



MARÍLIA MENDES DOS SANTOS GUARALDO

**INDUÇÃO DE TOLERÂNCIA À SALINIDADE E RESTRIÇÃO
HÍDRICA EM SEMENTES DE ALGODÃO POR MEIO DE
MOLÉCULAS SINALIZADORAS**

LAVRAS - MG

2022

MARÍLIA MENDES DOS SANTOS GUARALDO

**INDUÇÃO DE TOLERÂNCIA À SALINIDADE E RESTRIÇÃO HÍDRICA EM
SEMENTES DE ALGODÃO POR MEIO DE MOLÉCULAS SINALIZADORAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, para a obtenção do título de Mestre.

Profª. Dra. Heloisa Oliveira dos Santos
Orientadora

Profª. Dra. Édila Vilela de Resende Von Pinho
Coorientadora

**LAVRAS - MG
2022**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Guaraldo, Marília Mendes dos Santos.

Indução de tolerância à salinidade e restrição hídrica em
sementes de algodão por meio de moléculas sinalizadoras / Marília
Mendes dos Santos Guaraldo. - 2022.

53 p.

Orientador(a): Heloisa Oliveira dos Santos.

Coorientador(a): Edila Vilela de Resende Von Pinho.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2022.

Bibliografia.

1. *Gossypium hirsutum*. 2. Qualidade fisiológica. 3. Estresse
oxidativo. I. Santos, Heloisa Oliveira dos. II. Von Pinho, Edila
Vilela de Resende. III. Título.

MARÍLIA MENDES DOS SANTOS GUARALDO

**INDUÇÃO DE TOLERÂNCIA À SALINIDADE E RESTRIÇÃO HÍDRICA EM
SEMENTES DE ALGODÃO POR MEIO DE MOLÉCULAS SINALIZADORAS**

**INDUCTION OF SALINITY AND WATER RESTRICTION TOLERANCE IN
COTTON SEEDS THROUGH SIGNALIZING MOLECULES**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 10 de março de 2022.

Profa. Dra. Heloisa Oliveira dos Santos	UFLA
Profa. Dra. Édila Vilela de Resende Von Pinho	UFLA
Profa. Dra. Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias	UFV
Profa. Dra. Raquel Maria de Oliveira Pires	UFLA

Profa. Dra. Heloisa Oliveira dos Santos
Orientadora

Profa. Dra. Édila Vilela de Resende Von Pinho
Coorientadora

LAVRAS-MG

2022

A minha mãe, dedico.

AGRADECIMENTOS

À Deus.

Aos meus familiares.

Aos meus amigos.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Agricultura, pela oportunidade concedida para realização do mestrado.

À Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig) pelo apoio financeiro.

À minha orientadora Heloisa Oliveira dos Santos.

Aos docentes do programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia.

Aos membros do Núcleo de Estudo em Sementes (NESem) e do Núcleo de Estudos em Cotonicultura (NECOTON).

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO GERAL

Estresses abióticos são a principal causa da redução de produtividade das culturas. Estes estresses podem comprometer o crescimento, o desenvolvimento e a sobrevivência das plantas. Sob estas condições, têm sido verificadas a produção de espécies reativas ao oxigênio o que causa danos em membranas celulares e induzem a expressão de genes relacionados às enzimas do sistema antioxidante. Assim, objetivou-se neste trabalho avaliar a eficiência do condicionamento fisiológico de sementes de algodão (*Gossypium hirsutum*), na presença de moléculas sinalizadoras para a indução de tolerância à salinidade e deficiência hídrica durante os processos de germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas. Foram avaliados aspectos fisiológicos e bioquímicos relacionados aos diferentes tipos de estresse abiótico, ao condicionamento fisiológico e ao uso de moléculas sinalizadoras. Foram avaliadas as moléculas sinalizadoras melatonina, ácido indolacético (AIA), óxido nítrico, peróxido de hidrogênio e quitosana; e duas condições de estresse abiótico: salinidade e restrição hídrica. Foram avaliados o teor de água, germinação e vigor das sementes, o desenvolvimento e vigor de plântulas por análise de imagem e ainda o teor de prolina, peroxidação lipídica e atividade das enzimas antioxidantes em sementes e plântulas submetidas aos diferentes tratamentos. Os experimentos foram instalados em DIC com 8 repetições. Pelos resultados desta pesquisa, houve benefícios do condicionamento fisiológico e da utilização de moléculas sinalizadoras para o aumento da tolerância à salinidade e restrição hídrica durante a germinação e crescimento de plântulas de algodão. Além disso, foi possível entender os aspectos fisiológicos e bioquímicos envolvidos nos processos de condicionamento fisiológico e uso de moléculas sinalizadoras relacionadas aos estresses hídrico e salino.

Palavras-chave: Qualidade de sementes. Espécies reativas de oxigênio. Sinalização sistêmica. Estresses.

GENERAL ABSTRACT

Abiotic stresses are the main cause of crops productivity loss. These stresses compromises growing, development, and plant survival, as in seed germination. Under those conditions, studies have been carried regarding production of reactive oxygen species which results in cell membrane damage and antioxidant-related gene expression. Thus, this study aimed to evaluate physiological condition efficiency on cotton seeds (*Gossypium hirsutum*) in the presence of signaling molecules to induces salinity and hydric deficiency tolerance during seed germination and seedling development. We evaluated physiological and biochemical aspects regarding different types of abiotic stresses, physiological conditioning, and signaling molecules usage. Were used the signaling molecules melatonin, indoleacetic acid, nitric oxide, hydrogen peroxide, and chitosan and two conditions of abiotic stress (salinity and hydric restriction). Were evaluated water content, seed germination, and vigor. Also, through image analysis, seedling development was evaluated. Biochemical aspects of proline content, lipidic peroxidation, and activity of antioxidant enzymes on seeds and seedlings was evaluated through the treatments. Experiments were established on completely random design with eight replicates. We observed the benefits of physiological conditioning and usage of signaling molecules, which resulted on increase of salinity and water restriction during cotton seed germination and seedling development. Also, through this research, was possible to observe the physiological and biochemical aspects involved in the physiological conditioning and signaling molecules related to salt and water stresses.

Keywords: Seed quality. Reactive oxygen species. Systemic signaling. Stresses.

SUMÁRIO

	CAPÍTULO 1	10
1	INTRODUÇÃO GERAL	10
2	REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1	Cultura do Algodão: importância no Brasil e no mundo	13
2.2	Estresses abióticos em plantas	14
2.3	Condicionamento fisiológico de sementes	18
	REFERÊNCIAS	22
	CAPÍTULO 2 Moléculas sinalizadoras e promoção de tolerância à salinidade e restrição hídrica em sementes de algodão na germinação.....	28
1	INTRODUÇÃO	30
2	MATERIAL E MÉTODOS	32
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
4	CONCLUSÕES	48
	REFERÊNCIAS	50

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO GERAL

O setor agrícola tem crescido no cenário brasileiro e mundial, sendo que, dentre as culturas de grande valor comercial, o algodão possui papel de destaque. A planta é aproveitada em sua totalidade, não existindo assim subprodutos da cultura, mas sim coprodutos, em que a semente (caroço) e a fibra representam aproximadamente 65% e 35% da produção, respectivamente, o que justifica a importância da cotonicultura no mercado (RICHETTI e MELO FILHO, 2001). Também é referência no setor socioeconômico, pela parcela significativa do produto Interno Bruto do agronegócio brasileiro, além da geração de empregos direta e indiretamente de milhões de pessoas no país (EMBRAPA, 2019), o que caracteriza o algodão como uma das principais commodities brasileiras.

No Brasil a cotonicultura sofreu profundas transformações, passando em pouco tempo de cultura familiar, com forte demanda de mão-de-obra, para a produção em grandes áreas com importantes investimentos em capital e tecnologia (VIEIRA, 1999). Em quase todos os estados produtores de algodão no país foi observado incremento em área plantada no decorrer dos anos, destacando-se Mato Grosso e Bahia que, de acordo com a ABRAPA (2021), possuem 1065,40 e 290,10 mil hectares plantados, respectivamente. Além do aumento de área em regiões onde já se cultivava algodão, ocorreu forte incorporação de novas áreas ao processo produtivo, como por exemplo a região norte do estado de Minas Gerais, que tem como características edafoclimáticas, solos salinos e déficit hídrico

Sabe-se que condições ambientais desfavoráveis para a sobrevivência da cultura, tais como a deficiência de água e alta concentração de sais no solo, podem causar efeitos significativos sobre a produtividade (OLIVEIRA et al, 2017). Considerando as características ambientais das novas áreas, as mudanças climáticas que vêm ocorrendo nas últimas décadas, estudar as respostas fisiológicas da cultura do algodão em diferentes condições de estresses abióticos torna-se cada vez mais importante.

As plântulas do algodoeiro são biologicamente pouco tolerantes aos estresses abióticos. (BELTRÃO, 2008). A habilidade de tolerar tais estresses é influenciada pelo genótipo. No Brasil há programas de melhoramento de algodão, por meio dos quais são desenvolvidas cultivares para várias regiões geográficas, com manejo para produção de fibras de forma competitiva. Apesar da qualidade agrônômica destas cultivares, a maioria tem limitação a ambientes com irregularidades hídricas, altas temperaturas durante o processo de germinação

das sementes, dentre outros tipos de estresses abióticos, que por sua vez reduzem o estande inicial de plantas, o número de frutos e a produtividade, dentre outros (VASCONCELOS, 2016). Estresses abióticos durante as fases críticas da planta predisõem à redução de rendimento, além disso, são os principais responsáveis por provocar mudanças morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e moleculares afetando adversamente o crescimento e desenvolvimento vegetal (WANG et al., 2009).

Quando as plantas e sementes são submetidas aos estresses, seja de natureza biótica ou abiótica, ocorrem mudanças do meio celular que promovem alterações de várias vias que compõem diferentes rotas metabólicas (MILLER, 2010). Nesta condição são formadas em excesso as espécies reativas de oxigênio (ERO's), sendo estas extremamente danosas às moléculas como proteínas, DNA e lipídeos (APEL; HIRT, 2004), o que pode afetar a qualidade fisiológica das sementes. Porém, há pelo menos cinco diferentes enzimas capazes de remover as ERO's, a exemplos das superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), glutathione peroxidase (GPX) e glutathione reductase (GR). (RODRIGUEZ, 2003; TOGNOLLI, 2002; VANDENABEELE, 2004).

Com o objetivo de diminuir o processo de deterioração provocado pelas EROs e aumentar a tolerância das plantas aos diversos estresses ambientais, têm-se usado técnicas para otimizar os meios de produção. Como exemplo pode-se citar o condicionamento fisiológico de sementes que, pelo fato de a absorção de água pela semente ocorrer sob condições controladas, ativa o metabolismo das sementes durante as fases I e II da embebição, sem que ocorra a protrusão da raiz primária (fase III) (BONOME et al., 2017; BATISTA et al., 2018; RIBEIRO et al., 2019). Sendo assim, a digestão das reservas, sua translocação e assimilação são ativadas para que as sementes, componentes do lote, alcancem estado metabólico relativamente uniforme, quando o acesso à água é interrompido. Conforme destacaram Heydecker e Gibbins (1978) e Marcos Filho (2015), as sementes que atingem mais rapidamente, o teor de água desejado, aguardam as menos vigorosas atingirem o mesmo estado metabólico. Desta forma, a germinação é praticamente instantânea após o condicionamento fisiológico, tendo como efeito principal a redução da diferença da atividade metabólica das sementes mais e menos vigorosas, caracterizando a uniformidade de germinação. Além de acelerar e uniformizar o processo de germinação, o condicionamento fisiológico serve como ferramenta para que substâncias/moléculas sejam disponibilizadas para as sementes.

Dentre essas substâncias, a melatonina é uma molécula descrita como promotora de tolerância a estresses em plantas (ARNAO; HERNÁNDEZ-RUIZ, 2014); bem como o ácido indol-3-acético (AIA) que atua na ativação do metabolismo energético central das células e

auxilia na proteção destas contra vários estresses abióticos, como UV, salinidade e restrição hídrica; o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) que desempenha papel vital na tolerância ao estresse e atua como um mensageiro secundário quando seu nível se apresenta em baixa concentração (YOU E CHAN, 2015; FAROOQ et al., 2017); além de atuar na sinalização da regulação de enzimas antioxidantes via sinalização ABA, o nitroprussiato de sódio, serve como fonte de óxido nítrico (ON), que por sua vez aumenta a tolerância da semente a diversos estresses abióticos, como estresse hídrico e salino (SILVA et al., 2015; KAISER et al., 2016; PIRES et al., 2016) e ainda possui propriedades antioxidantes (SILVA et al., 2015; PIRES et al., 2016); e a quitosana, um componente estrutural importante na constituição de paredes celulares (RADMAN et al. 2003), que estimula a germinação em sementes e, proporciona aumento do metabolismo para a produção de energia durante o processo germinativo, o que resulta em maiores valores de germinação (ZHOU et al. 2002).

Embora estas substâncias atuem na indução de tolerância a estresses abióticos em plantas, pouco se sabe sobre a aplicação delas de forma exógena, via condicionamento fisiológico, em sementes.

Diante do exposto, é importante avaliar a eficiência do condicionamento fisiológico na presença de moléculas sinalizadoras para a indução de tolerância à salinidade e restrição hídrica durante os processos de germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de algodão. Além disso, é importante também avaliar aspectos fisiológicos e bioquímicos relacionados ao estresse salino e deficiência hídrica, ao condicionamento fisiológico e ao uso de moléculas sinalizadoras

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Cultura do Algodão: importância no Brasil e no mundo

O algodoeiro herbáceo (*Gossypium hirsutum* L.) é uma das principais commodities mundiais do agronegócio de fibras e fios naturais. A espécie é uma das principais plantas domesticadas pelo homem e uma das mais antigas, tendo registros de seu uso há mais de 4.000 anos, sendo cultivado comercialmente em mais de 65 países. O Brasil é quarto maior produtor de algodão do mundo, com mais de 1,65 milhões de hectares plantados, especialmente na região dos Cerrados do Centro Oeste e da Bahia. O Nordeste, que em outras épocas dominava o cultivo, ainda mantém forte representação, porém em área da Bahia, atualmente o segundo maior produtor, localizada no Extremo Oeste, em direção à região mais central do território brasileiro. Ao todo, são 15 estados produtores, dos 27 existentes e que na safra 2020/2021, produziram 2,79 milhões de toneladas do produto (ABRAPA, 2022).

É válido ressaltar que houve redução significativa do consumo de fibras na safra 2019/2020, em decorrência da pandemia do coronavírus, coincidindo com recordes em produção e produtividade o que ocasionou a redução no preço desta no mercado internacional. Estima-se que uma redução de 12% do consumo de fibras naturais neste período (ICAC, 2020).

Segundo dados da ABRAPA (2022), a fibra de algodão participa com mais de 40% do vestuário da população mundial, além da extração de óleo, que é a terceira matéria-prima vegetal mais utilizada para a produção de biodiesel no Brasil.

A área ocupada para a produção de sementes de algodão, considerando todas as categorias, foi de 8,2 mil hectares na safra 2018/19 e de 18,85 mil hectares na safra 2019/20, conforme dados do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2020). Estima-se que para a safra 2021/22 haverá redução do número de campos de produção de sementes de algodão, esta redução sendo ainda reflexo da pandemia do coronavírus associada ao aumento do custo de fertilizantes, que provocou a redução do consumo de têxteis e impactou o mercado da pluma.

Além disso, as frequentes condições ambientais adversas nas regiões de cultivo a exemplos de seca e alta salinidade podem comprometer o crescimento e desenvolvimento das plantas de algodão e conseqüentemente a produção de fibras e sementes (AHMAD et al., 2016).

O algodoeiro é uma planta com metabolismo fotossintético do tipo C3, com elevada taxa de fotorrespiração, superior a 40 % da fotossíntese bruta, dependendo do ambiente (BELTRÃO E SOUZA, 1999). O mecanismo fisiológico é complexo, porém possui várias habilidades fisiológicas para sobreviver em condições de estresses. Em condições de estresse

severo a planta reduz o crescimento e a atividade fotossintética, o que pode ser resultante do aumento da resistência difusiva estomática, uma vez que os estômatos são a principal via de troca gasosa entre as folhas e o meio externo (AMARAL et al., 2006). A fase em que as plantas são mais sensíveis é durante a floração e formação dos frutos. Nessa fase, estresses abióticos, a exemplo de restrição de água, podem levar a queda das estruturas reprodutivas e, conseqüentemente, redução da produtividade da cultura (AQUINO et al., 2012; BEZERRA et al., 2010).

A habilidade de tolerar tais estresses depende do genótipo. No Brasil há programas de melhoramento de algodão, por meio dos quais são desenvolvidas cultivares para várias regiões geográficas, com manejo para produção de fibras de forma competitiva. Apesar da qualidade agrônômica destas cultivares, a maioria tem limitação a ambientes com irregularidades hídricas, altas temperaturas durante o processo de germinação das sementes, dentre outros tipos de estresses abióticos, que por sua vez reduzem o estande inicial de plantas, o número de frutos e as produtividades, causam abortamento de flores, dentre outros (VASCONCELOS e tal., 2018).

Considerando-se as frequentes condições ambientais adversas nas regiões de cultivo e intensas atividades humanas, é importante entender os mecanismos de resposta das sementes e plântulas quando expostas às condições de alta salinidade e restrição hídrica.

2.2. Estresses abióticos em plantas

A germinação é uma etapa crucial, uma vez que garante a sobrevivência da maioria das espécies cultivadas. Para garantir a sobrevivência, as plantas desenvolveram mecanismos que permitem que a germinação das sementes seja suspensa sob condições de estresse, e depois retomada quando as condições são favoráveis (DASZKOWSKA, 2011).

As plantas desenvolvem mecanismos de respostas que conferem características de tolerância a estresses o que facilita a sobrevivência destas em diferentes condições ambientais e em uma ampla faixa de amplitude térmica. Estresses ambientais podem afetar o crescimento e desenvolvimento, o que resulta em importantes mudanças na morfologia e fisiologia das plantas (JHONOVÁ et al., 2016).

Na tentativa de aumentar a tolerância das plantas aos diferentes estresses ambientais, surge o interesse pela utilização de substâncias que promovam essa tolerância. Dentre essas substâncias, a melatonina é uma molécula descrita como promotora de tolerância a estresses em plantas (ARNAO; HERNÁNDEZ-RUIZ, 2014). Sua síntese é induzida nos vegetais,

quando estes estão expostos a estresses bióticos e abióticos. Embora a melatonina atue na promoção da tolerância de diferentes espécies vegetais a estresses abióticos, poucos são os estudos que relacionem a aplicação exógena da melatonina, via condicionamento fisiológico em sementes, com a tolerância à seca, salinidade, altas temperaturas e estresse por cádmio, durante o processo de germinação e desenvolvimento de plântulas. Ressalta-se ainda que a melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina), é onipresente nos organismos vivos e possui papel semelhante em várias espécies de plantas (HARDELAND et al., 2016; NAWAZ et al., 2016).

A melatonina está envolvida em múltiplos processos fisiológicos, incluindo crescimento e fotossíntese, germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas, além da osmorregulação (TAN et al., 2013). Sua capacidade de proteção contra estresses abióticos e bióticos, tem sido relatada em situações de baixas temperaturas de germinação (LEI et al., 2004), restrição hídrica (WANG et al., 2013; ZHANG et al., 2013), e contaminação por metais pesados (XU et al., 2010). Em várias pesquisas tem sido observado que a melatonina é um regulador de crescimento de plântulas e plantas. Seu modo de ação é ativado quando da interação com outros fito-hormônios, incluindo ácido indol-3-acético (AIA) e ácido salicílico (WANG et al., 2009). Esta tem como principal função a ativação do sistema antioxidante e pode alterar os níveis de expressão de vários genes que atuam em diferentes mecanismos fisiológicos (TAN et al., 2013; GALANO et al., 2011).

Além da melatonina, em alguns estudos tem sido relatado que o ácido indol-3-acético (AIA), atua na ativação do metabolismo energético central das células (BIANCO et al., 2006), auxiliando na proteção destas contra vários estresses abióticos, como UV, salinidade e restrição hídrica.

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é um composto geralmente encontrado como subproduto na planta, durante o ciclo de vida normal (GILL E TUTEJA, 2010). No entanto, sabe-se que desempenha função vital na tolerância ao estresse e atua como um mensageiro secundário quando seu nível se apresenta em baixa concentração (YOU E CHAN, 2015; FAROOQ et al., 2017). Além disso, atua na sinalização da regulação de enzimas antioxidantes via sinalização ABA (SAXENA et al., 2016).

Embora o papel do peróxido de hidrogênio na resposta fisiológica, sob condições de estresse, já tenha sido relatado em diferentes estudos (TENA et al., 2001; QUAN et al., 2008; GUPTA et al., 2016; JAGODZIK et al., 2018; ZHANG et al., 2018), a eficácia do H_2O_2 no desencadeamento da tolerância ao estresse em sementes ainda é inconclusiva. Ampla gama de concentrações de peróxido de hidrogênio já foi utilizada e os resultados variaram entre as espécies, bem como os métodos de aplicação. No entanto, em nenhum dos trabalhos foi testada

a aplicação via condicionamento fisiológico e posterior efeito em condições de restrição hídrica e salinidade, como proposto neste estudo.

Assim como para o peróxido de hidrogênio, para o nitroprussiato de sódio (ON) há escassez de trabalhos sobre a forma de ação em sementes submetidas ao condicionamento fisiológico. Porém o seu efeito sob o processo germinativo de sementes já foi comprovado em diversos trabalhos, demonstrando que é eficiente na superação de dormência de sementes de várias espécies, entre elas alface (BELIGNI; LAMATTINA, 2000), cevada (BETHKE et al., 2004), *Arabidopsis* (BETHKE; LIBOUREL; JONES, 2006; LIBOUREL et al., 2006) e *Paulownia tomentosa* (GIBA et al., 1998). O nitroprussiato de sódio é um composto químico de fórmula $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ que serve como fonte de óxido nítrico (ON). A aplicação de doadores de ON também faz com que as sementes germinem mais e mais rápido (ATAÍDE et al., 2015; KAISER et al., 2016; PIRES et al., 2016), e ainda aumenta a atividade de enzimas do sistema antioxidante (SILVA et al., 2019).

O ON também foi capaz de diminuir os efeitos do envelhecimento de sementes armazenadas de *Plathymenia reticulata* (PEREIRA et al., 2010) assim como aumentou a tolerância a diversos estresses abióticos, como estresse hídrico, salino e por metais pesados (SILVA et al., 2015; KAISER et al., 2016; PIRES et al., 2016). O estresse oxidativo, provocado pelo aumento da concentração de superóxido e peróxido de hidrogênio, pode ser controlado pelo óxido nítrico, uma vez que o mesmo possui propriedades antioxidantes (SILVA et al., 2015; PIRES et al., 2016).

A tolerância aos diferentes tipos de estresse se dá pelo estímulo à atividade de uma ou mais enzimas do sistema antioxidante como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POX) e peroxidase do ascorbato (APX), o que reduz a ação de espécies reativas de oxigênio (EROs) (SILVA et al., 2015; PIRES et al., 2016).

Outro composto que pode induzir a tolerância aos estresses abióticos é a quitosana. Esta é um polímero linear de 3-(1,4) -glucosamina produzido pela desacetilação da quitina, sendo um componente estrutural importante na constituição de várias paredes celulares (RADMAN et al. 2003). Um dos mais importantes efeitos da quitosana nas plantas é o estímulo da germinação em sementes. Em sementes de amendoim revestidas com quitosana, foi observado aumento do metabolismo para a produção de energia durante o processo germinativo, o que resultou em maiores valores de germinação (ZHOU et al. 2002).

O crescimento e o desenvolvimento das plantas, que podem ser inibidos ou atrasados por diferentes estresses abióticos, são regulados por interações bioquímicas e fisiológicas, o que é crítico em diferentes estádios de desenvolvimento em função da expressão de vários

genes. Alguns dos principais aspectos do crescimento incluem desenvolvimento de sementes, sua germinação e sobrevivência das plantas em condições desfavoráveis (VISHAL e KUMAR, 2018), sendo a germinação das sementes a etapa mais crucial, uma vez que garante a sobrevivência da próxima geração.

As plantas precisam integrar sinais internos e externos para produzir a resposta fisiológica diante de qualquer situação de estresse. Para isso desenvolveram mecanismos que permitem que a germinação das sementes seja suspensa sob estas condições, e depois retomada quando as condições são favoráveis (DASZKOWSKA, 2011).

Salinidade e déficit hídrico são os principais estresses abióticos que afetam a produtividade das culturas, especialmente nas regiões áridas e semi-áridas (BHANUPRAKASH; YOGEESEA, 2016). Esses fatores interferem diretamente na germinação das sementes e com isso no desenvolvimento da cultura, limitando o potencial de produção (BHANUPRAKASH; YOGEESEA, 2016).

A germinação é uma fase crítica no ciclo de vida das plantas, e o movimento da água presente na solução, que ocorre através dos tecidos da semente, é necessário para o acionamento adequado do processo germinativo (BHANUPRAKASH; YOGEESEA, 2016; SANTOS et al., 2016). Esse movimento depende da presença de um gradiente de potencial hídrico, que é reduzido quando há presença de sais, sendo que esta presença pode, eventualmente, restringir a absorção de água das sementes (PEREIRA et al., 2014). Essas condições de estresse diminuem a velocidade de emergência e de desenvolvimento de plântulas, afetam o número de folhas, de sementes por planta, os tamanho e massa de sementes (JOSÉ et al., 2016; LIU et al., 2018; BARBIERI et al., 2019).

Em regiões com essas adversidades recorrentes, a absorção de água pelas sementes, durante o processo de germinação, é dificultada pela negatividade do potencial matricial do solo (SANTOS et al., 2016). Podem ocorrer, também, efeitos tóxicos nas sementes em processo de germinação, que levam a alterações no metabolismo celular, redução na porcentagem e velocidade de germinação, além de mudanças nos desenvolvimento e crescimento (PELEGRINI et al., 2013; SANTOS et al., 2016).

A avaliação da germinação de sementes em substratos salinizados e com restrição hídrica parece ser promissora para se determinar a tolerância das plantas aos excesso de sais e déficit hídrico no campo (BHANUPRAKASH; YOGEESEA, 2016; JOSÉ et al., 2016). Um dos métodos usados para determinar a tolerância de uma planta ao déficit hídrico é avaliar a capacidade de germinação das sementes, com o uso de polietileno glicol (PEG) (MASETTO

et al., 2013). Este é um composto inorgânico que reduz o potencial osmótico da solução e realiza uma restrição controlada na embebição, sem causar toxicidade (ABREU et al., 2018).

Para a sinalização de restrição hídrica também são utilizadas soluções salinas, já que as respostas das plantas à seca e à salinidade são relacionadas. Em ambos os estresses, os mecanismos, que se sobrepõem, sugerem que sejam percebidos pelas células como um evento de privação de água (BHANUPRAKASH; YOGEESSHA, 2016). Porém, a salinidade não atua apenas por restringir a absorção de água e causar estresse hídrico, mas também causa toxicidade, devido aos íons Na^+ e Cl^- , por exemplo (LIANG et al., 2018). A presença desses íons cria um desequilíbrio iônico no citoplasma celular, que pode levar à formação de espécies reativas de oxigênio, as quais podem causar peroxidação lipídica da membrana, danos ao DNA, desnaturação de proteínas, oxidação de carboidratos e diminuição da atividade enzimática, bem como atuar como sinalizadores de estresse ativando o sistema defensivo protegendo os componentes celulares (LIANG et al., 2018).

Para melhorar a germinação de sementes e melhorar a uniformidade e velocidade de emergência de plântulas em campo, as sementes podem ser submetidas aos tratamentos pré-germinativos, como o condicionamento fisiológico (MASETTO et al., 2013; BHANUPRAKASH; YOGEESSHA, 2016; JOSÉ et al., 2016). Este permite que os procedimentos de reparo sejam ativados, reduzindo os danos presentes nas membranas das células, melhorando o vigor do lote (BHANUPRAKASH; YOGEESSHA, 2016).

Por reduzir o tempo de germinação e padronizar este processo, o condicionamento propicia mais tolerância sob condições desfavoráveis no campo e diminui os efeitos das variações ambientais. Isso permite que a germinação ocorra em várias condições de temperatura, luz, solo e disponibilidade de água, e possibilita ainda, bom desenvolvimento da parte aérea e aceleração do crescimento das plantas (ZHENG et al., 2016; BONOME et al., 2017; BATISTA et al., 2018; PEREIRA et al., 2018; RIBEIRO et al., 2019). Como esses processos iniciais da germinação são ativados ainda em condições ótimas, a técnica fornece uma vantagem às sementes, quando estas forem expostas às condições adversas de salinidade e déficit hídrico.

2.3. Condicionamento fisiológico de sementes

Desde a década de 1970 pesquisadores tentam melhorar a germinação e desempenho das sementes com tratamentos pré-semeadura, envolvendo a iniciação do metabolismo de germinação. Dentre os procedimentos desenvolvidos, destaca-se o condicionamento

fisiológico, especialmente em virtude dos benefícios sobre o desempenho das sementes (MARCOS FILHO, 2015; BONOME et al., 2017; BATISTA et al., 2018).

O termo “condicionamento fisiológico de sementes” é utilizado pela indústria sementeira e por pesquisadores para abranger o conjunto de técnicas destinadas a realçar a qualidade ou beneficiar o desempenho de lotes de sementes e o desempenho de plântulas. O objetivo principal da técnica é garantir a uniformidade de germinação e o estabelecimento das plântulas (BONOME et al., 2017; BATISTA et al., 2018; RIBEIRO et al., 2019). Este método permite que ocorra procedimentos de reparo nas membranas das células, o que melhora o vigor do lote sujeito ao condicionamento (BONOME et al., 2017; BATISTA et al., 2018; RIBEIRO et al., 2019).

O vigor das sementes é o componente da qualidade fisiológica mais influenciado pelo condicionamento fisiológico (MARCOS FILHO, 2015). Por essa razão, o tratamento tem sido denominado na literatura como envigoração de sementes (SILVA et al., 2015). No entanto, Marcos Filho (2015) explica que essa impressão de “envigoração” ocorre porque a germinação é praticamente instantânea após o condicionamento fisiológico. O efeito principal, entretanto, é a redução da diferença da atividade metabólica das sementes mais e menos vigorosas, caracterizando a uniformidade de germinação.

Pelo fato de a absorção de água pela semente ocorrer sob condições controladas, o condicionamento fisiológico ativa o metabolismo das sementes durante as fases I e II da embebição, sem que ocorra a protrusão da raiz primária (fase III) (BONOME et al., 2017; BATISTA et al., 2018; RIBEIRO et al., 2019). Sendo assim, a digestão das reservas, sua translocação e assimilação são ativadas para que as sementes, componentes do lote, alcancem estado metabólico relativamente uniforme, quando o acesso à água é interrompido. Conforme destacaram Heydecker e Gibbins (1978) e Marcos Filho (2015), a uniformidade é conseguida já que o tempo de condicionamento deve ser suficiente para que as sementes menos vigorosas avancem no processo de germinação até alcançarem o estágio no qual as sementes mais vigorosas são paralisadas pela restrição hídrica. Desta forma, a germinação é praticamente instantânea após o condicionamento fisiológico.

A técnica pode ser aplicada por meio de várias formas, como imersão direta em água, umedecimento de substratos para embebição e contato com substâncias e o osmocondicionamento. Este último, se baseia na hidratação da semente de maneira equilibrada, utilizando soluções de baixo potencial hídrico. O composto utilizado deve ser quimicamente inerte, mas osmoticamente ativo, como o NaCl, KNO₃, MgSO₄ e polietileno glicol (PEG), em temperaturas e períodos definidos (BHANUPRAKASH; YOGESHA, 2016).

Em seguida, estas sementes podem ser secadas até atingirem o teor de água com valor igual ao anterior ao condicionamento, sem perder o processo adquirido pela embebição posterior, o que possibilita que as sementes sejam armazenadas até a semeadura (WOJTYLA et al., 2016).

Com a reestruturação do sistema de membranas durante o condicionamento, ocorre a manutenção da permeabilidade seletiva. As membranas restruturadas não permitem a entrada rápida de água e nem a liberação excessiva de exsudados (RIBEIRO et al., 2019). De acordo com Nascimento et al. (2009), o condicionamento pode provocar alterações no estado energético da água, modificando sua distribuição entre os vários sítios de ligação de diferentes tecidos. Essa redistribuição de água no interior das sementes pode ser uma das razões para a maior velocidade de germinação após o condicionamento. Isso porque há maior disponibilidade de água e aumento do nível de hidratação das macromoléculas que participam do processo germinativo, reduzindo também a disponibilidade da ocorrência de injúrias durante a embebição (RIBEIRO et al., 2019).

As atividades metabólicas durante o condicionamento incluem o reparo de outras macromoléculas, do mRNA e de enzimas hidrolíticas, que atuam durante a mobilização de reservas (PILL, 1995; MARTÍNEZ, 2013). O pesquisador Pill (1995) destacou a importância dos efeitos do condicionamento fisiológico sobre os ajustes do potencial osmótico celular, o acréscimo do turgor radicular e a ação de enzimas que provocam o enfraquecimento de tecidos, que restringem a expansão da radícula durante a germinação.

É importante ressaltar que, para que haja sucesso no condicionamento, alguns fatores devem ser considerados como temperatura, luz, concentração da solução, período de duração do condicionamento, o tipo de soluto a ser utilizado, o método e tempo de secagem após o condicionamento. Tais fatores variam consideravelmente dependendo da espécie, do lote, das condições edafoclimáticas, do tamanho e tratamento das sementes. (CARDOSO et al., 2015).

Além desses fatores, o tipo de soluto utilizado pode influenciar no efeito do condicionamento, sendo que o melhor agente condicionante varia entre as espécies (OLIVEIRA, 2016). Vários agentes condicionantes podem ser utilizados no condicionamento fisiológico das sementes, dentre eles a melatonina, ácido indol acético (AIA), óxido nítrico, peróxido de hidrogênio e quitosana (KAISER et al., 2016; PIRES et al., 2016). Estes solutos podem induzir tolerância aos estresses abióticos quando do condicionamento. Nessa linha tem sido relatado por diferentes pesquisadores que um dos principais efeitos benéficos do condicionamento, é conferir tolerância aos estresses abióticos a exemplos de deficiência hídrica

e aumento da concentração salina (BONOME et al., 2017; BATISTA et al., 2018; PEREIRA et al., 2018; BARBIERI et al., 2019; RIBEIRO et al., 2019; SABERALI et al., 2019).

Sob condições de estresses abióticos, a germinação das sementes e o crescimento de plântulas são seriamente afetados. A germinação de sementes é um dos processos mais importantes e mais complexos no ciclo de crescimento das plantas, pois afeta diretamente o desenvolvimento e, por consequência, afeta os índices de produção dessas culturas. A germinação de sementes pode ser dividida em três fases. Na primeira fase, as sementes absorvem água do meio. No segundo estágio, a germinação de sementes é estimulada pela síntese de várias enzimas e hormônios que preparam sementes para germinação. Finalmente, a radícula rompe o revestimento das sementes e se tem o alongamento e divisão celular. Assim, pode-se concluir que a germinação de sementes envolve muitos processos. Embora os mecanismos de respostas, durante a germinação de sementes, sob estresses abióticos já tenham sido investigados, o mecanismo pelo qual o ácido indolacético, o peróxido de hidrogênio, o óxido nítrico, a quitosana e a melatonina, aplicada de forma exógena, via condicionamento fisiológico, influencia o controle osmótico e, portanto, o processo de germinação de sementes e crescimento de plântulas de algodão sob estresse salino, restrição hídrica, altas temperaturas e estresse por cádmio, são ainda pouco conhecidos.

Assim, após revisão bibliográfica sobre os temas abordados verifica-se que é importante avaliar se o condicionamento fisiológico associado à utilização de moléculas sinalizadoras influencia na tolerância à salinidade e restrição hídrica durante os processos de germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de algodão. Além disso, também é importante entender os aspectos fisiológicos e bioquímicos envolvidos nos processos de condicionamento fisiológico e uso de moléculas sinalizadoras relacionadas aos diferentes tipos de estresse abiótico.

REFERÊNCIAS

- ABRAPA. Associação Brasileira dos Produtores de Algodão. Brasília: **Abrapa**, p. 381, 2021.
- ABREU, V. M. et al. Combining Ability and Heterosis of Maize Genotypes under Water Stress during Seed Germination and Seedling Emergence. **Crop Science**, v.59, p.33-43, 2018.
- AHMAD, Dilshad & Chani, Muhammad Irfan & Rauf, Abdur & Afzal, Muhammad. Economic Analysis of Cotton Cultivation Under Agro-Climatic Conditions of District Muzaffargarh. **American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences**, v. 16, p. 1498-1503, 2016.
- AMARAL, F.C.S.; SILVA, E.F. & MELO, A.S. Caracterização pedológica e estudos de infiltração da água no solo em perímetros irrigados no vale do Rio São Francisco. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, Rio de Janeiro. v. 97, p. 105, 2006.
- APEL, KLAUS & HIRT, HERIBERT. Reactive Oxygen Species: Metabolism, Oxidative Stress, and Signal Transduction. **Annual review of plant biology**, v. 55, p. 373-399, 2004.
- AQUINO, L. A.; AQUINO, R. F. B. A.; SILVA, T. C.; SANTOS, D. F.; BERGER, P. G. Aplicação do fósforo e da irrigação na absorção e exportação de nutrientes pelo algodoeiro. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 16, p. 355-361, 2012.
- ARNAO, M. B. & HERNÁNDEZ-RUIZ, J. Melatonin: plant growth regulator and/or biostimulator during stress? **Trends Plant Sci**, v. 19, p. 789–797, 2014.
- ATAÍDE, G. M. Óxido nítrico na germinação de sementes de baixo vigor de *Dalbergia nigra*. **Revista de Ciências Agrárias**, Recife, v. 38, n. 3, p. 438-444, 2015.
- BARBIERI, G. F. et al. Seed germination and initial growth of quinoa seedlings under water and salt stress. **Journal of Agricultural Science**, Toronto, v. 11, n. 15, p. 153-161. 2019.
- BATISTA, T. B. et al. Priming of brachiaria seeds with different sugar sources and concentrations. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 31, n. 4, p. 843-849, 2018.
- BELIGNI, M. V.; LAMATTINA, L. Nitric oxide stimulates seed germination and de-etiolation, and inhibits hypocotyl elongation, three light-inducible responses in plants. **Planta**, Berkeley, v. 210, n. 2, p. 215-221, 2000.
- BELTRÃO, N. E. M.; AZEVEDO, D. M. P.; CARDOSO, G. D.; VALE, L. S.; ALBUQUERQUE, W. G. Ecofisiologia do algodoeiro. In: Beltrão, N. E. M.; Azevedo, D. M. P. (Ed.). **O agronegócio do algodão no Brasil**, Brasília: EMBRAPA, p. 61-110, 2008.
- BELTRÃO, N. E. M.; SOUZA, J. G. Fitologia do algodão herbáceo – sistemática, organografia e anatomia. In: BELTRÃO, N. E. M. **O agronegócio do algodão no Brasil**, Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, v. 1, p. 55-85, 1999.
- BETHKE, P. C.; LIBOUREL, I. G. L.; JONES, R. L. Nitric oxide reduces seed dormancy in *Arabidopsis*. **Journal of Experimental Botany**, v.57, n.3, p.517-526, 2006.

- BETHKE, P.C. et al. Dormancy of Arabidopsis seeds and barley grains can be broken by nitric oxide. **Planta**, Berkeley, v. 219, n. 5, p. 847-855, 2004.
- BEZERRA, J. R. C.; AZEVEDO, P. V.; SILVA, B. B.; DIAS, J. M. Evapotranspiração e coeficiente de cultivo do algodoeiro BRS-200 Marron, irrigado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 14, p. 625-632, 2010.
- BHANUPRAKASH, K.; YOGESHHA, H. S. Seed priming for abiotic stress tolerance: an overview. **Abiotic stress physiology of horticultural crops**, New Delhi, p. 103-117, 2016.
- BIANCO, A.C.; KIM, B.W. Deiodinases: implications of the local control of thyroid hormone action. **Journal of Clinical Investigation**, v.116, n.10, p. 2571-2579, 2006.
- BONOME, L. T. et al. Osmoconditioning of *Urochloa brizantha* seeds to reduce pelleting negative effects. **Brazilian Journal of Agriculture-Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 92, n. 2, p. 87-100, 2017.
- CARDOSO, E. D.; SÁ, M. E.; HAGA, K. I.; BINOTTI, F. F. S.; COSTA, E. Qualidade fisiológica e composição química de sementes de *Brachiaria brizantha* em função do condicionamento osmótico. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 2, p. 42-48, 2015.
- DASZKOWSKA-GOLEC A. Arabidopsis seed germination under abiotic stress as a concert of action of phytohormones. Omics : a **Journal of Integrative Biology**, p. 763-774, nov. 2011.
- FAROOQ M, GOGOI N, BARTHAKUR S, BAROOWA B, BHARADWAJ N, ALGHAMDI SS, SIDDIQUE KHM Drought stress in grain legumes during reproduction and grain filling. **Journal Agron Crop Sci**, p. 81–102, 2017.
- GADJEV, ILYA & STONE, JULIE & GECHEV, TSANKO. Programmed Cell Death in Plants: New Insights into Redox Regulation and the Role of Hydrogen Peroxide. **International review of cell and molecular biology**, v. 270. p. 87-144, 2008.
- GALANO, A., TAN, D. X. & REITER, R. J. Melatonin as a natural ally against oxidative stress: a physicochemical examination. **J. Pineal Res**, v. 51, p. 1–16, 2011.
- GECHEV, TSANKO & HILLE, JACQUES. Hydrogen peroxide as a signal controlling plant programmed cell death. **The Journal of cell biology**, v. 168. p. 17-20, 2005.
- GIBA, Z. et al. Effect of nitric oxide–releasing compounds on phytochrome–controlled germination of Empress tree seeds. **Plant Growth Regulation**, Dresden, v. 2, n. 3, p. 175-181, 1998.
- GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, p. 909-930, 2010.
- GUPTA, B., and HUANG, B. Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization. **Int. J. Genom**, 2016.
- HARDELAND, H. Melatonin in plants—diversity of levels and multiplicity of functions. **Front. Plant Sci.**, v. 7, p. 198, 2016.

- HEYDECKER, W.; GIBBINS, B.M. The priming of seeds. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v.83, p.213-223, 1978.
- ICAC – INTERNATIONAL COTTON ADVISORY COMMITTEE. Production and Trade Policies **Affecting the Cotton Industry**. Washington D.C. USA, 2020.
- JAGODZIK, P., TAJDEL-ZIELINSKA, M., CIESLA, A., MARCZAK, M., and LUDWIKOW, A. Mitogen-activated protein kinase cascades in plant hormone signaling. **Front. Plant Sci.** v. 9, p. 1387, 2018.
- JOHNOVÁ, P. et al. Plant responses to ambient temperature fluctuations and water-limiting conditions: a proteome-wide perspective. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics**, Amsterdam, v. 1864, n. 8, p. 916-931, 2016.
- JOSÉ, A. C. et al. Influence of priming on *Eucalyptus* spp. seeds' tolerance to salt stress. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 38, n. 4, p. 329-334, 2016.
- KAISER, I. S. et al. Efeito de liberadores de óxido nítrico na qualidade fisiológica de sementes de repolho sob salinidade. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 63, n. 1, p. 39-45, 2016.
- LEI, X. Y., ZHU, R. Y., ZHANG, G. Y. & DAI, Y. R. Attenuation of cold-induced apoptosis by exogenous melatonin in carrot suspension cells: the possible involvement of polyamines. **J. Pineal Res.**, p. 126–131, 2004.
- LIANG W, MA X, WAN P, LIU P. Plant salt-tolerance mechanism: A review. **Biochem Biophys Res Commun.** p. 286–291, 2018.
- LIU, L. et al. Salinity inhibits rice seed germination by reducing α -amylase activity via decreased bioactive gibberellin content. **Frontiers in Plant Science**, Parkville, v. 9, p. 275, 2018.
- MARCOS-FILHO, J. Fisiologia de sementes de plantas cultivadas. **Londrina: ABRATES**, v. 2, p. 660, 2015.
- MARTÍNEZ, P. A. H. Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de repolho (*Brassica oleraceae* Var. Capitata) osmocondicionadas. **Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa**, Viçosa, p. 44, 2013.
- MASETTO, T.E. et al. Germinação de sementes de *Urochloa ruziziensis* em função da disponibilidade hídrica do substrato e teor de água das sementes. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 43, n. 4, p. 385-391, 2013.
- MILLER, G., SUZUKI, N., CIFTCI-YILMAZ, S., and MITTLER, R.. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. **Plant Cell Environ.** v. 33, p. 453–467, 2010.
- NASCIMENTO, W. M. et al. Germinação de sementes de cenoura osmoticamente condicionadas e pelletizadas com diversos ingredientes. **Horticultura Brasileira**, Recife, v. 27, n. 1, p. 12-16, 2009.
- NAWAZ, M. A. et al. Melatonin: current status and future perspectives in plant science. **Front. Plant Sci.** v. 6, p. 1230, 2016.

OLIVEIRA, A. S. Condicionamento fisiológico de sementes de tabaco. **Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia)-Universidade Federal de Lavras**, Lavras, p. 60, 2016.

OLIVEIRA, H.; DO NASCIMENTO, R. ; LEÃO, A. B. ; CARDOSO, J. A. F. ; GUIMARÃES, R. F. B. Germinação de sementes e estabelecimento de plântulas de algodão submetidas a diferentes concentrações de NaCl e PEG 6000. **Espacios**, Caracas, v. 38, p. 13-28, 2017.

PELEGRINI, L. L. et al. Efeito do estresse hídrico simulado com NaCl, manitol e PEG (6000) na germinação de sementes de *Erythrina falcata* Benth. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 23, n. 2, p. 511-519, 2013.

PEREIRA, F. J., Características anatômicas e fisiológicas de aguapé e índice de fitorremediação de alface d'água cultivados na presença de arsênio, cádmio e chumbo, 2010.

PEREIRA, M. R. R. et al. Estresse abiótico induzido por soluções de PEG e de NaCl na germinação de sementes de nabiça e fedegoso. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 3, p. 687-696, 2014.

PEREIRA, S. R. et al. Priming of *Urochloa brizantha* cv. Xaraés seeds. **African Journal of Agriculture Research**, Pretoria, v. 13, n.1, p.2804-2807, 2018.

PETROV, A. S., and WILLIAMS, L. D. The ancient heart of the ribosomal large subunit: a response to Caetano-Anolles. **J. Mol. Evol.** v. 80, p. 166–170, 2015.

PILL, W. G. Low water potential and presowing germination treatments to improve seed quality. **Seed quality**. p. 319-359, 1995.

PIRES, R. M. O.; SOUZA, G. A.; CARDOS, A. A.; DIAS, D. C. F. S.; BORGES, E. E. L. Action of nitric oxide in sesame seeds (*Sesamum indicum* L.) submitted to stress by cadmium. **Journal of Seed Science**, v.38, p. 22-29, 2016.

QUAN, B. et al. Hydrogen peroxide in plants: a versatile molecule of the reactive oxygen species network, **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 50, 2008.

RADMAN R, SAEZ T, BUCKE C, KESHAVARZ T. Elicitation of plants and microbial cell systems. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 37, p. 91-102, 2003.

REITER, R. J.; TAN, D. X.; ZHOU, Z.; CRUZ, M. H. C.; FUENTES-BROTO, L.; GALANO, A. Phytomelatonin: assisting plants to survive and thrive. **Molecules**, v. 20, n. 4, p. 7396-7437, 2015.

RIBEIRO, E. C. G. et al. Physiological quality of *Urochloa brizantha* seeds submitted to priming with calcium salts. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 49, 2019.

RICHETTI, A.; MELO FILHO, G. A. Aspectos socioeconômicos do algodoeiro. **ALGODÃO: tecnologia de produção**. Dourados, MS: EMBRAPA Agropecuária Oeste, p. 296, 2001.

RODRIGUEZ MILLA, M.A. et al. Glutathione peroxidase genes in *Arabidopsis* are ubiquitous and regulated by abiotic stresses through diverse signaling pathways. **Plant J.** v. 36, p. 602–615, 2003.

SABERALI, S. F.; MORADI, M. Effect of salinity on germination and seedling growth of *Trigonella foenum-graecum*, *Dracocephalum moldavica*, *Satureja hortensis* and *Anethum graveolens*. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, Riyadh, v. 18, n. 3, p. 316-323, 2019.

SANTOS, C. A. et al. Germinação de duas espécies da caatinga sob déficit hídrico e salinidade. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 36, n. 87, p. 219-224, 2016.

SAXENA, S., PURUSHOTHAMAN, S., MEGHAH, V., BHATTI, B., PORURI, A., MEENA LAKSHMI, M.G., SARATH BABU, N., MURTHY, C.L., MANDAL, K.K., KUMAR, A., IDRIS, M.M. Role of Annexin gene and its regulation during zebrafish caudal fin regeneration. **Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society**. v. 24, p. 551-559, 2016.

SILVA, A. L. D. et al. Effect of sodium nitroprusside (SNP) on the germination of *Senna macranthera* seeds (DC. ex Collad.) HS Irwin & Baneby under salt stress. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 37, n. 4, p. 236-243, 2015.

TAN, D. X. et al. Mitochondria and chloroplasts as the original sites of melatonin synthesis: a hypothesis related to melatonin's primary function and evolution in eukaryotes. **J. Pineal Res.** v. 54, p. 127–138, 2013.

TENA G, ASAI T, CHIU WL, SHEEN J. Plant mitogen-activated protein kinase signaling cascades. **Curr Opin Plant Biol**, v. 4, p. 392–400, 2001.

TOGNOLLI, M. et al. Analysis and expression of the class III peroxidase large gene Family. **Arabidopsis thaliana. Gene** v. 288, p. 129–138, 2002.

VANDENABEELE, S. et al. Catalase deficiency drastically affects high light-induced gene expression in *Arabidopsis thaliana*. **Plant J.** v. 39, p. 45–58, 2004.

VASCONCELOS, U. A. A.; CAVALCANTI, J. J. V.; FARIAS, F. J. C.; VASCONCELOS W. S.; SANTOS; R C. dos. Diallel analysis in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) for water stress tolerance. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.18, p.24-30, 2018.

VIEIRA-JUNIOR, P. A.; CICERO, S. M.; JORGE, L. A. C.; MIRANDA, L. C.; DOURADO-NETO, D.; DIAS, C. T. S.; SILVA, W. R. Emprego da técnica de análise de imagens na determinação do comprimento e da largura de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v.21, n.2, p.110-119, 1999.

VISHAL B and KUMAR PP Regulation of Seed Germination and Abiotic Stresses by Gibberellins and Abscisic Acid. **Front. Plant Sci.** v. 9 p. 838, 2018.

WANG, F., ZENG, B., SUN, Z. & ZHU, C. Relationship between proline and Hg²⁺ – induced oxidative stress in tolerant rice mutant. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology** v. 56, p. 723–731, 2009.

WANG, P. et al. Long-term exogenous application of melatonin delays drought-induced leaf senescence in apple. **J. Pineal Res.** v. 54, p. 292–302, 2013.

WOJTYLA, L.; LECHOWSKA, K.; KUBALA, S.; GARNCZARSKA, M. Different Modes of Hydrogen Peroxide Action During Seed Germination. **Front Plant Sci**, v.7, p. 66-69, 2016.

XU, S. C. et al. Melatonin protects against Nickel-induced neurotoxicity in vitro by reducing oxidative stress and maintaining mitochondrial function. **J Pineal Res** v. 49, p. 86–94, 2010.

YOU AND CHAN, J. YOU, Z. CHAN. ROS regulation during abiotic stress responses in crop plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, Article 1092, 2015.

ZHANG, C., SHINWARI, K. I., LUO, L., and ZHENG, L. (2018). Osysl13 is involved in iron distribution in rice. *Int. J. Mol. Sci.* 19, 3537. doi: 10.3390/ijms19113537

ZHANG, N. et al. Melatonin promotes water-stress tolerance, lateral root formation, and seed germination in cucumber (*Cucumis sativus* L.). **J. Pineal Res.** v. 54, p. 15–23, 2013.

ZHANG, N.; SUN, Q.; ZHANG, H.; CAO, Y.; WEEDA, S.; REN, S.; GUO, Y. D. Roles of melatonin in abiotic stress resistance in plants. **Journal of Experimental Botany**, p. 336, 2014.

ZHENG, M. et al. Seed priming in dry direct-seeded rice: consequences for emergence, seedling growth and associated metabolic events under drought stress. **Plant Growth Regulation**, New York, v. 78, n. 2, p.167-178, 2016.

ZHOU YG, YANG YD, QI YG, ZHANG ZM, WANG XJ, HU XJ. Effects of chitosan on some physiological activity in germinating seed of peanut. **Journal of Peanut Science** v. 31, p. 22-25, 2002.

CAPÍTULO 2

Moléculas sinalizadoras e promoção de tolerância à salinidade e restrição hídrica em sementes de algodão na germinação

RESUMO

A dificuldade de obtenção de sementes que permitam o estabelecimento de um estande inicial uniforme e constituído de plantas vigorosas ainda é um dos fatores limitantes para o êxito no cultivo do algodão. O emprego de tratamentos pré-semeadura surge como uma possibilidade para garantir sementes mais vigorosas, e entre esses, destaca-se o condicionamento fisiológico, que pode ser utilizado como ferramenta para a aplicação de diversas moléculas indutoras de tolerância, visando minimizar os danos causados por situações de estresse. Neste sentido, objetivou-se neste trabalho avaliar a utilização de moléculas sinalizadoras como condicionantes para a indução de tolerância à estresse salino e hídrico em sementes de algodão. O experimento foi conduzido no Laboratório Central de Pesquisa em Sementes (LCPS), do Departamento de Agricultura, da Universidade Federal de Lavras – MG, utilizando sementes de algodão fornecidas pela Cooperativa de Produtores Rurais de Catuti. As sementes foram submetidas ao condicionamento fisiológico em soluções aeradas de ácido indol acético (100 μM), peróxido de hidrogênio (100 μM), quitosana (0,75 mM), melatonina (0,2mM), nitroprussiato de sódio - solução doadora de ON (100 μM) e condicionamento em água, à temperatura de 20°C, por período de 24h. Após o condicionamento, as sementes foram lavadas em água corrente e secadas, em estufa com circulação forçada de ar regulada a 25 °C, por 24h. Logo após foi determinado o teor de água. As sementes condicionadas e não condicionadas (controle), foram submetidas à condição de estresse salino via solução de NaCl, 10 dS m⁻¹ e condição de restrição hídrica induzida por polietileno glicol 6000 – PEG, -0,6MPa. O condicionamento fisiológico é eficiente em minimizar os efeitos negativos da restrição hídrica e salinidade. O uso de nitroprussiato de sódio foi eficiente para minimizar os efeitos da salinidade em plântulas de algodão. O uso de peróxido de hidrogênio, via condicionamento fisiológico, protege as sementes e plântulas de algodão dos efeitos da restrição hídrica. O uso de nitroprussiato de sódio, via condicionamento fisiológico, induz a formação de enzimas de proteção oxidativa, como APX, e SOD em condições de estresse salino. O mesmo é observado quando da aplicação de peróxido de hidrogênio em sementes, quando estas são expostas as condições de restrição hídrica.

Palavras-chave: *Gossypium hirsutum*; complexo antioxidante; condicionamento fisiológico.

**Signalizing molecules promoting salinity and water restriction tolerance in cotton
germinating cotton seeds**

ABSTRACT

Difficulties in seed obtaining which allow the establishment of a uniform initial booth constituted by vigorous plants is still a limiting factor for successful cotton cultivation. Pre-sowing treatments came as a tool to guarantee more vigorous seeds. Among those, physiological conditioning, which can be applied using tolerance induction molecules is used to minimize damaged caused by stress conditions. Thus, we carried this research aiming to evaluate the usage of signalizing molecules as conditioners to induce salt and hydric stress tolerance on cotton seeds. Experiments were carried at Central Seed Research Laboratory (LCPS) of Agriculture Department of Federal University of Lavras – MG, using cotton seeds provided from the Catuti Rural Producers Cooperative. Seeds were submitted to physiological conditioning on aerated solutions of indoleacetic acid (100 μM), hydrogen peroxide (100 μM), chitosan (0,75 mM), melatonin (0.2 mM), sodium nitroprusside (nitric oxide donor solution) (100 μM), and water, at 20°C for 24 hours. After conditioning, seeds were washed and dried at 25° under forced air circulation for 24 hours, when water content was measured. Conditioned and non-conditioned seeds (witness) were submitted to conditions of salt stress by NaCl (10 dS m^{-1}) and water restriction by using polyethylenglycol (PEG 6000) at -0.6 MPa. Physiological conditioning was efficient to minimize negative effects of both water and salt stresses when compared to not-conditioned seeds. Sodium nitroprusside was efficient to minimize salt effects on cotton seedlings. Hydrogen peroxide usage, through physiological conditioning protects seeds and seedlings from water stress effects. Usage of sodium nitroprusside on physiological conditioning induces formation of oxidative protection enzymes, as APX and SOD in salt stress conditions. Same is observed when hydrogen peroxide is applied on seeds, when those are exposed to water restriction conditions.

Keywords: *Gossypium hirsutum*, antioxidant complex, physiological conditioning.

1. INTRODUÇÃO

O algodão está entre as mais importantes culturas de fibras do mundo. Todos os anos, cerca de 35 milhões de hectares de algodão é cultivada em todo o planeta. A demanda mundial tem aumentado gradativamente desde a década de 1950, a um crescimento anual médio de 2%. O comércio mundial do algodão movimentava anualmente cerca de US\$ 12 bilhões e envolve mais de 350 milhões de pessoas em sua produção, desde as fazendas até a logística, descaroçamento, processamento e embalagem. Atualmente, o algodão é produzido por mais de 60 países, nos cinco continentes. (ABRAPA, 2020).

O Brasil é quarto maior produtor de algodão do mundo, com mais de 1,65 milhões de hectares plantados, especialmente na região dos cerrados do Centro Oeste e da Bahia. O Nordeste, que em outras épocas dominava o cultivo, ainda mantém forte representação, principalmente na Bahia, sendo atualmente o segundo maior produtor. Ao todo, são 15 estados produtores, dos 27 existentes e que na safra 2019/2020, produziram 2,89 milhões de toneladas do produto (ABRAPA, 2020).

Diante das frequentes condições ambientais adversas nas regiões de cultivo e também pelas intensas atividades humanas, as plantas de algodoeiro estão sujeitas aos diversos estresses abióticos a exemplos de restrição hídrica e alta salinidade (AHMAD et al., 2016). Salinidade e déficit hídrico são os principais estresses abióticos que afetam a produtividade das culturas, especialmente nas regiões áridas e semi-áridas (BHANUPRAKASH; YOGESHA, 2016). Esses fatores interferem diretamente na germinação das sementes e no desenvolvimento da cultura, limitando o potencial de produção (BHANUPRAKASH; YOGESHA, 2016).

Em regiões com essas adversidades recorrentes, a absorção de água pelas sementes, durante o processo de germinação, é dificultada pela negatividade do potencial matricial do solo (SANTOS et al., 2016). Podem ocorrer também efeitos tóxicos nas sementes em processo de germinação, que levam a alterações no metabolismo celular, redução na porcentagem e velocidade de germinação, além de mudanças nos desenvolvimento e crescimento (PELEGRINI et al., 2013; SANTOS et al., 2016).

A germinação é uma fase crítica no ciclo de vida das plantas e o movimento da água presente na solução, que ocorre através dos tecidos da semente, é necessário para o acionamento adequado do processo germinativo (BHANUPRAKASH; YOGESHA, 2016; SANTOS et al., 2016). Esse movimento depende da presença de um gradiente de potencial hídrico, que é reduzido quando há presença de sais, sendo que esta presença pode, eventualmente, restringir a absorção de água das sementes (PEREIRA et al., 2014). Essas

condições de estresse diminuem a velocidade de emergência e de desenvolvimento da plântula, afetam o número de folhas, sementes por planta, tamanho e massa de sementes (JOSÉ et al., 2016; LIU et al., 2018; BARBIERI et al., 2019). A fase em que as plantas são mais sensíveis é durante a floração e formação das maçãs. Nessa fase, estresses abióticos, a exemplo de restrição de água, podem levar à queda das estruturas reprodutivas e, conseqüentemente, redução da produtividade da cultura (AQUINO et al. 2012; BEZERRA et al., 2010).

Para melhorar a germinação e melhorar a uniformidade e velocidade de emergência de plântulas em campo, as sementes podem ser submetidas aos tratamentos pré-germinativos, como o condicionamento fisiológico (MASETTO et al., 2013; BHANUPRAKASH; YOGESHA, 2016; JOSÉ et al., 2016). Este permite que os procedimentos de reparo sejam ativados, reduzindo os danos presentes nas membranas das células, melhorando o desempenho do lote sujeito ao tratamento (BHANUPRAKASH; YOGESHA, 2016).

Por reduzir o tempo de germinação e padronizar este processo, o condicionamento propicia mais tolerância sob condições desfavoráveis no campo e diminui os efeitos das variações ambientais. Isso permite que a germinação ocorra em variáveis condições de temperatura, luz, solo e disponibilidade de água, e possibilita ainda, bom desenvolvimento da parte aérea e aceleração do crescimento das plantas (ZHENG et al., 2016; BONOME et al., 2017; BATISTA et al., 2018; PEREIRA et al., 2018; RIBEIRO et al., 2019). Como esses processos iniciais da germinação são ativados ainda em condições ótimas, a técnica fornece uma vantagem às sementes, quando estas forem expostas às condições adversas de salinidade e déficit hídrico.

Além desses fatores, o tipo de soluto utilizado pode influenciar no efeito do condicionamento, sendo que o melhor agente condicionante varia entre as espécies (OLIVEIRA, 2016). Vários agentes condicionantes podem ser utilizados no condicionamento fisiológico das sementes, dentre eles a melatonina, ácido indol acético (AIA), óxido nítrico, peróxido de hidrogênio e quitosana (KAISER et al., 2016; PIRES et al, 2016). Estes solutos podem induzir tolerância aos estresses abióticos quando do condicionamento. Nessa linha tem sido relatado por diferentes pesquisadores que um dos principais efeitos benéficos do condicionamento, é conferir tolerância aos estresses abióticos a exemplos de deficiência hídrica, aumento da concentração salina, altas temperaturas e tolerância a metais pesados (BONOME et al., 2017; BATISTA et al., 2018; PEREIRA et al., 2018; BARBIERI et al., 2019; RIBEIRO et al., 2019; SABERALI et al., 2019).

Sabe-se que a maioria dos estresses abióticos, incluindo seca, salinidade, temperatura extrema, luz alta e poluentes, como metais pesados ou pesticidas, resulta em estresse oxidativo o que pode causar o aumento de espécies reativas de oxigênio (EROs).

Espécies tolerantes a estresses abióticos utilizam vários mecanismos bioquímicos e fisiológicos a fim de tentarem sobreviver sob estas condições (ZHU, 2001; GUPTA; HUANG, 2014). Os mecanismos incluem a ativação de enzimas antioxidantes que promovem desintoxicação celular (ZHU, 2001). Em diversos estudos têm sido observadas correlação entre a tolerância aos estresses e a presença de um eficiente sistema antioxidante de defesa.

Ainda que existam diversos trabalhos que utilizaram essas moléculas como mecanismo para indução de tolerância a estresses abióticos em plantas, pouco se sabe sobre a aplicação delas de forma exógena, via condicionamento fisiológico, em sementes de algodão.

Diante disto, objetivou-se analisar a eficiência do condicionamento fisiológico na presença de moléculas sinalizadoras para a indução de tolerância à salinidade e restrição hídrica durante os processos de germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de algodão, além de avaliar aspectos fisiológicos e bioquímicos relacionados à salinidade e restrição hídrica, o condicionamento fisiológico e o uso de moléculas sinalizadoras.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram conduzidos no Laboratório Central de Pesquisa em Sementes (LCPS), do Departamento de Agricultura (DAG), da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, MG. Foram utilizadas sementes de algodão (*Gossypium hirsutum*), cultivar DP 1536 B2RF, produzidas na safra 2020/2021, fornecidas pela Cooperativa de Produtores Rurais de Catuti, localizada na cidade de Catuti, região norte do estado de Minas Gerais.

Inicialmente, foi determinada a qualidade inicial das sementes, por meio da avaliação do teor de água e testes de germinação e vigor.

O teor de água das sementes foi determinado conforme metodologia descrita nas RAS - Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), pelo método de estufa a 105°C. Para o peso de mil sementes, foram contadas 100 sementes aleatoriamente, as quais foram pesadas em balança com sensibilidade de 0,001g, segundo a RAS (BRASIL, 2009). Foram utilizadas oito repetições e os resultados expressos em gramas. Além disso, foi instalado teste de germinação e vigor, como descrito posteriormente.

Após a determinação da qualidade inicial das sementes, estas foram submetidas ao condicionamento fisiológico em soluções aeradas de ácido indol acético - AIA (100 µM),

peróxido de hidrogênio (100 μM), quitosana (0,75 mM), melatonina (0,2mM), solução doadora de ON nitroprussiato de sódio (100 μM) e condicionamento em água, ou hidro condicionamento, à temperatura de 20°C, por período de 20h (MENEZES, 1996). Sementes não condicionadas foram utilizadas como controle.

Após o condicionamento, as sementes foram lavadas em água corrente e o excesso de água foi removido. O teor de água das sementes foi determinado em seguida conforme descrito acima.

As sementes foram secadas, em estufa com circulação forçada de ar regulada para 25 °C, por 24h. Ressalta-se que as sementes sem condicionamento (tempo 0) também foram acondicionadas na estufa, a fim de uniformizar o teor de água das sementes de todos os tratamentos. Após esse procedimento o teor de água das sementes submetidas aos diferentes tratamentos foi determinado conforme método descrito acima.

As sementes condicionadas e não condicionadas (controle), foram submetidas às diferentes condições de germinação: condição controle (água destilada), condição de estresse salino via solução de NaCl, 10 dS m^{-1} (LOPES e SILVA, 2010) e condição de restrição hídrica induzida por polietileno glicol 6000 – PEG, -0,6MPa (OLIVEIRA et al, 2017).

Teste de germinação: foram utilizadas oito repetições de 25 sementes. A semeadura foi realizada sobre duas folhas de papel germitest e sobrepostas com mais uma folha, as quais foram umedecidas com volume das soluções mencionadas acima, equivalente a 2,5 vezes o peso seco do papel. Permaneceram em germinador tipo Mangelsdorf regulado à temperatura de 25°C, com luz constante. A **primeira contagem da germinação** foi realizada aos 4 dias e a avaliação final ao sétimo dia após a semeadura. Ressalta-se ainda que foi computada a germinação, ou seja, as sementes com protrusão radicular.

Para a **análise de imagens** de plântulas, foram utilizadas dez repetições de uma plântula cada. A semeadura foi realizada sobre duas folhas de papel germitest e sobrepostas com mais uma folha, as quais foram umedecidas com volume de solução contendo as soluções citadas anteriormente, equivalente a 2,5 vezes o peso seco do papel. Permaneceram em germinador tipo Mangelsdorf regulado à temperatura de 25°C. As imagens das plântulas foram obtidas aos quatro dias após a instalação do teste, equivalente ao período de primeira contagem de germinação. Para a captura das imagens foi utilizado o sistema GroundEye[®], versão S800, composta por um módulo de captação que possui uma bandeja de acrílico, uma câmera de alta resolução e um software integrado para avaliação. As plântulas foram retiradas do papel germitest e inseridas na bandeja do módulo de captação para a obtenção das imagens. Na etapa de configuração da análise foi utilizada a calibração da cor de fundo, índice de luminosidade,

dimensão “a” e dimensão “b”. Depois da calibração da cor do fundo foi feita a análise das imagens e foram extraídos os valores de comprimento da raiz e comprimento de parte aérea, em centímetros.

Para as análises das sementes de algodão foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com oito repetições, em esquema fatorial (3x7), sendo três condições de germinação e sete tratamentos que constituíram as seis substâncias condicionantes e mais um controle (semente não condicionada). Os resultados foram submetidos à análise de variância e, quando significativas, aplicou-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para as **análises bioquímicas**, sementes de algodão foram amostradas após o processo de condicionamento e também plântulas no quarto dia após a instalação do teste de germinação. Estas sementes e plântulas foram armazenadas em deep-freezer (-80°C), até o momento da realização das análises, cujas metodologias estão descritas a seguir:

A avaliação da peroxidação lipídica foi realizada mediante a quantificação do **malondialdeído (MDA)**, que é produzido pela reação de ácido tiobarbitúrico (TBA) com pequena modificação do método de Dhindsa et al. (1981). Uma amostra de 200 mg foi triturada e homogeneizada em 1,25 ml de ácido tricloroacético (TCA) (0,1%) e duodecil sulfato de sódio (SDS) (1%). O homogeneizado foi centrifugado a 12.000g durante 15 min. Para uma alíquota 300 µL do sobrenadante foi adicionado 1 mL de ácido tricloroacético 20% (TCA) a um recipiente contendo 0,5% de ácido tiobarbitúrico TBA. A mistura foi aquecida a 95 °C durante 30 minutos e depois rapidamente esfriada em um banho de gelo. Posteriormente foi feita a leitura de absorbância a 532 nm e a concentração do MDA calculada utilizando o coeficiente de extinção de 155 mM⁻¹ cm⁻¹ (BARYLA et al., 2000).

Para a extração das enzimas antioxidantes, 200 mg de massa fresca foram macerados em nitrogênio líquido e homogeneizados em 1,5 mL do tampão de extração. Os homogeneizados foram centrifugados a 12.000 r.p.m., por 30 minutos, a 4°C, coletando-se os sobrenadantes para as análises enzimáticas conforme apresentado por Biemelt; Keetman; Albrecht (1998).

A atividade da **superóxido dismutase (SOD)** foi determinada pela capacidade de a enzima inibir a redução fotoquímica do nitro blue tetrazolium (NBT), proposta por Giannopolitis e Ries (1977). Os tubos contendo o tampão juntamente com a amostra, e o controle (meio de incubação sem a amostra), foram iluminados com lâmpada fluorescente de 20 W por 7 minutos e as leituras realizadas a 560 nm. Uma unidade de SOD é definida pela quantidade de enzima que inibe 50% da taxa de redução do NBT. A leitura foi feita a 560 nm em espectrofotômetro.

A atividade da **catalase (CAT)** foi determinada pelo decréscimo na absorbância a 240 nm, a cada 15 segundos, por 3 minutos, monitorado pelo consumo de peróxido de hidrogênio (HAVIR; MICHALE, 1987). A reação foi iniciada pela adição do H_2O_2 ($\epsilon = 36 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Uma unidade de CAT é definida pela quantidade de enzima necessária para decompor $1 \mu\text{mol min}^{-1}$ de H_2O_2 .

A atividade da **ascorbato peroxidase (APX)** foi determinada pela diminuição da absorbância do ascorbato ($\epsilon = 2,8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) a 290 nm a cada 15 segundos durante 3 minutos, segundo (NAKANO; ASADA, 1981). Uma unidade de APX é definida pela quantidade de enzima que oxida $1 \mu\text{mol min}^{-1}$ de ácido ascórbico.

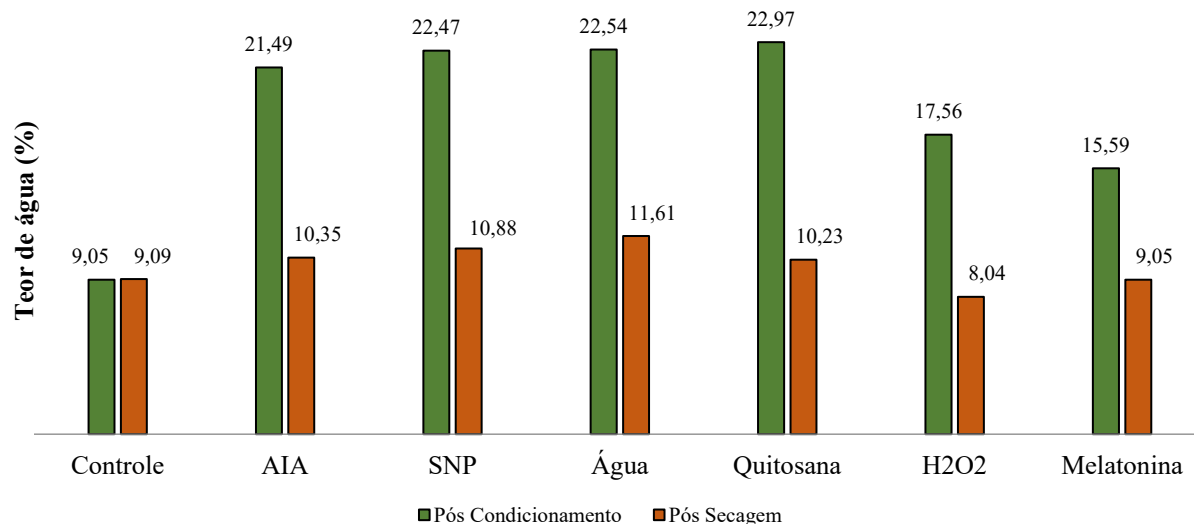
Para a determinação do **teor de prolina**, amostras de 0,2 g de matéria fresca foram homogeneizadas com 10 mL de ácido sulfossalicílico 3%, agitadas vigorosamente por 1 hora, filtradas e centrifugadas a 15.000 rpm, por 10 minutos. Após a centrifugação, 2 mL do sobrenadante foram adicionados a 2 mL de ninidrina ácida e 2 mL de ácido acético. Posteriormente, foram aquecidos a 100°C por 1 hora e resfriados em banho de gelo. A intensidade da cor foi medida a 520 nm e as absorbâncias obtidas foram comparadas com a curva padrão de prolina. Para a determinação do teor de prolina foi utilizado o método descrito por Torello & Rice (1986) com modificações. As absorbâncias obtidas foram comparadas com a curva padrão de prolina e os resultados expressos em micromol de prolina/g de matéria fresca.

Para as análises bioquímicas, foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado. Ressalta-se que cada repetição foi feita em triplicata, com quatro repetições, esquema fatorial (3x7), sendo três condições de germinação e sete tratamentos que constituíram as seis soluções condicionantes e mais um controle (semente não condicionada). Os resultados foram submetidos à análise de variância e, quando significativas, aplicou-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes após o condicionamento fisiológico foram embebidas, aproximadamente, duas vezes mais que a umidade inicial (FIGURA 1). A embebição possibilita à semente ativar seu metabolismo e quanto maior disponibilidade de água mais processos pré germinativos poderão ser ativados (BHANUPRAKASH e YOGEESEA, 2016; MITCHELL et al., 2018; RIBEIRO et al., 2019). Entre os tratamentos, observou-se maiores teores de água em sementes condicionadas com quitosana, água e nitroprussiato de sódio (SNP), respectivamente (FIGURA 1).

Figura 1 – Teor de água de sementes de algodão, antes e após a secagem, sem serem submetidas ao condicionamento fisiológico (controle) e submetidas ao condicionamento nas soluções de ácido indol acético (AIA), nitroprussiato de sódio (SNP), água, quitosana, peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e melatonina.



Fonte: Da autora (2021).

Para que a absorção de água seja suficiente para ocorrência dos processos fisiológicos iniciais, é necessário que esta seja absorvida de forma equilibrada, e que a embebição seja interrompida quando ocorrer o equilíbrio entre o potencial osmótico da solução e das sementes (ALMEIDA et al., 2016a). Durante o processo de condicionamento, a embebição permite que sementes menos vigorosas disponham de tempo suficiente para tentar alcançar o nível de atividade metabólica semelhante ao das mais vigorosas, quando é atingido o equilíbrio com o potencial hídrico estabelecido para o agente condicionante (BHANUPRAKASH e YOGESHA, 2016; BONOME et al., 2017).

Após a secagem, as sementes retornaram ao grau de umidade desejável para armazenamento e comercialização, ou seja, em torno de 9% (FIGURA 1) (RIBEIRO et al., 2019). Ao final do condicionamento é possível secar as sementes até atingirem a umidade existente antes do processo, sem perder a ativação do metabolismo adquirida pela embebição, o que possibilita que sejam armazenadas por um determinado tempo até a semeadura (WOJTYLA et al., 2016).

Para as características associadas à qualidade fisiológica, menores valores de vigor (FIGURA 2) e germinação (FIGURA 3) foram observados quando as sementes foram submetidas ao estresse salino, sem moléculas sinalizadoras (controle). Nesta condição valores de primeira contagem de germinação (FIGURA 2), germinação (FIGURA 3) e comprimento

de raiz (FIGURA 5) foram maiores em sementes condicionadas com nitroprussiato de sódio. Em estudos com *Brassica* sp. foi observado que o estresse salino afeta a qualidade fisiológica e o desempenho das sementes, mas que a aplicação de SNP reverte o estresse provocado pela salinidade (KAISER et al., 2016).

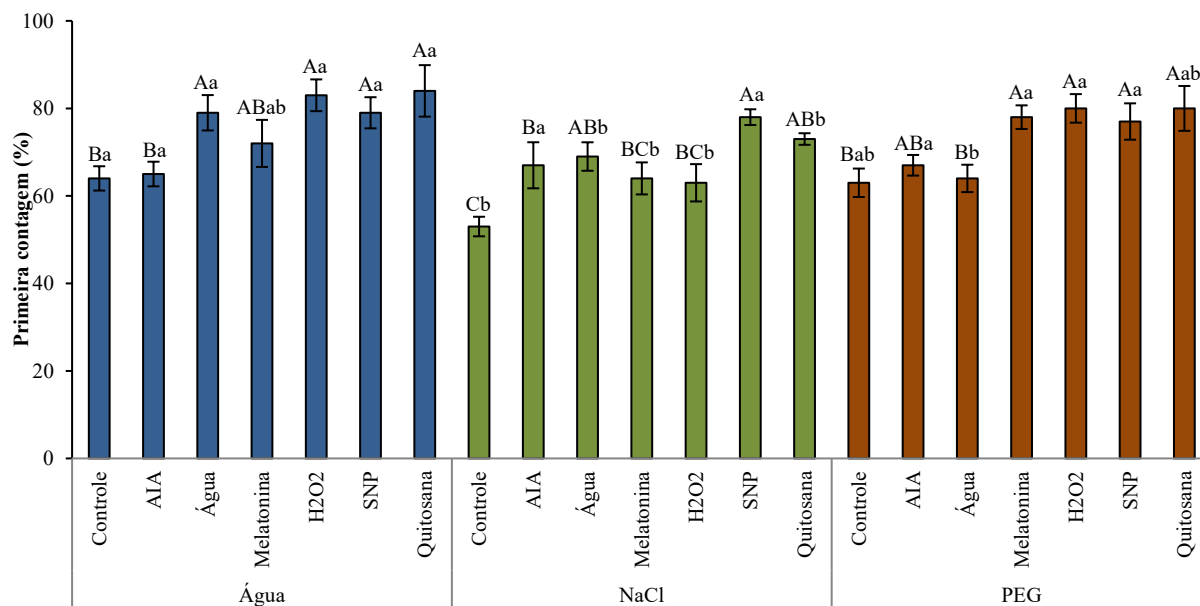
O óxido nítrico, por ser uma pequena molécula gasosa volátil, reage com os radicais livres, impedindo a oxidação lipídica, com isso exerce um efeito protetor ao eliminar o radical superóxido e a formação de peroxinitrito que pode ser neutralizado por outros processos celulares, além de atuar na ativação de enzimas antioxidantes (GUPTA et al., 2014; KAISER et al., 2016; PIRES et al., 2016; SILVA et al., 2019).

Um dos fatores responsáveis pela redução da germinação pode ter sido o excesso de íons Na^+ e Cl^- , que causam toxicidade e diminuição do edema protoplasmático (GUPTA et al., 2014). Outro fator pode ter sido o excesso de sais solúveis, resultando em menor potencial hídrico, ou seja, a capacidade de absorção de água das sementes é reduzida (KAISER et al., 2016; SILVA et al., 2019).

O aumento da salinidade acarreta mudanças na capacidade da planta em absorver, transportar e utilizar os íons necessários ao seu desenvolvimento e reduz a atividade de enzimas responsáveis pela respiração e fotossíntese (GUPTA et al., 2014; DU et al., 2015; SILVA et al., 2019). Desta forma, a obtenção de energia para o desenvolvimento e diferenciação das células em tecidos é restrita (KAISER et al., 2016; BARBIERI et al., 2019; SILVA et al., 2019).

O número de plântulas consideradas normais no teste de primeira contagem de germinação (FIGURA 2) também foi influenciado pelas condições de condicionamento. Sob restrição hídrica, os maiores valores foram observados em sementes pós condicionadas em soluções de melatonina, peróxido de hidrogênio, SNP e quitosana, e os menores valores foram observados no tratamento controle e em sementes hidro condicionadas. Quando as sementes foram germinadas em condições ideais, menores valores também foram observados no tratamento controle e na presença de AIA.

Figura 2 – Primeira Contagem do teste de germinação de sementes de algodão, em água, sob estresse salino (NaCl) e restrição hídrica (PEG), sem serem submetidas ao condicionamento fisiológico (Controle) e submetidas ao condicionamento nas soluções de ácido indol acético (AIA), água, melatonina, peróxido de hidrogênio (H_2O_2), nitroprussiato de sódio (SNP) e quitosana.



Legenda: Médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes (dentro de cada condição) e minúscula entre condições para germinação, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Fonte: Da autora (2021).

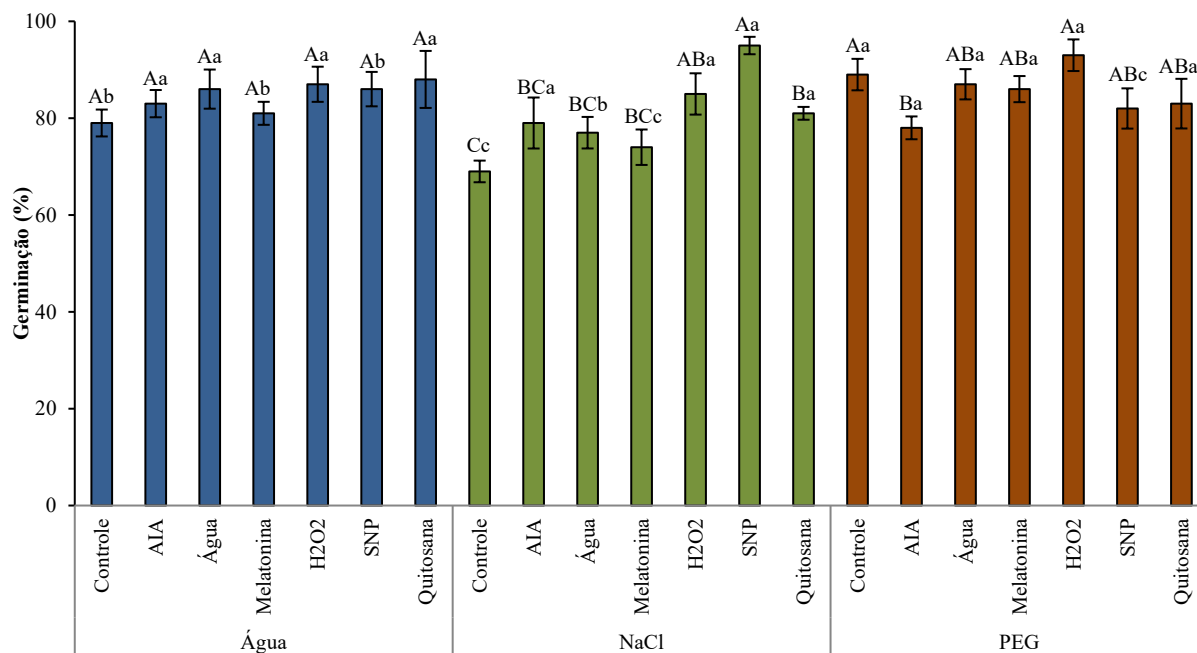
Quando da comparação entre as condições de germinação para cada condicionante utilizado, o uso do AIA e do nitroprussiato de sódio não alterou os valores obtidos na primeira contagem de germinação. Para as demais moléculas sinalizadoras, foram observados maiores valores na condição de restrição hídrica do que na condição de estresse salino.

Em condição de restrição hídrica, a germinação das sementes (FIGURA 3) foi favorecida quando estas foram condicionadas em solução de peróxido de hidrogênio e também no tratamento controle. No entanto, a utilização de ácido indolacético como condicionante reduziu a germinação das sementes nesta condição de estresse. Em condições ideais de germinação, ou seja, sem submissão a estresses, não houve diferença dos resultados entre as moléculas utilizadas.

Ao avaliar os efeitos dos estresses hídrico e salino na germinação de sementes de *Urochloa brizantha*, Oliveira et al. (2021), concluíram que o estresse salino acarreta maior redução no vigor, velocidade de germinação e germinação final que o hídrico. Comportamento semelhante ao observado neste trabalho.

Figura 3 – Porcentagem média de germinação de sementes de algodão, em água, sob estresse salino (NaCl) e restrição hídrica (PEG), sem serem submetidas ao condicionamento fisiológico (Controle) e submetidas ao condicionamento nas soluções de ácido indol

acético (AIA), água, melatonina, peróxido de hidrogênio (H₂O₂), nitroprussiato de sódio (SNP) e quitosana.



Legenda: Médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes (dentro de cada condição) e minúscula entre condições para germinação, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Fonte: Da autora (2021).

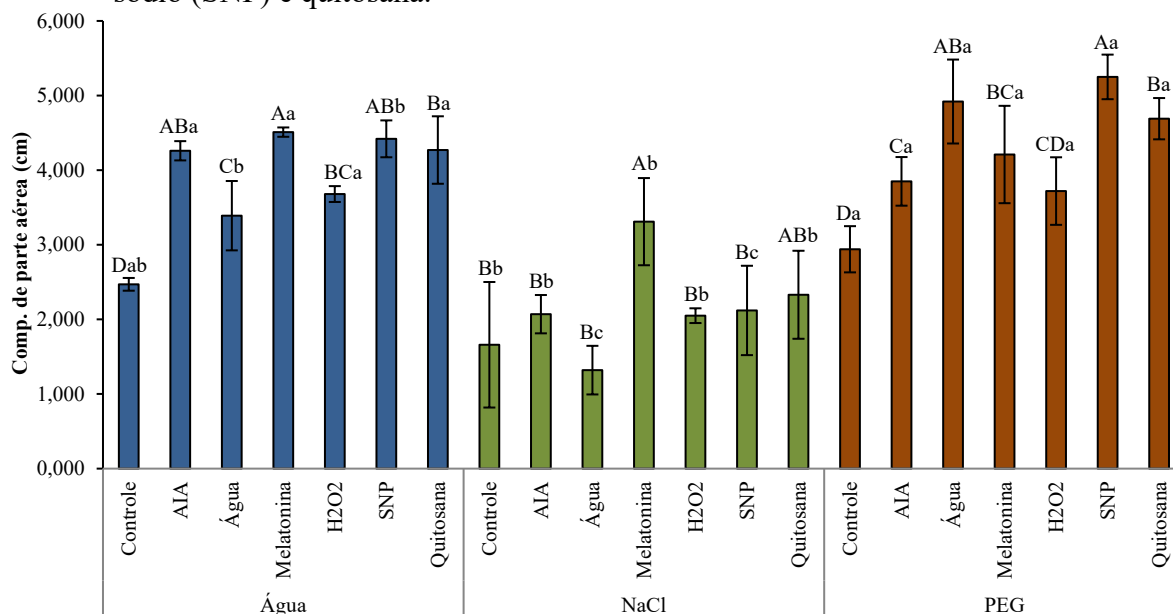
Quando comparado o uso das soluções condicionantes em cada situação de estresse, maiores valores foram observados em condição de salinidade apenas quando as sementes foram condicionadas com nitroprussiato de sódio.

Sob estresse salino, o condicionamento em solução com melatonina favoreceu o desenvolvimento da parte aérea (FIGURA 4), bem como em condições ideais de germinação. Isso também foi observado na condição de restrição hídrica em sementes condicionadas em solução com nitroprussiato de sódio.

O condicionamento fisiológico ao reduzir o tempo de germinação e uniformizar este processo, reduz os efeitos das variações ambientais, o que permite a germinação em diferentes condições de temperatura, luz, solo e disponibilidade de água, o que possibilita ainda a aceleração do crescimento das parte aérea e raiz (BHANUPRAKASH; YOGESHA, 2016; RIBEIRO et al., 2019).

Maiores valores de comprimento de parte aérea (FIGURA 4) e de raiz (FIGURA 5) foram observados em condições de restrição hídrica, quando comparado aos estresses aos quais as sementes foram submetidas, independentemente do condicionante utilizado.

Figura 4 – Comprimento da parte aérea de plântulas de algodão, em água, sob estresse salino (NaCl) e restrição hídrica (PEG), sem serem submetidas ao condicionamento fisiológico (Controle) e submetidas ao condicionamento nas soluções de ácido indol acético (AIA), água, melatonina, peróxido de hidrogênio (H₂O₂), nitroprussiato de sódio (SNP) e quitosana.



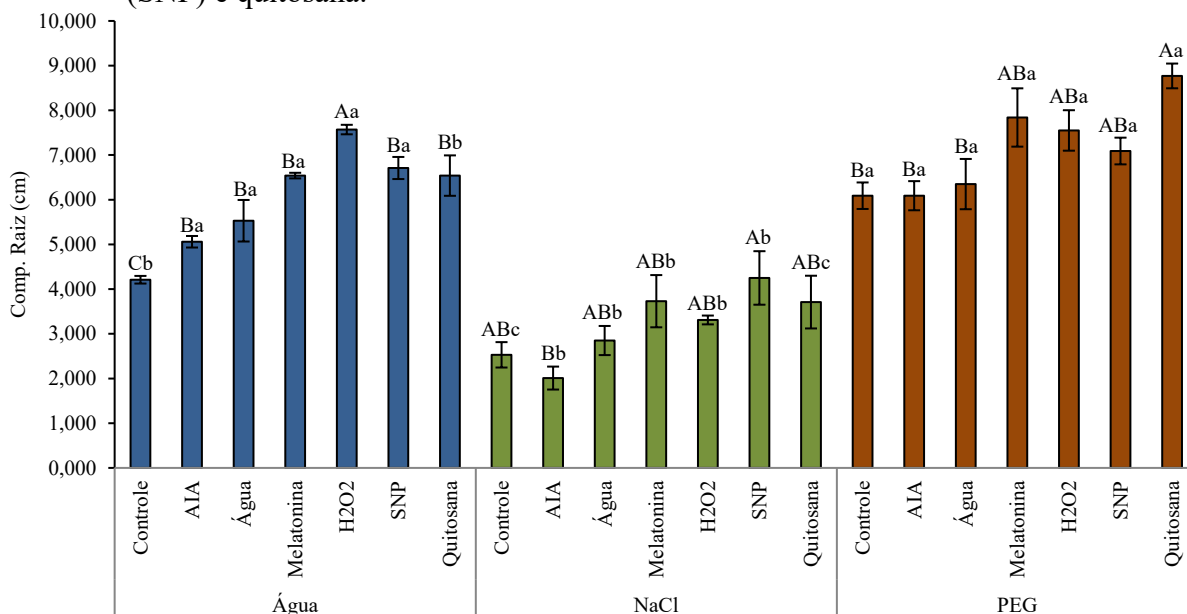
Legenda: Médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes (dentro de cada condição) e minúscula entre condições para germinação, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Fonte: Da autora (2021).

Maior desenvolvimento de raízes (FIGURA 5), em plântulas submetidas a restrição hídrica, foi observado em sementes submetidas ao condicionamento com quitosana e menores no tratamento controle, AIA e água. Já em condições ideais de germinação as raízes se desenvolveram mais na presença de peróxido de hidrogênio e o menor valor foi observado no tratamento controle.

Em plântulas oriundas de sementes de *Brassica oleracea* L. submetidas à salinidade (-0,6 MPa), Kaiser et al. (2016) verificaram redução de 4,14 cm para 1,74 cm no comprimento radicular. Os autores justificaram que o desenvolvimento anormal das plântulas provocado pela salinidade pode estar associado à ação dos sais por ocasionar um déficit hídrico devido ao elevado potencial osmótico da solução e, ainda, apresentam efeito tóxico dos íons, o que pode culminar em danos metabólicos e fisiológicos (KAISER et al., 2016). Du et al. (2015) observaram que a salinidade (200 mM de NaCl) resultou em níveis elevados de substâncias tóxicas, como o malondialdeído (MDA) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂), em plantas de *Spinacia oleracea*.

Figura 5 – Comprimento da raiz de plântulas de algodão, em água, sob estresse salino (NaCl) e restrição hídrica (PEG), sem serem submetidas ao condicionamento fisiológico (Controle) e submetidas ao condicionamento nas soluções de ácido indol acético (AIA), água, melatonina, peróxido de hidrogênio (H₂O₂), nitroprussiato de sódio (SNP) e quitosana.

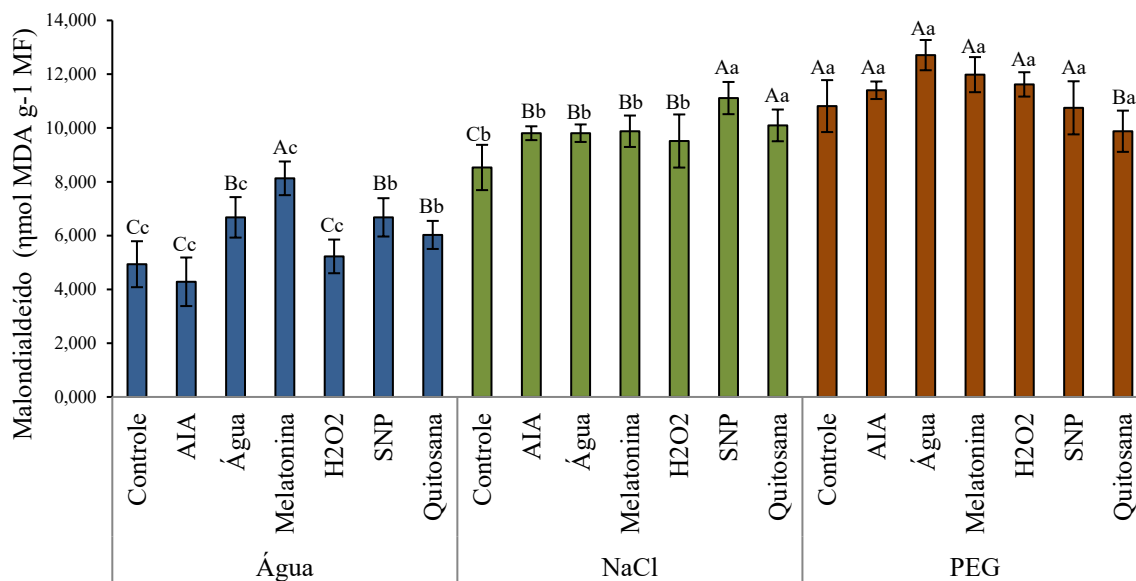


Legenda: Médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes (dentro de cada condição) e minúscula entre condições para germinação, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Fonte: Da autora (2021).

Quanto à quantificação de MDA (FIGURA 6), peróxido de hidrogênio (FIGURA 7), SOD (FIGURA 8), catalase (FIGURA 9), APX (FIGURA 10) e prolina (FIGURA 11), de forma geral, menores valores foram observados em sementes germinadas em condições ideais. No entanto, houve variações em seus valores em função das moléculas sinalizadoras utilizadas. Assim, em condição ideal, menores valores de MDA (FIGURA 6) foram observados em sementes germinadas na presença de AIA e peróxido de hidrogênio, as quais não diferiram dos observados no tratamento controle. Em restrição hídrica, menores valores foram observados quando as sementes foram condicionadas em solução com quitosana.

Figura 6 – Quantificação de malondialdeído (MDA) em plântulas de algodão, em água, sob estresse salino (NaCl) e restrição hídrica (PEG), sem serem submetidas ao condicionamento fisiológico (Controle) e submetidas ao condicionamento nas soluções de ácido indol acético (AIA), água, melatonina, peróxido de hidrogênio (H₂O₂), nitroprussiato de sódio (SNP) e quitosana.



Legenda: Médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes (dentro de cada condição) e minúscula entre condições para germinação, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Fonte: Da autora (2021).

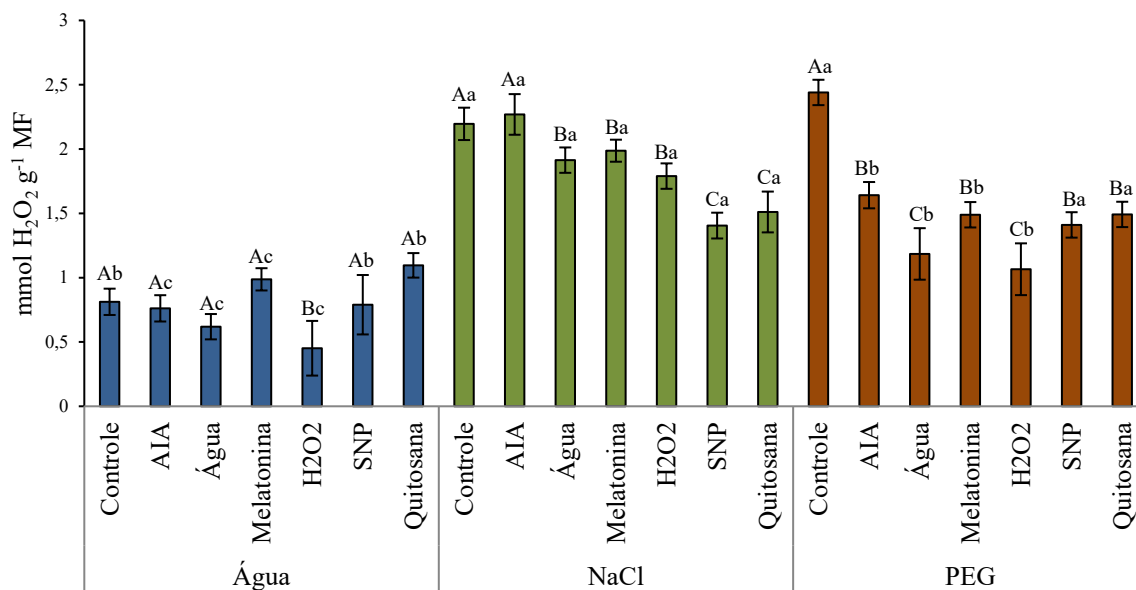
Da comparação das condições de germinação, independente do condicionante utilizado, maiores valores de MDA foram observados em restrição hídrica.

É importante ressaltar que o MDA é o produto final da peroxidação lipídica e a sua quantificação pode ser usada como uma medida da peroxidação. O MDA pode ser prejudicial para o desenvolvimento das plântulas e planta e, geralmente, a quantidade muda em resposta aos estresses abióticos, principalmente em relação a estresse salino (MC DONALD, 1999).

Neste estudo, tanto o estresse por salinidade como por restrição hídrica, causaram um aumento significativo da molécula de H₂O₂, sugerindo assim que essas condições de estresse causam danos oxidativos.

Para a quantificação de peróxido de hidrogênio (FIGURA 7), menores valores foram observados em sementes germinadas em condições ideais condicionadas em solução de peróxido de hidrogênio. Em restrição hídrica, foram observados maiores valores no tratamento controle e menores valores no hidro condicionamento, bem como no condicionamento com peróxido de hidrogênio.

Figura 7 – Quantificação de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) em plântulas de algodão, em água, sob estresse salino (NaCl) e restrição hídrica (PEG), sem serem submetidas ao condicionamento fisiológico (Controle) e submetidas ao condicionamento nas soluções de ácido indol acético (AIA), água, melatonina, peróxido de hidrogênio (H₂O₂), nitroprussiato de sódio (SNP) e quitosana.



Legenda: Médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes (dentro de cada condição) e minúscula entre condições para germinação, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Fonte: Da autora (2021).

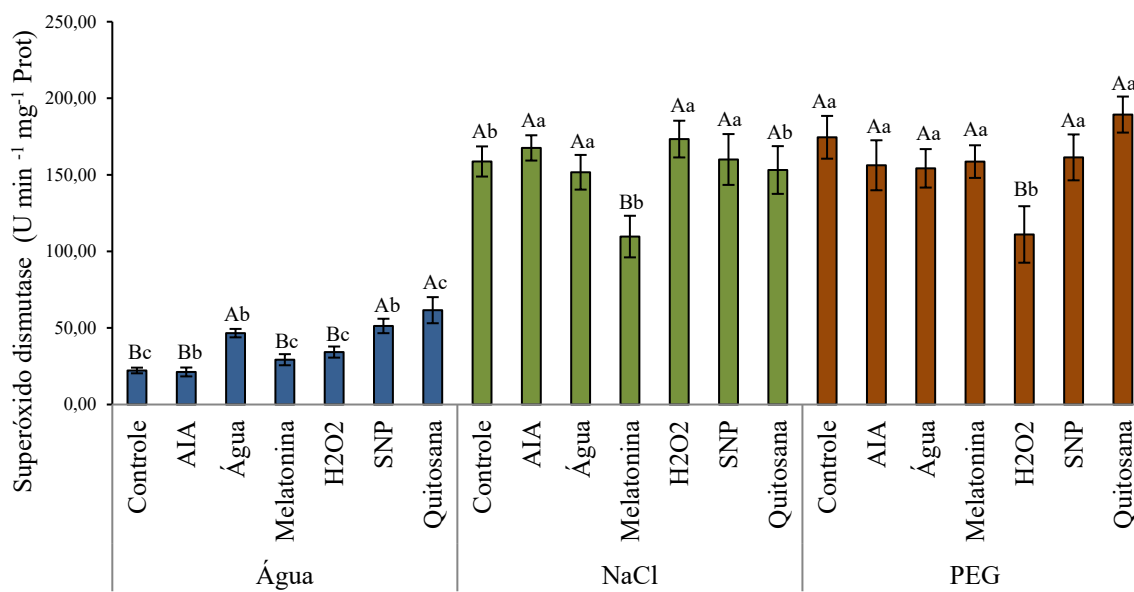
Quando comparadas as condições de estresse em que as sementes foram colocadas para germinar, independentemente do condicionante utilizado, os maiores valores foram observados em estresse salino.

Menor quantidade de SOD (FIGURA 8) foi observada em sementes germinadas em condições ideais associadas às moléculas sinalizadoras melatonina, peróxido de hidrogênio e AIA, cujo os resultados não diferenciaram do tratamento controle. Em estresse salino, menores valores de SOD foram observados em sementes condicionadas em solução com melatonina. Já na condição de restrição hídrica, os menores valores foram observados quando do condicionamento em solução com peróxido de hidrogênio. Para os demais condicionantes, independentemente da condição de estresse, não foram observadas diferenças nas quantificações de SOD.

Essa enzima atua como catalizadora no processo de conversão dos radicais superóxido (O_2^-) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (PAUL; ROYCHOUDHURY, 2017; LIU; SOUNDARARAJAN; MANIVANNAN, 2019). Os radicais O_2^- são produzidos pelo bloqueio da cadeia de transporte de elétrons conjuntamente à geração de elétrons livres ou, pela reação de transferência de elétrons da ferredoxina ao oxigênio molecular, e são compostos potencialmente causadores de dano celular por atuar negativamente sobre a membrana celular

(CHOUDHARY; KUMAR; KAUR, 2019; LIU; SOUNDARARAJAN; MANIVANNAN, 2019).

Figura 8 – Quantificação de superóxido dismutase (SOD) em plântulas de algodão, em água, sob estresse salino (NaCl) e restrição hídrica (PEG), sem serem submetidas ao condicionamento fisiológico (Controle) e submetidas ao condicionamento nas soluções de ácido indol acético (AIA), água, melatonina, peróxido de hidrogênio (H₂O₂), nitroprussiato de sódio (SNP) e quitosana.



Legenda: Médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes (dentro de cada condição) e minúscula entre condições para germinação, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Fonte: Da autora (2021).

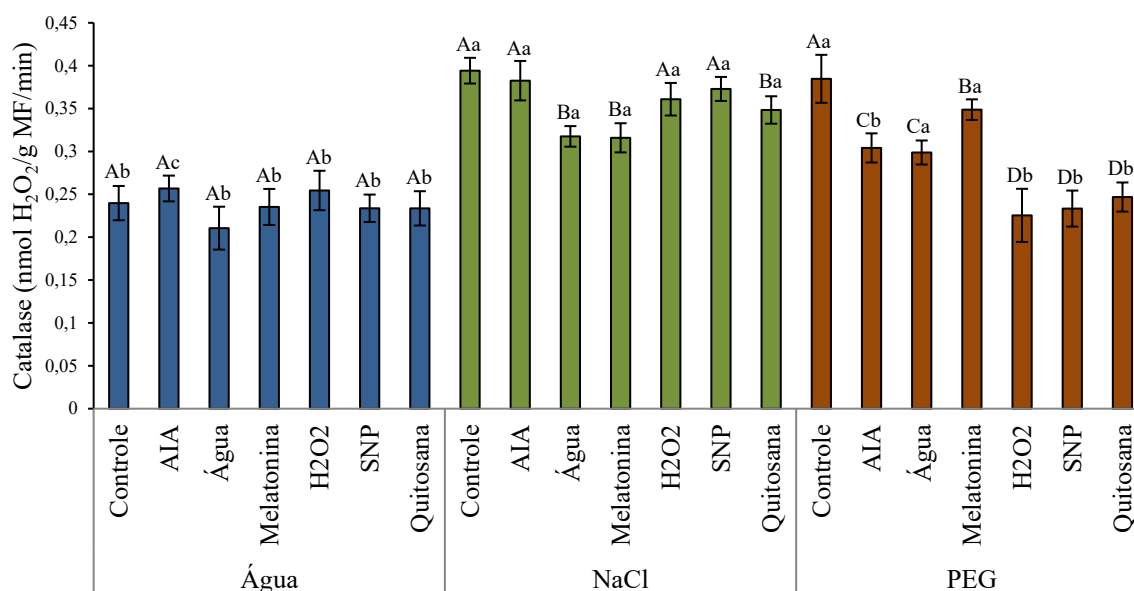
Plantas com maior atividade de SOD possuem maior proteção celular (MULLINEAUX E RAUSCH, 2005), pois, esta enzima é a primeira via de combate a efeitos danosos do acúmulo de radicais livres nas células. Possui a função de iniciar o processo de desintoxicação por meio da redução do radical superóxido em peróxido de hidrogênio (DAS E ROYCHOUDHURY, 2014).

Com isso, a atividade aumentada da SOD em plantas em condições de déficit hídrico mostra-se um sinal positivo quanto à capacidade da planta em tolerar adversidades ambientais, pois, baixos níveis de radical superóxido causam menos danos oxidativos às células, devido à menor toxicidade comparada ao peróxido de hidrogênio (LI et al., 2013).

Assim, sob condições de estresse, é esperado que enzimas do sistema antioxidante se expressem mais, uma vez que nestas condições há aumento de ERO's. Nesta mesma linha, podem ser explicados os valores observados para quantificação de catalase (FIGURA 9) e ascorbato peroxidase (FIGURA 10). Em condições ideais, foram observados valores iguais

para a quantificação de CAT (FIGURA 9), tanto para sementes condicionadas quanto para sementes não condicionadas (controle). Já sob condições de estresse salino os valores de catalase foram reduzidos quando as sementes foram condicionadas em água, melatonina e quitosana, o que foi observado também sob condições de déficit hídrico quando na presença de peróxido de hidrogênio, nitroprussiato de sódio e quitosana. Ainda para esta condição, os maiores valores foram observados no tratamento controle.

Figura 9 – Quantificação de catalase (CAT) em plântulas de algodão, em água, sob estresse salino (NaCl) e restrição hídrica (PEG), sem serem submetidas ao condicionamento fisiológico (Controle) e submetidas ao condicionamento nas soluções de ácido indol acético (AIA), água, melatonina, peróxido de hidrogênio (H₂O₂), nitroprussiato de sódio (SNP) e quitosana.



Legenda: Médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes (dentro de cada condição) e minúscula entre condições para germinação, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

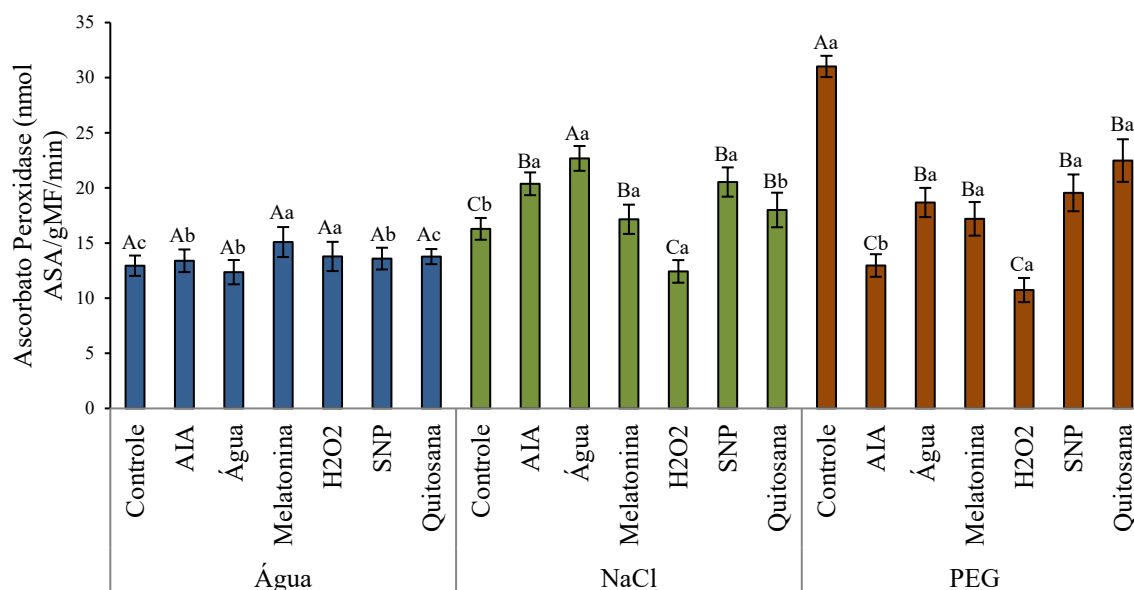
Fonte: Da autora (2021).

Quando comparadas as condições de estresse em que as sementes foram colocadas para germinar, assim como na quantificação de peróxido de hidrogênio, independente do condicionante utilizado, os maiores valores foram observados em estresse salino.

Para a quantificação de APX (FIGURA 10), em condições ideais de germinação, o mesmo comportamento da quantificação de CAT foi observado, bem como para a quantificação de prolina (FIGURA 11), em que o condicionamento com o uso de moléculas sinalizadoras não alterou os valores observados. Em estresse salino, os maiores valores foram

observados no hidro condicionamento e os menores valores foram observados quando o peróxido de hidrogênio foi utilizado como condicionante, igualando-se ao tratamento controle. Em restrição hídrica, os menores valores foram observados no condicionamento com AIA e peróxido de hidrogênio.

Figura 10 – Quantificação de ascorbato peroxidase (APX) em plântulas de algodão, em água, sob estresse salino (NaCl) e restrição hídrica (PEG), sem serem submetidas ao condicionamento fisiológico (Controle) e submetidas ao condicionamento nas soluções de ácido indol acético (AIA), água, melatonina, peróxido de hidrogênio (H_2O_2), nitroprussiato de sódio (SNP) e quitosana.



Legenda: Médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes (dentro de cada condição) e minúscula entre condições para germinação, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Fonte: Da autora (2021).

Quando comparadas as condições de estresse, apenas no condicionamento com AIA os maiores valores foram observados em estresse salino.

A catalase é uma enzima intracelular, encontrada nos glioxissomos das células vegetais. Ela atua na desintoxicação celular, transformando EROs em substâncias não reativas e na decomposição do H_2O_2 por reação de dismutação (PAUL; ROYCHOUDHURY 2017; MARQUES et al., 2019).

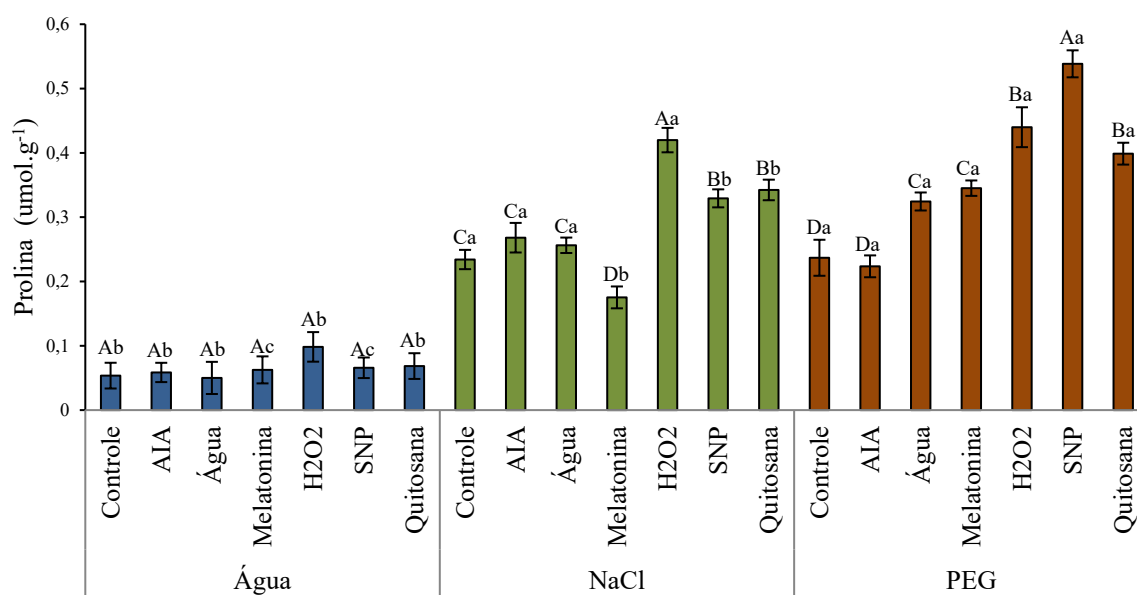
Assim como a catalase, a peroxidase tem a atividade relacionada à redução do nível de H_2O_2 . O H_2O_2 , junto as demais espécies reativas de oxigênio, são responsáveis pela peroxidação de lipídeos e consequentemente pela perda da capacidade seletiva e fluidez do sistema de membranas celulares (PAUL; ROYCHOUDHURY, 2017; CHOUDHARY;

KUMAR; KAUR, 2019; LIU; SOUNDARARAJAN; MANIVANNAN, 2019; MARQUES et al., 2019).

Os valores de prolina (FIGURA 11) foram superiores sob condições de estresse salino quando da utilização de peróxido de hidrogênio como condicionante e para condição de restrição hídrica resultados superiores foram observados quando da utilização de nitroprussiato de sódio como condicionante.

Da comparação das condições de estresse em que as sementes foram colocadas para germinar, apenas nas soluções de melatonina, nitroprussiato de sódio e quitosana, os maiores valores foram observados em restrição hídrica.

Figura 11 – Quantificação de prolina em plântulas de algodão, em água, sob estresse salino (NaCl) e restrição hídrica (PEG), sem serem submetidas ao condicionamento fisiológico (Controle) e submetidas ao condicionamento nas soluções de ácido indol acético (AIA), água, melatonina, peróxido de hidrogênio (H₂O₂), nitroprussiato de sódio (SNP) e quitosana.



Legenda: Médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes (dentro de cada condição) e minúscula entre condições para germinação, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Fonte: Da autora (2021).

O acúmulo de prolina em plantas representa uma importante resposta adaptativa a estresses abióticos, principalmente devido à sua propriedade osmoprotetora. Durante situações de seca e alta salinidade, o acúmulo deste reduz a osmolaridade da célula, promovendo o influxo de água, que por sua vez promove a manutenção do turgor necessário para a expansão celular e aumento da rigidez mecânica de células e tecidos (KAVI KISHOR et al., 2005). Em

diversos trabalhos foi associado o acúmulo de níveis elevados de prolina e a tolerância a estresses osmóticos, como seca e salinidade (HONG et al., 2000).

A prolina atua, principalmente, na estabilização de proteínas e na proteção das membranas contra os efeitos deletérios das espécies reativas de oxigênio (SHARMA & DUBEY, 2005). Considerado osmólito-chave para o ajuste osmótico de plantas em condições de estresse (NAYYAR, 2003), a prolina também atua como soluto compatível em plantas sob o efeito interativo da deficiência hídrica e da toxicidade de sal no solo (MARIN et al., 2006; MARIN & SANTOS, 2008).

Em algumas espécies, o acúmulo de aminoácidos livres, principalmente prolina, aumenta devido à presença de NaCl em comparação com as plantas crescidas em meio não salino (LANGDALE et al., 1973; CÂMARA et al., 1998). O acúmulo de prolina é rápido e parece ser uma adaptação ao estresse salino (BERTELI et al., 1995), defendendo os tecidos vegetais contra estresse osmótico e/ou atuando como protetor enzimático (SOLOMON et al., 1994; LIU e ZHU, 1997).

Quando o estresse salino é mais severo, o ajustamento osmótico envolve maior gasto de energia devido à síntese de solutos orgânicos (RODRÍGUEZ et al., 1997). Os solutos orgânicos no citossol contribuem para o equilíbrio osmótico intracelular, quando a concentração de íons orgânicos é alta no vacúolo, podendo também proteger enzimas citossólicas quando a concentração de íons aumenta (GREENWAY e MUNNS, 1980).

Alguns autores afirmam que a prolina pode atuar também como uma molécula sinalizadora, podendo induzir o aumento da atividade de enzimas antioxidantes em resposta a diferentes tipos de estresses (HOQUE et al., 2007; YAN et al., 2011; CARVALHO et al., 2013; REJEB et al., 2014).

4. CONCLUSÕES

O condicionamento fisiológico é eficiente em minimizar os efeitos negativos da restrição hídrica e salinidade.

O uso de nitroprussiato de sódio é eficiente para minimizar os efeitos da salinidade em plântulas de algodão.

O uso de peróxido de hidrogênio, via condicionamento fisiológico, protege as sementes e plântulas de algodão dos efeitos da restrição hídrica.

O uso de nitroprussiato de sódio, via condicionamento fisiológico, induz a formação de enzimas de proteção oxidativa, como APX, e SOD em condições de estresse salino. O mesmo

é observado quando da aplicação de peróxido de hidrogênio em sementes, quando estas são expostas as condições de restrição hídrica.

REFERÊNCIAS

- ABRAPA. Associação Brasileira dos Produtores de Algodão. Brasília: **ABRAPA**, p.381, 2020.
- AHMAD, Dilshad & Chani, Muhammad Irfan & Rauf, Abdur & Afzal, Muhammad. Economic Analysis of Cotton Cultivation Under Agro-Climatic Conditions of District Muzaffargarh. **American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences**. v. 16, p. 1498-1503, 2016.
- ALMEIDA, A. S.; BORTOLOTTI, M.; MEDEIROS, L. R.; MENEGHELLO, G. E.; KONZEN, L. H.; TUNES, L. M. Protrusão da radícula e métodos para superação de dormência de sementes de trigo. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v.15, n.3, p. 271-276, 2016.
- AQUINO, L. A.; AQUINO, R. F. B. A.; SILVA, T. C.; SANTOS, D. F.; BERGER, P. G. Aplicação do fósforo e da irrigação na absorção e exportação de nutrientes pelo algodoeiro. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 16, p. 355-361, 2012.
- BARBIERI, G. F. et al. Seed germination and initial growth of quinoa seedlings under water and salt stress. **Journal of Agricultural Science**, Toronto, v. 11, n. 15, p. 153-161, 2019.
- BARYLA A, LABORDE C, MONTILLET JL, TRIANTAPHYLIDÈS C, CHAGVARDIEFF P. Evaluation of lipid peroxidation as a toxicity bioassay for plants exposed to copper. **Environ Pollut**. p. 131-135, 2000.
- BATISTA, T. B. et al. Priming of brachiaria seeds with different sugar sources and concentrations. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 31, n. 4, p. 843-849, 2018.
- BERTELI, F.; CORRALES, E.; GUERRERO, C.; ARIZA, M.J.; PILEGO, F.; VALPUESTA, V. Salt stress increases ferredoxin-dependent glutamate synthase activity and protein level in the leaves of tomato. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 93, n. 2, p. 259-264, 1995.
- BEZERRA, J. R. C.; AZEVEDO, P. V.; SILVA, B. B.; DIAS, J. M. Evapotranspiração e coeficiente de cultivo do algodoeiro BRS-200 Marrom, irrigado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 14, p. 625-632, 2010.
- BHANUPRAKASH, K.; YOGESHHA, H. S. Seed priming for abiotic stress tolerance: an overview. In **Abiotic stress physiology of horticultural crops**, New Delhi, p. 103-117, 2016.
- BIEMELT, S.; KEETMAN, U.; ALBRECHT, G. Re-aeration following Hypoxia or Anoxia leads to Activation of the Antioxidative Defense System in Roots of Wheat Seedlings. **Plant Physiology**, v. 116, p. 651-658, 1998.
- BONOME, L. T. et al. Osmoconditioning of *Urochloa brizantha* seeds to reduce pelleting negative effects. **Brazilian Journal of Agriculture-Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 92, n. 2, p. 87-100, 2017.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de**

sementes. Brasília: Mapa/ACS, p. 399, 2009.

CÂMARA, T.R.; WILLADINO, L.; TORNÉ, J.M.; RODRIGUEZ, P.; SANTOS, M.A. Efeito da putrescina e do estresse salino em calos de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 10, n. 2, p. 153-156, 1998.

DAS, K.; ROYCHOUDHURY, A. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. **Frontiers in Environmental Science**, v. 2, p. 53, 2014

DHINDSA RH, DHINDSA P, THORPE TA. Leaf senescence: Correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased level of SOD and CAT. **J Exp Bot**. v. 32, p. 93-101, 1981.

GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Superoxide dismutases I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v.59, n.2, p.309-314, 1977.

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

GUPTA, B., and HUANG, B. Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization. **Int. J. Genom**. 2014.

HAVIR, E. A.; MCHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiology**. v. 84, p. 450- 455, 1987.

HONG Z.L., LAKKINENI K., ZHANG Z.M., VERMA D.P.S. Removal of feedback inhibition of Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase results in increased proline accumulation and protection of plants from osmotic stress. **Plant Physiology**. p. 1129–1136, 2000.

JOSÉ, A. C. et al. Influence of priming on *Eucalyptus* spp. seeds' tolerance to salt stress. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 38, n. 4, p. 329-334, 2016.

KAISER, I. S. et al. Efeito de liberadores de óxido nítrico na qualidade fisiológica de sementes de repolho sob salinidade. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 63, n. 1, p. 39-45, 2016.

KISHOR, P. B. KAVI, et al. “Regulation of Proline Biosynthesis, Degradation, Uptake and Transport in Higher Plants: Its Implications in Plant Growth and Abiotic Stress Tolerance. **Current Science**, vol. 88, no. 3, p. 424–438, 2005.

LANGDALE, G.W.; THOMS, J.R.; LITTLETON, T.G. Nitrogen metabolism of stargrass as affected by nitrogen and salinity. **Agronomy Journal, Madison**, v.65, n.3, p.468-470, 1973.

LI L., CHEN Y., AND GIBSON S.B. Starvation-induced autophagy is regulated by mitochondrial reactive oxygen species leading to AMPK activation. **Cell. Signal**, p. 50–65, 2013.

LIU, J.; ZHU, J.K. Proline accumulation and salt-stress-induced gene expression in a salt hypersensitive mutant of arabidopsis. **Plant Physiology**, Rockeville, v.114, n.2, p.591-596, 1997.

- LIU, L. et al. Salinity inhibits rice seed germination by reducing α -amylase activity via decreased bioactive gibberellin content. **Frontiers in Plant Science**, Parkville, v. 9, p. 275, 2018.
- LOPES, K. P., y SILVA. M. Salinidade na germinação de sementes de algodão colorido. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, 5(3), p. 274–279, 2010.
- MARIN, A.; SANTOS, D.M.M. dos. Interação da deficiência hídrica e da toxicidade do alumínio em guandu cultivado em hidroponia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, p.1267-1275, 2008.
- MARIN, A.; SANTOS, D.M.M. dos; BANZATTO, D.A.; CODOGNOTTO, L.M. Influência da disponibilidade hídrica e da acidez do solo no teor de prolina livre de guandu. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.355-358, 2006.
- MASETTO, T.E. et al. Germinação de sementes de *Urochloa ruziziensis* em função da disponibilidade hídrica do substrato e teor de água das sementes. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 43, n. 4, p. 385-391, 2013.
- MENEZES, D. Determinação da curva de embebição e avaliação da qualidade fisiológica de sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.). **Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras**, Lavras, p. 57, 1996.
- MITCHELL, T. & KISIEL, B. & KRISHNAMURTHY, J. & LAO, NI & RIVARD, KATHRYN & MOHAMED, TOAA & NAKASHOLE, N. & PLATANIOS, EMMANOUIL ANTONIOS & RITTER, A. & SETTLES, B. & COHEN, W. & WANG, RICHARD & WIJAYA, D. & GUPTA, A. & CHEN, XINLEI & SAPAROV, A. & GREAVES, M. & WELLING, J. & GARDNER, M. Never-ending learning. **Communications of the ACM**, 2018.
- MULLINEAUX, P. M.; RAUSCH, T. Glutathione, photosynthesis and the redox regulation of stress-responsive gene expression. **Photosynthesis research**, v. 86, n. 3, p.459-474, 2005.
- NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant & Cell Physiology**. v.22, p.867-880, 1981.
- NAYYAR, HARSH & PAL, DHARAM. Water Stress Induced Proline Accumulation in Contrasting Wheat Genotypes as Affected by Calcium and Abscisic Acid. **Biol Plantarum**. p. 275-279, 2003.
- OLIVEIRA, A. S. Condicionamento fisiológico de sementes de tabaco. **Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia)-Universidade Federal de Lavras**, Lavras, p. 60, 2016.
- OLIVEIRA, H.; DO NASCIMENTO, R. ; LEÃO, A. B. ; CARDOSO, J. A. F. ; GUIMARÃES, R. F. B. Germinação de sementes e estabelecimento de plântulas de algodão submetidas a diferentes concentrações de NaCl e PEG 6000. **Espacios**, Caracas, v. 38, p. 13-28, 2017.
- PELEGRINI, L. L. et al. Efeito do estresse hídrico simulado com NaCl, manitol e PEG (6000) na germinação de sementes de *Erythrina falcata* Benth. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 23, n. 2, p. 511-519, 2013.

PEREIRA, M. R. R. et al. Estresse abiótico induzido por soluções de PEG e de NaCl na germinação de sementes de nabiça e fedegoso. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 3, p. 687-696, 2014.

PEREIRA, S. R. et al. Priming of *Urochloa brizantha* cv. Xaraés seeds. **African Journal of Agriculture Research**, Pretoria, v. 13, n.1, p.2804-2807, 2018.

PIRES, R. M. O.; SOUZA, G. A.; CARDOS, A. A.; DIAS, D. C. F. S.; BORGES, E. E. L. Action of nitric oxide in sesame seeds (*Sesamum indicum* L.) submitted to stress by cadmium. **Journal of Seed Science**, v.38, p. 22-29, 2016.

RIBEIRO, E. C. G. et al. Physiological quality of *Urochloa brizantha* seeds submitted to priming with calcium salts. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 49, 2019.

RODRÍGUEZ, H.G.; ROBERTS, J.K.M.; JORDAN, W.R.; DREW, M.C. Growth, water relation, and accumulation of organic and inorganic solutes in roots of maize seedlings during salt stress. **Plant Physiology, Rockville**, v.113, n.3, p.881-893, 1997.

SABERALI, S. F.; MORADI, M. Effect of salinity on germination and seedling growth of *Trigonella foenum-graecum*, *Dracocephalum moldavica*, *Satureja hortensis* and *Anethum graveolens*. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, Riyadh, v. 18, n. 3, p. 316-323, 2019.

SANTOS, C. A. et al. Germinação de duas espécies da caatinga sob déficit hídrico e salinidade. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 36, v. 87, p. 219-224, 2016.

SOLOMON, A.; BEER, S.; WAISEL, G.; JONES, P.; PALEG, L.G. Effects of NaCl on the carboxylating activity of Rubisco from *Tamarix jordanis* in the presence and absence of proline-related compatible solutes. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.90, n.1, p.198-204, 1994.

TORRELO, W.A.; RICE, L.A. Effects of NaCl stress on proline and cation accumulation in salt sensitive and tolerant turfgrasses. **Plant and Soil**, v.93, p.241-247, 1986.

WOJTYLA, L.; LECHOWSKA, K.; KUBALA, S.; GARNCZARSKA, M. Different Modes of Hydrogen Peroxide Action During Seed Germination. **Front Plant Sci**, v.7, p. 66-69, 2016.

ZHENG, M. et al. Seed priming in dry direct-seeded rice: consequences for emergence, seedling growth and associated metabolic events under drought stress. **Plant Growth Regulation**, New York, v. 78, n. 2, p.167-178, 2016.

ZHU, J.-K. Plant salt tolerance. **Trends Plant Sci**. p. 66–71, 2001.