             |
| E x S               | 2     | 315,8 <sup>ns</sup> | 0,1249** | 0,0032 <sup>ns</sup> | 156279**  | 1,6461**             |
| C x S               | 2     | 159,5 <sup>ns</sup> | 0,1001** | 0,0029 <sup>ns</sup> | 136920**  | 0,7653**             |
| E x C x S           | 2     | 361,3 <sup>ns</sup> | 0,1039** | 0,0053*              | 150801**  | 1,1795**             |
| Resíduo             | 36    | 243,4               | 0,0060   | 0,0012               | 9685,8    | 0,1209               |
| Total               | 47    | CV=18,6             | CV=20,7  | CV= 8,2              | CV= 17,3  | CV= 20,7             |

\*\*,\* e <sup>ns</sup> - significativo a 1% e 5% de probabilidade e não significativo pelo teste F, respectivamente.

-- tratamentos quantitativos (o teste F não se aplica). CV – coeficiente de variação em porcentagem.

Tabela 2 – Valores sumarizados da análise de variância para a massa seca da parte aérea (MSPA), das raízes (MSR) e total (MST) e razão MSPA/MSR de plântulas oriundas de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, em função do envelhecimento artificial, condicionamento osmótico e estresse salino.

| Fontes de variação  | G. L. | Quadrados médios |                       |            |                      |
|---------------------|-------|------------------|-----------------------|------------|----------------------|
|                     |       | MSPA             | MSR                   | MST        | MSPA/MSR             |
| Envelhecimento (E)  | 1     | 0,02661**        | 0,00024**             | 31898,93** | 51,76**              |
| Condicionamento (C) | 1     | 0,00893**        | 0,00006**             | 10412,98** | 19,69**              |
| Salinidade (S)      | 2     | 0,00158**        | 0,00007**             | 2288,38**  | 0,7958 <sup>ns</sup> |
| E x C               | 1     | 0,00426**        | 0,00003*              | 5024,83**  | 7,5429**             |
| E x S               | 2     | 0,00127**        | 0,00001 <sup>ns</sup> | 1464,02**  | 3,2215**             |
| C x S               | 2     | 0,00078**        | 0,00002 <sup>ns</sup> | 947,92**   | 1,6467*              |
| E x C x S           | 2     | 0,00067**        | 0,00001 <sup>ns</sup> | 853,07**   | 1,1363 <sup>ns</sup> |
| Resíduo             | 36    | 0,00009          | 0,00001               | 118,81     | 0,4797               |
| Total               | 47    | CV=20,99         | CV= 19,50             | CV= 18,53  | CV= 21,93            |

\*\*,\* e <sup>ns</sup> - significativo a 1% e 5% de probabilidade e não significativo pelo teste F, respectivamente.

-- tratamentos quantitativos (o teste F não se aplica). CV – coeficiente de variação em porcentagem.

Tabela 3 – Valores sumarizados da análise de variância para os teores de potássio ( $K^+$ ), sódio ( $Na^+$ ), nitrato ( $NO_3^-$ ) e cloreto ( $Cl^-$ ) na parte aérea de plântulas oriundas de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, em função do envelhecimento artificial, condicionamento osmótico e estresse salino.

| Fontes de variação  | G. L. | Quadrados médios     |                        |                      |                       |
|---------------------|-------|----------------------|------------------------|----------------------|-----------------------|
|                     |       | $K^+$                | $Na^+$                 | $NO_3^-$             | $Cl^-$                |
| Envelhecimento (E)  | 1     | 1,9015**             | 5092477**              | 75,1787**            | 1872134**             |
| Condicionamento (C) | 1     | 0,0073 <sup>ns</sup> | 6618,28 <sup>ns</sup>  | 0,3552 <sup>ns</sup> | 5545,35 <sup>ns</sup> |
| Salinidade (S)      | 1     | 0,0031 <sup>ns</sup> | 59714,5 <sup>ns</sup>  | 0,8223 <sup>ns</sup> | 227461**              |
| E x C               | 1     | 0,0061 <sup>ns</sup> | 2002,72 <sup>ns</sup>  | 1,3437 <sup>ns</sup> | 446952 <sup>ns</sup>  |
| E x S               | 1     | 0,1354**             | 67626,92 <sup>ns</sup> | 0,0649 <sup>ns</sup> | 373,56 <sup>ns</sup>  |
| C x S               | 1     | 0,0017 <sup>ns</sup> | 57407,3 <sup>ns</sup>  | 0,3414 <sup>ns</sup> | 18612,6 <sup>ns</sup> |
| E x C x S           | 1     | 0,0255 <sup>ns</sup> | 57407,3 <sup>ns</sup>  | 1,8949 <sup>ns</sup> | 6982,63 <sup>ns</sup> |
| Resíduo             | 24    | 0,0051               | 27116,24               | 0,9971               | 12018,8               |
| Total               | 31    | CV = 7,96            | CV = 38,26             | CV = 21,24           | CV = 15,76            |

\*\*,\* e <sup>ns</sup> - significativo a 1% e 5% de probabilidade e não significativo pelo teste F, respectivamente.

-- tratamentos quantitativos (o teste F não se aplica). CV - coeficiente de variação em porcentagem.

Tabela 4 – Valores sumarizados da análise de variância para os teores de prolina (Prol), N-aminossolúveis (N-amin), proteínas (Prot) e carboidratos (Carb) solúveis na parte aérea e nas raízes de plântulas oriundas de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, em função do envelhecimento artificial, condicionamento osmótico e estresse salino.

| Fontes de variação | G. L. | Quadrados médios   |                     |                    |                     |                    |                     |                    |                    |
|--------------------|-------|--------------------|---------------------|--------------------|---------------------|--------------------|---------------------|--------------------|--------------------|
|                    |       | Parte aérea        |                     |                    |                     | Raízes             |                     |                    |                    |
|                    |       | Prol               | N-amin              | Prot               | Carb                | Prol               | N-amin              | Prot               | Carb               |
| Envelhec.(E)       | 1     | 255**              | 5957**              | 201**              | 0,002 <sup>ns</sup> | 31,4**             | 2907**              | 1,74 <sup>ns</sup> | 3,14 <sup>ns</sup> |
| Condic. (C)        | 1     | 16,4*              | 1510*               | 0,23 <sup>ns</sup> | 0,003 <sup>ns</sup> | 1,63 <sup>ns</sup> | 65,71 <sup>ns</sup> | 12,8*              | 72,1**             |
| Salinid. (S)       | 1     | 38,1**             | 1153*               | 6,10 <sup>ns</sup> | 0,693*              | 8,99**             | 56,44 <sup>ns</sup> | 0,59 <sup>ns</sup> | 0,02 <sup>ns</sup> |
| E x C              | 1     | 28,5**             | 7164**              | 26,9*              | 0,274 <sup>ns</sup> | 22,9**             | 1676**              | 0,07 <sup>ns</sup> | 129**              |
| E x S              | 1     | 80,4**             | 1691*               | 2,88 <sup>ns</sup> | 0,0001*             | 0,01 <sup>ns</sup> | 1158*               | 15,3*              | 103**              |
| C x S              | 1     | 4,09 <sup>ns</sup> | 4516**              | 0,08 <sup>ns</sup> | 0,037 <sup>ns</sup> | 4,15 <sup>ns</sup> | 808,7*              | 1,13 <sup>ns</sup> | 34,9*              |
| E x C x S          | 1     | 1,99 <sup>ns</sup> | 656,3 <sup>ns</sup> | 26,9*              | 1,362**             | 4,80*              | 34,58               | 1,38 <sup>ns</sup> | 193**              |
| Resíduo            | 24    | 3,114              | 267,15              | 3,739              | 0,1435              | 1,09               | 172,8               | 2,93               | 6,66               |
| Total              | 31    | CV=26              | CV=6,7              | CV=16              | CV=0,9              | CV=15              | CV=8,2              | CV=29              | CV=8,3             |

\*\*,\* e <sup>ns</sup> - significativo a 1% e 5% de probabilidade e não significativo pelo teste F, respectivamente.

-- tratamentos quantitativos (o teste F não se aplica). CV - coeficiente de variação em porcentagem.

Tabela 5 – Valores sumarizados da análise de variância para os teores de malondialdeído (MDA) e as atividades enzimáticas da dismutase do superóxido (SOD), catalase (CAT), peroxidase do ascorbato (APX) e do guaiacol (GPX) na parte aérea e nas raízes de plântulas oriundas de sementes de sorgo, cv. IPA 1011, em função do envelhecimento artificial, condicionamento osmótico e estresse salino.

| Fonte de variação   | G.L. | Quadrados médios    |                       |                    |                      |                    |                    |                       |                     |                      |                    |
|---------------------|------|---------------------|-----------------------|--------------------|----------------------|--------------------|--------------------|-----------------------|---------------------|----------------------|--------------------|
|                     |      | Parte aérea         |                       |                    |                      |                    | Raízes             |                       |                     |                      |                    |
|                     |      | MDA                 | SOD                   | CAT                | APX                  | GPX                | MDA                | SOD                   | CAT                 | APX                  | GPX                |
| Envelhecimento (E)  | 1    | 1,24 <sup>ns</sup>  | 11406 <sup>ns</sup>   | 10,9**             | 0,0001 <sup>ns</sup> | 0,46**             | 382**              | 1826251**             | 6,29*               | 0,0000 <sup>ns</sup> | 19,7*              |
| Condicionamento (C) | 1    | 956**               | 833686*               | 12,9**             | 0,0000 <sup>ns</sup> | 0,01 <sup>ns</sup> | 15,1*              | 144537*               | 0,00 <sup>ns</sup>  | 0,0000 <sup>ns</sup> | 44**               |
| Salinidade (S)      | 1    | 69,1*               | 10482 <sup>ns</sup>   | 2,69*              | 0,0000 <sup>ns</sup> | 0,03*              | 3,02 <sup>ns</sup> | 159877*               | 14,8**              | 0,0001 <sup>ns</sup> | 2,89 <sup>ns</sup> |
| E x C               | 1    | 165 <sup>ns</sup>   | 464206 <sup>ns</sup>  | 1,79 <sup>ns</sup> | 0,0001*              | 0,05 <sup>ns</sup> | 10,8 <sup>ns</sup> | 3619311 <sup>ns</sup> | 0,012 <sup>ns</sup> | 0,0000 <sup>ns</sup> | 113**              |
| E x S               | 1    | 138,3 <sup>ns</sup> | 379175 <sup>ns</sup>  | 0,06 <sup>ns</sup> | 0,0000*              | 0,05 <sup>ns</sup> | 27,4*              | 1688490 <sup>ns</sup> | 0,495 <sup>ns</sup> | 0,0000 <sup>ns</sup> | 0,83 <sup>ns</sup> |
| C x S               | 1    | 475**               | 782552 <sup>ns</sup>  | 0,01 <sup>ns</sup> | 0,0000 <sup>ns</sup> | 0,03 <sup>ns</sup> | 37,8**             | 570946 <sup>ns</sup>  | 4,056 <sup>ns</sup> | 0,0005*              | 0,85 <sup>ns</sup> |
| E x C x S           | 1    | 0,657 <sup>ns</sup> | 1860842 <sup>ns</sup> | 0,14 <sup>ns</sup> | 0,0001*              | 0,06*              | 16,1*              | 256171 <sup>ns</sup>  | 0,547 <sup>ns</sup> | 0,0006*              | 15,5*              |
| Resíduo             | 24   | 47,099              | 430289 <sup>ns</sup>  | 0,8504             | 0,00002              | 0,0303             | 23,82              | 937216                | 2,4443              | 0,00009              | 2,608              |
| Total               | 31   | CV=19               | CV=10,4               | CV=23              | CV=24                | CV=28              | CV=28              | CV=51,58              | CV=27               | CV=18                | CV=18              |

\*\*,\* e <sup>ns</sup> - significativo a 1% e 5% de probabilidade e não significativo pelo teste F, respectivamente. -- tratamentos quantitativos (o teste F não se aplica). CV- coeficiente de variação em porcentagem.