



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA
CURSO DE AGRONOMIA

SÁVIO JUSTINO DA SILVA

**ALTERAÇÕES METABÓLICAS ASSOCIADAS AO CRESCIMENTO DE
PLÂNTULAS DE DOIS GENÓTIPOS DE SORGO SOB SALINIDADE**

FORTALEZA-CE

2021

SÁVIO JUSTINO DA SILVA

ALTERAÇÕES METABÓLICAS ASSOCIADAS AO CRESCIMENTO DE PLÂNTULAS
DE DOIS GENÓTIPOS DE SORGO SOB SALINIDADE

Monografia apresentada ao Curso de Agronomia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Engenheiro Agrônomo. Área de concentração: Fisiologia Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Humberto Henrique de Carvalho.

Coorientador: Prof. Dr. Enéas Comes-Filho

FORTALEZA-CE

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S583a Silva, Sávio Justino da.
Alterações metabólicas associadas ao crescimento de plântulas de dois genótipos de Sorgo sob salinidade /
Sávio Justino da Silva. – 2021.
48 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências
Agrárias, Curso de Agronomia, Fortaleza, 2021.
Orientação: Prof. Dr. Humberto Henrique de Carvalho.
Coorientação: Prof. Dr. Enéas Comes-Filho.

1. Estresse salino. 2. Sorghum bicolor. 3. Perfil metabólico. I. Título.

CDD 630

SÁVIO JUSTINO DA SILVA

ALTERAÇÕES METABÓLICAS ASSOCIADAS AO CRESCIMENTO DE PLÂNTULAS
DE DOIS GENÓTIPOS DE SORGO SOB SALINIDADE

Monografia apresentada ao Curso de
Agronomia da Universidade Federal do Ceará,
como requisito parcial à obtenção do título de
Engenheiro Agrônomo. Área de concentração:
Fisiologia Vegetal.

Aprovada em: 20/08/2021.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Humberto Henrique de Carvalho (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Lineker de Sousa Lopes
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Stelamaris de Oliveira Paula-Marinho
Universidade Federal do Ceará (UFC)

AGRADECIMENTOS

À Deus por ter me ajudado, e ter sido minha pedra forte e bússola neste percurso difícil. Obrigado por nunca ter me desamparado.

Aos meus pais, Maria do Socorro e Cláudio Barbosa, por em todas as circunstâncias serem meu porto seguro, e por sempre serem tão presentes, me ajudando e fazendo de tudo, todos os momentos.

Aos meus irmãos, Sara e Saulo, por todo companheirismo, conselhos e risadas. Mesmo com “meu jeito”, obrigado por se importarem tanto.

Aos meus avós, Maria do Carmo, João Elias e Maria Aurelita, gratidão pelo exemplo de luta, determinação e resiliência.

Ao Professor Dr. Humberto Henrique de Carvalho, pela orientação deste trabalho mesmo em meio a todas as circunstâncias. Obrigado por toda dedicação, pelos conhecimentos repassados, pelo comprometimento e empatia.

Ao Professor. Dr. Enéas Gomes-Filho, por ter me confiado a oportunidade de ser integrante do laboratório, e por todos conhecimentos compartilhados.

Ao Professor. Dr. Lineker Lopes pela tutoria durante toda minha carreira no laboratório. Obrigado pelos conselhos e conversas enriquecedoras.

À Dra. Stelamaris de Oliveira Paula-Marinho, por além de ter me ensinado tanto no cotidiano de laboratório, ter aceitado o convite de participar da banca examinadora deste trabalho. Obrigado por todas as críticas e colaborações.

Aos amigos e companheiros de laboratório: Dalton, Rafael, Marta, David, Anderson. Por serem peça fundamental da minha formação e da execução deste trabalho. Em especial aos meus amigos Lucas e Karol, pela paciência, obrigado por tanto.

Aos amigos que levarei da academia para vida: Glauco, Manoel, Joelma, Helen, Ingrid, Mari, Mirelysia, Lays, Valeska, Jarlane, Nicholas, Caio, William, Matheus, André e Fernando. E em especial, à Leticia, Nicole e Valéria. Obrigado por tornarem essa jornada mais leve.

Aos professores do Programa de graduação, e funcionários da Escola de Agronomia da Universidade Federal do Ceará (UFC). Bem como, ao Programa de Educação Tutorial (PET), por todo conhecimento repassado e apoio prestado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), e a Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação pela concessão de bolsa de Iniciação Científica.

E por fim, a todas as pessoas que de alguma maneira contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho e que não foram citados.

“Pois sem mim, nada podereis fazer”

(Jesus Cristo)

RESUMO

O sorgo (*Sorghum bicolor* L.) é um dos cereais mais cultivados do mundo, sendo utilizado na alimentação animal e em alguns países até na alimentação humana. A salinidade é um dos estresses abióticos que mais impactam a produção mundial de cereais. Causando muitas alterações fisiológicas, morfológicas e bioquímicas indesejáveis. Desta forma, compreender o impacto desse estresse sobre as culturas é de extrema importância para a produção mundial de alimentos. Neste sentido, plântulas com 3 dias de germinação de dois genótipos de sorgo (CSF18 e CSF20) foram submetidas à salinidade (0 e 75 mM NaCl) para que fossem analisadas as alterações morfológicas e metabólicas associadas ao desenvolvimento inicial das plântulas quando expostas à essas condições. Para isso, dois experimentos foram realizados com as duas cultivares individualmente. Cada experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 5 composto por dois níveis de salinidade, dentro dos tempos de 0, 24, 48, 72, e 96 horas após tratamentos serem aplicados, totalizando 7 dias de idade. Após cada período de tratamento, foram feitas avaliações dos parâmetros de crescimento, dos solutos inorgânicos e dos perfis metabólicos dos dois genótipos. Como resultado, têm-se que a salinidade promoveu uma redução do comprimento na CSF18 apenas na parte aérea após 72h de estresse, enquanto que na CSF20 a redução no crescimento ocorreu após 24 e 48 h na parte aérea e raízes, respectivamente, nos dois genótipos avaliados. Este comportamento pode ser observado através da análise multivariada sPLS-DA dos perfis metabólicos nas partes aéreas, dos dois genótipos. No CSF20, os perfis foram mais distantes em relação aos tempos, enquanto, em CSF18 no tempo de 24h, os perfis metabólicos do tratamento salino e controle, são bem próximos. Também foi possível notar mudanças nos perfis dos metabólitos de ambos os genótipos, quando expostos ao tratamento salino, ao longo do tempo. Relacionados ao componente 1, carboidratos importantes como sorbose e frutose apresentaram valores relativos elevados para ambos os genótipos durante o período inicial de estresse e diminuem com o tempo por serem fonte energética para o crescimento. O componente 2, separou os tratamentos controle e salino a partir de 24h com uma influência de aminoácidos e ácidos orgânicos que apresentaram menor abundância na CS18 e maior abundância na CSF20. Assim, os resultados obtidos, contribuem para o entendimento das variações metabólicas associadas à resposta à salinidade ao longo do tempo de estabelecimento da plântula, e podem contribuir no futuro para o desenvolvimento de novas variedades de sorgo tolerantes ao estresse salino.

Palavras-chave: estresse salino; *Sorghum bicolor*; perfil metabólico.

ABSTRACT

Sorghum (*Sorghum bicolor* L.) is one of the most widely cultivated cereals in the world, being used for animal feed and in some countries even for human food. Salinity is one of the abiotic stresses that most impact the world cereal production. It causes many undesirable physiological, morphological, and biochemical alterations. Thus, understanding the impact of this stress on crops is of utmost importance for global food production. In this sense, seedlings with 3 days of germination of two sorghum genotypes (CSF18 and CSF20) were submitted to salinity (0 and 75 mM NaCl) to analyze the morphological and metabolic changes associated with the initial development of seedlings when exposed to these conditions. For this, two experiments were conducted with the two cultivars individually. Each experiment was conducted in an entirely randomized design in a 2 x 5 factorial scheme composed of two salinity levels, within the times of 0, 24, 48, 72, and 96 hours after treatments were applied, totaling 7 days of age. After each treatment period, evaluation of growth parameters, inorganic solutes, and metabolic profiles of the two genotypes were performed. As a result, salinity promoted a length reduction in CSF18 only in the aerial part after 72 h of stress, while in CSF20 the growth reduction occurred after 24 and 48 h in the aerial part and roots, respectively, in both genotypes evaluated. This behavior can be observed through the metabolic profiles sPLS-DA multivariate analyses in the aerial parts, of both genotypes. In CSF20, the profiles were more distant in relation to the times, while in CSF18 at 24h, the metabolic profiles of the saline treatment and control, are very close. It was also possible to notice changes in the metabolite profiles of both genotypes, when exposed to salt treatment, over time. Related to component 1, important carbohydrates such as sorbose and fructose showed high relative values for both genotypes during the initial stress period and decreased with time because they are an energy source for growth. Component 2 separated the control and salt treatments after 24 h with an influence of amino acids and organic acids that showed low abundance in CS18 and high abundance in CSF20. Thus, the results obtained, may contribute to the understanding of the metabolic variations associated with the response to salinity throughout the time of seedling establishment, and may contribute in the future to the development of new varieties of sorghum tolerant to salt stress.

Keywords: salt stress; *Sorghum bicolor*; metabolic profile.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Curvas de regressão para comprimento (em centímetros) da parte aérea (*shoot length*) e raiz (*root length*) de plântulas de sorgo cv. CSF18 e CSF20 sob condições salinas (*salt stress*) e não salinas (*control*), avaliadas a cada 24h, até 96 horas após tratamento (HAT). As plântulas com três dias após semeadura correspondem ao tempo zero de tratamento. Comprimento parte aérea (**a**) e raiz (**b**) da cultivar CSF18, e comprimento parte aérea (**c**) e raiz (**d**) da cultivar CSF20
- 24
- Figura 2 – Curvas de regressão para massa fresca (*shoot fresh mass*, em mg) e massa seca (*shoot dry mass*, em mg) da parte aérea de plântulas de sorgo cv. CSF18 e CSF20 sob condições salinas (*salt stress*) e não salinas (*control*), avaliadas a cada 24h, até 96 horas após tratamento (HAT). As plântulas com três dias após semeadura correspondem ao tempo zero de tratamento. Massa fresca (**a**) e massa seca (**b**) da parte aérea da cultivar CSF18. Massa fresca (**c**) e massa seca (**d**) da parte aérea da cultivar CSF20
- 25
- Figura 3 – Curvas de regressão para massa fresca (*root fresh mass*, em mg) e massa seca (*root dry mass*, em mg) da raiz de plântulas de sorgo cv. CSF18 e CSF20 sob condições salinas (*salt stress*) e não salinas (*control*), avaliadas a cada 24h, até 96 horas após tratamento (HAT). As plântulas com três dias após semeadura correspondem ao tempo zero de tratamento. Massa fresca (**a**) e massa seca (**b**) da raiz da cultivar CSF18. Massa fresca (**c**) e massa seca (**d**) da parte aérea da cultivar CSF20.
- 26
- Figura 4 – Curvas de regressão para os teores dos íons Na^+ e K^+ (expressos em $\mu\text{mol.g}^{-1}$), e para a relação K^+/Na^+ na parte aérea de plântulas de sorgo cv. CSF18 e CSF20 sob condições salinas (*salt stress*) e não salinas (*control*), avaliadas a cada 24h, até 96 horas após tratamento (HAT). Teores dos íons Na^+ (**a**) e K^+ (**b**), e relação K^+/Na^+ (**c**) da parte aérea da cultivar CSF18. Teores dos íons Na^+ (**d**) e K^+ (**e**), e relação K^+/Na^+ (**f**) da parte aérea da cultivar CSF20.
- 27
- Figura 5 - Curvas de regressão para os teores dos íons Na^+ e K^+ (expressos em $\mu\text{mol.g}^{-1}$), e para a relação K^+/Na^+ na raiz de plântulas de sorgo cv. CSF18 e CSF20 sob condições salinas (*salt stress*) e não salinas (*control*), avaliadas a cada 24h, até 96 horas após tratamento (HAT). Teores dos íons Na^+ (**a**) e K^+ (**b**), e relação K^+/Na^+ (**c**) da raiz da cultivar CSF18. Teores dos íons Na^+ (**d**) e K^+ (**e**), e relação K^+/Na^+ (**f**) da raiz da cultivar CSF20.
- 28

Figura 6 - Análise discriminante por mínimos quadrados parciais esparsos (sPLS-DA) dos perfis metabólicos em parte aérea (S) e raízes (R) de sorgo cv. CSF18 sob condições não salinas (controle) e salinas por avaliadas a cada 24h até 96 horas após tratamento (HAT). Plotagem de pontuação (**a**, *Scores plot*), taxas de erro de classificação do sPLS-DA (**b**, *sPLS-DA classification error rates*) do primeiro e segundo componentes. Grupos analisados foram plantas sob condição controle avaliadas com 24HAT (C-18-24h), 48HAT (C-18-48h), 48HAT (C-18-48h), 72HAT (C-18-72h), e 96HAT (C-18-96h), e plantas sob condição salina avaliadas com 24HAT (C-18-24h), 48HAT (C-18-48h), 48HAT (C-18-48h), 72HAT (C-18-72h), e 96HAT (C-18-96h).

..... 30

Figura 7 – Análise discriminante por mínimos quadrados parciais esparsos (sPLS-DA) dos perfis metabólicos em parte aérea (S) e raízes (R) de sorgo cv. CSF20 sob condições não salinas (controle) e salinas por avaliadas a cada 24h até 96 horas após tratamento (HAT). Plotagem de pontuação (**a**, *scores plot*), taxas de erro de classificação do sPLS-DA (**b**, *sPLS-DA classification error rates*) do primeiro e segundo componentes. Grupos analisados foram plantas sob condição controle avaliadas com 24HAT (C-20-24h), 48HAT (C-20-48h), 48HAT (C-20-48h), 72HAT (C-20-72h), e 96HAT (C-20-96h), e plantas sob condição salina avaliadas com 24HAT (C-20-24h), 48HAT (C-20-48h), 48HAT (C-20-48h), 72HAT (C-20-72h), e 96HAT (C-20-96h)

..... 31

Figura 8 – Gráficos de carregamento da análise discriminante por mínimos quadrados parciais esparsos (sPLS-DA) dos perfis metabólicos em parte aérea (S) e raízes (R) de sorgo cv. CSF18 sob condições não salinas (controle) e salinas por avaliadas a cada 24h até 96 horas após tratamento (HAT). Gráfico de carregamento (*Loading plot*) para o componente 1 (**a**, *Loading 1*) e o componente 2 (**b**, *Loading 2*) mostra os trinta metabólitos que mais contribuíram para a separação em cada componente do sPLS-DA e sua contribuição em valor absoluto. Quadrados vermelhos ou azuis à direita indicam a abundância alta e baixa do metabólito correspondente em cada tratamento, respectivamente. Grupos analisados foram plantas sob condição controle avaliadas com 24HAT (C-18-24h), 48HAT (C-18-48h), 48HAT (C-18-48h), 72HAT (C-18-72h), e 96HAT (C-18-96h), e plantas sob condição salina avaliadas com 24HAT (C-18-24h), 48HAT (C-18-48h), 48HAT (C-18-48h), 72HAT (C-18-72h), e 96HAT (C-18-96h).

..... 33

Figura 9 – Gráficos de carregamento da análise discriminante por mínimos quadrados parciais esparsos (sPLS-DA) dos perfis metabólicos em parte aérea (S) e raízes (R) de sorgo cv. CSF20 sob condições não salinas (controle) e salinas por avaliadas a cada 24h até 96 horas após tratamento (HAT). Gráfico de carregamento (*Loading plot*) para o componente 1 (**a**, *Loading 1*) e o

componente 2 (**b**, *Loading 2*) mostra os trinta metabólitos que mais contribuíram para a separação em cada componente do sPLS-DA e sua contribuição em valor absoluto. Quadrados vermelhos ou azuis à direita indicam a abundância alta e baixa do metabólito correspondente em cada tratamento, respectivamente. Grupos analisados foram plantas sob condição controle avaliadas com 24HAT (C-20-24h), 48HAT (C-20-48h), 48HAT (C-20-48h), 72HAT (C-20-72h), e 96HAT (C-20-96h), e plantas sob condição salina avaliadas com 24HAT (C-20-24h), 48HAT (C-20-48h), 48HAT (C-20-48h), 72HAT (C-20-72h), e 96HAT (C-20-96h).

.....

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ASC	Ascorbato
APX	Ascorbato peroxidase
CAT	Catalase
CER	Cripto-epígeo-armazenador
CHR	Cripto-hipógeo-armazenador
cv.	Cultivar
GSH	Glutaciona
MSTFA	N-metil-N-trimetilsilil-trifluoroacetamida
HAT	Horas após tratamento
GC-MS	<i>Gas chromatography-mass spectrometry</i>
GPX	Glutaciona peroxidase
GR	Glutaciona redutase
PEF	Fanero-epígeo-foliáceo
PER	Fanero-epígeo-armazenador
PHR	Fanero-hipógeo-armazenador
sPSD-LA	Análise discriminante por mínimos quadrados parciais esparsos

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1	A cultura do sorgo	16
2.2	Salinidade dos solos e seus efeitos sobre as plantas	17
2.3	Importância do estabelecimento de plântulas	18
2.4	Metabolômica como ferramenta para o estudo de estresses em plantas	19
3	MATERIAIS E MÉTODOS	20
3.1	Material vegetal, condições de crescimento e desenho experimental	21
3.2	Parâmetros morfológicos	21
3.3	Determinação de solutos inorgânicos	22
3.4	Análise metabolômica	22
3.5	Análise estatística	23
4	RESULTADOS	24
5	DISCUSSÃO	35
6	CONCLUSÃO	38
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
	APÊNDICE A – Tabela Suplementar 1	
	APÊNDICE B – Tabela Suplementar 2	
	APÊNDICE C – Tabela Suplementar 3	
	APÊNDICE D – Tabela Suplementar 4	
	APÊNDICE E – Tabela Suplementar 3	

1 INTRODUÇÃO

O Sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] é uma planta de origem africana pertencente à família Poaceae. É um dos cinco cereais mais cultivados do mundo, podendo ser utilizado tanto na alimentação animal, quanto na alimentação humana (BUSO, 2011). Morfológicamente, a planta apresenta porte baixo, panícula bem desenvolvida e alta produção de grãos (GUIMARÃES *et al.*, 2020).

No Brasil, segundo estimativas da Companhia Nacional de Abastecimento – CONAB (2021), a safra total do grão de sorgo em 2020/21, é de uma produção total de 2,46 milhões de toneladas, cultivadas em uma área total de 865,7 mil hectares. Esses valores qualificam o país como o oitavo maior produtor de grão de sorgo do mundo, ficando atrás da Nigéria, Etiópia, Sudão, México, Índia, Argentina e China (USDA, 2021). Além do potencial econômico evidente, a grande utilização do sorgo nos cultivos ao redor do mundo deve-se principalmente à sua capacidade de adaptação nos mais diversos ambientes e condições, nos quais, a produtividade da maioria dos outros cereais seria afetada (SUTKA *et al.*, 2016).

Dentre os estresses aos quais a cultura do sorgo está sujeita, a salinidade é um dos fatores que mais prejudica seu desenvolvimento, uma vez que pode afetar negativamente a germinação, o vigor das sementes e a produtividade das culturas (OLIVEIRA; GOMES FILHO, 2009). A deposição de sais no solo pode ser proveniente de dois processos: um natural, causado por intemperismo das rochas-mãe, deposição da água do mar e deposição atmosférica, e outro antropogênico, oriundo de instalações ineficientes de sistemas de drenagem, irrigação com água subterrânea salobra, irrigação contínua por longos períodos, gestão inadequada da água e métodos culturais na agricultura irrigada. (EVELIN, 2019).

Nas plantas a exposição ao estresse salino desencadeia muitas alterações fisiológicas e bioquímicas indesejáveis (MUNAWAR; AMJAD; RIAZ, 2021). As elevadas concentrações de sal perturbam a homeostase iônica e o balanço hídrico das células, resultando em estresse osmótico, toxicidade iônica e produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (ROS, do inglês *reactive oxygen species*), o que resulta em diminuição na produtividade e rendimento das culturas no campo (AHMED *et al.*, 2021).

Para lidar com o estresse salino, as plantas dispõem de diversos mecanismos que são utilizados para se aclimatarem, como, por exemplo, exclusão de sódio, o acúmulo de osmorreguladores e a tolerância dos tecidos (acúmulo dos íons Na⁺ e Cl⁻) (IBRAHIMOVA *et al.*, 2021). Além disso, como resposta ao estresse oxidativo causado pelas ROS, as plantas desenvolveram um sistema antioxidante que inclui enzimas, como ascorbato peroxidase

(APX), glutationa redutase (GR), glutationa peroxidase (GPX) e catalase (CAT) (LI *et al.*, 2021), bem como compostos antioxidantes, tais como ascorbato (ASC) e glutationa (GSH) (FOYER; NOCTOR., 2011).

Todavia, vale ressaltar que os efeitos da salinidade são passíveis de sofrer variações, uma vez que algumas plantas, possuem o potencial natural que responde à alteração da salinidade no solo com ajuste do seu metabolismo, regulando a transdução de sinal e a expressão gênica (KUMAR *et al.*, 2021). Além disso, foi descrito recentemente que alterações metabólicas em folhas de sorgo incluem intermediários do ciclo do ácido cítrico, açúcares, aminoácidos e poliaminas, que podem contribuir para induzir a tolerância ao estresse salino (OLIVEIRA *et al.*, 2020).

Devido às ameaças trazidas pelas mudanças climáticas e a tendência de diminuição na utilização de terras agricultáveis, estudos sobre as técnicas agrícolas e os mecanismos de resposta ao estresse salino estão sendo cada vez mais enfatizados (SONI *et al.*, 2021). As análises integradas do metaboloma e do transcriptoma de plantas modelo aumentaram significativamente nossa compreensão das respostas das plantas a vários estresses, e o perfil de metabólitos tem sido usado para caracterizar as respostas de estresses abióticos e para análises abrangentes das etapas finais das vias de transdução de sinal de estresse (URANO *et al.*, 2010). Uma vez que, melhorar a tolerância ao estresse salino nas lavouras, bem como, compreender como a salinidade afeta o estabelecimento das plântulas e as propriedades morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e metabólicas, é de extrema importância para a produção de alimentos (ZHAO *et al.*, 2020).

Diante disto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar as alterações metabólicas e morfofisiológicas associadas ao desenvolvimento inicial de plântulas de dois genótipos de sorgo (CSF18 e CSF20) sob condição salina (75 mM de NaCl).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A cultura do sorgo

O sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] é uma cultura pertencente à família Poaceae, classificado como uma planta C4, sensível ao fotoperíodo, característica de dias curtos e com altas taxas fotossintéticas (DE ALMEIDA *et al.*, 2019). Taxonomicamente, possui inflorescência aberta, volumosa e ramos não pendentes que se separam na base (ANANDA *et al.*, 2020). Seu centro de origem é o continente africano, sendo sua domesticação datada entre 3 mil e 5 mil anos atrás. Nos continentes asiático e africano, e em outras regiões semiáridas do mundo, é utilizado diretamente na alimentação humana, enquanto nos países ocidentais, como nos Estados Unidos, na Austrália e no Brasil, o sorgo é cultivado essencialmente para alimentação animal (PEREIRA FILHO; RODRIGUES, 2015). De acordo com a finalidade de utilização, as variedades de sorgo podem ser agrupadas em: graníferas, (produzindo mais grãos amiláceos), forrageiras (frondoso com caules mais finos para a palatabilidade animal) e bioenergéticas (com maior rendimento de biomassa lignocelulósica) (NKANSAH-APPIAH *et al.*, 2019). Além destes, ocorrem os chamados de duplo propósito, os quais, são referentes as combinações de exploração da planta quanto a natureza.

Segundo Aquino (2005), para atingir o sucesso desejado na produção, a cultura requer dias quentes, com temperaturas médias do ar variando entre 26 e 30°C e textura dos solos variando do argiloso a ligeiramente arenoso. No que se refere a exigências hídricas, o consumo de água pelo sorgo varia entre 380 mm e 600 mm, dependendo principalmente das condições climáticas dominantes (SANS; MORAIS; GUIMARÃES, 2003). Estas características edafoclimáticas relacionadas ao sorgo, possibilita seu cultivo numa ampla faixa de condições de solo e de clima (TABOSA *et al.*, 2013), habilitando-o com uma capacidade única de crescer em condições ambientais adversas (GUO *et al.*, 2015).

Segundo os dados da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), a área colhida de sorgo no mundo é de 40 milhões de hectares, alcançando uma produção de 57,8 milhões de toneladas (FAO, 2019). Estes valores podem apresentar ascensão nos próximos anos, principalmente, devido ao pool de genes diversificado apresentado pelas espécies de sorgo, que podem ser explorados pelos programas de melhoramento, visando diversas características agronômicas desejáveis (BRENTON *et al.*, 2016).

2.2 Salinidade dos solos e seus efeitos sobre as plantas

O solo encontra-se em condição de salinidade, quando ocorre o acúmulo de íons solúveis, como Na^+ e Cl^- , gerando concentrações de sal excessiva, com condutividade elétrica variando entre 3 e 4 dS.m^{-1} no extrato de saturação do solo (MUNAWAR; AMJAD; RIAZ, 2021). Segundo Daliakopoulos *et al* (2016), a salinidade do solo pode ter duas origens distintas, são elas: a salinização primária, que é caracterizada como o desenvolvimento de sais por meio de processos naturais; e a salinização secundária, que é o acúmulo constante ou crescente de sal nas camadas superiores do solo, causada por intervenções humanas. A salinidade do solo ocorre de forma dinâmica, e está globalmente distribuída em mais de 100 países (das terras cultivadas, cerca de $0,34 \times 10^9$ ha (23%) estão sob condição salina) podendo afetar os ecossistemas a ponto de não poderem mais fornecer serviços ambientais em todo o seu potencial (SHAHID; ZAMAN; HENG, 2018).

Em termos econômicos, as perdas anuais causadas pela salinidade dos solos, considerando a extensão atual da área irrigada global (sendo 20% desta área afetada pelo sal) e o custo ajustado pela inflação da degradação da terra induzida pelo sal em 2013 como US\$ 441/ha, podem alcançar o valor de US\$ 27,3 bilhões (QADIR *et al.*, 2014).

Nas plantas, a salinidade do solo induz o estresse quando os íons solúveis, acumulam-se no solo ao redor da rizosfera radicular (HOSTETLER; GOVINDARAJULU; HAWKINS, 2021), diminuindo assim, o potencial osmótico do solo, e conseqüentemente, reduzindo a absorção de água pela planta. Essa cadeia de acontecimentos é denominada na literatura como “estresse osmótico”. O segundo fator de estresse imposto pela salinidade é o desequilíbrio iônico (ou “estresse iônico”). Este fator ocorre quando as plantas absorvem esses íons, proporcionando aumento dos níveis de íons citotóxicos e o retardo dos seus processos metabólicos (ISAYENKOV; MAATHUIS, 2019).

Por seguinte, o acúmulo excessivo de íons causado pela salinidade, possibilita o surgimento do estresse oxidativo, assinalado pela superprodução de espécies reativas de oxigênio (ROS, do inglês *reactive oxygen species*) (GADELHA *et al.*, 2017). Essas moléculas são altamente reativas e tóxicas, causando danos severos às proteínas, lipídios, carboidratos e DNA, o que resulta em morte celular, e conseqüentemente, diminuição na produtividade das culturas (GILL; TUTEJA, 2010).

As respostas aos efeitos da salinidade apresentam sintomas característicos, como diminuição da área foliar, aumento da espessura, suculência das folhas, abscisão das folhas, necrose da raiz e do caule e diminuição do comprimento dos entrenós (RAHNESHAN;

NASIBI; MOGHADAM, 2018). Entretanto, os sintomas podem apresentar diversidade entre as plantas, uma vez que os mecanismos de tolerância à salinidade são consideravelmente variados entre as espécies, de forma intra ou interespecífica (SARKER; ISLAM; OBA, 2018).

2.3 Importância do estabelecimento de plântulas

A plântula é caracterizada como o indivíduo resultante do desenvolvimento inicial do embrião, mas que ainda não é completamente autotrófico, ou seja, a maior parte dos compostos necessários para o seu desenvolvimento ainda são oriundos dos cotilédones ou endosperma (PEREIRA; SECORUN, 2007).

Segundo Ressel *et al* (2004), as plântulas podem ser classificadas de duas formas: com base no comprimento do hipocótilo, ou, baseadas em suas características cotiledonares. Em relação, ao comprimento do hipocótilo, existem dois tipos básicos de plântulas: as epígeas (os cotilédones erguem-se acima do nível do solo) e as hipógeas (os cotilédones permanecem abaixo ou ao nível do solo ao fim do processo de formação das plântulas). Para a caracterização no que se refere às características morfológicas cotiledonares foi adotado o sistema proposto por Miquel (1987) e revisado por Garwood (1996), o qual classifica as plântulas em: fanero-epígeo-foliáceo (PEF), fanero-epígeo-armazenador (PER), fanero-hipógeo-armazenador (PHR), cripto-hipógeo-armazenador (CHR) e cripto-epígeo-armazenador (CER). As siglas foram mantidas em inglês para facilitar a comparação com estudos similares, sendo que a primeira letra se refere à exposição do cotilédone: criptocotiledonar (C) ou fanerocotiledonar (P); a segunda, à sua posição: epígeo (E) ou hipógeo (H); e a terceira, à sua função-textura: fotossintetizante (F) ou armazenador (R). Para cada plântula foram descritas as seguintes estruturas morfológicas: raiz, hipocótilo, cotilédones, epicótilo e eófilos.

Durante o desenvolvimento das plântulas, as reservas armazenadas nas sementes, como carboidratos, proteínas e lipídios, são requeridas em períodos distintos, dando suporte ao crescimento inicial das plântulas (BUCKERIDGE *et al.*, 2004). Desta forma, devem ser evitados fatores que interfiram significativamente no conteúdo dessas substâncias nas sementes.

A mobilização desses substratos de energia, é fundamental e viabiliza o estabelecimento inicial de plântulas. No decorrer do desenvolvimento das plântulas os produtos de degradação das reservas são usados para diferentes propósitos, como a produção de matéria-prima para a síntese de novas células e tecidos, até que as plântulas se tornem um

organismo autotrófico, promovendo colonização eficaz do ambiente (MAYER; POLJAKOFF-MAYBER, 1975; RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2007;).

O estabelecimento adequado de plântulas depende fortemente das condições ambientais (regimes de umidade, temperatura e luz). Todavia, mesmo em ambientes onde as condições favoráveis prevalecem, outros fatores podem decidir o sucesso ou fracasso da germinação e estabelecimento (como, por exemplo, heranças genéticas relacionadas com os processos de desenvolvimento das sementes nas plantas-mãe) (HADAS, 2005).

Segundo Marques *et al* (2011), a emergência e o estabelecimento da plântula de cajueiro-anão precoce (*Anacardium occidentale* L.) foram retardados com o aumento da salinidade no meio de crescimento, uma vez que, os íons advindos da salinidade, e conseqüentemente, o estresse osmótico, são os responsáveis tanto pela inibição quanto pela demora na germinação e estabelecimento das plântulas (Almansouri *et al.* 2001).

As plântulas correspondem a uma etapa muito delicada do ciclo de vida vegetal, sendo seu estabelecimento uma das fases de desenvolvimento mais sensíveis às condições ambientais, contribuindo consideravelmente para um melhor desempenho das plantas adultas em campo, e sendo fator extremamente importante na determinação da produtividade das culturas cultivadas (ALI *et al.*, 2017).

2.4 Metabolômica como ferramenta para o estudo de estresses em plantas

A metabolômica é definida como o estudo (avaliação, identificação e quantificação) e análise essencialmente abrangente, de todos os metabólitos de baixo peso molecular em um determinado organismo (ARBONA *et al.*, 2009; ARBONA *et al.*, 2013; HALL *et al.*, 2002). Nos últimos anos, essa técnica vem ganhando interesse como ferramenta de diagnóstico do desempenho de plantas para fins de melhoramento genético e de cultivo, tendo em vista que os metabólitos são os primeiros compostos a sinalizar mudanças no ambiente e a provocarem no organismo (juntamente com as proteínas e genes) as alterações necessárias para garantir sua aclimação às condições ambientais (BING, 1971; VILLATE *et al.*, 2021).

As plantas produzem uma grande variedade de metabólitos primários (essenciais nas vias metabólicas, e relacionados com crescimento e reprodução) e metabólitos secundários (essenciais para interações ecológicas e defesa) que podem apresentar grande flexibilidade fenotípica em muitas espécies (BARRETT *et al.*, 2021; SILVA, 2016).

Quando as plantas são submetidas ao estresse, elas sintetizam diversos tipos de metabólitos primários e secundários para se aclimatar (VILLATE *et al.*, 2021). Diante disto, a comparação entre os estudos de metabolômica de estresses oriundos de fatores distintos (desidratação, salinidade, luz, calor) possibilitou a identificação de metabólitos que estão envolvidos nos mecanismos de resposta ao estresse abiótico ou que são específicos para cada estresse (CRAMER *et al.*, 2011).

Segundo Arbona *et al* (2013), para entender o que resulta no fenótipo real de determinado organismo e compreender as respostas das plantas aos estímulos ambientais, é necessário que haja uma integração entre os estudos de transcritos de RNA, proteínas e metabólitos. Enquanto as expressões gênica e proteica representam o potencial das plantas para responder a condições adversas, os metabólitos são responsáveis por estabelecer a verdadeira integração desses dois aspectos, adicionando-os à influência do meio ambiente.

Diferentes métodos de identificação estão disponíveis para análise metabolômica, dentre estes, os mais conhecidos e amplamente utilizados, são: Cromatografia Líquida associada a espectrometria de massas (LC-MS do Inglês, *Liquid chromatography–mass spectrometry*), Ressonância Magnética Nuclear (NMR do Inglês, *Nuclear magnetic resonance*) e Cromatografia Gasosa associada à Espectrometria de massas (GC-MS do Inglês, *Gas chromatography-mass spectrometry*), *Liquid chromatography–mass spectrometry* (LC-MS), *Nuclear magnetic resonance* (NMR) e (BOWNE *et al.*, 2011; SILVA, 2016).

Todavia, fazendo uma análise entre os métodos citados anteriormente, o GC-MS apresenta-se como o método mais utilizados para a obtenção de dados metabolômicos (HALL *et al*, 2002). Isto deve-se ao fato deste equipamento oferecer larga cobertura dos analitos, fácil identificação dos compostos, e excelente poder de separação e reprodutibilidade (SILVA, 2016; BOWNE *et al.*, 2011). Além disso, GC-MS é mais barato de operar, tem um custo de aquisição de capital menor quando comparado com outras técnicas, e possui métodos facilmente adaptáveis, que foram descritos para a análise de um grande número de metabólitos diferentes em muitos sistemas de planta (BOWNE *et al.*, 2011).

Diante disso, foi testada a hipótese de que os diferentes genótipos CSF18 e CSF20, apresentam diferentes modulações metabólicas que contribuem para o mecanismo de tolerância ao estresse salino durante o crescimento da plântula.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Material vegetal, condições de crescimento e desenho experimental

No presente estudo, foram avaliados dois genótipos de sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] conhecidas por sua sensibilidade diferenciada, em relação estresse salino. O genótipo CSF18 é sensível ao sal, enquanto o genótipo CSF20 apresenta tolerância durante as fases adultas (LACERDA, 2000). Entretanto, durante as fases iniciais de desenvolvimento, o genótipo CSF18 apresenta germinação e vigor superiores em relação aos do genótipo CSF20, quando submetidos ao déficit hídrico e a salinidade (OLIVEIRA; GOMES FILHO, 2009). As sementes de sorgo dos dois genótipos foram obtidas junto ao Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), Brasil. Antes da semeadura, as sementes foram descascadas e sanitizadas por meio de imersão numa solução de hipoclorito de sódio a 2% por 5 min, após isso, as sementes foram enxaguadas com água destilada.

Dois experimentos foram realizados conforme descrito a seguir, um para a cultivar CSF18 e outro para a cultivar CSF20. Cada experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 5 (dois níveis de salinidade x cinco tempos de avaliação) com quatro repetições, contendo dez plântulas cada. Os níveis de salinidade foram 0 mM de NaCl e 75 mM de NaCl, e os tempos de avaliação foram 0, 24, 48, 72, e 96 horas após tratamento (HAT) de salinidade aplicado. As análises de íons e metabolôma foram avaliadas de “24 até 96 HAT”.

Para cada tratamento, as sementes foram dispostas em papéis germitest esterilizados, mantidas em câmara de Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) com temperatura constante de 30 °C ao dia e 25 °C à noite, umidade relativa de 90% e fotoperíodo de 12 horas (QUEIROZ *et al.*, 2020). Três dias após a semeadura, as plântulas uniformes foram selecionadas e, transferidas para um novo papel germitest autoclavado umedecido, contendo 20 mL de solução nutritiva meia força (CLARK, 1975), visando o fornecimento dos macros e micronutrientes essenciais as plantas. Para o estresse salino, foram adicionados aos papéis germitest 75mM de NaCl (cloreto de sódio) e em seguida, os tratamentos foram organizados, conforme descrito anteriormente, e retornaram à câmara DBO.

Metade das plântulas foram coletadas para análise dos tratamentos salinos, nos tempos previamente citados e utilizadas para determinação de matéria fresca (parte aérea e raiz) e seca (massa seca). A outra metade foi congelada em nitrogênio líquido e armazenadas em -80°C, para análises metabólicas posteriores.

3.2 Parâmetros morfológicos

Após a exposição ao estresse salino, as plântulas de sorgo foram fotografadas em cada tempo de coleta e separadas em parte aérea e radicular. O comprimento da parte aérea e raízes foram medidos no *software ImageJ* (RASBAND, 1997). A obtenção da matéria fresca, foi realizada no ato da coleta, com a separação das partes vegetais, visando mitigar a possibilidade de perda de umidade por parte das plântulas. Já para massa seca, os tecidos vegetais foram mantidos em estufa por 3 dias a 60°C e obtidas por meio da pesagem de ambas as partes, separadamente, em balança eletrônica de precisão.

3.3 Determinação de solutos inorgânicos

Amostras secas da parte aérea e das raízes das plântulas foram maceradas com almofariz e pistilo, até formar um pó fino e uniforme. Após isso, foram pesados 20 mg do produto resultante desta maceração, e foram adicionados 2 mL de água deionizada em micro tubos. Posteriormente, os micro tubos foram mantidos incubados em banho-maria a 75 °C durante 1h, com agitações a cada 20 minutos. As suspensões foram então centrifugadas a $3.000 \times g$ por 10 minutos numa temperatura de 25 °C, e os sobrenadantes foram coletados e dispostos em novos micro tubos, enquanto o precipitado foi devidamente descartado. Em seguida, os sobrenadantes foram armazenados à -20 °C até sua posterior utilização. Os conteúdos de Na⁺ e K⁺ foram determinados com o auxílio de um fotometro de chama (Micronal®, modelo B462, Brasil) de acordo com Malavolta et al. (1997).

3.4 Análise metabolômica

A extração e derivatização dos metabólitos foram realizadas de acordo com Lisee *et al.* (2006) com modificações. Amostras frescas da parte aérea e raízes foram maceradas em nitrogênio líquido e 50 mg do material vegetal pulverizado foram homogeneizados em solução extratora (700 µL de metanol, 375 µL de clorofórmio e 750 de água ultrapura). Em cada amostra, 30 µL de ribitol a 0,2 mg/mL foram adicionados como padrão interno. As amostras foram incubadas em uma Thermomix por 15 min a 70°C com agitação de 350 rpm. Em seguida, o homogeneizado foi centrifugado por 10 min a 12.000 x g. O sobrenadante coletado foi submetido a uma divisão em 375 µL de clorofórmio puro e 750 µL de água Milli-Q. Na ocasião, a mistura foi homogeneizada em vórtex e centrifugada por 15 min a 2.200 x g, sendo coletado um volume de 150 µL da porção superior (polar). Posteriormente, a fase polar da partição foi seca em SpeedVac durante a noite e, após isso, armazenada a -80 °C.

Os metabólitos da fração polar foram derivatizados pela adição de 20 μL de solução de cloridrato de metoxiamina (20mg ml^{-1} em piridina). A mistura foi agitada em Thermomix ajustado a 37°C, durante 2 horas, com rotação de 550 rpm. Após esse período, foram adicionados 35 μL de N-metil-N-trimetilsilil-trifluoroacetamida (MSTFA), sendo a mistura novamente agitada em Thermomix ajustado para 37 °C por 30 min, com rotação de 550 rpm. A detecção e quantificação relativa dos metabólitos foram feitas usando um cromatógrafo gasoso, acoplado ao espectrômetro de massas (GCMS, modelo QP2010, Shimadzu, Tóquio, Japão). Um microlitro da amostra derivatizada foi injetado na coluna capilar RTX-5MS (30m x 0,25 mm x 0,25 μm , ResteK, Bellefonte, EUA), a um fluxo de gás hélio de 1,2 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, injeção em modo dividido (proporção de 1:5), com temperatura de injeção e interface de 230 °C e temperatura da fonte de íons de 250 °C. A corrida cromatográfica foi ajustada a partir de uma temperatura de 80 °C por 2 min, seguida de uma rampa de aquecimento de 10°C min^{-1} a 315°C, com manutenção da temperatura por 8 min.

Cada cromatograma e espectro de massas foram avaliados no programa Xcalibur™ 2.1 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA) de acordo com Roessner *et al.* (2001). A identificação dos compostos foi baseada em seus tempos de retenção e fragmentação do espectro de massas em comparação com os espectros de massas padrão na biblioteca de metabólitos internos e no banco de dados de metabolomas de Golm. O valor relativo de cada metabólito foi determinado pela divisão de suas respectivas áreas de pico pela área de pico do padrão interno (ribitol, Sigma-Aldrich) e, a seguir, dividido pela massa fresca da amostra.

3.5 Análise estatística

Os dados fisiológicos e bioquímicos foram submetidos a um teste de normalidade (teste de Shapiro-Wilk) antes da análise de variância (ANOVA) bidirecional. O teste de Sidak foi aplicado para comparar as médias das variáveis para um teste F significativo a 5% para o tratamento salino dentro de cada tempo de avaliação e uma análise de regressão foi aplicada para avaliar as alterações no tempo para cada tratamento salino. O software utilizado para análise estatística foi o GraphPad Prism 8.0 (www.graphpad.com).

Os valores de abundância relativa dos metabólitos foram processados no MetabolAnalyst 5.0 (<https://www.metaboanalyst.ca>). Os dados foram submetidos à transformação em log e centrados na média antes de serem submetidos à ANOVA unidirecional e ao teste de Tukey ($p < 0,01$). Além disso, os dados metabolômicos transformados foram submetidos à análise quimiométrica [sPLS-DA (análise discriminante por mínimos quadrados parciais esparsos)].

4 RESULTADOS

O desenvolvimento da parte aérea e radicular das plântulas de sorgo tanto da cultivar CSF18, quanto da CSF20, foram ligeiramente afetadas, mas de forma distinta pelo estresse salino ao longo dos tempos avaliados, conforme análise das curvas de regressão (Figura 1). Na cultivar CSF18, quando comparadas ao tratamento controle, o estresse salino reduziu o comprimento da parte aérea em 22,2%, diferindo significativamente entre o tratamento salino e controle apenas nos tempos de 72 e 96 HAT (Figura 1a), enquanto o comprimento do sistema radicular, não sofreu efeito significativo da salinidade em nenhum dos tempos avaliados (Figura 2b). Já na cultivar CSF20, o estresse salino reduziu a taxa de crescimento do comprimento da parte aérea em 20,58%, com diferença significativa dentro de todos os tempos avaliados, a partir de 24 HAT (Figura 1c). Enquanto que o comprimento do sistema radicular da cv. CSF 20, apresentou diferença significativa entre as plântulas expostas à ambos os tratamentos à partir dos tempos de 48, 72 e 96 HAT (Figura 1d).

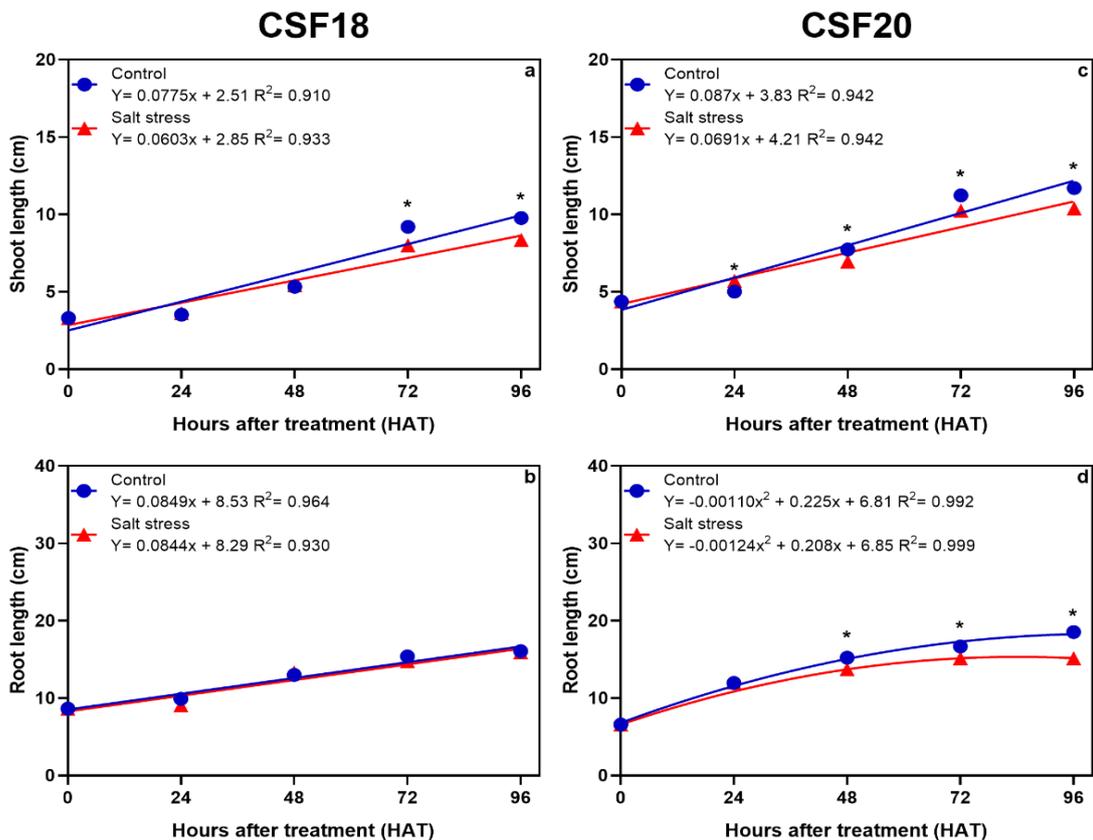


Figura 1 – Curvas de regressão para comprimento (em centímetros) da parte aérea (*shoot length*) e raiz (*root length*) de plântulas de sorgo cv. CSF18 e CSF20 sob condições salinas (*salt stress*) e não salinas (*control*), avaliadas nos tempos de 0, 24, 48, 72 e 96 horas após tratamento (HAT). As plântulas com três dias após semeadura correspondem ao tempo zero de tratamento. Comprimento da parte aérea (a) e raiz (b) da cultivar CSF18, e comprimento da parte aérea (c) e raiz (d) da cultivar CSF20. O asterisco indica diferença significativa entre os tratamentos salinos e não salinos dentro de cada tempo de avaliação pelo teste de Sidak ($p < 0,05$).

Não houve diferença significativa na massa fresca da parte aérea da cultivar CSF18, entre os tratamentos salino e não-salino, exceto no tempo de 96 HAT (Figura 2a); entretanto, a massa seca diferiu significativamente entre ambos os tratamentos, em grande parte dos tempos avaliados, exceto nos tempos iniciais (0 e 24 HAT), sendo maior nas plantas sob estresse salino (Figura 2b). Na cultivar CSF20, os valores referentes a massa fresca da parte aérea, não diferiram significativamente entre os tratamentos estudados, em todos os tempos avaliados (Figura 2c); e os valores de massa seca da raiz demonstraram diferença significativa entre os tratamentos, apenas no tempo de 96 HAT (Figura 2d).

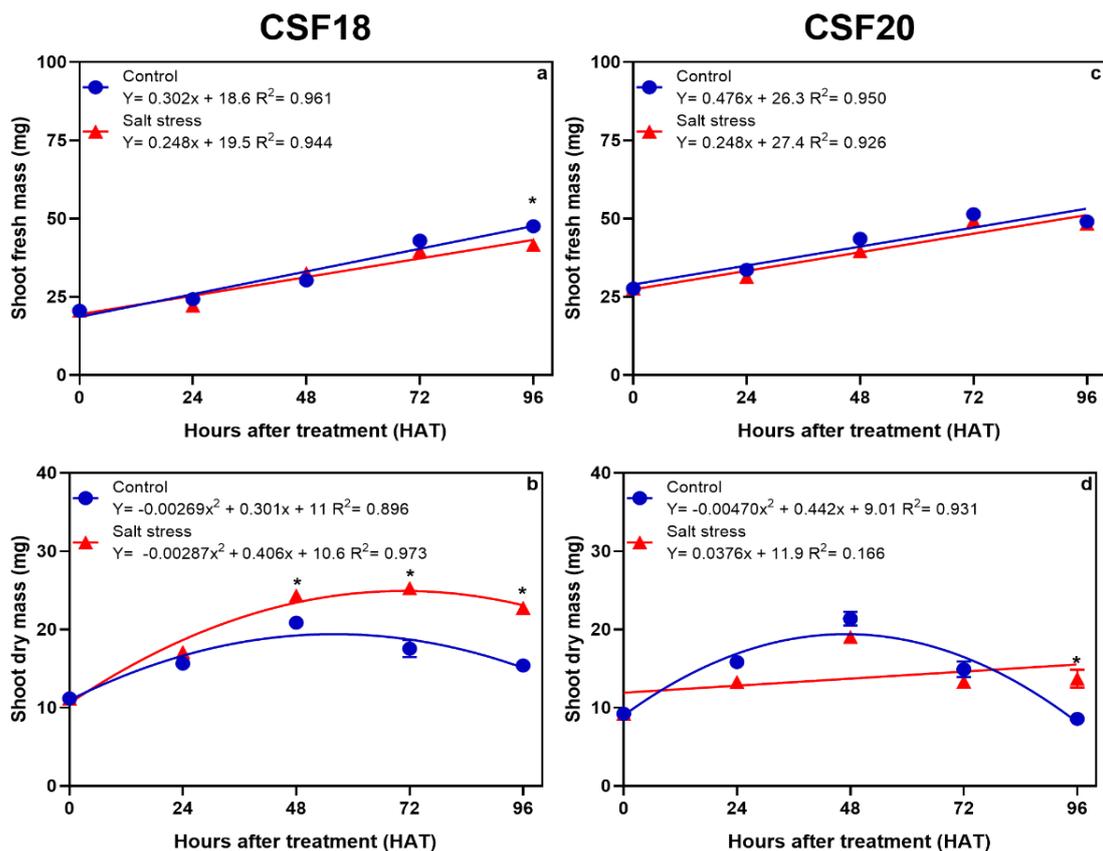


Figura 2 – Curvas de regressão para massa fresca (*shoot fresh mass*, em mg) e massa seca (*shoot dry mass*, em mg) da parte aérea de plântulas de sorgo cv. CSF18 e CSF20 sob condições salinas (*salt stress*) e não salinas (*control*), avaliadas nos tempos de 0, 24, 48, 72 e 96 horas após tratamento (HAT). As plântulas com três dias após semeadura correspondem ao tempo zero de tratamento. Massa fresca (a) e massa seca (b) da parte aérea da cultivar CSF18. Massa fresca (c) e massa seca (d) da parte aérea da cultivar CSF20. O asterisco indica diferença significativa entre os tratamentos salinos e não salinos dentro de cada tempo de avaliação pelo teste de Sidak ($p < 0,05$).

Não houve interação significativa entre os tratamentos salino e não-salino, dentro dos tempos de avaliação, para as massas fresca e seca das raízes de ambas cultivares (Figura 3).

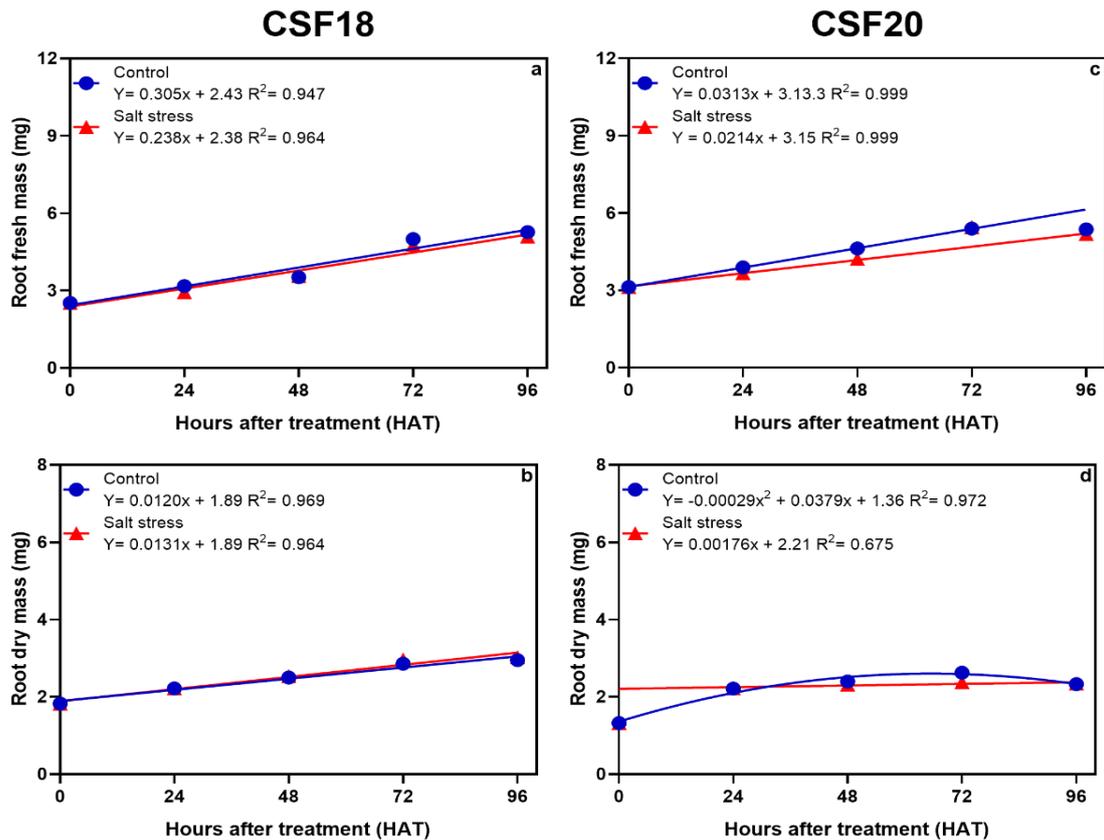


Figura 3 – Curvas de regressão para massa fresca (root fresh mass, em mg) e massa seca (root dry mass, em mg) da raiz de plântulas de sorgo cv. CSF18 e CSF20 sob condições salinas (salt stress) e não salinas (control), avaliadas nos tempos de 0, 24, 48, 72 e 96 horas após tratamento (HAT). As plântulas com três dias após semeadura correspondem ao tempo zero de tratamento. Massa fresca (a) e massa seca (b) da raiz da cultivar CSF18. Massa fresca (c) e massa seca (d) da parte aérea da cultivar CSF20. O asterisco indica diferença significativa entre os tratamentos salinos e não salinos dentro de cada tempo de avaliação pelo teste de Sidak ($p < 0,05$).

Houve aumento significativo no conteúdo de Na^+ no tratamento contendo estresse salino em comparação com tratamento controle (sem sal), dentro de todos os tempos avaliados. E esse comportamento foi observado tanto na parte aérea da cultivar CSF18, quanto na parte aérea da cultivar CSF20 (Figura 4a, d). Já os valores referentes ao íon K^+ demonstraram resultado oposto. A parte aérea de ambos os genótipos apresentaram diminuição significativa dos teores de K^+ no tratamento com estresse salino, em comparação com o tratamento controle, dentro de todos os tempos avaliados (Figura 4b, e). Por fim, no que se refere a relação K^+/Na^+ , na parte aérea do CSF18 e CSF20 os resultados indicaram diferença significativa entre os tratamentos, dentro de todos os tempos. Os valores dessa relação foram maiores no tratamento controle, do que no tratamento salino (Figura 4c, e). Sendo que no genótipo CSF18 a relação entre K^+/Na^+ tende a ser maior do que no genótipo CSF20.

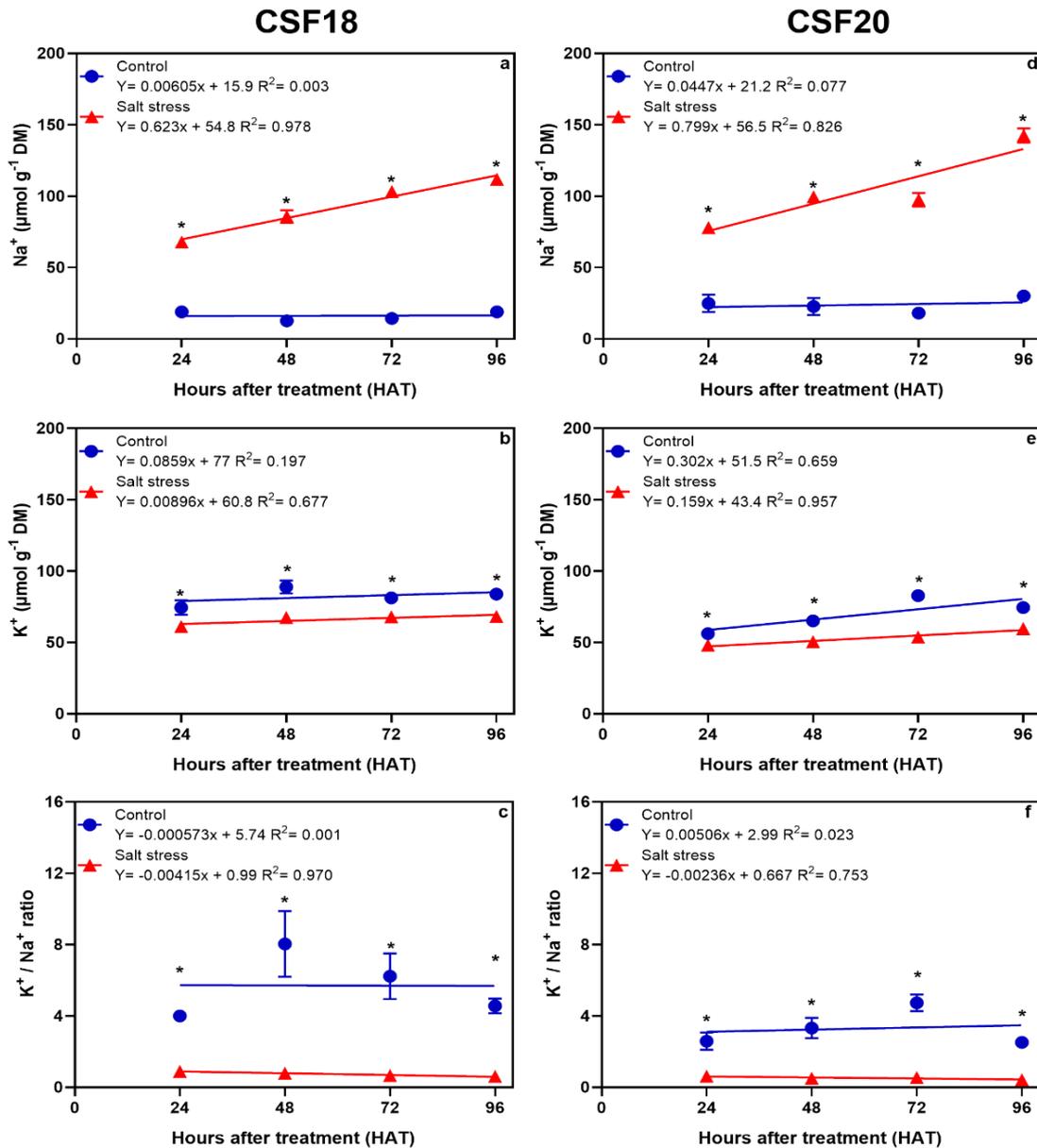


Figura 4 – Curvas de regressão para os teores dos íons Na⁺ e K⁺ (expressos em μmol.g⁻¹), e para a relação K⁺/Na⁺ na parte aérea de plântulas de sorgo cv. CSF18 e CSF20 sob condições salinas (salt stress) e não salinas (control), avaliadas nos tempos de 0, 24, 48, 72 e 96 horas após tratamento (HAT). Teores dos íons Na⁺ (a) e K⁺ (b), e relação K⁺/Na⁺ (c) da parte aérea da cultivar CSF18. Teores dos íons Na⁺ (d) e K⁺ (e), e relação K⁺/Na⁺ (f) da parte aérea da cultivar CSF20. O asterisco indica diferença significativa entre os tratamentos salinos e não salinos dentro de cada tempo de avaliação pelo teste de Sidak ($p < 0,05$).

No sistema radicular, os teores de Na⁺ e K⁺ encontrados, apresentam comportamento semelhante para ambos os genótipos. Ou seja, existe uma diferença significativa entre os valores encontrados no tratamento controle e no tratamento com sal, dentro de cada tempo avaliado, e estes valores são maiores para o tratamento com sal (Figura 5a, d). Os valores do íon K⁺ não apresentam diferença significativa no tempo de 72 HAT, tanto na cultivar CSF18, quanto na cultivar CSF20 (Figura 5b, e). A relação K⁺/Na⁺, apresenta

valores maiores para o tratamento controle nas raízes de ambas as cultivares avaliadas. Com interação significativa dentro de todos os tempos avaliados, para ambos os genótipos (Figura 5c, f).

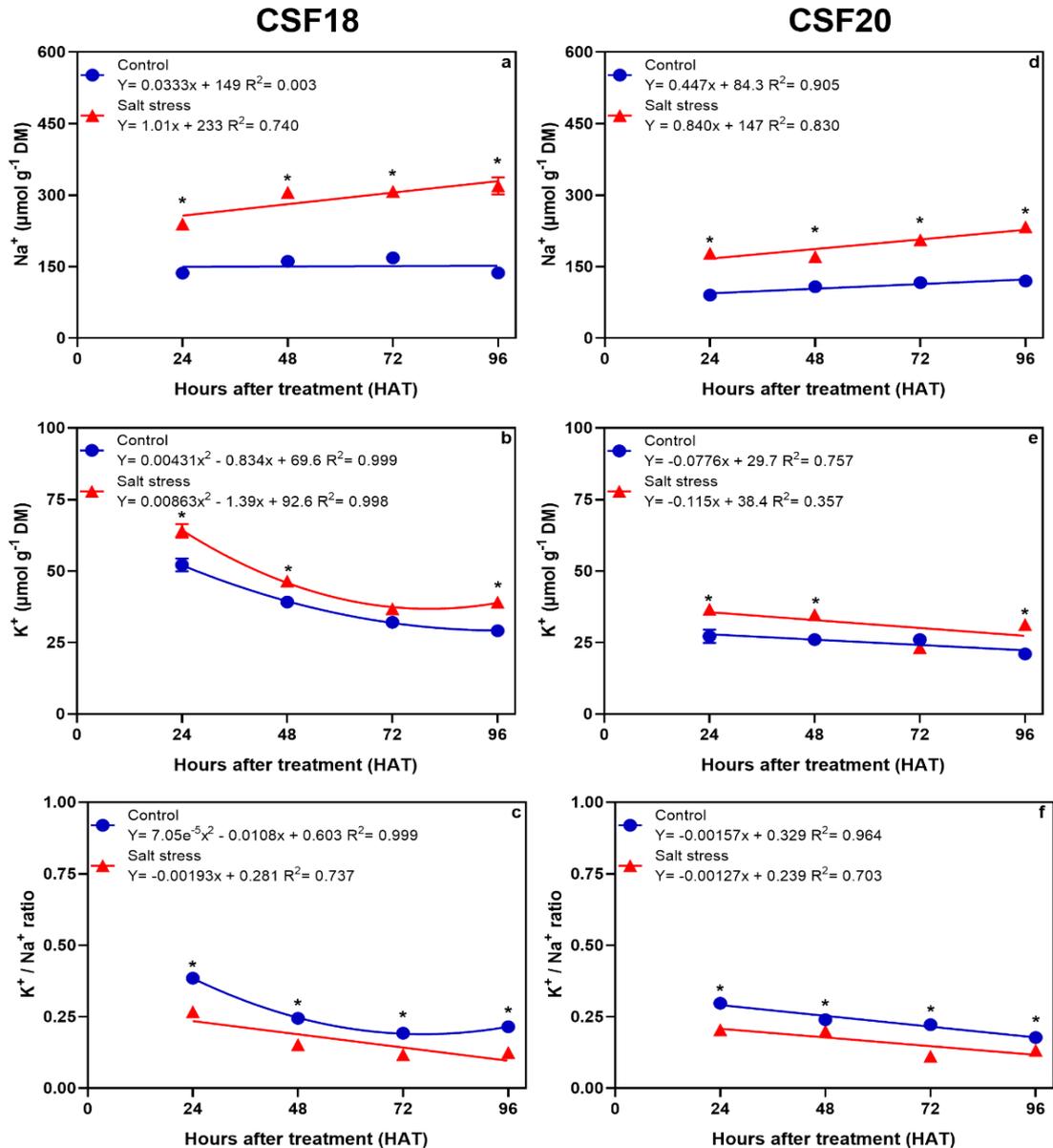


Figura 5 - Curvas de regressão para os teores dos íons Na⁺ e K⁺ (expressos em μmol.g⁻¹), e para a relação K⁺/Na⁺ na raiz de plântulas de sorgo cv. CSF18 e CSF20 sob condições salinas (*salt stress*) e não salinas (*control*), avaliadas nos tempos de 0, 24, 48, 72 e 96 horas após tratamento (HAT). Teores dos íons Na⁺ (a) e K⁺ (b), e relação K⁺/Na⁺ (c) da raiz da cultivar CSF18. Teores dos íons Na⁺ (d) e K⁺ (e), e relação K⁺/Na⁺ (f) da raiz da cultivar CSF20. O asterisco indica diferença significativa entre os tratamentos salinos e não salinos dentro de cada tempo de avaliação pelo teste de Sidak ($p < 0,05$).

Através da cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC-MS), foram e identificados, nas plântulas do CSF18 e CSF20, 75 metabólitos (Tabela S1). Com isso, foi realizada a Análise discriminante por mínimos quadrados parciais esparsos (sPLS-DA) dos perfis metabólicos nas partes aérea e radicular das cultivares de sorgo, sob condições não-salinas (controle) e salinas, avaliadas nos tempos de 24, 48, 72 e 96 HAT.

No sPLS-DA dos perfis metabólicos da cv. CSF18, os componentes 1 e 2 explicaram 37,1 e 14,7% da variância entre dados avaliados, respectivamente (Figura 6a), com taxa de erros estimada em 9,4% (Figura 6b). Observou-se boa separação entre os tratamentos salino e não-salino, com exceção de uma pequena sobreposição no tempo de 24 HAT (Figura 6a). Também houve estreitas sobreposições entre os tempos 48 e 72 HAT no tratamento salino, e entre 72 e 96 HAT no tratamento controle (sem sal) (Figura 6a). No sPLS-DA da cv. CSF20, os componentes 1 e 2 explicaram 31,7 e 13,8% da variância entre os dados avaliados, respectivamente (Figura 7a), com taxa de erro estimada em 18,8% (Figura 7b). Foi evidenciada separação entre os tratamentos salino e não-salino, com exceção de uma pequena sobreposição no tempo de 24 HAT (Figura 7a). Além disso, houve ocorrência de sobreposição entre os tempos 48 e 72 HAT, dentro do tratamento controle (sem sal) (Figura 7a).

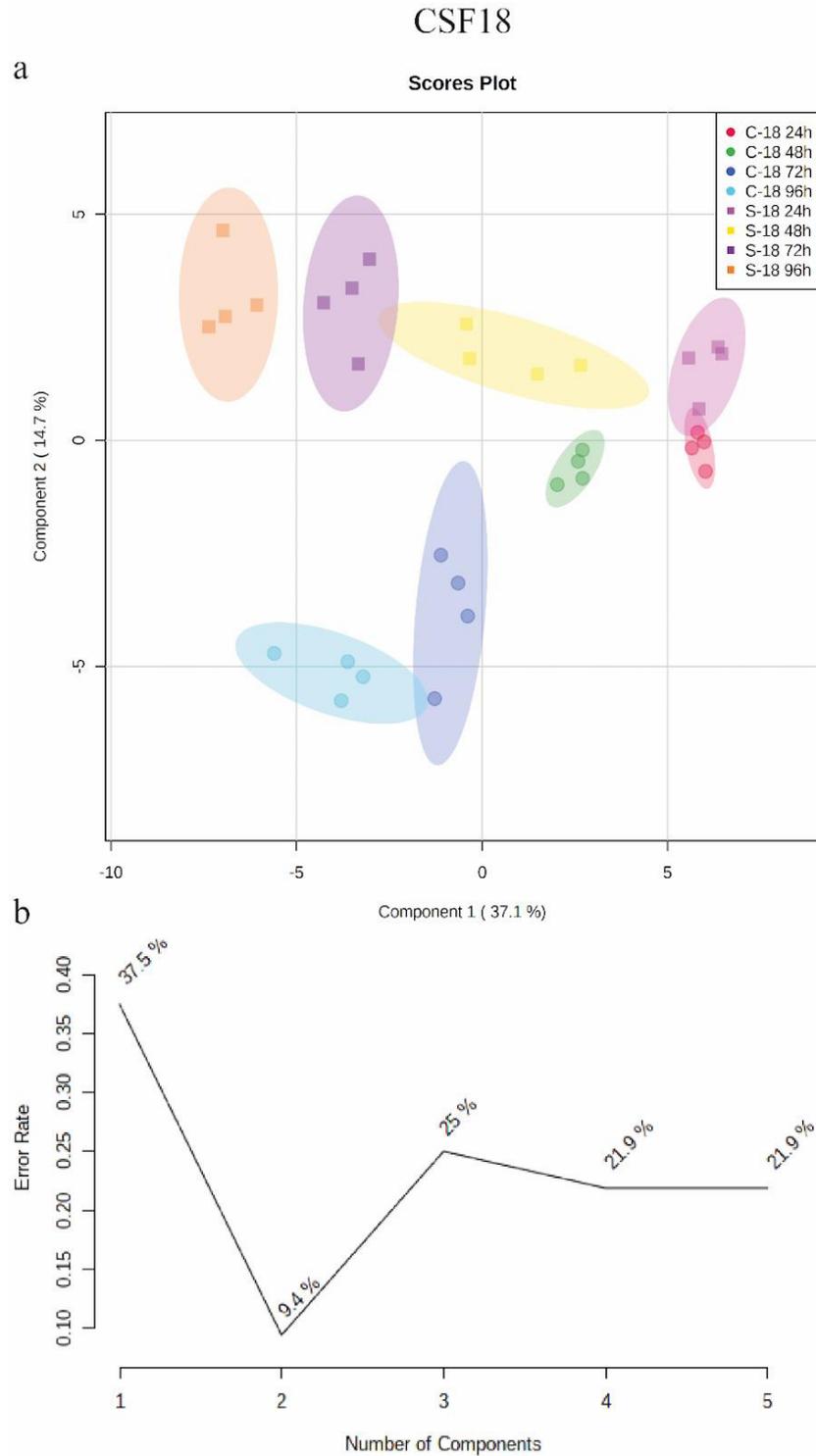


Figura 6 - Análise discriminante por mínimos quadrados parciais esparsos (sPLS-DA) dos perfis metabólicos em parte aérea (S) e raízes (R) de sorgo cv. CSF18 sob condições não salinas (controle) e salinas por avaliadas nos tempos de 0, 24, 48 72 e 96 horas após tratamento (HAT). Plotagem de pontuação (**a**, *Scores plot*), taxas de erro de classificação do sPLS-DA (**b**, *sPLS-DA classification error rates*) do primeiro e segundo componentes. Grupos analisados foram plantas sob condição controle avaliadas com 24HAT (C-18-24h), 48HAT (C-18-48h), 48HAT (C-18-48h), 72HAT (C-18-72h), e 96HAT (C-18-96h), e plantas sob condição salina avaliadas com 24HAT (C-18-24h), 48HAT (C-18-48h), 48HAT (C-18-48h), 72HAT (C-18-72h), e 96HAT (C-18-96h). Todos os dados foram transformados em log e centrados na média para análise quimiométrica (sPLS-DA) por MetabolAnalyst 5.0.

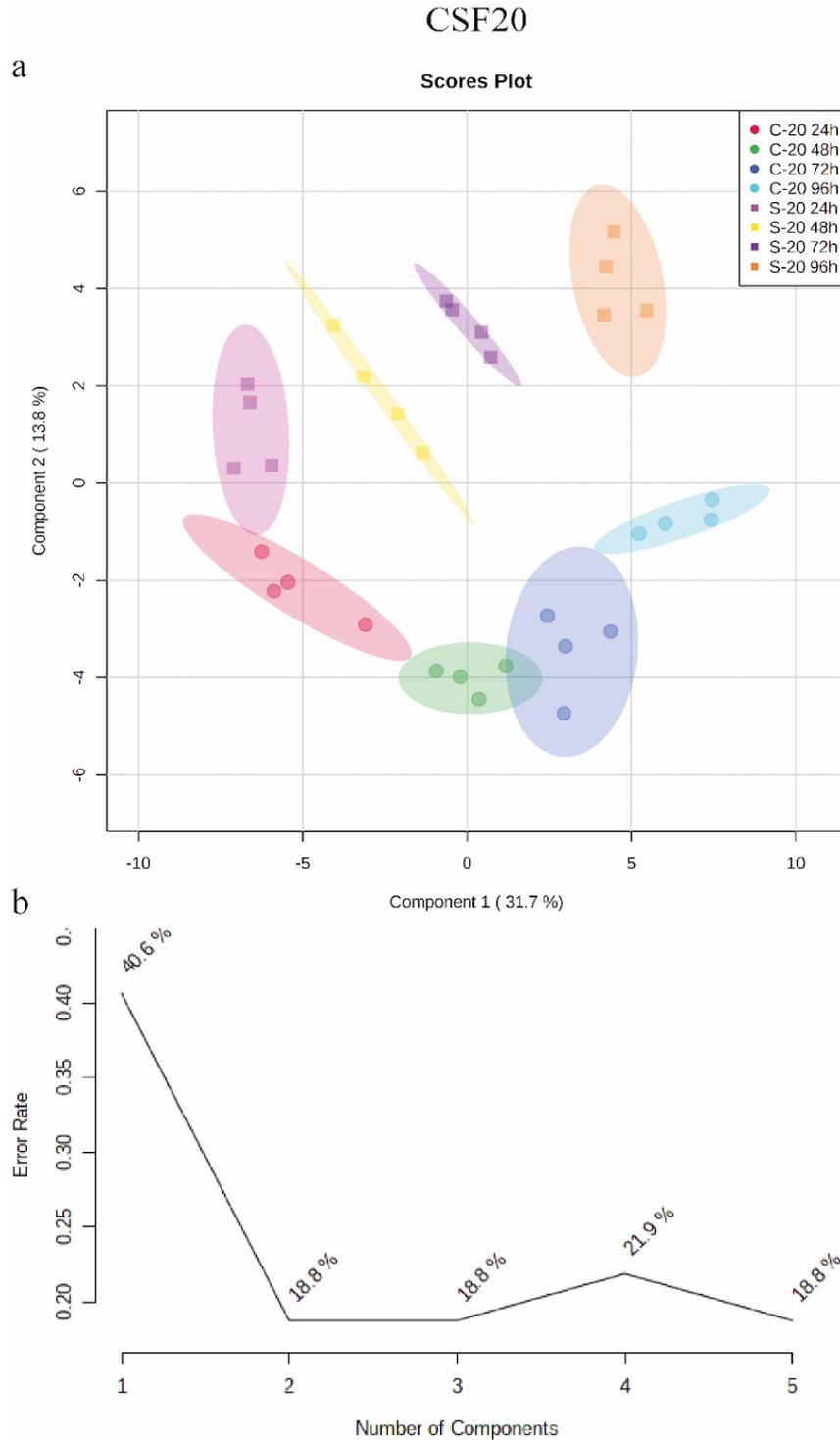


Figura 7 – Análise discriminante por mínimos quadrados parciais esparsos (sPLS-DA) dos perfis metabólicos em parte aérea (S) e raízes (R) de sorgo cv. CSF20 sob condições não salinas (controle) e salinas por avaliadas nos tempos de 0, 24, 48, 72 e 96 horas após tratamento (HAT). Plotagem de pontuação (**a**, *scores plot*), taxas de erro de classificação do sPLS-DA (**b**, *sPLS-DA classification error rates*) do primeiro e segundo componentes. Grupos analisados foram plantas sob condição controle avaliadas com 24HAT (C-20-24h), 48HAT (C-20-48h), 48HAT (C-20-48h), 72HAT (C-20-72h), e 96HAT (C-20-96h), e plantas sob condição salina avaliadas com 24HAT (C-20-24h), 48HAT (C-20-48h), 48HAT (C-20-48h), 72HAT (C-20-72h), e 96HAT (C-20-96h). Todos os dados foram transformados em log e centrados na média para análise quimiométrica (sPLS-DA) por MetabolAnalyst 5.0.

Foram selecionados os 30 metabólitos que mais contribuem para construir os componentes latentes, que explicam a discriminação mais significativa entre os tempos (24, 48, 72 e 96 HAT) e os tratamentos de sal e controle, tanto para cv. CSF18 (Figura 8), quanto para cv. CSF20 (Figura 9). De acordo os gráficos de carregamento da sPLS-DA das cultivares CSF18 e CSF20, dentre os 30 metabólitos, os grupos que mais contribuíram para a separação no “componente 1” foram os carboidratos, seguidos pelos ácidos orgânicos e aminoácidos. O mesmo ocorre para o “componente 2” de ambas as cultivares, diferindo apenas na quantidade de metabólitos pertencentes a cada grupo. É possível observar uma estreita relação entre o componente 1 e os tempos avaliados (24, 48, 72 e 96 HAT). Enquanto, o componente 2, demonstra estar mais relacionado com a distinção e separação entre os tratamentos aos quais as plântulas foram expostas.

Os gráficos de carregamento da sPLS-DA da cv. CSF18 mostra os 30 metabólitos que mais contribuem para a separação dos tratamentos avaliados em cada componente (Figura 8). Para CSF18 os metabólitos que mais contribuíram para discriminação no componente 1 nas raízes, foram frutose-6-fosfato, inositol-1-fosfato, glicose-6-fosfato, ácido quínico e ácido chiquímico. enquanto na parte aérea, foram o ácido quínico, palatinose, sorbose, frutose e ácido chiquímico. (Figura8a). Tais metabólitos diminuem ao longo do tempo e isso ocorre mais intesamente nas plantas sob salinidade. Já para discriminação no componente 2 nas raízes, os principais metabólitos foram ácido galactônico, ácido pirúvico, glutamina, ribulose-5-fosfato e lactitol; na parte aérea, foram ácido cítrico, ácido aconítico, ácido glucônico, glutamina e ácido fosfórico (Figura 8b). A abundância desses metabólitos variam ao longo do tempo, mas em geral, diminuem com a salinidade, com excessão ácido galactônico na raiz e da glutamina na parte aérea que apresentam valores positivos especialmente nos últimos tempos avaliados.

O gráfico de carregamento da sPLS-DA da cv. CSF20 mostrou a contribuição de cada metabólito para a separação dos tratamentos avaliados em cada componente (Figura 9). Em CSF20 os metabólitos que mais contribuíram para discriminação no componente 1, foram ácido quínico, frutose, sorbose, ácido gulônico e ácido piroglutâmico, na parte aérea; e ácido aconítico, inositol-1-fosfato, ácido chiquímico, glicose-6-fosfafo e ácido piroglutâmico nas raízes (Figura 9a). Esses metabólitos diminuem ao longo do tempo e isso é mais pronunciado sob salinidade, especialmente apos 96 HAT. Para discriminação no componente 2, os metabólitos contribuintes foram galactinol, ribulose-5-fosfato, ácido fosfórico, ácido aspártico e ácido cítrico, nas raízes; e ácido fosfórico, ácido cítrico, triptofano, ácido aconítico e trealose, na parte aérea (Figura 9b).

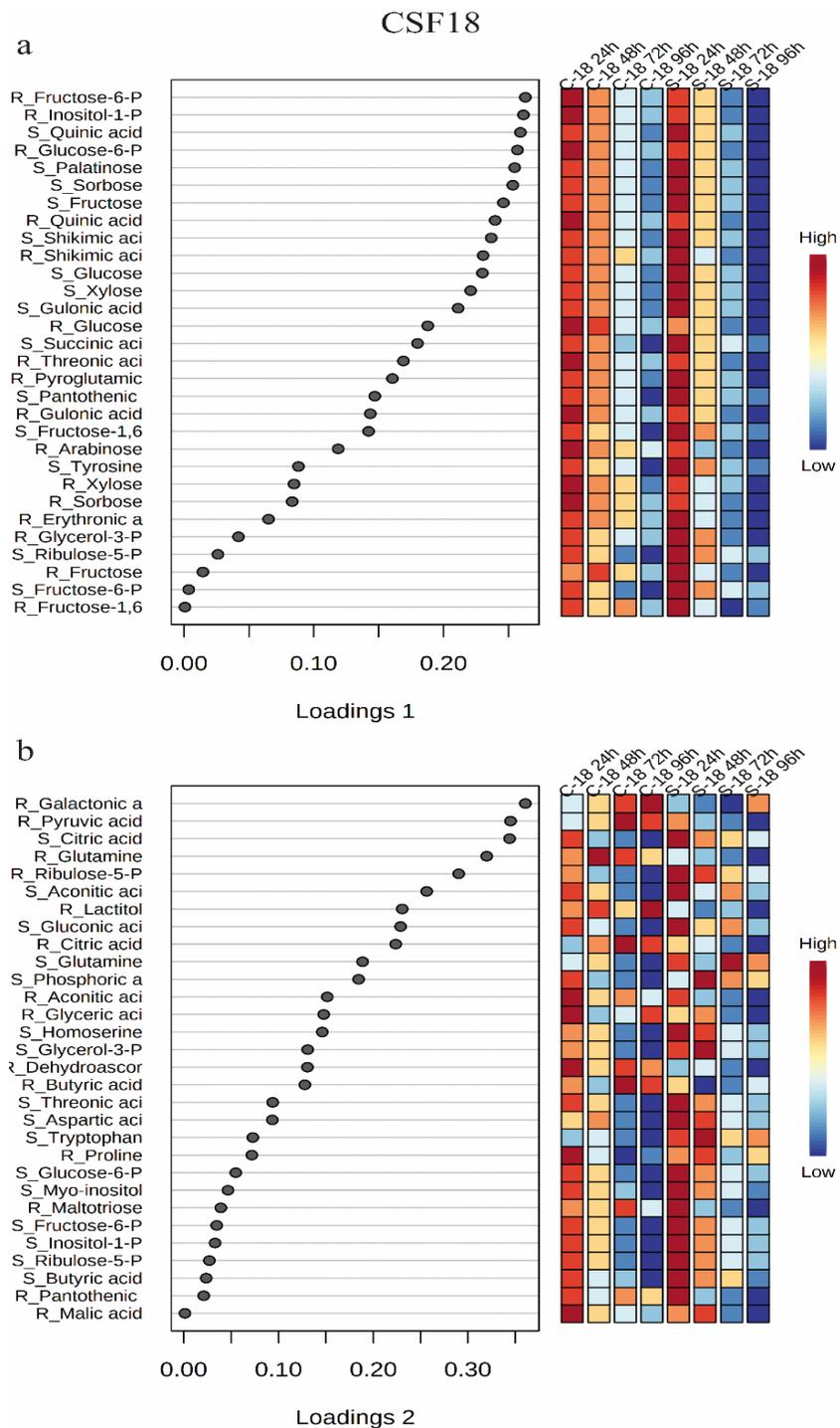


Figura 8 – Gráficos de carregamento da análise discriminante por mínimos quadrados parciais esparsos (sPLS-DA) dos perfis metabólicos em parte aérea (S) e raízes (R) de sorgo cv. CSF18 sob condições não salinas (controle) e salinas por avaliadas nos tempos de 0, 24, 48, 72 e 96 horas após tratamento (HAT). Gráfico de carregamento (Loading plot) para o componente 1 (**a**, *Loading 1*) e o componente 2 (**b**, *Loading 2*) mostra os trinta metabólitos que mais contribuíram para a separação em cada componente do sPLS-DA e sua contribuição em valor absoluto. Quadrados vermelhos ou azuis à direita indicam a abundância alta e baixa do metabólito correspondente em cada tratamento, respectivamente. Grupos analisados foram plantas sob condição controle avaliadas com 24HAT (C-18-24h), 48HAT (C-18-48h), 48HAT (C-18-48h), 72HAT (C-18-72h), e 96HAT (C-18-96h), e plantas sob condição salina avaliadas com 24HAT (C-18-24h), 48HAT (C-18-48h), 48HAT (C-18-48h), 72HAT (C-18-72h), e 96HAT (C-18-96h). Todos os dados foram transformados em log e centrados na média para análise quimiométrica (sPLS-DA) por MetabolAnalyst 5.0.

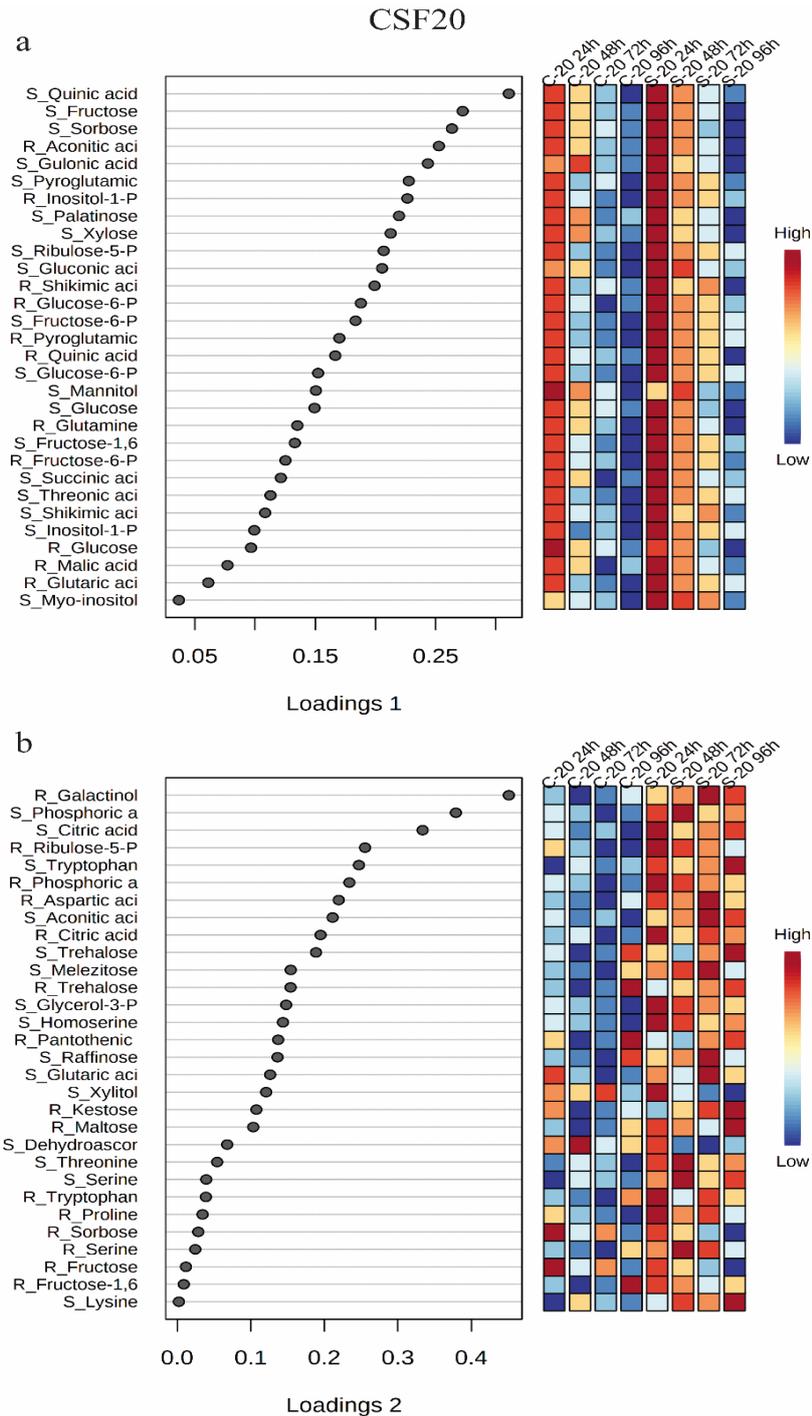


Figura 9 – Gráficos de carregamento da análise discriminante por mínimos quadrados parciais esparsos (sPLS-DA) dos perfis metabólicos em parte aérea (S) e raízes (R) de sorgo cv. CSF20 sob condições não salinas (controle) e salinas por avaliadas nos tempos de 0, 24, 48, 72 e 96 horas após tratamento (HAT). Gráfico de carregamento (*Loading plot*) para o componente 1 (**a**, *Loading 1*) e o componente 2 (**b**, *Loading 2*) mostra os trinta metabólitos que mais contribuíram para a separação em cada componente do sPLS-DA e sua contribuição em valor absoluto. Quadrados vermelhos ou azuis à direita indicam a abundância alta e baixa do metabólito correspondente em cada tratamento, respectivamente. Grupos analisados foram plantas sob condição controle avaliadas com 24HAT (C-20-24h), 48HAT (C-20-48h), 48HAT (C-20-48h), 72HAT (C-20-72h), e 96HAT (C-20-96h), e plantas sob condição salina avaliadas com 24HAT (C-20-24h), 48HAT (C-20-48h), 48HAT (C-20-48h), 72HAT (C-20-72h), e 96HAT (C-20-96h). Todos os dados foram transformados em log e centrados na média para análise quimiométrica (sPLS-DA) por MetabolAnalyst 5.0.

5 DISCUSSÃO

A toxicidade iônica devido ao influxo em excesso de Na^+ e Cl^- , pode desencadear efeitos adversos nas plantas (MUNNS, 2005). Realmente, a absorção em excesso do íon Na^+ afetou levemente o desenvolvimento de ambas as cultivares estudadas (Figura 1). Além do fator iônico, o fator osmótico, que ocorre nos estágios iniciais da exposição das plantas à salinidade (induzida pela exposição ao NaCl) pode afetar a taxa de expansão celular devido a uma baixa taxa de absorção de água e osmólitos (COSGROVE, 1993). Entretanto, ainda que a salinidade tenha afetado o crescimento das plântulas, esta redução não foi percebida de forma significativa nas massas fresca e seca da raiz (Figura 2 e 3). As diferenças entre as massas fresca e seca da parte aérea e raiz de ambos os genótipos, provocadas pelo estresse salino, corroboram com o descrito por Greenway e Munns (1980), que afirmam que a salinidade pode alterar a partição de foto-assimilados entre as diferentes partes das plantas. Essas diferenças podem representar a ocorrência de distinção, no que se refere a sensibilidade dos órgãos vegetativos à salinidade, ou, os diferentes dispositivos de proteção que as plantas utilizam para cada órgão vegetativo (AQUINO *et al.*, 2007).

O aumento significativo de Na^+ nos órgãos vegetais analisados, principalmente na parte aérea (Figura 4 e 5), e a subsequente redução do crescimento das cultivares avaliadas (Figura 1) é um comportamento esperado em plantas sob salinidade, e tem como causa: o acúmulo dos íons a níveis tóxicos nos tecidos fotossintetizantes, resultando no estresse iônico (MUNNS, 2005). Esse fator, associado ao menor acúmulo de K^+ na parte aérea (Figura 5b, c) induzido pela salinidade, foram responsáveis por afetar negativamente a razão K^+/Na^+ (Figura 4 e 5). A relação entre K^+ e Na^+ no citosol e nos tecidos vegetais, são parâmetros que possuem influência direta na tolerância ao estresse salino (ISAYENKOV; MAATHUIS, 2019). Logo, ambientes que afetam negativamente o balanço iônico, são mais favoráveis a ocorrência de danos causados pela salinidade

Além das informações morfofisiológicas obtidas pelas análises dos parâmetros relacionados com o crescimento e desenvolvimento, foram realizadas análises dos perfis metabólicos, visando ter uma melhor compreensão dos efeitos do estresse salino sobre o metabolismo celular das plântulas. O componente 1 está relacionado com a separação dos perfis metabólicos em função dos tempos estudados (24, 48, 72 e 96h). Com a avaliação dos gráficos de carregamento da sPLS-DA do componente para ambas as cultivares (Figura 7 e 8), é possível notar um padrão de regulação negativa na abundância dos metabólitos em função do tempo, independente do tratamento avaliado (Tabela suplementar 2 e 4). Em plântulas da cultivar CSF18, dos 30 metabólitos selecionados para a separação nesse componente, 18 são

pertencentes ao grupo dos carboidratos (Tabela suplementar 2); enquanto na cv. CSF20, os carboidratos somam um total de 17 metabólitos (Tabela suplementar 4), demonstrando assim a influência desse grupo no componente 1. É possível observar a ocorrência de carboidratos importantes, de forma comum para as duas cultivares estudadas, como é o caso da sorbose e frutose (Figuras 8a e 9a) que apresentam valores relativos elevados para ambas as cultivares, ao longo dos tempos avaliados. Esses metabólitos acumulam-se durante o período de estresse, e as plantas os consomem como fonte de energia em vez de glicose (KAPLAN; GUY, 2004). O metabolismo dos carboidratos possui papel essencial na tolerância das plantas ao estresse, pois está diretamente ligado com o fornecimento de energia para ativação de mecanismos de aclimatação ao estresse, bem como com o desempenho fotossintético (ARBONA, 2013), essencial no fornecimento de energia e matéria para o crescimento vegetal.

Os metabólitos mais responsáveis pela distinção entre as plântulas tratadas com sal e as plantas controle, foram mais relacionados ao componente 2. Houve comportamento diferenciado entre os metabólitos expressos como importantes na contribuição para separação entre os tratamentos, para cada cultivar avaliada. Dentre os grupos de metabólitos que ocorrem no componente, diferente do que ocorre para a discriminação entre os tempos (componente 1), os grupos que mais influenciaram na discriminação entre os tratamentos salinos foram os ácidos orgânicos e os aminoácidos, para ambas as cultivares (Tabela complementar 3 e 5). O componente 2, separou os tratamentos controle e salino a partir de 24h com uma alta influência de aminoácidos e ácidos orgânicos, que apresentaram baixa abundância na CS18 e alta abundância na CSF20. O conjunto integrado por esses aminoácidos livres totais e os açúcares solúveis (como, sacarose, glicose e trealose), são, quantitativamente, os solutos orgânicos mais importantes no balanço osmótico, e atuam diretamente na contribuição para a manutenção do potencial hídrico em níveis aceitáveis durante o estresse salino (SILVEIRA *et al.*, 2010)

Fazendo um paralelo entre as análises de carregamento do sPLS-DA dos perfis metabólicos de ambas as cultivares, é notada regulação distinta para os metabólitos. Em CSF20, os principais metabólitos demonstraram maior sensibilidade na identificação do estresse salino, evidenciada pelo aumento significativo no conteúdo, e conseqüentemente, na contribuição em valor absoluto na separação no componente, quando as plântulas foram submetidas ao estresse (Tabela suplementar 5). O conteúdo de alguns tipos de metabólitos como ribulose-5-fosfato, glicerol-3-fosfato, triptofano e outros ácidos orgânicos aumentaram em resposta à salinidade (Figura 9b, Tabela suplementar 5). Já em CSF18, de forma geral, não houve aumento expressivo no conteúdo dos metabólitos quando as plântulas são expostas

sob o tratamento salino (Tabela suplementar 3).

Além disso, essa regulação positiva dos metabolitos como resposta ao estresse salino pode estar relacionada com o fato da cultivar CSF20 apresentar maior tolerância a salinidade do que a cultivar CSF18, conforme descrito por Lacerda (2000).

4 CONCLUSÃO

As plântulas submetidas ao estresse salino tiveram seu desenvolvimento ligeiramente afetado nos dois genótipos de sorgo avaliados, principalmente por uma diminuição do comprimento da parte aérea, especialmente nas plântulas do genótipo CSF18. As respostas metabólicas foram distintas para os tratamentos estudados. A maior tolerância do CSF20 em relação ao CSF18 está relacionada com a modulação mais expressiva de aminoácidos e ácidos orgânicos, como cujas alterações em resposta ao estresse desempenharam melhor função na atenuação dos efeitos do estresse sobre o desenvolvimento e crescimento das plântulas.

REFERÊNCIAS

- AHMED, K. B. M.; SINGH, S.; SADIQ, Y.; KHAN, M. M. A.; UDDIN, M.; NAEEM, M.; AFTAB, T. **In Plant- Soil Interaction**. 1ª Edição, Cambridge, Massachusetts: Academic Press, 2021. p, 293-365.
- ALMANSOURI, M. et al. Effect of salt and osmotic stresses on germination in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). **Plant and Soil, Crawley**, v. 231, n. 2, p. 243-254, 2001.
- ALI, Q.; DAUD, M. K.; HAIDER, M. Z.; ALI, S.; RIZWAN, N. A.; ASLAM, N.; NOMAN, A.; IQBAL, N.; SHAHZAD, F.; DEEBA, F.; ALI, I.; ZHU, S. J. Seed priming by sodium nitroprusside improves salt tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) by enhancing physiological and biochemical parameters. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 119, p. 50-58, 2017.
- ANANDA, G. K. S.; MYRANS, H.; SALLY, L.; NORTON, S. L.; ROSLYN, G.; FURTADO, A.; HENRY, R. J. Wild Sorghum as a Promising Resource for Crop Improvement. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 1108, 2020.
- AQUINO, A. J. S. Avaliação do crescimento e de mecanismos de tolerância à salinidade em plantas de sorgo forrageiro irrigados com águas salinas. Dissertação (Mestrado) - **Universidade Federal do Ceará**, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Mestrado em Agronomia, Fortaleza-CE, p. 89, 2005.
- AQUINO, A. J. S. D.; LACERDA, C. F. D.; BEZERRA, M. A.; GOMES-FILHO, E.; COSTA, R. N. T. Crescimento, partição de matéria seca e retenção de Na⁺, K⁺ e Cl⁻ em dois genótipos de sorgo irrigados com águas salinas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, p. 961-971, 2007.
- ARBONA, V.; IGLESIAS, D. J.; TALÓN, M.; GÓMES-CADENAS, A. Demarcação de fenótipo de planta usando perfil de metabólito LC-MS e GC-MS não direcionado. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 16, p. 7338-7347, 2009.
- ARBONA, V.; MANZI, M.; OLLAS, C. D.; GÓMES-CADENAS, A. Metabolomics as a Tool to Investigate Abiotic Stress Tolerance in Plants. **International Journal of Molecular Sciences**. v. 14, n. 3, p. 4885-4911, 2013.
- BARRETT, D. P.; FOWLER, S. V.; SUBBARAJ, A. K.; GROENTEMAN, R.; CLAVIJO-MCCORMICK, A. Metabolomic analysis of host plant biochemistry could improve the effectiveness and safety of classical weed biocontrol, **Biological Control**, v. 160, 104663, 2021.
- BING, F. C. The history of the word 'metabolism'. **Journal of the History of Medicine and Allied Sciences**, Oxford, v. 26, n. 2, p. 158-180, 1971.
- BOWNE, J.; BACIC, A.; TESTER, M.; ROESSNER, U. Estresse abiótico e metabolômica. **Annual Plant Reviews**, v. 43, p. 61-85, 2011.
- BRENTON, Z. W.; COOPER, E. A.; MYERS, M. T.; BOYLES, R. E.; SHAKOOR, N.; ZIELINSK, K. J.; RAUH, B. L.; BRIDGES, W. C.; MORRIS, G. P.; KRESOVICH, S. Um

recurso genômico para o desenvolvimento, melhoramento e exploração do sorgo para bioenergia. **Genética**, v. 204, n. 1, p. 21-33, 2016.

BUCKERIDGE, M. S.; SANTOS, H. P.; TINÉ, M. A. S.; AIDAR, M. P. M. **mobilização de Reservas**. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 324 p. (163-185), 2004.

BUSO, W. H. D.; MORGADO, H. S.; E SILVA, L. B.; FRANÇA, A. F. DS. Utilização do sorgo forrageiro na alimentação animal. **PUBVET**, Londrina, V. 5, N. 23, Ed. 170, Art. 1145, 2011.

CARDEN, D. E.; WALKER, D. J.; FLOWERS, T. J.; MILLER, A. J. Single-Cell Measurements of the Contributions of Cytosolic Na^+ e K^+ to Salt Tolerance. **Plant Physiology**, v. 131, n. 2, p. 676–683, 2003.

CLARK, R. B. Characterization of phosphatase of intact maize roots. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 23, n. 3, p. 458–460, 1975.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. SAFRA 2020/21 - N. 10 – Décimo levantamento|Julho 2021. Disponível em: <file:///C:/Users/S%C3%A1vio%20Justino/Downloads/E-book_BoletimZdeZSafrasZ-Z10oZlevantamento.pdf>. Acesso em: 25 de Julho de 2021.

COSGROVE, D.J. Water uptake by growing cells: an assessment of the controlling roles of wall relaxation, solute uptake and hydraulic conductance. **International Journal of Plant Science**, v. 154, p. 10-21, 1993.

CRAMER, G. R.; URANO, K.; DELROT, S.; PEZZOTTI, M.; SHINOZAKI, K. Efeitos do estresse abiótico nas plantas: uma perspectiva da biologia de sistemas. **BMC plant biology**, v. 11, n. 1, p. 1-14, 2011.

DALIAKOPOULOS, I. N.; TSANIS, I. K.; KOURGIALAS, N. N.; VAROUCHAKIS, A. E.; KARATZAS, G. P.; RITSEMA, C. J. A ameaça da salinidade do solo: uma revisão à escala europeia. **Ciência do Ambiente Total**, v. 573, p. 727-739, 2016.

DE ALMEIDA, L. G. F.; PARRELLA, R. A. C, SIMEONE, M. L. F.; RIBEIRO, P. C. O.; DOS SANTOS, S. A.; DA COSTA, A. S. V.; GUIMARÃES, A. G.; SCHAFFERT, R. E. Composition and growth of sorghum biomass genotypes for ethanol production. **Biomass and Bioenergy**, v. 122, p. 343-348, 2019.

DEMIDCHIK, V.; STRALTSOVA, D.; MEDVEDEV, S. S.; POZHVANOV, G. A.; SOKOLIK, A.; YURIN, V. Vazamento de eletrólitos induzido por estresse: o papel dos canais permeáveis ao K^+ e seu envolvimento na morte celular programada e no ajuste metabólico. **Journal of experimental botany**, v. 65, n. 5, p. 1259-1270, 2014.

EVELIN, H.; DEVI, T. S.; GUPTA, S.; KAPOOR, R. Mitigation of Salinity Stress in Plants by Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis: Current Understanding and New Challenges. **Frontiers in Plant Science**, V. 10, p. 470, 2019.

FAO – Food Agriculture Organization. **Faostat 2019**. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>. Acesso em: 30 jul. 2017.

FOYER, C. H.; NOCTOR, G. Ascorbato e glutatona: o coração do hub redox. **Fisiologia vegetal**, v. 155, n. 1, p. 2-18, 2011.

GADELHA, C. B.; MIRANDA, R. S.; ALENCAR, N. L. M.; COSTA, J. H.; PRISCO, J. T.; GOMES-FILHO, E. Exogenous nitric oxide improves salt tolerance during establishment of *Jatropha curcas* seedlings by ameliorating oxidative damage and toxic ion accumulation. **Journal of Plant Physiology**, v. 212, p. 69-79, 2017.

GARWOOD, N. C. Functional morphology of tropical tree seedlings. In: Swaine MD (ed.) **The Ecology of Tropical Forest tree seedlings**. Parthenon, Carnforth, p. 59-129, 1996.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 12, p. 909-930, 2010.

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

GUIMARAES, D. P. *et al.* Zoneamento agrícola de risco climático (Zarc) para o sorgo granífero no Brasil. **Embrapa Milho e Sorgo-Documents (INFOTECA-E)**, 2020.

GUO, M.; LIU, Q.; YU, H.; ZHOU, T.; ZOU, J.; ZHANG, H.; BIAN, M.; LIU, X. Characterization of Alkali Stress-Responsive Genes of the CIPK Family in Sweet Sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. **Crop Science**, v. 55, n. 3, p. 1254-1263, 2015.

HADAS, A. Germination and seedling establishment. **Encyclopedia of Soils in the Environment**, Bet Dagan, Israel: The Volcani Center, 2005, p. 130-137.

HALL, R.; BEALE, M.; FIEHN, O.; HARDY, N.; SUMNER, L.; BINO, R. Plant Metabolomics: The Missing Link in Functional Genomics Strategies, **The Plant Cell**, v. 14, n. 7, p. 1437-1440, 2002.

HOSTETLER, A. N.; GOVINDARAJULU, R.; HAWKINS, J. S. QTL mapping in an interspecific sorghum population uncovers candidate regulators of salinity tolerance. **Plant Stress**, v. 2, 2021.

IBRAHIMOVA, U.; KUMARI, P.; YADAV, S.; RASTOGI, A.; ANTALA, M.; SULEYMANOVA, Z.; ZIVCAK, M.; ARIF, T. U.; HUSSAIN, S.; ABDELHAMID, M.; HAJIHASHEMI, S.; YANG, X.; BRESTIC, M. Progress in understanding salt stress response in plants using biotechnological tools. **Journal of Biotechnology**, v. 329, p. 180-191, 2021.

ISAYENKOV, S. V.; MAATHUIS, F. J. M. Estresse de salinidade da planta: muitas perguntas permanecem sem resposta. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, p. 80, 2019.

KAPLAN, F.; GUY, C. L. β - Amylase Induction and the Protective Role of Maltose during Temperature Shock, **Plant Physiology**, v. 135, n. 3, p. 1674-1684, 2004.

KUMAR, A.; SINGH, S.; MUKHERJEE, A.; RASTOGI, R. P.; VERMA, J. P. *Bacillus pumilus*, cepa JPVS11, que promove o crescimento de plantas tolerante ao sal, para aumentar os atributos de crescimento das plantas do arroz e melhorar a saúde do solo sob estresse salino. **Microbiological Research**, v. 242, 126616, 2021.

LACERDA, C. F. **Crescimento e acúmulo de solutos orgânicos e inorgânicos em dois genótipos de sorgo forrageiro submetidos a estresse salino**. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, p. 163, 2000.

LI, J.; ZHANG, M.; YANG, L.; MAO, X.; LI, J.; LI, L.; WANG, J.; LIU, H.; ZHENG, H.; LI, Z.; ZHAO, H.; LI, X.; LEI, L.; SUN, J.; ZOU, D. OsADR3 increases drought stress tolerance by inducing antioxidant defense mechanisms and regulating OsGPX1 in rice (*Oryza sativa* L.). **The Crop Journal**. ISSN 2214-5141, 2021.

LISEC, J.; SCHAUER, N.; KOPKA, J.; WILLMITZER, L.; FERNIE, A. R. Gas chromatography mass spectrometry-based metabolite profiling in plants. **Nature Protocols**, v. 1, n. 1, p. 387–396, 2006.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. DE. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2 ed. Piracicaba: POTAFOS, 319p, 1997.

MARQUES, E. C.; FREITAS, V. S.; BEZERRA, M. A.; PRISCO, J. T.; GOMES-FILHO, E. Efeitos do estresse salino na germinação, emergência e estabelecimento da plântula de cajueiro anão precoce. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 4, p. 993-999, 2011.

MIQUEL, S. Morphologie fonctionnelle de plantules d'espèces forestières du Gabon. **Bulletin du Muséum National d'Histoire Naturelle**, Paris, v. 9, n. 1, p. 101-121, 1987.

MAYER, A.M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. **The germination of seeds**. New York: Pergamon press, 263p., 1975.

MUNAWAR, W.; AMJAD, H.; RIAZ, K. M. K.; Differential Morphophysiological and Biochemical Responses of Cotton Genotypes Under Various Salinity Stress Levels During Early Growth Stage. **Frontiers in Plant Science**. V. 12, p. 335, 2021

MUNNS, R. Genes e tolerância ao sal: aproximando-os. **New phytologist**, v. 167, n. 3, p. 645-663, 2005.

NKANSAH-APPIAH, B. A.; LI, J.; ROONEY, W.; WANG, D. A review of sweet sorghum as a viable renewable bioenergy crop and its techno-economic analysis. **Renewable Energy**, v. 143, p. 1121-1132, 2019.

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, n. 3, p. 48-56, 2009.

OLIVEIRA, D. F. D.; LOPES, L. D.; GOMES-FILHO, E. Metabolic changes associated with differential salt tolerance in sorghum genotypes. **Planta**, v. 252, n. 2, 2020.

PEREIRA FILHO, I. A.; RODRIGUES, J. A. S. Sorgo: o produtor pergunta, a Embrapa responde. Embrapa Milho e Sorgo, v. 1, p 13, 2015.

PEREIRA, A. P. C; SECORUN, A. C. Estrutura e adaptação das plântulas. REVISTA UNINGÁ, [S.l.], v. 12, n. 1, jun. 2007. ISSN 2318-0579. Disponível em: <<http://revista.uninga.br/index.php/uninga/article/view/590>>. Acesso em: 11 ago. 2021.

QADIR, M.; QUILLÉROU, E.; NANGIA, V.; MURTAZA, G.; SINGH, M.; THOMAS, R.J.; DRECHSEL, P.; NOBLE, A. D. Economia da degradação e restauração da terra induzida pelo

sal. In: **fórum de recursos naturais**, v. 38, n. 4, p. 282-295, 2014.

QUEIROZ, C. S. DE; PEREIRA, I. M. C.; LIMA, K. R. P.; BRET, R. S. C.; ALVES, M. S.; GOMES-FILHO, E.; CARVALHO, H. H. DE. Combined NaCl and DTT diminish harmful ER-stress effects in the sorghum seedlings CSF 20 variety. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 147, p. 223–234, 2020.

RAHNESHAN, Z.; NASIBI, F.; MOGHADAM, A. A. Efeitos do estresse salino sobre alguns parâmetros de crescimento, fisiológicos, bioquímicos e nutrientes em dois porta-enxertos de pistache (*Pistacia vera* L.). **Journal of Plant Interactions**, v. 13, p. 73-82, 2018.

RASBAND, W. ImageJU. S. **National Institutes of Health**, Bethesda, Maryland, USA, 1997.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E; **Biologia Vegetal**. 7 (Ed). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

RESSEL, K.; GUILHERME, F. A. G.; SCHIAVINI, I.; OLIVEIRA, P. E. Ecologia morfofuncional de plântulas de espécies arbóreas da Estação Ecológica do Panga, Uberlândia, Minas Gerais. **Brazilian Journal of Botany**, São Paulo, v. 27, n. 2, p. 311-323, 2004.. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0100-84042004000200010>>. Acessado em: 11 agosto 2021.

ROESSNER, U.; LUEDEMANN, A.; BRUST, D.; FIEHN, O.; LINKE, T.; WILLMITZER, L.; FERNIE, A. R. Metabolic profiling allows comprehensive phenotyping of genetically or environmentally modified plant systems. **The Plant Cell**, v. 13, p. 11–29, 2001.

SANS, L. M. A.; MORAIS, A. V. de C.; GUIMARÃES, D. P. Época de plantio de sorgo. Sete Lagoas: **Embrapa Milho e Sorgo**, 2003. 4p. (Embrapa Milho e Sorgo. Comunicado Técnico, 80).

SARKER, U.; ISLAM, M. T.; OBA, S. O estresse salino acelera os nutrientes, fibras alimentares, minerais, fitoquímicos e atividade antioxidante nas folhas tricolor de amaranto. **PLoS One**, v. 13, n. 11, pág. e0206388, 2018.

SHAHID, S. A.; ZAMAN, M.; HENG, L. Salinidade do solo: Perspectivas históricas e uma visão geral do problema. In: ____ . (org.). **Diretriz para Avaliação de Salinidade, Mitigação e Adaptação Usando Técnicas Nucleares e Relacionadas**. Springer, Cham. (2018).

SILVA, F. L. Análise do perfil metabolômico diferencial de mudas de *Eucalyptus urograndis* submetidas a estresse hídrico. Dissertação (mestrado acadêmico) – **Universidade Federal de Lavras**, 85 p., 2016.

SILVEIRA, J. A.; SILVA, S. L.; SILVA, E. N.; VIÉGAS, R. A. Mecanismos biomoleculares envolvidos com a resistência ao estresse salino em plantas. **Manejo da salinidade na agricultura: estudos básicos e aplicados**, v. 1, p. 161-18, 2010.

SONI, S., *et al.* Effect of saline irrigation on plant water traits, photosynthesis and ionic balance in durum wheat genotypes. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 28, p. 2510-2517, 2021.

SUTKA, MR *et al.* Evidência para o envolvimento de ajustes hidráulicos de raízes ou caules como mecanismos subjacentes à tolerância ao déficit hídrico em dois genótipos de *Sorghum bicolor*. **Journal of Plant Physiology**, v. 192, p. 13-20, 2016.

TABOSA, J. N.; SILVA, F. G.; NASCIMENTO, M. M. A.; AZEVEDO NETO, A. D.; BRITO, A. R. M. B.; SIMPLÍCIO, J. B.; MESQUITA, F. L. T.; SANTANA, J. A. Genótipos de sorgo forrageiro e sacarino no semiárido - estimativas de parâmetros genéticos de variáveis de produção em Alagoas e Pernambuco. **Revista Magistra**, v. 25, p. 328–329, 2013.

URANO, K.; KURIHARA, Y.; SEKI, M.; SHINOZAKI, K. ‘Omics’ analyses of regulatory networks in plant abiotic stress responses, **Current Opinion in Plant Biology**, v. 13, n. 2, p. 132-138, 2010.

VILLATE, A.; NICOLAS, M. S.; GALLASTEGI, M.; AULAS, P.; OLIVARES, M.; USOBIAGA, A.; ETXEBARRIA, N.; AIZPURUA-OLAIZOLA, O. Review: Metabolomics as a prediction tool for plants performance under environmental stress. **Plant Science**, v. 303, 110789, 2021.

ZHAO, C.; ZHANG, H.; SONG, C.; ZHU, J.K.; SHABALA, S. **The Innovation**. 1^a Edição, Cambridge, Massachusetts: Cell Press, 2020.

Tabela Suplementar 1: Lista de metabólitos detectados em parte aérea e radicular de sorgo com sua classificação em tipos de composto.

Metabólito	Metabolites class.	Metabólito	Metabolites class.
1 Pyruvic acid	Organic acid	38 Aconitic acid	Carbohydrates
2 Lactic acid	Organic acid	39 Glycerol-3-phosphate	Carbohydrates
3 Butyric acid - 3 hydroxy	Amines	40 Gluconic acid	Carbohydrates
4 Valine	Amino acids	41 Shikimic acid	Organic acid
5 Isoleucine	Amino acids	42 Citric acid	Organic acid
6 Phosphoric acid	Organic acid	43 Dehydroascorbic acid	Organic acid
7 Leucine	Amino acids	44 Quinic acid	Organic acid
8 Proline	Amines	45 Fructose	Carbohydrates
9 Glycine	Amino acids	46 Sorbose	Carbohydrates
10 Succinic acid	Organic acid	47 Galactose	Carbohydrates
11 Glyceric acid	Organic acid	48 Lysine	Amino acids
12 Fumaric acid	Organic acid	49 Glucose	Carbohydrates
13 Maleic acid	Organic acid	50 Tyrosine	Amino acids
14 Alanine	Amino acids	51 Mannitol	Carbohydrates
15 Serine	Amino acids	52 Ascorbic acid	Organic acid
16 Threonine	Amino acids	53 Pantothenic acid	Organic acid
17 Serine O-acetyl	Amino acids	54 Glucoheptonic acid	Organic acid
18 Alanine beta	Amino acids	56 Gulonic acid-1,4-lactone	Organic acid
19 Homoserine	Amino acids	57 Myo-inositol	Carbohydrates
20 Malic acid	Organic acid	58 Ribulose-5-phosphate	Carbohydrates
21 Cysteine	Amino acids	59 Tryptophan	Amino acids
22 Aspartic acid	Amino acids	60 Fructose-6-phosphate	Carbohydrates
23 Pyroglutamic acid	Amino acids	61 Glucose-6-phosphate	Carbohydrates
25 Erythronic acid	Organic acid	62 Inositol-1-phosphate	Carbohydrates
26 Threonic acid	Organic acid	63 Galactonic acid-1,4-lactone	Carbohydrates
27 Glutaric acid	Organic acid	64 Fructose-1,6-diphosphate	Carbohydrates
28 Ornithine	Amino acids	65 Sucrose	Carbohydrates
29 Glutamic acid	Amino acids	66 Kestose	Carbohydrates
30 Phenylalanine	Amino acids	67 Lactitol	Carbohydrates
31 Asparagine	Amino acids	68 Cellobiose	Carbohydrates
32 Glutamine	Amino acids	69 Trehalose	Carbohydrates
33 Arabinose	Carbohydrates	70 Palatinose	Carbohydrates
34 Xylose	Carbohydrates	71 Maltose	Carbohydrates
35 Xylitol	Carbohydrates	72 Galactinol	Carbohydrates
36 Ribose	Carbohydrates	73 Melezitose	Carbohydrates
37 Putrescine	Organic acid	74 Raffinose	Carbohydrates
		75 Maltotriose	Carbohydrates

Tabela Suplementar 2 – Valores de intensidade relativa dos 30 metabólitos que mais contribuíram para a separação dos tratamentos e tempos analisados, no componente 1 do sPLS-DA dos perfis metabólicos de plântulas de sorgo cv. CSF18. Os metabólitos com prefixo S_ e R_ estão presentes na parte aérea e raízes, respectivamente. A tabela apresenta ainda a classe, tempo de retenção (RT) no cromatograma para cada metabolito. Os valores representam as médias de quatro repetições \pm erro padrão. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,01$).

Metabolites class	RT*	Metabolites	C-18 24h	C-18 48h	C-18 72h	C-18 96h	S-18 24h	S-18 48h	S-18 72h	S-18 96h
Organic acid	14,3	S_Succinic acid	1,0 \pm 0,1 A	0,5 \pm 0,0 B	0,2 \pm 0,0 C	0,1 \pm 0,0 C	1,1 \pm 0,1 A	0,4 \pm 0,0 B	0,3 \pm 0,0 B	0,2 \pm 0,0 C
Carbohydrates	10,6	S_Xylose	2,2 \pm 0,2 A	1,7 \pm 0,1 A	1,0 \pm 0,1 AB	0,7 \pm 0,0 AB	2,7 \pm 0,4 C	1,1 \pm 0,1 B	0,9 \pm 0,1 B	0,6 \pm 0,0 D
Organic acid	11,6	S_Shikimic acid	17,6 \pm 1,2 A	10,6 \pm 1,2 A	7,6 \pm 1,0 B	2,7 \pm 0,2 D	22,7 \pm 2,5 C	7,8 \pm 0,9 B	4,6 \pm 0,6 B	2,5 \pm 0,4 D
Organic acid	14,6	S_Quinic acid	68,7 \pm 3,0 A	35,8 \pm 0,7 B	16,3 \pm 1,7 C	6,9 \pm 1,3 D	86,2 \pm 9,3 A	34,5 \pm 3,3 B	12,6 \pm 1,5 C	5,8 \pm 0,7 D
Carbohydrates	13,2	S_Fructose	372,1 \pm 18,7 A	261,7 \pm 9,6 A	162,5 \pm 11,9 B	93,1 \pm 13,0 C	443,8 \pm 29,5 D	232,9 \pm 16,8 B	151,5 \pm 12,2 B	74,7 \pm 7,1 C
Carbohydrates	13,5	S_Sorbose	357,8 \pm 18,0 A	245,5 \pm 10,7 A	148,9 \pm 11,9 B	78,8 \pm 10,5 C	420,9 \pm 30,7 D	212,0 \pm 15,6 B	129,8 \pm 13,7 C	57,8 \pm 5,9 E
Carbohydrates	13,2	S_Glucose	312,7 \pm 13,4 A	237,8 \pm 9,6 A	146,4 \pm 14,0 B	92,5 \pm 9,4 B	382,0 \pm 27,3 D	212,1 \pm 16,1 A	116,5 \pm 9,0 B	41,3 \pm 6,7 C
Amino acids	7,73	S_Tyrosine	36,1 \pm 3,2 A	27,5 \pm 1,7 A	21,4 \pm 2,7 A	13,0 \pm 1,8 B	52,2 \pm 3,7 C	29,3 \pm 3,6 A	19,5 \pm 1,1 B	16,4 \pm 1,3 B
Organic acid	7,69	S_Pantothenic acid	3,5 \pm 0,9 A	2,1 \pm 0,1 A	1,3 \pm 0,1 B	0,9 \pm 0,1 B	5,0 \pm 1,2 C	1,9 \pm 0,2 A	1,2 \pm 0,2 B	1,0 \pm 0,1 B
Organic acid	9,29	S_Gulonic acid	37,0 \pm 4,5 A	21,3 \pm 2,7 A	10,9 \pm 1,0 A	4,2 \pm 1,4 B	46,5 \pm 5,8 D	16,1 \pm 3,8 A	6,4 \pm 1,0 B	1,8 \pm 0,4 C
Carbohydrates	9,8	S_Ribulose-5-P	7,8 \pm 0,9 A	5,7 \pm 0,5 A	2,7 \pm 0,3 B	1,6 \pm 0,2 B	12,5 \pm 1,6 C	7,4 \pm 0,6 A	4,0 \pm 0,5 A	2,8 \pm 0,4 B
Carbohydrates	8,96	S_Fructose-6-P	7,6 \pm 1,2 A	4,9 \pm 0,7 A	1,9 \pm 0,5 B	0,8 \pm 0,1 B	10,2 \pm 1,3 A	6,6 \pm 1,3 A	2,5 \pm 0,4 C	2,1 \pm 0,5 B
Carbohydrates	7,15	S_Fructose-1,6-DP	6,6 \pm 1,1 A	2,9 \pm 0,2 A	1,1 \pm 0,1 B	0,4 \pm 0,1 B	7,5 \pm 0,9 A	3,0 \pm 0,5 A	0,9 \pm 0,2 B	0,4 \pm 0,2 B
Carbohydrates	11,5	S_Palatinose	23,8 \pm 1,1 A	16,3 \pm 1,1 A	8,7 \pm 0,8 B	6,1 \pm 0,6 B	28,5 \pm 2,6 D	13,7 \pm 2,1 A	6,2 \pm 0,9 B	4,0 \pm 0,3 C
Amino acids	8,53	R_Pyrogutamic acid	556,6 \pm 50,8 A	265,8 \pm 42,4 A	160,5 \pm 14,5 B	113,7 \pm 23,2 B	782,3 \pm 63,1 C	268,3 \pm 56,8 A	157,5 \pm 18,9 B	103,2 \pm 5,1 B
Organic acid	4,55	R_Erythronic acid	0,4 \pm 0,0 A	0,2 \pm 0,0 A	0,2 \pm 0,1 A	0,1 \pm 0,0 A	0,5 \pm 0,0 A	0,2 \pm 0,1 A	0,0 \pm 0,0 B	0,0 \pm 0,0 B
Organic acid	4,55	R_Threonic acid	3,3 \pm 0,2 A	1,3 \pm 0,1 A	1,2 \pm 0,1 A	1,1 \pm 0,1 A	2,6 \pm 0,1 A	1,3 \pm 0,2 A	0,8 \pm 0,1 B	0,6 \pm 0,1 B
Carbohydrates	11,1	R_Arabinose	15,3 \pm 0,9 A	7,5 \pm 0,2 A	4,1 \pm 0,3 A	4,1 \pm 0,7 A	8,3 \pm 0,6 A	3,2 \pm 0,3 A	2,5 \pm 0,1 A	2,0 \pm 0,4 A
Carbohydrates	5,55	R_Xylose	5,8 \pm 0,4 A	3,0 \pm 0,1 A	1,7 \pm 0,1 A	1,0 \pm 0,3 B	3,4 \pm 0,2 A	1,5 \pm 0,1 B	1,0 \pm 0,1 B	0,7 \pm 0,0 B
Carbohydrates	6,71	R_Glycerol-3-P	11,0 \pm 2,3 A	4,6 \pm 0,6 A	3,6 \pm 0,4 A	3,3 \pm 0,7 A	10,7 \pm 0,6 A	9,0 \pm 2,2 A	2,9 \pm 0,2 A	2,9 \pm 0,2 A
Organic acid	12	R_Shikimic acid	11,6 \pm 0,5 A	6,6 \pm 0,5 B	5,8 \pm 0,2 B	3,5 \pm 0,5 C	12,3 \pm 0,3 A	5,2 \pm 0,7 B	2,5 \pm 0,2 C	2,0 \pm 0,2 D
Organic acid	12,7	R_Quinic acid	22,4 \pm 0,8 A	10,9 \pm 0,9 B	7,6 \pm 0,3 B	4,8 \pm 1,0 C	19,0 \pm 0,5 A	7,9 \pm 1,3 B	2,8 \pm 0,2 C	2,1 \pm 0,2 D
Carbohydrates	9,76	R_Fructose	522,3 \pm 112,0 A	502,1 \pm 24,5 A	408,3 \pm 45,6 A	316,7 \pm 81,7 A	570,1 \pm 34,7 A	337,6 \pm 37,2 A	94,7 \pm 11,1 B	42,7 \pm 8,5 B
Carbohydrates	11,4	R_Sorbose	670,9 \pm 28,6 A	453,8 \pm 18,1 A	351,8 \pm 40,0 A	263,0 \pm 72,0 B	500,6 \pm 40,0 A	290,7 \pm 31,0 A	75,3 \pm 10,9 C	30,5 \pm 5,5 D
Carbohydrates	10,8	R_Glucose	200,9 \pm 23,0 A	126,5 \pm 7,6 A	43,2 \pm 12,5 B	24,0 \pm 8,8 B	117,5 \pm 14,6 A	47,2 \pm 10,5 B	8,3 \pm 1,0 C	4,4 \pm 0,6 C
Organic acid	8,91	R_Gulonic acid	10,0 \pm 1,0 A	4,4 \pm 1,1 A	2,2 \pm 0,6 B	1,7 \pm 0,4 B	5,1 \pm 0,8 A	2,4 \pm 0,5 B	0,6 \pm 0,1 C	0,5 \pm 0,0 C
Carbohydrates	13,6	R_Fructose-6-P	13,5 \pm 1,5 A	6,6 \pm 0,8 B	3,3 \pm 0,2 C	2,2 \pm 0,3 C	11,2 \pm 0,8 A	4,3 \pm 0,8 B	1,5 \pm 0,1 D	1,0 \pm 0,1 D
Carbohydrates	12,6	R_Glucose-6-P	28,5 \pm 4,2 A	13,5 \pm 1,6 B	6,1 \pm 0,3 C	4,2 \pm 0,6 C	21,5 \pm 1,6 A	9,6 \pm 2,1 B	3,0 \pm 0,1 C	1,8 \pm 0,1 D
Carbohydrates	12,6	R_Inositol-1-P	4,5 \pm 0,5 A	2,4 \pm 0,4 A	1,1 \pm 0,1 B	0,7 \pm 0,1 B	4,0 \pm 0,3 A	1,5 \pm 0,3 D	0,5 \pm 0,0 B	0,3 \pm 0,0 C
Carbohydrates	6,9	R_Fructose-1,6-DP	2,8 \pm 0,4 A	1,7 \pm 0,1 A	2,0 \pm 0,3 A	1,7 \pm 0,1 A	3,1 \pm 0,1 C	1,8 \pm 0,3 A	0,9 \pm 0,1 B	1,1 \pm 0,1 B

Tabela Suplementar 3 - Valores de intensidade relativa dos 30 metabólitos que mais contribuíram para a separação dos tratamentos e tempos analisados, no componente 2 do sPLS-DA dos perfis metabólicos de plântulas de sorgo cv. CSF18. Os metabólitos com prefixo S_ e R_ estão presentes na parte aérea e raízes, respectivamente. A tabela apresenta ainda a classe, tempo de retenção (RT) no cromatograma para cada metabólito. Os valores representam as médias de quatro repetições \pm erro padrão. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,01$).

Metabolites class	RT*	Metabolites	C-18 24h		C-18 48h		C-18 72h		C-18 96h		S-18 24h		S-18 48h		S-18 72h		S-18 96h	
Carbohydrates	6,293	R_Galactonic acid	9,8 \pm 1,0	A	9,9 \pm 0,3	A	14,9 \pm 1,8	A	17,8 \pm 0,2	B	9,1 \pm 1,1	C	7,8 \pm 0,9	C	6,9 \pm 0,4	C	10,6 \pm 0,3	A
Organic acid	7,995	R_Pyruvic acid	0,9 \pm 0,0	A	1,0 \pm 0,1	A	1,6 \pm 0,0	B	1,2 \pm 0,1	A	1,0 \pm 0,1	A	0,9 \pm 0,1	A	0,6 \pm 0,1	C	0,6 \pm 0,0	C
Organic acid	13,29	S_Citric acid	16,1 \pm 0,9	A	8,3 \pm 1,0	B	3,3 \pm 0,2	C	2,0 \pm 0,1	C	24,4 \pm 4,4	A	12,7 \pm 1,1	A	9,7 \pm 0,9	A	9,1 \pm 1,0	B
Amino acids	8,679	R_Glutamine	2,7 \pm 0,3	A	2,9 \pm 0,4	A	2,8 \pm 0,4	A	2,7 \pm 0,5	A	1,4 \pm 0,1	B	0,7 \pm 0,1	C	0,5 \pm 0,1	C	0,3 \pm 0,1	C
Carbohydrates	9,773	R_Ribulose-5-P	2,6 \pm 0,5	A	1,6 \pm 0,2	A	1,0 \pm 0,1	B	0,7 \pm 0,1	B	6,1 \pm 0,2	D	4,7 \pm 1,0	C	2,2 \pm 0,1	A	2,0 \pm 0,2	E
Carbohydrates	7,32	S_Aconitic acid	64,9 \pm 6,2	A	52,3 \pm 2,5	A	30,2 \pm 3,0	B	24,8 \pm 1,4	B	80,4 \pm 11,4	A	47,6 \pm 5,3	C	57,5 \pm 3,7	A	46,5 \pm 1,5	C
Carbohydrates	3,47	R_Lactitol	406,8 \pm 15,4	A	487,0 \pm 79,7	A	388,0 \pm 26,9	A	794,3 \pm 22,9	A	358,5 \pm 24,9	B	324,4 \pm 64,1	B	342,3 \pm 73,5	B	302,2 \pm 4,7	B
Carbohydrates	2,286	S_Gluconic acid	1,2 \pm 0,1	A	0,7 \pm 0,0	B	0,4 \pm 0,1	B	0,3 \pm 0,0	A	1,6 \pm 0,1	B	0,7 \pm 0,1	B	1,1 \pm 0,1	A	0,5 \pm 0,0	A
Organic acid	6,957	R_Citric acid	44,5 \pm 5,2	A	47,0 \pm 5,6	A	65,6 \pm 3,1	A	61,5 \pm 7,2	A	45,6 \pm 2,8	A	45,6 \pm 5,0	A	41,1 \pm 3,4	A	25,2 \pm 3,6	B
Amino acids	3,991	S_Glutamine	1,3 \pm 0,3	A	1,3 \pm 0,1	A	0,8 \pm 0,1	A	0,5 \pm 0,0	B	1,4 \pm 0,2	A	0,8 \pm 0,1	A	1,4 \pm 0,1	A	1,3 \pm 0,1	A
Organic acid		S_Phosphoric acid	242,7 \pm 27,4	A	149,8 \pm 32,6	A	72,1 \pm 16,1	A	44,2 \pm 10,8	A	286,3 \pm 94,3	A	316,3 \pm 37,8	A	198,3 \pm 11,4	A	189,0 \pm 9,3	A
Carbohydrates	11,87	R_Aconitic acid	176,1 \pm 5,7	A	143,5 \pm 6,9	A	145,4 \pm 9,1	A	122,9 \pm 20,0	A	146,5 \pm 1,5	A	90,6 \pm 7,6	A	27,3 \pm 1,4	B	16,0 \pm 3,7	B
Organic acid	6,335	R_Glyceric acid	2,1 \pm 0,2	A	1,3 \pm 0,2	A	1,4 \pm 0,1	A	2,1 \pm 0,3	A	1,5 \pm 0,1	A	1,5 \pm 0,1	A	0,8 \pm 0,1	B	0,7 \pm 0,1	B
Amino acids	4,945	S_Homoserine	1,4 \pm 0,4	A	0,9 \pm 0,2	A	0,3 \pm 0,1	A	0,1 \pm 0,0	B	2,5 \pm 0,3	C	2,1 \pm 0,5	C	0,5 \pm 0,1	A	0,5 \pm 0,1	A
Carbohydrates	12,31	S_Glycerol-3-P	8,8 \pm 1,2	A	6,4 \pm 0,4	A	2,6 \pm 0,4	B	1,2 \pm 0,1	D	15,5 \pm 1,5	C	17,7 \pm 2,2	C	3,8 \pm 0,5	B	3,5 \pm 0,5	B
Organic acid	4,163	R_Dehydroascorbic acid	3,8 \pm 0,6	A	2,6 \pm 0,4	A	2,8 \pm 0,2	A	2,7 \pm 0,3	A	2,0 \pm 0,2	A	2,1 \pm 0,2	A	1,5 \pm 0,2	B	1,4 \pm 0,1	B
Amines	2,56	R_Butyric acid	63,7 \pm 34,7	AE	20,7 \pm 4,4	B	53,0 \pm 6,6	A	47,5 \pm 8,5	A	27,8 \pm 4,0	B	15,1 \pm 2,9	B	18,2 \pm 3,8	B	23,0 \pm 1,3	B
Organic acid	11,96	S_Threonic acid	1,6 \pm 0,1	A	0,8 \pm 0,1	B	0,6 \pm 0,0	B	0,3 \pm 0,0	C	2,0 \pm 0,2	A	1,0 \pm 0,1	D	0,8 \pm 0,1	B	0,6 \pm 0,1	B
Amino acids	4,877	S_Aspartic acid	46,7 \pm 11,0	A	47,3 \pm 11,5	A	15,2 \pm 4,5	A	6,7 \pm 2,3	B	84,8 \pm 15,7	C	57,6 \pm 10,4	D	23,3 \pm 5,3	A	22,2 \pm 5,8	A
Amino acids		S_Tryptophan	5,6 \pm 2,5	A	6,6 \pm 3,7	A	3,3 \pm 1,1	A	3,0 \pm 1,2	A	11,1 \pm 3,2	A	11,3 \pm 2,7	A	5,5 \pm 0,5	A	8,3 \pm 1,3	A
Amines	4,071	R_Proline	349,9 \pm 140,2	A	13,8 \pm 8,6	A	1,1 \pm 1,0	B	4,5 \pm 2,8	B	72,0 \pm 14,2	A	280,8 \pm 169,4	A	9,6 \pm 8,1	A	22,7 \pm 6,3	A
Carbohydrates	9,037	S_Glucose-6-P	13,6 \pm 2,6	A	8,6 \pm 1,3	A	3,1 \pm 0,8	B	1,2 \pm 0,1	B	19,4 \pm 2,9	A	12,2 \pm 2,6	A	4,4 \pm 0,5	C	3,5 \pm 0,7	B
Carbohydrates	7,215	S_Myo-inositol	110,4 \pm 5,8	A	99,1 \pm 7,3	A	85,8 \pm 5,8	A	59,7 \pm 3,8	B	145,9 \pm 9,7	C	107,8 \pm 2,3	A	95,7 \pm 8,2	A	80,6 \pm 3,7	A
Carbohydrates	5,73	R_Maltotriose	3,5 \pm 0,2	A	3,5 \pm 0,4	A	4,0 \pm 0,2	A	2,8 \pm 0,3	A	4,3 \pm 0,8	A	2,4 \pm 0,2	A	1,7 \pm 0,3	B	1,4 \pm 0,1	B
Carbohydrates	8,956	S_Fructose-6-P	7,6 \pm 1,2	A	4,9 \pm 0,7	A	1,9 \pm 0,5	B	0,8 \pm 0,1	B	10,2 \pm 1,3	A	6,6 \pm 1,3	A	2,5 \pm 0,4	C	2,1 \pm 0,5	B
Carbohydrates	8,014	S_Inositol-1-P	2,2 \pm 0,4	A	1,5 \pm 0,3	A	0,5 \pm 0,1	B	0,2 \pm 0,0	B	3,0 \pm 0,4	A	1,9 \pm 0,3	A	0,7 \pm 0,1	B	0,6 \pm 0,2	B
Carbohydrates	9,804	S_Ribulose-5-P	7,8 \pm 0,9	A	5,7 \pm 0,5	A	2,7 \pm 0,3	B	1,6 \pm 0,2	B	12,5 \pm 1,6	C	7,4 \pm 0,6	A	4,0 \pm 0,5	A	2,8 \pm 0,4	B
Amines	2,349	S_Butyric acid	36,7 \pm 11,7	A	5,2 \pm 2,1	B	16,8 \pm 4,8	B	11,9 \pm 3,9	B	40,1 \pm 3,5	A	5,8 \pm 1,5	B	8,9 \pm 4,3	B	10,3 \pm 2,9	B
Organic acid	6,534	R_Pantothenic acid	5,7 \pm 0,3	A	4,8 \pm 0,1	A	5,5 \pm 0,4	A	5,0 \pm 0,2	A	6,4 \pm 0,3	A	4,0 \pm 0,4	B	3,6 \pm 0,3	B	3,3 \pm 0,1	B
Organic acid	7,568	R_Malic acid	52,6 \pm 5,0	A	39,9 \pm 6,9	A	34,8 \pm 2,0	A	36,5 \pm 8,1	A	38,8 \pm 2,0	A	43,4 \pm 5,4	A	13,4 \pm 1,7	B	9,4 \pm 1,7	B

Tabela Suplementar 4 - Valores de intensidade relativa dos 30 metabólitos que mais contribuíram para a separação dos tratamentos e tempos analisados, no componente 1 do sPLS-DA dos perfis metabólicos de plântulas de sorgo cv. CSF20. Os metabólitos com prefixo S_ e R_ estão presentes na parte aérea e raízes, respectivamente. A tabela apresenta ainda a classe, tempo de retenção (RT) no cromatograma para cada metabolito. Os valores representam as médias de quatro repetições \pm erro padrão. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,01$).

Metabolites class	RT*	Metabolites	C-20 24h	C-20 48h	C-20 72h	C-20 96h	S-20 24h	S-20 48h	S-20 72h	S-20 96h
Organic acid	9,3184	S_Quinic acid	32,7 \pm 5,9 A	17,3 \pm 1,6 A	11,2 \pm 2,3 B	4,7 \pm 0,8 D	42,8 \pm 3,4 C	22,1 \pm 3,0 A	16,6 \pm 1,5 A	7,4 \pm 0,9 B
Carbohydrates	8,8102	S_Fructose	273,5 \pm 30,6 A	186,1 \pm 2,9 A	145,2 \pm 6,3 B	107,2 \pm 10,7 B	291,9 \pm 22,7 A	229,8 \pm 9,5 A	148,1 \pm 11,8 B	105,3 \pm 9,6 B
Carbohydrates	9,6933	S_Sorbose	267,6 \pm 29,8 A	177,3 \pm 2,5 A	126,2 \pm 7,2 B	87,1 \pm 10,8 B	280,0 \pm 23,7 A	210,6 \pm 9,7 A	124,9 \pm 10,6 B	78,2 \pm 9,0 B
Carbohydrates	7,8898	R_Aconitic acid	44,3 \pm 5,2 A	20,9 \pm 4,3 A	8,1 \pm 3,0 B	5,1 \pm 1,3 B	62,1 \pm 5,7 A	31,9 \pm 1,5 A	19,3 \pm 2,7 A	3,8 \pm 0,7 B
Organic acid	14,54	S_Gulonic acid	13,6 \pm 1,3 A	14,2 \pm 1,1 A	5,6 \pm 0,7 B	2,8 \pm 0,2 C	31,1 \pm 2,6 E	12,3 \pm 0,7 A	6,2 \pm 0,8 B	2,0 \pm 0,3 D
Amino acids	7,0247	S_Pyroglyutamic acid	385,2 \pm 68,5 A	103,2 \pm 9,8 B	125,3 \pm 35,7 B	44,5 \pm 13,7 B	400,6 \pm 39,7 A	186,4 \pm 25,7 A	132,3 \pm 9,9 C	75,4 \pm 16,7 B
Carbohydrates	7,6437	R_Inositol-1-P	1,7 \pm 0,4 A	0,4 \pm 0,1 A	0,1 \pm 0,1 B	0,0 \pm 0,0 B	1,8 \pm 0,2 A	1,2 \pm 0,6 A	0,7 \pm 0,0 A	0,1 \pm 0,1 B
Carbohydrates	9,3776	S_Palatinose	13,5 \pm 1,4 A	5,6 \pm 0,3 B	3,0 \pm 0,6 B	2,9 \pm 0,6 B	15,5 \pm 1,7 A	5,5 \pm 0,7 B	3,5 \pm 0,3 B	2,0 \pm 0,2 C
Carbohydrates	2,905	R_Xylose	5,0 \pm 0,3 A	1,8 \pm 0,1 B	2,0 \pm 0,1 B	1,6 \pm 0,6 B	3,8 \pm 0,3 B	1,9 \pm 0,2 B	1,9 \pm 0,2 B	1,8 \pm 0,2 B
Carbohydrates	12,199	S_Ribulose-5-P	5,2 \pm 0,7 A	1,4 \pm 0,2 B	0,6 \pm 0,1 B	0,2 \pm 0,1 C	8,1 \pm 0,1 A	3,9 \pm 0,4 A	3,4 \pm 0,2 A	1,6 \pm 0,3 B
Carbohydrates	9,1926	S_Gluconic acid	0,8 \pm 0,1 A	0,6 \pm 0,1 A	0,3 \pm 0,0 B	0,2 \pm 0,0 B	1,2 \pm 0,0 A	1,0 \pm 0,1 A	0,5 \pm 0,0 B	0,4 \pm 0,1 B
Organic acid	8,5043	R_Shikimic acid	7,7 \pm 0,3 A	3,5 \pm 0,4 B	4,3 \pm 0,2 B	2,7 \pm 0,2 B	9,9 \pm 0,6 A	5,3 \pm 1,0 C	5,4 \pm 0,6 C	2,6 \pm 0,2 B
Carbohydrates	7,0637	R_Glucose-6-P	10,0 \pm 1,9 A	2,3 \pm 0,5 B	1,4 \pm 0,2 B	1,5 \pm 0,1 B	10,9 \pm 1,6 A	7,6 \pm 3,9 A	4,2 \pm 0,1 A	1,9 \pm 0,2 B
Carbohydrates	9,7047	S_Fructose-6-P	4,7 \pm 0,2 A	1,3 \pm 0,2 B	1,2 \pm 0,2 B	0,7 \pm 0,1 B	6,6 \pm 0,2 A	3,4 \pm 0,4 A	3,2 \pm 0,3 A	1,9 \pm 0,2 C
Amino acids	7,2552	R_Pyroglyutamic acid	495,5 \pm 82,1 A	114,7 \pm 27,8 B	80,5 \pm 5,6 B	65,5 \pm 5,9 B	597,9 \pm 83,7 A	220,8 \pm 46,6 A	174,3 \pm 33,5 C	136,8 \pm 30,0 B
Organic acid	5,7851	R_Quinic acid	14,0 \pm 0,4 A	5,5 \pm 0,4 A	5,3 \pm 0,4 A	4,1 \pm 0,9 B	16,6 \pm 1,7 C	12,4 \pm 5,6 A	8,0 \pm 1,4 A	3,0 \pm 0,1 B
Carbohydrates	9,2931	S_Glucose-6-P	8,7 \pm 0,2 A	2,2 \pm 0,3 B	2,1 \pm 0,4 B	1,4 \pm 0,3 B	12,5 \pm 0,3 A	6,4 \pm 0,6 A	6,1 \pm 0,6 A	3,5 \pm 0,3 C
Carbohydrates	12,463	S_Mannitol	7,4 \pm 1,4 A	6,4 \pm 0,5 A	1,2 \pm 0,2 B	0,6 \pm 0,2 B	6,0 \pm 0,6 A	6,7 \pm 0,1 A	1,0 \pm 0,1 B	0,8 \pm 0,0 B
Carbohydrates	9,7998	S_Glucose	238,0 \pm 27,9 A	149,3 \pm 3,7 A	127,7 \pm 7,3 B	95,9 \pm 8,6 B	247,9 \pm 18,7 C	174,1 \pm 9,0 A	102,3 \pm 7,9 B	62,4 \pm 7,4 D
Amino acids	4,5622	R_Glutamine	1,0 \pm 0,1 A	0,3 \pm 0,1 A	0,1 \pm 0,1 A	0,0 \pm 0,0 B	1,2 \pm 0,1 A	0,5 \pm 0,2 A	0,2 \pm 0,1 A	0,0 \pm 0,0 B
Carbohydrates	5,3588	S_Fructose-1,6-DP	3,2 \pm 0,4 A	0,7 \pm 0,1 A	0,5 \pm 0,2 B	0,1 \pm 0,1 B	4,3 \pm 0,4 A	1,3 \pm 0,2 A	1,0 \pm 0,2 A	0,5 \pm 0,1 A
Carbohydrates	4,4196	R_Fructose-6-P	5,4 \pm 1,1 A	1,3 \pm 0,3 A	0,9 \pm 0,1 A	0,5 \pm 0,2 B	5,3 \pm 0,6 A	3,8 \pm 1,9 C	2,3 \pm 0,1 A	0,9 \pm 0,3 B
Organic acid	5,6189	S_Succinic acid	0,6 \pm 0,1 A	0,4 \pm 0,0 A	0,2 \pm 0,0 B	0,2 \pm 0,0 B	0,6 \pm 0,1 A	0,4 \pm 0,0 A	0,3 \pm 0,0 A	0,3 \pm 0,0 C
Organic acid	6,5272	S_Threonic acid	1,3 \pm 0,1 A	0,7 \pm 0,1 B	0,6 \pm 0,0 B	0,6 \pm 0,1 B	1,6 \pm 0,1 A	1,1 \pm 0,1 A	1,1 \pm 0,1 A	0,8 \pm 0,1 C
Organic acid	6,6313	S_Shikimic acid	8,7 \pm 1,3 A	6,6 \pm 0,7 A	5,9 \pm 1,4 A	1,4 \pm 0,0 B	12,7 \pm 0,7 A	6,7 \pm 1,0 A	7,4 \pm 1,0 A	2,4 \pm 0,7 B
Carbohydrates	6,4744	S_Inositol-1-P	1,6 \pm 0,1 A	0,3 \pm 0,1 B	0,4 \pm 0,1 B	0,2 \pm 0,1 B	2,0 \pm 0,1 A	0,9 \pm 0,1 A	0,9 \pm 0,1 A	0,5 \pm 0,0 C
Carbohydrates	5,4886	R_Glucose	136,1 \pm 17,6 A	33,4 \pm 5,1 A	25,5 \pm 2,7 A	11,6 \pm 2,8 B	86,1 \pm 11,3 A	142,6 \pm 112,4 A	17,3 \pm 2,3 B	9,0 \pm 1,9 B
Organic acid	5,4449	R_Malic acid	53,3 \pm 1,4 A	32,5 \pm 5,1 A	17,7 \pm 3,8 B	25,2 \pm 6,2 A	88,5 \pm 10,6 C	38,1 \pm 6,1 A	30,1 \pm 2,4 A	18,5 \pm 2,6 B
Organic acid	6,701	R_Glutamic acid	1,2 \pm 0,1 A	0,5 \pm 0,1 A	0,1 \pm 0,1 B	0,1 \pm 0,1 B	1,5 \pm 0,1 A	1,0 \pm 0,1 A	0,8 \pm 0,1 A	0,5 \pm 0,1 A
Carbohydrates	4,4253	S_Myo-inositol	74,2 \pm 8,9 A	63,3 \pm 1,6 A	59,1 \pm 1,5 A	45,8 \pm 4,2 B	87,9 \pm 5,0 A	79,2 \pm 4,2 A	76,6 \pm 7,0 A	56,2 \pm 1,8 C

Tabela Suplementar 5 - Valores de intensidade relativa dos 30 metabólitos que mais contribuíram para a separação dos tratamentos e tempos analisados, no componente 2 do sPLS-DA dos perfis metabólicos de plântulas de sorgo cv. CSF20. Os metabólitos com prefixo S₋ e R₋ estão presentes na parte aérea e raízes, respectivamente. A tabela apresenta ainda a classe, tempo de retenção (RT) no cromatograma para cada metabólito. Os valores representam as médias de quatro repetições ± erro padrão. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (p < 0,01).

Metabolites class	RT*	Metabolites	C-20 24h	C-20 48h	C-20 72h	C-20 96h	S-20 24h	S-20 48h	S-20 72h	S-20 96h
Carbohydrates	6,772	R_Galactinol	10,7 ± 0,9 A	6,5 ± 0,6 A	8,8 ± 1,3 A	19,1 ± 1,3 A	28,3 ± 7,0 C	43,0 ± 9,9 B	50,4 ± 16,7 B	42,3 ± 6,4 B
Organic acid	10,57	S_Phosphoric acid	94,2 ± 10,5 A	40,6 ± 6,8 B	35,5 ± 3,4 B	39,3 ± 9,6 B	202,8 ± 11,7 C	207,7 ± 12,6 C	174,7 ± 23,7 A	190,0 ± 13,9 A
Organic acid	10,71	S_Citric acid	11,7 ± 0,3 A	4,6 ± 0,6 B	4,6 ± 0,2 B	3,8 ± 0,3 B	19,3 ± 2,5 A	15,8 ± 1,8 A	17,0 ± 1,3 A	19,2 ± 3,8 A
Carbohydrates	12,31	R_Ribulose-5-P	0,7 ± 0,1 A	0,1 ± 0,1 B	0,0 ± 0,0 B	0,0 ± 0,0 B	3,3 ± 0,6 C	4,1 ± 2,3 A	1,8 ± 0,2 A	0,7 ± 0,1 D
Amino acids	3,135	S_Tryptophan	3,3 ± 0,9 A	4,1 ± 0,7 A	3,7 ± 0,8 A	4,1 ± 1,0 A	9,6 ± 0,6 A	7,0 ± 1,1 A	8,7 ± 2,4 A	15,8 ± 3,4 B
Organic acid	7,636	R_Phosphoric acid	50,8 ± 8,9 A	27,2 ± 2,5 A	18,5 ± 2,8 A	24,4 ± 5,4 A	152,3 ± 15,7 B	183,2 ± 81,8 B	96,5 ± 7,1 C	65,5 ± 15,6 D
Amino acids	2,331	R_Aspartic acid	24,9 ± 12,3 B	15,4 ± 4,1 B	15,8 ± 8,3 B	33,1 ± 5,9 B	94,0 ± 34,9 A	71,1 ± 8,8 A	93,6 ± 8,4 A	74,7 ± 28,5 A
Carbohydrates	6,744	S_Aconitic acid	51,5 ± 6,2 A	30,9 ± 5,3 A	43,1 ± 3,3 A	24,0 ± 0,8 B	60,0 ± 6,3 C	60,4 ± 3,4 C	75,4 ± 2,1 C	65,1 ± 5,7 C
Organic acid	4,68	R_Citric acid	16,3 ± 2,4 A	17,8 ± 2,2 A	11,4 ± 2,2 A	13,9 ± 1,8 A	38,6 ± 3,3 B	26,6 ± 4,2 C	26,6 ± 1,4 C	26,4 ± 3,0 C
Carbohydrates	3,233	S_Trehalose	22,2 ± 2,6 A	14,8 ± 0,8 A	18,9 ± 1,6 A	29,2 ± 2,1 B	27,7 ± 2,7 A	21,5 ± 1,8 A	28,5 ± 2,8 B	33,2 ± 5,7 B
Carbohydrates		S_Melezitose	0,9 ± 0,1 A	0,8 ± 0,1 A	0,7 ± 0,1 A	1,4 ± 0,2 A	1,4 ± 0,3 A	1,5 ± 0,4 A	2,1 ± 0,5 A	1,2 ± 0,1 A
Carbohydrates	5,357	R_Trehalose	28,6 ± 1,9 A	15,5 ± 1,8 A	26,9 ± 3,6 A	75,6 ± 12,6 B	30,7 ± 4,7 A	35,5 ± 7,0 A	54,3 ± 10,4 C	64,7 ± 4,7 C
Carbohydrates	11,71	S_Glycerol-3-P	2,6 ± 0,2 A	1,5 ± 0,1 A	1,0 ± 0,1 B	0,6 ± 0,1 B	5,0 ± 0,4 D	4,3 ± 0,5 C	3,8 ± 0,7 C	2,8 ± 0,2 C
Amino acids	3,81	S_Homoserine	0,6 ± 0,2 A	0,5 ± 0,1 A	0,3 ± 0,1 A	0,2 ± 0,1 A	1,6 ± 0,3 B	1,4 ± 0,1 B	1,3 ± 0,5 A	1,5 ± 0,3 B
Organic acid	4,147	R_Pantothenic acid	2,8 ± 0,3 A	1,5 ± 0,2 B	2,1 ± 0,2 A	3,6 ± 0,3 B	2,8 ± 0,3 B	2,5 ± 0,3 B	3,3 ± 0,2 B	3,4 ± 0,4 B
Carbohydrates	ns	S_Raffinose	0,7 ± 0,1 A	0,6 ± 0,0 A	0,5 ± 0,1 A	1,1 ± 0,2 A	1,1 ± 0,3 A	1,2 ± 0,3 A	1,7 ± 0,4 A	0,9 ± 0,1 A
Organic acid	6,701	R_Glutaric acid	1,2 ± 0,1 A	0,5 ± 0,1 A	0,1 ± 0,1 B	0,1 ± 0,1 B	1,5 ± 0,1 C	1,0 ± 0,1 C	0,8 ± 0,1 A	0,5 ± 0,1 A
Carbohydrates	4,349	S_Xylitol	0,5 ± 0,1 A	0,4 ± 0,0 A	0,6 ± 0,2 A	0,4 ± 0,0 A	0,6 ± 0,0 A	0,4 ± 0,0 A	0,3 ± 0,0 C	0,2 ± 0,0 B
Carbohydrates		R_Kestose	4,6 ± 0,9 A	1,5 ± 0,5 A	2,4 ± 0,2 A	3,7 ± 1,3 A	3,1 ± 0,7 A	4,1 ± 1,6 A	4,4 ± 0,5 A	6,4 ± 1,0 A
Carbohydrates		R_Maltose	6,2 ± 2,4 A	2,2 ± 0,7 A	3,4 ± 1,2 A	6,6 ± 1,6 A	12,0 ± 4,0 A	9,5 ± 3,0 A	6,6 ± 2,2 A	18,1 ± 10,4 A
Organic acid		S_Dehydroascorbic aci	3,9 ± 1,9 A	3,5 ± 0,5 A	2,3 ± 0,7 A	2,3 ± 0,3 A	3,2 ± 0,1 A	1,4 ± 0,2 A	1,3 ± 0,2 A	1,4 ± 0,1 A
Amino acids		S_Threonine	10,3 ± 4,8 A	14,4 ± 2,4 A	9,8 ± 2,8 A	8,0 ± 2,4 A	22,8 ± 2,6 A	24,9 ± 2,5 A	20,8 ± 4,8 A	22,1 ± 2,6 A
Amino acids		S_Serine	32,1 ± 17,4 A	54,5 ± 10,4 A	35,0 ± 12,4 A	33,7 ± 11,4 A	82,5 ± 14,5 A	97,5 ± 13,1 A	78,5 ± 22,7 A	95,7 ± 14,4 A
Amino acids		R_Tryptophan	8,5 ± 3,3 A	5,3 ± 2,0 A	7,1 ± 3,4 A	18,1 ± 4,4 A	24,5 ± 7,9 A	14,9 ± 6,1 A	18,4 ± 3,0 A	17,9 ± 8,3 A
Amines		R_Proline	44,7 ± 38,5 A	9,7 ± 3,6 A	5,6 ± 2,9 A	6,0 ± 2,2 A	254,8 ± 130,6 A	118,1 ± 32,4 A	110,6 ± 18,4 A	25,4 ± 13,2 A
Carbohydrates	6,363	R_Sorbose	523,9 ± 9,3 A	316,0 ± 29,5 A	346,2 ± 25,2 A	179,9 ± 49,4 B	500,5 ± 24,9 A	340,3 ± 64,4 A	218,1 ± 37,0 A	85,5 ± 15,0 B
Amino acids		R_Serine	84,1 ± 51,8 A	34,9 ± 9,0 A	36,0 ± 18,8 A	69,9 ± 18,9 A	194,1 ± 82,2 A	158,0 ± 35,4 A	138,1 ± 20,9 A	83,6 ± 32,1 A
Carbohydrates	5,669	R_Fructose	602,1 ± 8,8 A	355,7 ± 29,2 A	414,9 ± 32,7 A	248,1 ± 64,6 B	571,8 ± 31,6 A	387,2 ± 57,7 A	286,0 ± 44,8 A	118,9 ± 22,8 B
Carbohydrates		R_Fructose-1,6-DP	1,5 ± 0,1 A	0,8 ± 0,1 A	1,4 ± 0,1 A	2,5 ± 0,2 A	2,2 ± 0,2 A	2,5 ± 1,3 A	1,8 ± 0,2 A	1,9 ± 0,3 A
Amino acids		S_Lysine	10,8 ± 1,9 A	17,9 ± 1,2 A	14,9 ± 1,1 A	13,3 ± 3,5 A	16,1 ± 0,9 A	21,1 ± 1,2 A	20,0 ± 2,9 A	27,5 ± 5,1 A