

UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DA BAHIA

CENTRO DE LUÍS EDUARDO MAGALHÃES

ENGENHARIA DE BIOTECNOLOGIA

ÉLEN JULIANE VASCONCELOS CARDOSO

**AVALIAÇÃO DE SORGO (*Sorghum bicolor*) E ALGODÃO (*Gossypium L.*) PRÉ-
TRATADOS COM ULTRASSOM QUANTO A TOLERÂNCIA AO ESTRESSE
SALINO NA FASE DE GERMINAÇÃO**

Luís Eduardo Magalhães-BA

2024

ÉLEN JULIANE VASCONCELOS CARDOSO

**AVALIAÇÃO DE SORGO (*Sorghum bicolor*) E ALGODÃO (*Gossypium* L.) PRÉ-
TRATADOS COM ULTRASSOM QUANTO A TOLERÂNCIA AO ESTRESSE
SALINO NA FASE DE GERMINAÇÃO**

Trabalho de conclusão de curso, apresentado à
Universidade Federal do Oeste da Bahia, como parte
das exigências para a obtenção do título de
Engenheira de Biotecnologia.

Orientadora: Dr^a Aurizangela Oliveira de Sousa

Luís Eduardo Magalhães - BA

2024

FICHA CATALOGRÁFICA

C268 Cardoso, Élen Juliane Vasconcelos.

Avaliação de sorgo (*sorghum bicolor*) e algodão (*gossypium l.*) pré-tratados com ultrassom quanto a tolerância ao estresse salino na fase de germinação. / Élen Juliane Vasconcelos Cardoso. – 2024.

58 f.; il.

Orientador: Prof. Dr^a Aurizangela Oliveira de Sousa.

Trabalho de Conclusão de Curso: (Graduação em Engenharia de Biotecnologia) – Universidade Federal do Oeste da Bahia. Centro Multidisciplinar de Luís Eduardo Magalhães, Luís Eduardo Magalhães, BA, 2024.

1. Biotecnologia – Agricultura. 2. Análise de sementes - Germinação. 3. Algodão – Sorgo.

I. Sousa, Aurizangela Oliveira de. II. Universidade Federal do Oeste da Bahia – Centro Multidisciplinar de Luís Eduardo Magalhães. III. Título.

CDD: 660.6

BIBLIOTECAS UFOB - Biblioteca Universitária de Luís Eduardo Magalhães

ÉLEN JULIANE VASCONCELOS CARDOSO

**AVALIAÇÃO DE SORGO (*Sorghum bicolor*) E ALGODÃO (*Gossypium L.*) PRÉ-
TRATADOS COM ULTRASSOM QUANTO A TOLERÂNCIA AO ESTRESSE
SALINO NA FASE DE GERMINAÇÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro de Luís Eduardo Magalhães da Universidade Federal do Oeste da Bahia – UFOB, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Biotecnologia.

Luís Eduardo Magalhães, BA, 09/09/2024

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Aurizangela Oliveira de Sousa
Universidade Federal do Oeste da Bahia

Prof. Dr. Felipe da Silva Figueira
Universidade Federal do Oeste da Bahia

Prof.^a Dr.^a Dayse Drielly Souza Santana Vieira
Universidade Federal do Oeste do Pará

(A versão assinada deste documento encontra-se com a coordenação de curso)

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus, que me deu forças, paciência e sabedoria ao longo dessa jornada. Foi Ele quem me amparou nos momentos mais difíceis e me guiou por todo o caminho na universidade. Sou eternamente grata por todos os aprendizados e pela força para enfrentar os desafios que me fizeram crescer.

À minha família, meu alicerce, dedico todo o meu carinho e agradecimento. À minha mãe, Eciene Rosa Vasconcelos Cardoso e ao meu pai, Amauri Cortez Cardoso, por seu amor incondicional e apoio incansável, e aos meus irmãos, Mateus e Cíntia, pelo constante incentivo e compreensão. Vocês são minha base e inspiração, e sou imensamente grata por todo o amor e suporte.

Minha gratidão também vai para minha orientadora, Aurizangela Oliveira de Sousa, que foi fundamental ao acreditar em mim e no meu potencial acadêmico. Agradeço por cada ensinamento, orientação durante todos esses anos, e pelos desafios que me impulsionaram a crescer como profissional. Sua dedicação e confiança foram essenciais para a realização deste trabalho.

As minhas amigas Beatriz e Jeinnie, sou extremamente grata pelos momentos de apoio, pelas risadas e por estarem ao meu lado em cada etapa dessa caminhada. Ao meu amigo Carlos Gabriel agradeço por ter sido não só um grande amigo durante o curso, mas também um excelente professor e mentor durante o estágio, sempre me apoiando e compartilhando seu conhecimento de forma generosa. Vocês foram meu porto seguro em dias difíceis, e o companheirismo fizeram toda a diferença. E ao meu namorado, um agradecimento especial por todo o carinho e suporte ao longo dessa jornada.

Agradeço também a todos os professores que contribuíram para minha formação ao longo do curso, por suas valiosas lições que formaram a base deste trabalho. À Universidade Federal do Oeste da Bahia, expresso minha gratidão por oferecer a estrutura e o ambiente necessário para meu desenvolvimento acadêmico. Agradeço ao CNPq, cujo apoio financeiro foi indispensável para que eu pudesse realizar este trabalho.

A cada um de vocês, meu muito obrigado!

RESUMO

Zonas áridas e semiáridas enfrentam desafios na produtividade vegetal devido à salinidade da água e do solo, impactando a germinação e emergência das plântulas. A salinidade reduz o potencial osmótico, prejudicando a absorção de água e inibindo o metabolismo vegetal para o desenvolvimento da planta. O *priming*, especialmente o ultrassônico (US), é uma abordagem para melhorar o desempenho de sementes, pois oferece vantagens por ser de fácil aplicação e rápida operação, gerando múltiplos efeitos sobre as sementes. Este estudo investigou o efeito do *priming* ultrassônico em sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.) e sorgo (*Sorghum bicolor*) sob estresse salino. Sementes comerciais de algodão e sorgo foram tratadas com ultrassom a potências de 20, 40 e 60W por 10 segundos e testadas em condições de estresse salino (NaCl 200 mM) e controle (água destilada). A germinação, o comprimento das plântulas, a massa fresca, a concentração de proteínas solúveis totais e a atividade da peroxidase do guaiacol (GPX) foram monitorados. Os resultados mostraram que o *priming* ultrassônico melhorou significativamente a taxa e a velocidade de germinação, mesmo sob estresse salino, em todas as potências avaliadas. No algodão, o ultrassom aumentou a concentração de proteínas solúveis e a atividade de GPX, indicando uma melhor resposta antioxidante e tolerância ao estresse. No sorgo, a ultrasonicação aumentou a taxa de germinação e o índice de velocidade e também melhorou o comprimento da raiz e a massa fresca das plântulas. A análise de componentes principais revelou que os tratamentos com 60W e 40W se destacaram, especialmente sob condições de estresse, mostrando respostas fisiológicas e bioquímicas diferenciadas. Estas técnicas podem aumentar a germinação das sementes levando ao aumento da produtividade das plantações e ativar mecanismos de defesa em sementes, sendo soluções promissoras para regiões salinizadas e áridas com escassez de água.

Palavras-chave: salinidade; ultrasonicação; *priming*;

Abstract

Arid and semi-arid zones face challenges in plant productivity due to water and soil salinity, impacting seed germination and seedling emergence. Salinity reduces osmotic potential, impairing water absorption and inhibiting plant metabolism for growth. Priming, particularly ultrasonic (US) priming, is a method to enhance seed performance, offering advantages such as ease of application and rapid operation, resulting in multiple effects on seeds. This study investigated the effect of ultrasonic priming on cotton (*Gossypium hirsutum* L.) and sorghum (*Sorghum bicolor*) seeds under saline stress. Commercial cotton and sorghum seeds were treated with ultrasound at powers of 20, 40, and 60W for 10 seconds and tested under saline stress conditions (200 mM NaCl) and control (distilled water). Germination, seedling length, fresh mass, total soluble protein concentration, and guaiacol peroxidase (GPX) activity were monitored. The results showed that ultrasonic priming significantly improved the germination rate and speed, even under saline stress, with 60W being the most effective. In cotton, ultrasound increased soluble protein concentration and GPX activity, indicating a better antioxidant response and stress tolerance. In sorghum, ultrasound increased the germination rate and speed index, especially with 40W, and also improved root length and seedling fresh mass. PCA analysis revealed that treatments with 60W and 40W stood out, especially under stress conditions, showing differentiated physiological and biochemical responses. These techniques may enhance crop productivity and activate defense mechanisms in seeds, offering promising solutions for saline and water-scarce regions.

Keywords: salinity; ultrasonic; priming; germination

Sumário

1. INTRODUÇÃO GERAL	8
2. OBJETIVOS	10
2.1 Geral	10
2.2 Específicos	10
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
3.1 Germinação	11
3.2 A salinidade	11
3.3 Algodão	12
3.4 Sorgo	13
3.5 Priming ultrassônico	14
Referências	16
Capítulo 1: Efeito do <i>priming</i> ultrassônico em sementes de algodoeiro (<i>Gossypium hirsutum</i> L.) submetidas à salinidade durante a fase de germinação	21
Resumo	21
Abstract	22
1. Introdução	23
2. Metodologia	24
2.1 Material vegetal	24
2.2 Priming ultrassônico	25
2.3 Teste de germinação	25
2.4 Índice de velocidade de germinação (IVG)	25
2.5 Comprimento de plântulas	26
2.6 Massa fresca	26
2.7 Extração de proteínas solúveis totais	26
2.8 Quantificação de proteínas solúveis totais	26
2.9 Atividade da Peroxidase do Guaiacol (GPX)	27
2.10 Análise estatística	27
3. Resultados e discussões	27
4. Conclusão	34
Referências	34
Capítulo 2: Efeitos do <i>priming</i> ultrassônico na germinação de sementes de sorgo e respostas bioquímicas ao estresse salino induzido por NaCl	40

Resumo	40
Abstract	41
1. Introdução	42
2. Metodologia	43
2.1 Material vegetal	43
2.2 Determinação do teor de água e condutividade elétrica	43
2.3 Tratamento <i>priming</i> ultrassônico	44
2.4 Teste de germinação	44
2.5 Índice de velocidade de germinação (IVG):	44
2.6 Comprimento de plântulas	45
2.7 Massa fresca	45
2.8 Extração de proteínas solúveis totais	45
2.9 Quantificação de proteínas solúveis totais	45
2.10 Atividade da Peroxidase do Guaiacol (GPX)	46
2.11 Análise estatística	46
3. Resultados e discussões	46
4. Conclusão	53
Referências	54
Conclusão Geral	57

1. INTRODUÇÃO GERAL

A germinação das sementes representa uma fase crucial e delicada no ciclo de vida das plantas, determinando o estabelecimento das plântulas e seu subsequente crescimento. Condições favoráveis de temperatura, luz e umidade são essenciais para a germinação das sementes (Nakagawa, 1994). No entanto, essas condições ideais nem sempre são atingidas, especialmente em solos salinos. Os solos salinos são predominantemente encontrados em regiões áridas e semi áridas, caracterizadas por uma taxa de evaporação que supera a precipitação. Esse desequilíbrio resulta no acúmulo de sais solúveis e no aumento do teor de sódio trocável na superfície do solo. Em ambientes como esses, a germinação das sementes é frequentemente afetada, pois as condições adversas podem comprometer a disponibilidade de água e, conseqüentemente, afetar negativamente o processo de germinação e o desenvolvimento inicial das plântulas (Barros *et al.*, 2004).

A crescente salinidade do solo representa um desafio global, uma vez que o sal compromete o crescimento e o desenvolvimento das plantas, diminuindo a produtividade das colheitas. Além da salinidade natural, a salinização do solo pode ser aumentada pelas práticas de irrigação, tratos culturais inadequados e pelas mudanças climáticas. A redução da disponibilidade de água para as plantas ocorre devido ao acúmulo de sais no solo, os quais também apresentam efeitos tóxicos ao metabolismo vegetal. O estresse osmótico e a toxicidade dos sais inibem o crescimento e alteram o desenvolvimento das plantas, devido adaptações metabólicas e sequestro ou exclusão de íons (Van Zelm; Zhang; Testerink, 2020).

A maioria das espécies cultivadas é sensível à salinidade, e a otimização do manejo visa melhorar as condições ambientais para que as plantas se desenvolvam melhor, o que pode resultar em maior produtividade das colheitas. Solos salinos, são aqueles com extrato de saturação superior a 4 dS.m⁻¹ a 25 °C (Allison; Richards, 1954). O algodão é uma cultura moderadamente tolerante à salinidade. Para essa cultura o nível limiar de salinidade do solo deve estar em 7,7 dS.m⁻¹ (Sharif *et al.*, 2019). Já a cultura do sorgo é considerada moderadamente sensível, para ela a condutividade elétrica do solo deve estar com nível limite de 2,8 dS.m⁻¹, tendo principalmente seus estágios iniciais da germinação afetados pela salinidade (Kafi; Shariat; Moayedi, 2013). Diante desse desafio, torna-se essencial a aplicação de tecnologias que possam superar essa questão.

Várias estratégias de manejo têm sido estudadas e aplicadas na produção agrícola, com foco especial nas sementes. Uma dessas abordagens eficazes é o uso de técnicas de *priming* de sementes, que visam conferir tolerância a fatores estressantes, tanto bióticos quanto abióticos. Essas técnicas controlam a hidratação das sementes em níveis adequados, facilitando um acesso mais equitativo aos processos metabólicos pré-germinativos (Ferreira; Perez-Marin, 2022.). A ultrassonicação tem sido aplicada com eficiência para a superação da dormência e a melhoria das características de germinação de sementes. Nessa técnica, as ondas ultrassônicas com uma frequência superior a 20.000 Hz, são usadas como um tratamento condicionante (*priming*) para as sementes. Com a sua aplicação, em um curto período e com fácil operação, é possível gerar múltiplos efeitos sobre as membranas biológicas (Huang *et al.*, 2022). A aplicação do *priming* ultrassônico em sementes pode ser uma ferramenta promissora para aumentar a tolerância à salinidade durante a germinação e o desenvolvimento inicial das plantas.

Os efeitos, como aumento da permeabilidade da membrana, formação de bolhas de cavitação e aquecimento localizado, dependem da intensidade, frequência e duração do ultrassom. Essa abordagem tem o potencial de modular importantes processos bioquímicos, incluindo a modificação da atividade de enzimas e a regulação da expressão gênica. Para culturas comerciais, o *priming* ultrassônico oferece oportunidades, principalmente no estabelecimento inicial das plântulas em campo. Ao melhorar a uniformidade da germinação e o vigor das plântulas, essa técnica contribui para uma implantação mais eficiente, reduzindo falhas no plantio e maximizando o potencial produtivo.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar, por meio de análises fisiológicas e bioquímicas, o efeito do *priming* ultrassônico para a promoção de tolerância ao estresse salino em lotes de sementes de algodão e sorgo.

2.2 Específicos

- Realizar o tratamento pré-semeadura (*priming*) com três diferentes potências de ultrassom nos lotes de algodão e sorgo selecionados;
- Germinar as sementes dos lotes selecionados, pós *priming* ultrassônico, sob condição de estresse salino;
- Avaliar a qualidade fisiológica das sementes tratadas com *priming* ultrassônico e germinadas na condição de estresse salino;
- Analisar o conteúdo de proteínas solúveis totais e a atividade de enzima antioxidante em plântulas oriundas das sementes dos lotes selecionados tratadas com *priming* ultrassônico e germinadas em condição de estresse salino;
- Correlacionar os dados de qualidade fisiológica e perfil bioquímico para determinar o efeito do *priming* ultrassônico na tolerância ao estresse salino e na condição controle.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Germinação

As sementes são estruturas biológicas envolvidas por uma camada protetora chamada tegumento, que desempenha diversas funções, incluindo a regulação da germinação por meio da absorção de água em sua superfície. Além disso, o tegumento envolve o tecido de reserva cotiledonar e o eixo embrionário, o qual mantém temporariamente seu crescimento estável (Debeaujon *et al.*, 2007). Quando devidamente umedecida, a semente dá início ao processo de reativação ou crescimento do eixo embrionário, evidenciando sua capacidade de gerar uma plântula normal, caracterizando assim o fenômeno da germinação (Ferraz ; Calvi, 2010).

A germinação é definida como o processo de retomada de crescimento do embrião e compreende essencialmente três fases distintas. A primeira fase, conhecida como fase I, envolve a embebição da semente, marcada pela hidratação dos tecidos internos, durante a qual a semente absorve água até atingir um determinado ponto. Na fase II, ocorre a reativação do metabolismo, evidenciada pelo aumento na taxa respiratória, indicando os primeiros sinais de retomada das atividades metabólicas do embrião. Nessa fase, a entrada de oxigênio ocorre simultaneamente com a entrada de água e se estabiliza quando a absorção de água diminui. A fase III é caracterizada pela germinação propriamente dita, na qual se observa a protrusão da radícula devido ao alongamento celular (Sá *et al.*, 2018).

A presença de salinidade pode resultar em um retardamento nas fases de germinação das sementes, sendo essa situação associada à dificuldade na absorção de água devido a potenciais hídricos negativos, especialmente durante as fases iniciais de embebição. Esse cenário tem o potencial de comprometer a sequência de eventos relacionados ao processo germinativo (Moterle *et al.*, 2006).

3.2 A salinidade

A salinidade, seja no solo ou na água, representa um dos principais estresses abióticos, sendo mais prevalente em regiões áridas, semiáridas e costeiras. A salinização do solo, originada pelo acúmulo de sais solúveis nas camadas agricultáveis, figura entre os impulsionadores da desertificação e infertilidade (Luo, *et al.*, 2017). As repercussões incluem

a intoxicação das plantas e o aumento da pressão osmótica sobre a vegetação presente em áreas salinizadas (Castro; Dos Santos; Araújo, 2021), resultando na redução da cobertura vegetal e da produção agrícola. Diversas são as ações humanas que contribuem para o acúmulo de sais no solo. Isso inclui o uso de água com elevados níveis de sais, a prática de irrigação sem um sistema de drenagem eficiente, e a aplicação de fertilizantes e defensivos agrícolas com concentrações significativas de sais (Castro; Santos, 2020).

Globalmente, entre 20% a 50% dos solos irrigados se tornaram inférteis devido à salinização. O processo químico coloca em risco a segurança alimentar e o cultivo de alimentos de pelo menos 1,5 bilhão de pessoas. Existem ainda mais de 833 milhões de hectares de solos afetados pelo sal em todo o mundo (FAO, 2023). Na última atualização realizada pela Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura no Brasil (FAO) sobre as áreas salinizadas no país, estima-se que 20 a 25% das áreas irrigadas enfrentam esta problemática, concentrando-se principalmente nos perímetros irrigados na Região Nordeste (FAO, 2006).

A medida convencional da salinidade é expressa através da condutividade elétrica (CE) no Sistema Internacional de Unidades, em deciSiemens por metro (1 dS.m^{-1}) a $25 \text{ }^\circ\text{C}$. Essa medida define a facilidade com que a corrente elétrica pode atravessar uma solução, indicando a presença de sais dissolvidos (Bohnen *et al.*, 2000). A maioria das culturas é altamente suscetível ao solo salino, mesmo quando a condutividade elétrica é tão baixa quanto 3 dS.m^{-1} , assim, o estresse salino emerge como uma restrição significativa à produtividade das culturas (Francois *et al.*, 1994).

A germinação das sementes e o crescimento inicial das mudas representam etapas críticas para o estabelecimento das culturas, sendo as mais suscetíveis a estresses abióticos (Patade; Bhargava; Suprasanna, 2011). Diversos estresses abióticos, como os provocados pelo aumento da concentração de sal, podem retardar ou impedir a germinação de sementes de alta qualidade (Fazlali; Asli; Moradi, 2013). A concentração crescente de sal não apenas inibe a germinação das sementes, mas também prolonga o tempo de germinação, atrasando o início desse processo (Thiam *et al.*, 2013). Enquanto concentrações mais baixas de sal induzem um estado de dormência e reduzem a germinação (Gul; Khan, 2008).

3.3 Algodão

O Algodão (*Gossypium hirsutum* L.) representa uma das dez principais espécies cultivadas pela humanidade e é considerado de grande importância econômica devido à sua capacidade de produzir fibra, seu principal produto (Sousa, 2006). O algodoeiro é proveniente de regiões tropicais, altamente flexível e capaz de se adaptar amplamente. Pode ser localizada em diversas áreas, tanto em seu estado natural selvagem quanto cultivada sob uma variedade de condições de solo e clima (Vidal Neto; Freire, 2013). Atualmente, essa fibra é responsável por vestir quase metade da população global. Além disso, o algodão também gera óleo utilizado tanto na alimentação humana quanto na produção de energia, especialmente biodiesel (Gama, 2014).

O Brasil é o quarto produtor e o segundo maior exportador mundial de algodão. A Bahia, segundo maior estado produtor de algodão do Brasil, alcançou em 2023 uma produção de aproximadamente 615 mil toneladas de algodão beneficiado (pluma) em uma área de 312,6 mil hectares (ABAPA, 2023). Em termos regionais, a produção concentra-se em Mato Grosso com 63,6% do Valor Bruto da Produção (VBP) e 25,0% no Oeste da Bahia, tornando estas duas regiões responsáveis por 88,6% do VBP (EMBRAPA, 2021).

Quanto à salinidade, o algodoeiro é classificado como uma cultura tolerante, apresentando um limiar de salinidade em torno de $7,7 \text{ dS.m}^{-1}$ no extrato de saturação do solo e $5,1 \text{ dS.m}^{-1}$ na água de irrigação (Ayers; Westcot, 1999). Apesar dessa caracterização, o algodão pode sofrer consideráveis reduções no seu crescimento e na produção quando exposto a condições de salinidade conforme demonstrado por Jácome e colaboradores (2003).

3.4 Sorgo

O sorgo (*Sorghum bicolor* L.) é uma espécie originária de regiões tropicais e é cultivado em diversos países, sendo inclusive utilizado como fonte primária de alimentação (Vieira, 2006). No Brasil, sua principal aplicação é na alimentação animal, servindo como uma alternativa ao milho na produção de rações e contribuindo para a redução dos custos de produção (Sousa, 2006). Além de seus grãos serem utilizados como alimento humano e animal, eles também servem como matéria-prima para a produção de álcool anidro, bebidas alcoólicas, colas e tintas (Ribas, 2008).

O cultivo de sorgo granífero é a atividade agrícola que mais avança proporcionalmente, no Brasil, considerando a safra 21/22 (Silva, 2023). O Brasil, segundo o levantamento de safras

da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB) produziu 2,85 milhões de toneladas de sorgo na referida safra (36,9% a mais que no período anterior), em uma área plantada de 1,03 milhão de hectares chegando a um incremento de 19,4% (EMBRAPA, 2022). O sorgo ocupa a quarta maior produção no Oeste da Bahia depois de soja, milho e algodão (AIBA, 2023).

Apesar do sorgo ser conhecido por sua capacidade de resistir ao déficit hídrico, o êxito de sua implementação no Nordeste brasileiro também está condicionado à habilidade da planta de prosperar em solos com elevada concentração de sais dissolvidos. No que diz respeito à salinidade, essa espécie é classificada como moderadamente sensível, conseguindo suportar níveis de salinidade variando entre 2.8 e 4 dS.m⁻¹ de condutividade elétrica (Kafi; Shariat; Moayedí, 2013). Vale ressaltar que existe variação no grau de tolerância entre os diversos genótipos (Lacerda *et al.*, 2003).

3.5 Priming ultrassônico

Os pré-tratamentos de sementes, que englobam abordagens físicas e químicas, são amplamente empregados para otimizar o desenvolvimento das plantas. Na busca por alternativas aos métodos químicos, os métodos físicos têm ganhado destaque entre os agricultores, pois conseguem aprimorar de maneira mais eficiente a qualidade dos alimentos sem comprometer sua segurança (Lazim; Ramadhan, 2020.). Diversas técnicas físicas, como microondas e irradiações elétricas, são populares para promover a germinação de sementes (Araújo *et al.*, 2016). Essas abordagens físicas afetam os processos bioquímicos e fisiológicos do cultivo de sementes sem causar impactos negativos no meio ambiente, proporcionando melhorias no desempenho das plantas. Apesar disso, as tecnologias químicas continuam sendo amplamente utilizadas, embora apresentem desafios relacionados à sua eliminação no ciclo ambiental (Sharma *et al.*, 2015).

Recentemente, o ultrassom tem chamado a atenção de especialistas como uma técnica promissora para facilitar a sementeira, proteger as sementes e aprimorar seu crescimento em condições ambientais adversas. O fenômeno da cavitação, que envolve a formação, desenvolvimento e colapso de microbolhas em um líquido durante a propagação de ondas ultrassônicas, é crucial nesse contexto (Nogueira *et al.*, 2023). A aplicação adequada de ondas ultrassônicas pode estimular a germinação das sementes, promovendo o crescimento celular e aumentando atividades fisiológicas ou enzimáticas (Chowdhury *et al.*, 2014).

O ultrassom representa uma forma de energia originada por ondas acústicas que operam em frequências superiores a 20 kHz (Rîşca; Fărtăiş; Ştiucă, 2007). A faixa audível dessas frequências sonoras, variando de 20 a 100 kHz, encontra uma ampla gama de aplicações em diversos setores (Barton; Bullock; Weir, 1996). Por exemplo, na área médica, é utilizado para criar imagens sonoras ultrassônicas, como na ultrassonografia, facilitando a detecção de objetos e a medição de distâncias (Sutariya *et al.*, 2018). O uso de ondas ultrassônicas também se estende à agroindústria, onde contribui para a otimização de processos como secagem, extração, emulsificação e desespumação (Mason *et al.*, 2005).

Técnicas de *priming* podem induzir níveis adequados de estresse abiótico, resultando na melhoria da resistência ao estresse durante a germinação e fases subsequentes do crescimento, através do conceito de "memória de estresse" (Liu; Quan; Bartels, 2022). Plantas provenientes de sementes submetidas ao *priming* ultrassônico manifestam uma maior habilidade para ativar sistemas de resposta ao estresse e estabelecer precocemente o estado germinativo (Paparella *et al.*, 2015). A aplicação de estimulação ultrassônica pode intensificar a cavitação no tegumento das sementes, contribuindo para uma maior taxa de permeabilidade. Isso, por sua vez, acelera a taxa e/ou velocidade de germinação em sementes deterioradas (Alfalahi *et al.*, 2022).

Em várias culturas, como feijão preto, milho, cevada, alfafa, brócolis, grão-de-bico, trigo, melancia e pimenta, tratamentos ultrassônicos têm sido observados aumentando a taxa de germinação (Rifna; Ramanan; Mahendran, 2019). Os estudos com o ultrassom têm se dedicado a melhorar a taxa de germinação em sementes que apresentam dormência, como feito por Babaei-ghaghelestany e colaboradores (2020) em sementes de ansarina-branca (*Chenopodium album*). Também se tem estudado a aplicação do ultrassom quanto à melhoria da germinação de sementes submetidas ao estresse térmico em sementes de agrião-de-jardim (*Lepidium sativum* L.) (El-Sattar *et al.*, 2024). Existem ainda aplicações quanto ao efeito do tratamento ultrassônico de sementes de arroz sob estresse de alagamento realizado por Huang e colaboradores (2020). Até o presente momento não foram encontradas pesquisas relacionadas à aplicação do ultrassom quanto à tolerância à salinidade em sementes de sorgo e algodão, isso traz o tratamento *priming* como prática inovadora ao estudo, principalmente, em espécies comerciais de grande importância econômica regional e nacional.

Referências

ABAPA, A. **Colheita do algodão finaliza na Bahia e são boas as expectativas para a safra 2023/2024**. Disponível em: <<https://abapa.com.br/noticias/colheita-do-algodao-finaliza-na-bahia-e-sao-boas-as-expectativas-para-a-safra-2023-2024/>>. Acesso em: 05 jan. 2024.

ALFALAHI, Ayoob Obaid *et al.* Ultrasonic treatment enhances germination and affects antioxidant gene expression in soybean (*Glycine max* L. Merr). **Agronomy**, v. 12, n. 10, p. 2446, 2022.

ALLISON, L. E.; RICHARDS, Lorenzo Adolph. **Diagnosis and improvement of saline and alkali soils**. Soil and Water Conservative Research Branch, Agricultural Research Service, US Department of Agriculture, 1954.

ARAUJO, Susana de Sousa *et al.* Physical methods for seed invigoration: advantages and challenges in seed technology. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 646, 2016.

ASSOCIAÇÃO DE AGRICULTORES E IRRIGANTES DA BAHIA (AIBA). Boletins Safra. **Luís Eduardo Magalhães**: AIBA, 2023. Disponível em: <<https://aiba.org.br/boletins-safra/>>. Acesso em: 05 jan. 2024.

AYERS, R. S.; WESTCOT, D. W. A qualidade da água na agricultura. Campina Grande: Universidade Federal da Paraíba. **FAO Irrig. Drain. Pap**, n. 29, p. 1-218, 1999.

BABAEI-GHAGHELESTANY, Ali *et al.* Evaluation of ultrasound technology to break seed dormancy of common lambsquarters (*Chenopodium album*). **Food science & nutrition**, v. 8, n. 6, p. 2662-2669, 2020.

BARROS, Maria de FC *et al.* Recuperação de solos afetados por sais pela aplicação de gesso de jazida e calcário no Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 8, p. 59-64, 2004.

BOHNEN, H. et al. Fundamentos de química do solo. **Genesis**, Porto Alegre, p. 174, 2000.

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

CASTRO, Francelita Coelho; DOS SANTOS, Antonio Marcos; ARAÚJO, Jairton Fraga. Salinização dos Solos e Práticas Agrícolas na Comunidade Quilombola de Cupira em Santa

Maria da Boa Vista, Pernambuco–Nordeste do Brasil. **Revista do Departamento de Geografia**, v. 41, p. e174478-e174478, 2021.

CASTRO, Francelita Coelho; SANTOS, Antonio Marcos dos. Salinidade do solo e risco de desertificação na região semiárida. **Mercator (Fortaleza)**, v. 19, p. e19002, 2020.

CHOWDHURY, Md Emran Khan; LIM, Hyoun-Sub; BAE, Hanhong. Update on the effects of sound wave on plants. **Research in Plant Disease**, v. 20, n. 1, p. 1-7, 2014.

DEBEAUJON, Isabelle et al. Seed coat development and dormancy. **Annual Plant Reviews Volume 27: Seed Development, Dormancy and Germination**, p. 25-49, 2007.

EL-SATTAR, Abd et al. Respostas Fisiológicas e Genéticas de Sementes de *Lepidium sativum* L. ao Pré-Tratamento Ultrassônico sob Estresse Térmico. **Revista Egípcia de Botânica**, v. 64, n. 1, p. 257-275, 2024.

FAO. Global Map of Salt Affected Soils. Version 1.0. Disponível em: <<https://www.fao.org/soils-portal/data-hub/soil-maps-and-databases/global-map-of-salt-affected-soils/ar/>>. Acesso em: 03 jan. 2024.

FAO. **Water in agriculture: opportunity untapped**. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2006.

FAZLALI, Reza; ASLI, Davood Eradatmand; MORADI, Pezhman. The effect of seed priming by ascorbic acid on bioactive compounds of naked seed pumpkin (*Cucurbita pepo* var. *styriaca*) under salinity stress. **International Journal of Farming and Allied Sciences**, v. 2, n. 17, p. 587-590, 2013.

FERRAZ, Isolde Dorothea Kossmann; CALVI, Geangelo Petene. Teste de Germinação (ISBN 978-85-911644-1-7). **Procedimentos de análise de sementes florestais.**, pgs. 57-120, 2010.

FERREIRA, Thiago Costa; PEREZ-MARIN, Aldrin Martin. Priming em sementes: uma revisão bibliográfica concisa e atualizada. **BIOFIX Scientific Journal**, v. 7, n. 1, p. 27-36, 2022.

FRANCOIS, Leland E. *et al.* Time of salt stress affects growth and yield components of irrigated wheat. **Agronomy journal**, v. 86, n. 1, p. 100-107, 1994.

GAMA, Juliana Simões Nobre. Adubação silicatada na produção e qualidade de sementes e fibras de algodão (*Gossypium hirsutum* L.). 2014.

GUL, Bilquees; KHAN, M. Ajmal. Effect of compatible osmotica and plant growth regulators in alleviating salinity stress on the seed germination of *Allenrolfea occidentalis*. **Pak. J. Bot.**, v. 40, n. 5, p. 1957-1964, 2008.

HUANG, Suihua et al. Effect of ultrasonic seed treatment on rice seedlings under waterlogging stress. **Chilean journal of agricultural research**, v. 80, n. 4, p. 561-571, 2020.

HUANG, Yutao *et al.* Ultrasonic Waves Regulate Antioxidant Defense and Gluconeogenesis to Improve Germination From Naturally Aged Soybean Seeds. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 833858, 2022.

JÁCOME, Aleksandra Gomes *et al.* Crescimento de genótipos de algodoeiro em função da salinidade da água de irrigação. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 25, n. 2, p. 305-313, 2003.

KAFI, Mohammad; SHARIAT, JAFARI MH; MOAYEDI, A. The sensitivity of grain sorghum (*Sorghum bicolor* L.) developmental stages to salinity stress: an integrated approach. **Agr. Sci. Tech.** v. 15, p 723-736, 2013.

LACERDA, CF de *et al.* Crescimento e acúmulo de íons em folhas de sorgo forrageiro submetido a soluções iso-osmóticas de sais (NaCl+ KCl). **Revista Ciência Agronômica**, v. 34, n. 01, p. 1-6, 2003.

LAZIM, Samir Khairi; RAMADHAN, M. Study effect of a static magnetic field and microwave irradiation on wheat seed germination using different curves fitting model. **Journal of Green Engineering**, v. 10, n. 1, p. 3188-3205, 2020.

LIU, Juan *et al.* Effects of ultrasonication on increased germination and improved seedling growth of aged grass seeds of tall fescue and Russian wildrye. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 22403, 2016.

LIU, Xun; QUAN, Wenli; BARTELS, Dorothea. Stress memory responses and seed priming correlate with drought tolerance in plants: An overview. **Planta**, v. 255, n. 2, p. 45, 2022.

LUO, Jun-yu et al. Effects of soil salinity on rhizosphere soil microbes in transgenic Bt cotton fields. **Journal of integrative agriculture**, v. 16, n. 7, p. 1624-1633, 2017.

MASON, Timothy J. *et al.* Application of ultrasound. In: **Emerging technologies for food processing**. Academic Press, 2005. p. 323-351.

MATSUNO, Hiroshi; URITANI, Ikuzo. Physiological behavior of peroxidase isozymes in sweet potato root tissue injured by cutting or with black rot. **Plant and Cell Physiology**, v. 13, n. 6, p. 1091-1101, 1972.

MOTERLE, Lia Mara *et al.* Germinação de sementes e crescimento de plântulas de cultivares de milho-pipoca submetidas ao estresse hídrico e salino. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, p. 169-176, 2006.

NAKAGAWA, João. Testes de vigor baseados na avaliação das plântulas. **Testes de vigor em sementes. Jaboticabal: FUNEP**, v. 1, p. 49-85, 1994.

NOGUEIRA, António *et al.* Seed germination and seedling development assisted by ultrasound: gaps and future research directions. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 2023.

PAIVA, Ana Luiza Sobral. Respostas bioquímicas do feijão-de-corda [*Vigna unguiculata* L.(Walp.)] ao estresse salino e infecção pelo vírus do mosaico severo do caupi (CPSMV) reveladas pela proteômica quantitativa livre de marcação. 2015.

PAPARELLA, S. *et al.* Seed priming: state of the art and new perspectives. **Plant cell reports**, v. 34, p. 1281-1293, 2015.

Produção de sorgo no Brasil sobe mais de 36% em apenas uma safra. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/73811127/producao-de-sorgo-no-brasil-sobe-mais-de-36-em-apenas-uma-safra>>. Acesso em: 03 jan. 2024.

RIBAS, Paulo Motta. Cultivo do sorgo. **Importância econômica. Embrapa milho e sorgo. Sistemas de produção**, v. 2, 2008.

RIFNA, E. J.; RAMANAN, K. Ratish; MAHENDRAN, R. Emerging technology applications for improving seed germination. **Trends in Food Science & Technology**, v. 86, p. 95-108, 2019.

RÎȘCA, IOAN-MARIAN; FĂRTĂIȘ, LIVIU; ȘTIUCĂ, PETRU. Ultrasounds effects contributions on the Norway spruce seeds germination (*Picea abies* (L.) Karsten). **Analele Științifice ale Universității, Alexandru Ioan Cuza”, Secțiunea Genetică și Biologie Moleculară**, v. 8, 2007.

SÁ, J. M. et al. Indução de tolerância ao estresse salino durante a germinação de sementes de *Physalis peruviana* L. 2018.

SHARIF, Iram *et al.* Salinity stress in cotton: effects, mechanism of tolerance and its management strategies. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 25, p. 807-820, 2019.

SHARMA, K. K. et al. Seed treatments for sustainable agriculture-A review. **Journal of Applied and Natural Science**, v. 7, n. 1, p. 521-539, 2015.

SILVA, Gustavo Ferreira da. Adubação nitrogenada em sorgo biomassa antecedendo a soja em sistemas de manejo de longa duração. 2023.

SOUSA, Carlos Henrique Carvalho de. Análise da tolerância à salinidade em plantas de sorgo, feijão-de-corda e algodão. 2007.

THIAM, Mahamadou *et al.* NaCl effects on in vitro germination and growth of some senegalese cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) cultivars. **International Scholarly Research Notices**, v. 2013, 2013.

VAN ZELM, Eva; ZHANG, Yanxia; TESTERINK, Christa. Salt tolerance mechanisms of plants. **Annual review of plant biology**, v. 71, p. 403-433, 2020.

VIDAL NETO, F. das C.; FREIRE, EC de. Melhoramento genético do algodoeiro. 2013.

VIEIRA, Mauro Regis. Produtividade, análises químico-bromatológicas e nutrição mineral de plantas de sorgo forrageiro irrigadas com águas salinas. 2006.

WONG, Kiing S. et al. Enhancing rate of water absorption in seeds via a miniature surface acoustic wave device. **Royal Society open science**, v. 6, n. 3, p. 181560, 2019.

Capítulo 1: Efeito do *priming* ultrassônico em sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) submetidas à salinidade durante a fase de germinação

Resumo

O *priming* de sementes é uma técnica que prepara as plantas para responder melhor a estresses ambientais, acelerando a germinação e melhorando a distribuição das plantas. O ultrassom, usando frequências acima de 20 kHz, tem mostrado aumentar a taxa de germinação em várias sementes. Este estudo investigou o efeito do *priming* ultrassônico em sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.) sob estresse salino. Sementes comerciais de algodão foram tratadas com ultrassom a potências de 20, 40 e 60W por 10 segundos e testadas em condições de estresse salino (200mM NaCl) e controle (água destilada). A germinação, o comprimento das plântulas, a massa fresca, a concentração de proteínas solúveis totais e a atividade da peroxidase do guaiacol (GPX) foram monitoradas. Os resultados mostraram que o *priming* ultrassônico melhorou significativamente a taxa e a velocidade de germinação, mesmo sob estresse salino, com a potência de 60W sendo a mais eficaz. O *priming* também aumentou a concentração de proteínas solúveis sob estresse salino, e a atividade da enzima antioxidante GPX foi maior em todas as potências, especialmente a 60W, indicando uma melhor resposta antioxidante e tolerância ao estresse. Esta técnica pode aumentar a taxa de germinação das plantações de algodão e ativar mecanismos de defesa nas sementes, sendo uma solução promissora para regiões salinizadas.

Palavras-chave: Algodão, Estresse salino, Ultrassom.

Abstract

Seed priming is a technique that prepares plants to better respond to environmental stresses by accelerating germination and improving plant distribution. Ultrasound, using frequencies above 20 kHz, has been shown to enhance germination rates in various seeds. This study investigated the effect of ultrasonic priming on cotton seeds (*Gossypium hirsutum* L.) under salt stress. Commercial cotton seeds were treated with ultrasound at powers of 20, 40, and 60W for 10 seconds and tested under salt stress conditions (200mM NaCl) and control (distilled water). Germination, seedling length, fresh weight, total soluble protein concentration, and guaiacol peroxidase (GPX) activity were monitored. Results indicated that ultrasonic priming significantly improved germination rate and speed, even under salt stress, with 60W being the most effective power. Priming also increased soluble protein concentration under salt stress, and antioxidant enzyme GPX activity was higher at all powers, especially at 60W, indicating better antioxidant response and stress tolerance. This technique may enhance cotton crop productivity and activate defense mechanisms in seeds, representing a promising solution for saline-affected regions.

Keywords: Cotton, *Priming*, Ultrasound.

1. Introdução

O estado "primed" de uma planta representa sua preparação eficaz para enfrentar vários tipos de estresse ambiental (Conrath *et al.*, 2015). Em estado de *priming*, as plantas reagem a níveis muito baixos de estímulo de maneira mais rápida e intensa do que as plantas não primadas (Conrath *et al.*, 2006). Esse estado está associado a uma ativação mais rápida e robusta das respostas de defesa quando confrontadas com patógenos, insetos ou estresses abióticos (Van Hulst *et al.*, 2006). O *priming* pode ser desencadeado por sinais ambientais que indicam um aumento na probabilidade de estresse, mas também pode persistir como um efeito residual após a exposição inicial ao estresse (Frost *et al.*, 2008).

O tratamento *priming* de sementes, visa a exposição das sementes a um estímulo específico com o objetivo de aumentar a tolerância das plantas a estresses futuros (Tanou; Fotopoulos; Molassiotis, 2012). O *priming* cria uma memória que prepara a planta para reagir de forma mais eficaz e rápida quando confrontada com eventos estressantes subsequentes (Kalita *et al.*, 2021). Além disso, esse estado de alerta não implica em um aumento no uso de energia pela planta, destacando sua estratégia de adaptação eficiente e que não requer custos energéticos adicionais (Cipollini; Purrington; Bergelson, 2003). O tratamento das sementes leva a redução no tempo de germinação, junto com melhorias no reparo de DNA, ativação de enzimas e acumulação de metabólitos vitais para o crescimento (Hossain; Burritt; Fujita, 2016), o que pode contribuir para uma distribuição uniforme das plantas e, conseqüentemente, associado aos tratos culturais adequados, aumentar a produtividade em várias culturas.

O ultrassom, forma de energia gerada por ondas acústicas em frequências superiores a 20 kHz (Mason e Peters, 2002), tem sido utilizado como *priming* para melhorar a qualidade da germinação de sementes de grãos (Wang; Wang, 2019), leguminosas (Lahijanian; Nazar, 2017), e flores (Santos *et al.*, 2022). A aplicação do ultrassom acelera a taxa ou velocidade de germinação em sementes, uma vez que pode intensificar a formação de bolhas no revestimento das sementes, promovendo uma maior permeabilidade (López-Ribera; Vicient, 2017). Esta técnica física tem se mostrado também eficaz em aumentar a taxa de germinação de sementes sob estresse salino, como observado em arroz (Li *et al.*, 2014) e bambu (Yin *et al.*, 2022), sendo reconhecida por sua operação simples, ecologicamente amigável e de baixo custo (Zhu *et al.*, 2020).

O algodão (*Gossypium hirsutum* L.) é uma das culturas comerciais mais importantes do mundo, fornecendo fibra natural para a indústria têxtil, além de proteína e óleo de alta qualidade

para consumo humano (Fontes *et al.*, 2006). A salinização do solo é um dos mais graves problemas ambientais, sendo um dos principais estresses abióticos que comprometem a produtividade das culturas agrícolas (Pedrotti *et al.*, 2015). Este fenômeno representa uma ameaça significativa à produção de algodão em todo o mundo, pois embora o algodoeiro demonstre maior tolerância à salinidade em comparação com outras culturas, tais como o feijão (Meloni *et al.*, 2003), sorgo (Coelho *et al.*, 2017) e tomate (Medeiros *et al.*, 2012), seu crescimento e produtividade são significativamente prejudicados, conforme demonstrado por Jácome e colaboradores (2003). O estudo com cinco genótipos de algodão revelou que todos apresentaram sensibilidade à salinidade nas variáveis de crescimento. Os pesos da fitomassa do caule, dos ramos e das raízes foram os mais afetados, com reduções superiores a 20% já no nível de 4 dS m⁻¹.

Nesse sentido, esse trabalho se dedica ao estudo do *priming* ultrassônico em sementes de algodão e seu efeito quanto a tolerância às condições de estresse salino durante a fase de germinação dessas sementes.

2. Metodologia

2.1 Material vegetal

Sementes comerciais de algodão (espécie) lote BRS 432 B2RF, safra 19/20, obtidas por doação da Fundação de Apoio à Pesquisa e Desenvolvimento do Oeste Baiano (Fundação Bahia – Luís Eduardo Magalhães/BA) foram utilizadas para a realização dos experimentos. Essas sementes foram previamente caracterizadas quanto ao teor de água e condutividade elétrica. Todos os experimentos foram realizados no Laboratório de Bioprocessos do Centro Multidisciplinar de Luís Eduardo Magalhães da Universidade Federal do Oeste da Bahia (CMLEM-UFOB), localizado em Luís Eduardo Magalhães - BA, durante o período de setembro de 2020 a setembro de 2022.

2.2 Determinação do teor de água e condutividade elétrica

O teor de água foi determinado segundo a Regras para Análises de Sementes - RAS (Brasil, 2009). Duas repetições de 50 sementes foram pesadas e colocadas em estufa a 105 ± 3 °C por 24 h. Após esse período, foram pesadas novamente e os resultados foram expressos como a porcentagem média observada para as repetições, em base úmida (b.u). O teste de

condutividade elétrica foi realizado com quatro repetições de 50 sementes, de acordo com Nakagawa e colaboradores (1999). As sementes foram pesadas e submersas em 75 mL de água deionizada em recipientes plásticos de 100 mL. O material foi incubado a 25 °C por 24 h. Após esse período, a leitura da condutividade foi feita com um condutivímetro ION ® pHB500 calibrado. Os valores médios verificados foram expressos em $\mu\text{S cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$.

2.2 Priming ultrassônico

Para o tratamento das sementes, a irradiação ultrassônica foi produzida com um gerador de ultrassom Ultronique Ecosonics® com frequência fixa de 40kHz, temperatura ambiente e potência ultrassônica determinada, segundo Liu *et al* (2016). Foram usados três níveis de potência (20W, 40W e 60W), em um único pulso com duração de 10 segundos. Duzentas sementes foram contadas e em seguida foram colocadas em recipientes contendo 100 mL de água destilada. A micro sonda (4 mm de diâmetro) geradora de ultrassom foi imersa no líquido do recipiente, evitando contato direto com as sementes e o pulso específico aplicado. As sementes tratadas foram imediatamente direcionadas ao ensaio de germinação com e sem indução de estresse salino. Para o controle negativo, aqui denominado 0W, foi considerado todo o procedimento anteriormente citado, exceto a aplicação do pulso ultrassônico.

2.3 Teste de germinação

O teste de germinação seguiu as Regras para Análises de Sementes - RAS (Brasil, 2009). Quatro repetições de 50 sementes por tratamento foram distribuídas entre três folhas de papel Germitest umedecidas com solução teste - para induzir o estresse salino, utilizou-se uma solução de 200mM de cloreto de sódio (NaCl), enquanto que para a condição controle foi utilizada apenas água destilada- na quantidade de 2,5 vezes a massa dos papéis secos. Após dispor as sementes entre as folhas, rolos foram montados e colocados em sacos plásticos para manutenção da umidade. Os sistemas foram incubados a 25 °C durante todo o período de avaliação. Os dados obtidos foram expressos como o valor médio das repetições para o percentual de germinação final (GE).

2.4 Índice de velocidade de germinação (IVG)

A partir da instalação do teste de germinação, todas as sementes foram contadas diariamente até a germinação final durante 12 dias. Com essas contagens, determinou-se o índice de velocidade de germinação segundo a equação:

$$IVG = \Sigma\left(\frac{ni}{ti}\right)$$

em que: ni = número de sementes germinadas no tempo "i"; ti = tempo após instalação do teste.

2.5 Comprimento de plântulas

As plântulas originárias das sementes em teste foram avaliadas quanto ao desenvolvimento. Medidas de comprimento das estruturas - cotilédone, hipocótilo (parte aérea) e radícula (raiz primária) - de dez plântulas normais foram realizadas no momento da contagem final com o auxílio de um paquímetro digital Western® DC-6. Os valores foram expressos em milímetros (mm) como a média aritmética das medidas realizadas para cada repetição.

2.6 Massa fresca

Ao final do teste de germinação, dez plântulas normais foram usadas para medidas da massa fresca. As medições foram realizadas em balança analítica e os resultados apresentados como a média dos valores obtidos para cada repetição. Após a pesagem, as plântulas utilizadas foram imediatamente congeladas e mantidas sob congelamento até a realização da extração de proteínas.

2.7 Extração de proteínas solúveis totais

O extrato de proteínas solúveis totais foi obtido das plântulas resultantes do ensaio de germinação das sementes de algodão sob as diferentes condições de tratamento. Para isso, foi montado um pool composto por duas plântulas/repetição de cada tratamento. Os pools foram pesados e macerados em presença do tampão de extração (p/v) onde a cada 1g de raiz foi adicionado 2mL de tampão. O tampão de extração foi composto por fosfato de potássio 50 mM (pH 7,0), contendo ácido L-ascórbico 1 mM e ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) 0,1 mM. Em seguida, a mistura foi centrifugada a 30.000×g por 20 minutos e o sobrenadante (extrato bruto solúvel) recuperado. Todo o material foi mantido em banho de gelo para preservar a estabilidade molecular das amostras.

2.8 Quantificação de proteínas solúveis totais

A concentração de proteínas solúveis totais foi determinada pelo Método de Bradford, utilizando albumina bovina (BSA) como padrão (Bradford, 1976). Volumes de 30 µL de extrato das amostras foram misturados a 70 µL de água destilada e 2,5mL de reagente de Bradford, em tubos de ensaio. A mistura dos tubos foi agitada rapidamente usando um agitador

tipo Vortex e, em seguida, mantida em repouso por 5 minutos ao abrigo da luz. As leituras de absorbância foram realizadas a 595 nm e a concentração de proteínas solúveis totais presente no extrato bruto foi dada em ug/uL, seguindo a equação da reta ($y=0,0067x+0,7009$) com $R^2 = 0,9803$ (Anexo 1).

2.9 Atividade da Peroxidase do Guaiacol (GPX)

A atividade foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Matsuno e Uritani (1972). O tampão de reação contendo fosfato de sódio (25 mM, pH 6,8), H_2O_2 (15 mM) e Guaiacol (10 mM) foi adicionado ao extrato bruto (50ug). As leituras de absorbância foram realizadas em 470 nm a 30 °C. A variação de absorbância foi acompanhada por 60 segundos, com intervalos de 5 segundos entre as leituras. As medidas obtidas foram usadas para determinar o intervalo linear e o resultado foi expresso como $\Delta Abs_{470nm}/min/\mu g$ de proteínas solúveis totais - PST. Para cada tratamento foram utilizadas 3 repetições.

2.10 Análise estatística

Os dados foram testados quanto a normalidade e homocedasticidade, e analisados em delineamento inteiramente casualizado. As análises estatísticas foram realizadas inteiramente ao acaso com o auxílio do programa estatístico Sisvar (SISVAR[®] versão 5.3), em um fatorial 2x4 com dois tratamentos (com salinidade e controle negativo) e quatro testes de potências (0, 20, 40 e 60W) em quadruplicata experimental e as médias foram comparadas pelo Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade de erro. A análise de componentes principais (PCA) foi realizada por meio do software PAleontological STatistics 4.03 (PAST 4.03).

3. Resultados e discussões

A germinação de sementes sob condições de estresse salino é um importante indicador para determinação de variedades resistentes e o sucesso do cultivo da planta nas diferentes regiões (Jeller e Perez, 2003). O aumento da concentração salina ao redor das sementes diminui o potencial hídrico do organismo pela redução da variação do potencial hídrico do sistema, meios interior e exterior da semente. (Verslues, *et al.*, 2006). A absorção insuficiente de água pelas sementes prejudica a utilização do material de reserva do endosperma e inibe a respiração, atrasando o processo germinativo e reduzindo o vigor das sementes (Ali e Alaaeldin, 2017).

A determinação do teor de água e da condutividade elétrica em lotes de sementes colabora para a compreensão do potencial de germinação do material vegetal em ensaios experimentais e também para a determinação de condições fisiológicas das sementes (Milošević; Vujaković; Karagić, 2010.). O lote de sementes de algodão avaliado neste estudo apresentou 13% de teor de água e $745,31 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ de condutividade elétrica. Segundo De Almeida e colaboradores (2002), a umidade com que as sementes oleaginosas são colhidas nas regiões produtoras do Nordeste do Brasil é em torno de 6%, sendo a faixa de umidade ideal para a colheita entre 4-8% b.u (base úmida). Já lotes de sementes com condutividade elétrica até $110 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ estabelecem um estande de campo adequado, embora valores superiores a $90 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ indiquem pouca tolerância ao estresse hídrico ou salino (Vieira et al., 1999). Desse modo, os valores aumentados de teor de água e condutividade elétrica observados neste estudo indicam que, possivelmente, o armazenamento ao qual o material esteve sujeito afetou a condição fisiológica das sementes em questão. Tais alterações promoveram impacto moderado na taxa de germinação (Tabela 1), visto que na condição controle (sem *priming* ultrassônico e sem salinidade) o GE e o IVG do lote foram de 81% e 59,32%, respectivamente. O percentual de germinação e o índice de velocidade de germinação são fatores determinantes para a viabilidade das sementes, permitindo o estabelecimento eficaz das plantas tanto em habitats naturais quanto no campo (Reed; Bradford; Khanday, 2022).

O *priming* ultrassônico aplicado às sementes de algodão promoveu melhora do GE e do IVG do lote, tanto para a condição controle quanto para a condição teste de estresse salino (Tabela 1). Sob essa última condição, observou-se reduções estatisticamente significativas para os parâmetros de germinação ($p \leq 0,05$), sendo que o GE foi reduzido em 21% em relação ao controle e o IVG foi igual a 31,97 (Tabela 1). O tratamento ultrassônico nesta condição permitiu que o lote de sementes de algodão atingisse GE superior ao mínimo (75%) estabelecido pelos padrões para comercialização de sementes de algodão (Brasil, 2005). Também foi observado aumento de 95,55% para o IVG das sementes tratadas com *priming* 60W e germinadas em condição salina em relação às sementes não tratadas e germinadas sob a mesma condição. Já para a condição controle (sem salinidade), o *priming* elevou significativamente a porcentagem de germinação do lote, alcançando o valor de 98% na potência de 20W (Tabela 1) não havendo diferença estatística entre os potências 20 e 40W, que também apresentou um alto percentual de germinação (92,5%). Os resultados observados indicam que sementes de algodão tratadas com o *priming* ultrassônico germinam mais uniforme e rapidamente e com isso podem aproveitar de maneira mais oportuna e eficiente os

nutrientes e a água disponíveis (Bort *et al.*1998). Esse efeito se torna ainda mais evidente e relevante quando se avalia a germinação sob condição de salinidade (Tabela 1).

Tabela 1: Percentual de Germinação Final (GE) e Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de sementes de algodão sob estresse salino após *priming* ultrassônico e condições controle:

Amostras	GE (%)				IVG			
	Potência(W)							
	0	20	40	60	0	20	40	60
Controle	81 aB	98 aA	93 aA	83 aB	58 aC	79 aA	73 aA	67 aB
Teste	60 bB	77 bA	76 bA	78 aA	32 bB	60 bA	61 bA	63 bA

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

A alta salinidade do meio eleva o potencial osmótico no substrato, o que caracteriza uma condição de estresse abiótico a ser superado pela planta em desenvolvimento, uma vez que ela terá absorção de água reduzida (Dias e Blanco, 2010). Sob essa condição, o *priming* de ultrassom aplicado às sementes não promoveu alterações significativas quanto ao desenvolvimento das plântulas de algodão (Tabela 2). A redução do comprimento das partes aérea e raiz observada nesse estudo para as plântulas germinadas na condição de salinidade pode ser explicada pela acumulação excessiva de sais solúveis nas estruturas vegetais, os quais interferem nos processos fisiológicos, prejudicando assim o crescimento da planta (Oliveira; Do Nascimento; Ferreira, 2017). O aumento dos íons de sódio (Na⁺) e cloreto (Cl⁻), especificamente, é responsável pela diminuição na eficácia das atividades enzimáticas, resultando em perturbações na absorção de nitrogênio e na produção de energia (Ferreira e Borguetti, 2009).

Tabela 2: Comprimento médio de raiz (RZ), Hipocótilo (PA), Cotilédone (CO) e massa média (MA) de plântulas de algodão sob estresse salino após *priming* ultrassônico e condições controle:

Amostras	Potência (W)	RZ (mm)	PA (mm)	CO (mm)	MA (g)
Controle	0	46,55 aA	77,70 aA	12,14 aA	0,35 aA
	20	51,07 aA	70,70 aB	11,38 aA	0,24 aB
	40	48,04 aA	61,76 aB	12,01 aA	0,27 bB
	60	40,56 aB	69,12 aB	11,75 aA	0,29 bB
Teste	0	24,84 bA	37,41 bA	12,20 aA	0,32 aA
	20	27,03 aA	36,11 bA	10,86 aB	0,31 aA
	40	24,22 aA	41,23 bA	11,10 bB	0,34 aA
	60	21,36 aA	43,08 bA	10,86 bB	0,34 aA

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula entre as potências e minúscula entre as amostras (controle e teste), não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knoct, a 5% de probabilidade.

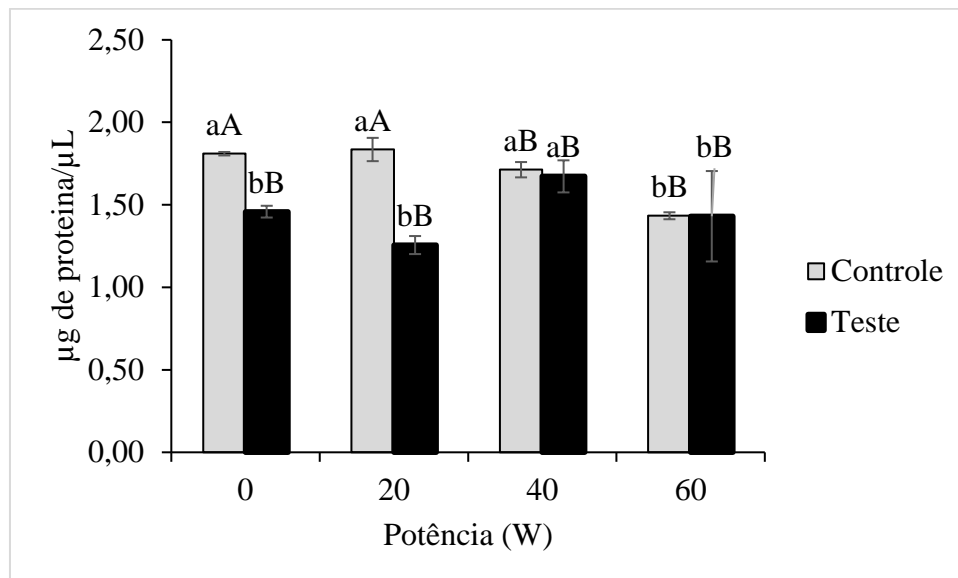
O processo de germinação requer a ativação de diferentes mecanismos bioquímicos, entre eles a degradação das proteínas armazenadas nas sementes para fornecimento dos aminoácidos necessários à biossíntese de novas proteínas (Ali e Elozeiri, 2017). O *priming*, de modo geral, induz a semente a iniciar o processo de germinação e, em seguida, interromper o processo antes que a germinação real ocorra, levando à degradação de algumas proteínas durante o processo (Lutts *et al.*, 2016). A degradação proteica é especialmente relevante durante os estágios iniciais da germinação, quando a planta ainda não pode realizar a fotossíntese e depende inteiramente de suas reservas internas para obter energia e nutrientes (Müntz, *et al.*, 2001).

Neste estudo, as sementes que receberam *priming* ultrassônico com potência de 40W e 60W e que germinaram em condição controle apresentaram redução da concentração de proteínas totais solúveis em relação aquelas que não receberam o *priming* ou que foram tratadas com a potência de 20W (Gráfico 1). Assim, a diminuição do conteúdo de proteínas solúveis nos tecidos vegetais pode ser atribuída à ação do *priming* ultrassônico sobre a atividade de enzimas hidrolíticas que atuam na degradação de diferentes biomoléculas (Xia, *et al.*, 2023).

Um contraponto foi observado para as sementes germinadas em condição salina e que receberam o *priming* de 40W e 60W, essas amostras apresentaram aumento da concentração de proteínas totais solúveis em relação aquelas que não receberam o *priming* ou que foram tratadas com a potência de 20W e que germinaram sob a mesma condição de salinidade (Figura

1). Esse aumento pode estar relacionado ao efeito inibitório dos sais absorvidos junto com a água sobre a atividade das enzimas hidrolíticas (Oliveira; Do Nascimento; Ferreira, 2017). No entanto, vale salientar que, as essas sementes apresentaram perfil de conteúdo protéico solúvel próximo ao das sementes germinadas na condição controle (Figura 1), o que pode indicar que o *priming* ultrassônico, pela manutenção de um conteúdo maior de proteínas, pode também ter induzido mecanismos bioquímicos de tolerância ao estresse salino nas sementes tratadas (Gupta e Huang, 2014).

Figura 1: Quantidade média (ug/uL) de proteínas solúveis totais de plântulas de algodão sob estresse salino após *priming* ultrassônico e condições controle:

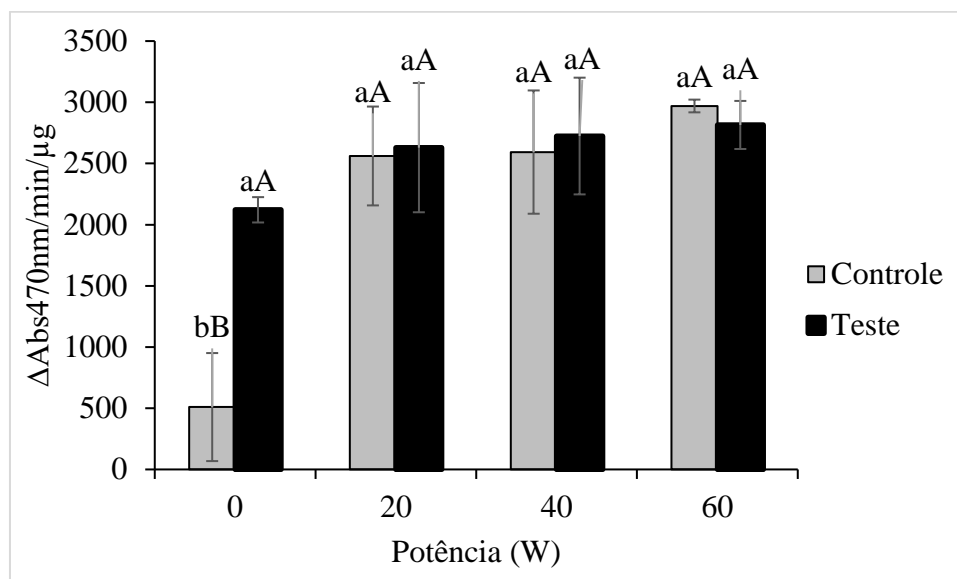


Médias seguidas de mesma letra, maiúscula entre as colunas (Controle e teste) e minúscula no eixo de potência, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Outro importante impacto da salinidade sobre as plantas diz respeito à produção de grandes quantidades de espécies reativas de oxigênio (ROS) nos tecidos vegetais (Hasanuzzaman *et al.*, 2021). Eles aumentam a permeabilidade das membranas, promovem o vazamento de eletrólitos e a peroxidação lipídica causando o dano oxidativo (Pang e Wang, 2008). A peroxidase de guaiacol (GPX) é uma enzima antioxidante crucial que participa na defesa das plantas contra o estresse oxidativo (Zhang *et al.*, 2013). O expressivo aumento da atividade GPX apresentado pelas sementes germinadas em condição salina (509 min/µg) em relação ao controle (2121 min/µg) (Figura 2) demonstra o papel essencial dessa enzima na eliminação de espécies reativas de oxigênio (ROS) produzidas em excesso na situação de estresse salino (Das e Roychoudhury, 2014). Ela catalisa a decomposição do peróxido de hidrogênio (H₂O₂) em água e oxigênio, utilizando guaiacol como doador de elétrons. Ao reduzir os níveis de H₂O₂, a GPX ajuda a proteger as células vegetais dos danos oxidativos (Orabi e

Abou-Hussein, 2019). O *priming* ultrassônico aplicado às sementes de algodão elevou a atividade da enzima GPX em todos os tratamentos testados (Figura 2).

Figura 2: Atividade média (min/μg) da enzima peroxidase do guaiacol (GPX) em plântulas de algodão sob estresse salino após *priming* ultrassônico e condições controle:



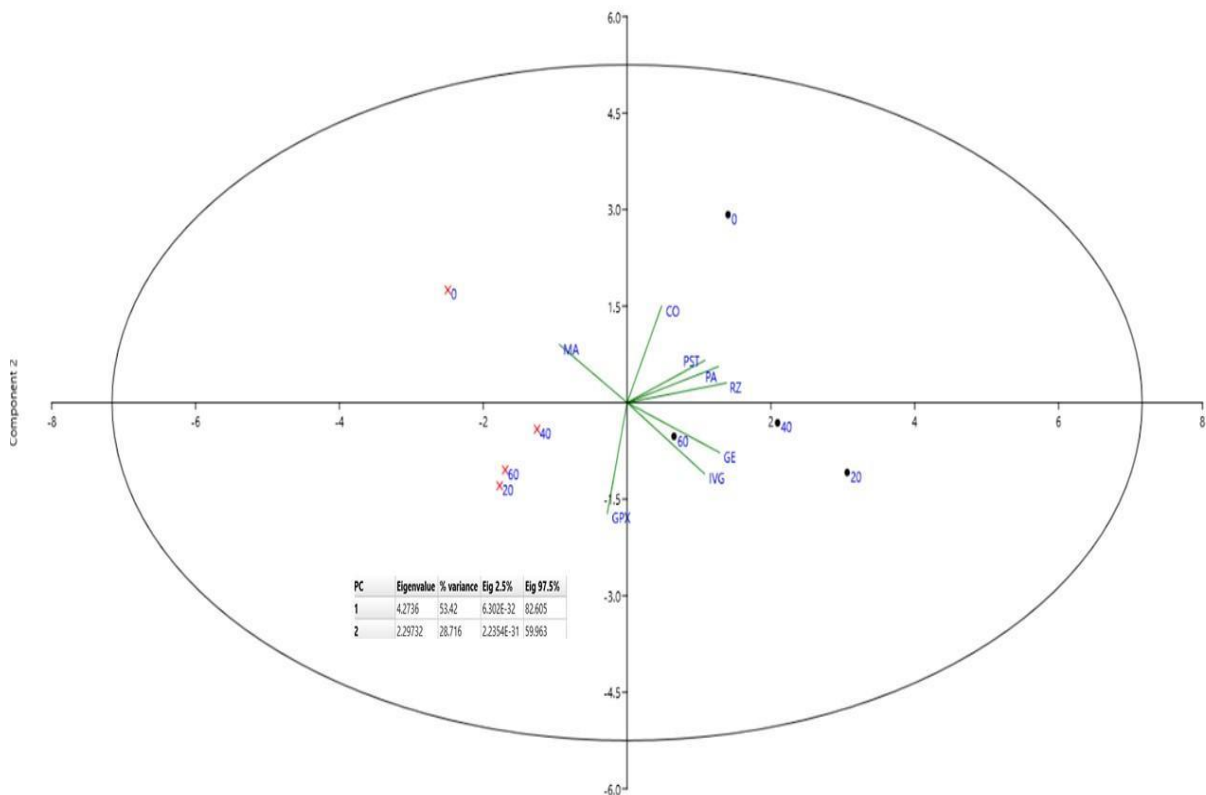
Médias seguidas de mesma letra, maiúscula no eixo de amostra (Controle e teste) e minúscula no eixo de potência, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knoct, a 5% de probabilidade.

O aumento da atividade GPX promovido pelo *priming* ultrassônico nas sementes germinadas na condição controle pode representar a geração de uma memória de proteção, que atuará preventivamente ao dano oxidativo (Yang; Zhi; Chang, 2022). A defesa prévia pela atividade da GPX em algodão pôde ser alcançada pelo *priming* ultrassônico nas diferentes potências testadas, alcançando uma atividade de aproximadamente 5,83 vezes maior que a amostra sem ultrassom na condição controle. Embora o aumento da atividade GPX para as plantas germinadas em meio salino fosse uma resposta bioquímica esperada (Pieris e Siegel, 1991), observou-se que a aplicação do *priming* ultrassônico às sementes promoveu o aumento da atividade dessa enzima em relação ao material não tratado (Figura 2). Assim, para a condição de salinidade, o *priming* ultrassônico pode potencializar a resposta antioxidante da planta, levando ao melhor desempenho durante o desenvolvimento pela maior habilidade em degradar substâncias tóxicas como radicais livres (peróxidos), fenóis e outros liberados em condições de estresse (Lima, 1994).

Com a realização de todos os testes, montou-se o arranjo para a PCA. Nessa análise foi considerado todos dados obtidos para a condição teste e salina e observou-se com o plot como

as potências de ultrassom se agrupam e quais as variáveis que mais se destacaram para o arranjo obtido (Figura 3).

Figura 3: Análise de componentes principais biplot mostrando a projeção das variáveis nos dois primeiros componentes principais.



Legenda: CO - cotilédone; PST - proteínas solúveis totais; PA - hipocótilo; RZ - raiz; GE - germinação; IVG - índice de velocidade de germinação; MA - massa fresca; GPX - peroxidase do guaiacol. Onde os pontos em preto representam a condição controle e os X representam a condição salina. A elipse indica a área onde 95% dos dados estão localizados, mostrando a variabilidade e a dispersão dos dados em torno da média.

Na análise realizada verificou-se que a soma das duas primeiras componentes principais da análise dos componentes principais, explicaram 82% da variação. A análise da distribuição dos tratamentos com e sem sal no gráfico de PCA revela uma distinção clara na resposta das plantas sob diferentes condições, destacando a influência da salinidade no comportamento das mesmas. Os tratamentos com sal, representados em vermelho, estão fortemente agrupados no quadrante inferior esquerdo do gráfico, sugerindo uma resposta homogênea das plantas, independentemente da intensidade do tratamento (20, 40 e 60W). Esse agrupamento indica que a salinidade atua como um estresse dominante, uniformizando as respostas das plantas e possivelmente ativando mecanismos de defesa que reduzem a variabilidade entre os tratamentos. Por outro lado, os tratamentos sem sal, representados em preto, mostram maior

dispersão, especialmente os tratamentos de 0 e 20W, sugerindo uma variabilidade mais ampla nas respostas das plantas nessas condições. As variáveis como cotilédone, hipocótilo, proteínas solúveis, raiz, germinação e índice de velocidade de germinação estão mais fortemente associadas aos tratamentos sem sal, particularmente em níveis mais elevados de potência, com destaque para 40W e 60W, que parecem induzir respostas mais significativas. Isso sugere que as plantas respondem de maneira mais intensa a essas variáveis em condições normais de crescimento, especialmente sob alta potência. Por outro lado, as potências obtiveram correlação maior com a variável GPX na condição salina, o que indica que o *priming* ultrassônico pode estar induzindo a atividade da GPX nas plantas, possivelmente como um mecanismo de defesa contra o estresse oxidativo causado pelo sal.

4. Conclusão

O *priming* ultrassônico aplicado às sementes de algodão promoveu uma melhora significativa na germinação e no índice de velocidade de germinação (IVG) tanto em condições de controle quanto sob estresse salino. As sementes tratadas com *priming* apresentaram uma maior tolerância ao estresse salino, refletida em uma maior taxa de germinação e uma melhor resposta antioxidante. O aumento na atividade da enzima GPX nas sementes tratadas indicou uma capacidade aprimorada de neutralizar espécies reativas de oxigênio (ROS), que são geradas em excesso sob condições de salinidade.

A melhor potência para o *priming* ultrassônico em sementes de algodão variou conforme a condição. Em condições de controle, a potência de 20W e 40W foi suficiente para alcançar uma alta taxa de germinação (98% e 92,5%). Já em condições de estresse salino, a potência de 40 e 60W mostraram-se mais eficazes, levando em consideração o conjunto de todas as variáveis analisadas, promovendo um aumento significativo no índice de velocidade de germinação (IVG) e na taxa de germinação, além de melhorar a atividade antioxidante. Na análise de componente principal, foi demonstrado que existe uma correlação entre a atividade da GPX e tratamento ultrassônico demonstrando seu efeito sob as moléculas biológicas.

Referências

ALI, Awatif S.; ELOZEIRI, Alaaeldin A. Metabolic processes during seed germination. **Advances in seed biology**, v. 2017, p. 141-166, 2017.

BORT, Jordi et al. Relationships between early vigour, grain yield, leaf structure and stable isotope composition in field grown barley. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 36, n. 12, p. 889-897, 1998.

BRADFORD, Marion M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

BRASIL. Instrução normativa nº 25, de 16 de dezembro de 2005: Padrões para produção e comercialização de sementes de algodão. Diário Oficial da União, Brasília, n. 243, Seção 1, p. 2, 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Secretaria de Defesa Agropecuária – Mapa/ACS, 2009. 395p

CIPOLLINI, Don; PURRINGTON, Colin B.; BERGELSON, Joy. Costs of induced responses in plants. **Basic and Applied ecology**, v. 4, n. 1, p. 79-89, 2003.

COELHO, DANIELA SIQUEIRA et al. Acúmulo e distribuição de nutrientes em genótipos de sorgo forrageiro sob salinidade. 2017.

CONRATH, Uwe et al. Priming for enhanced defense. **Annual review of phytopathology**, v. 53, p. 97-119, 2015.

CONRATH, Uwe et al. Priming: getting ready for battle. **Molecular plant-microbe interactions**, v. 19, n. 10, p. 1062-1071, 2006.

DAS, Kaushik; ROYCHOUDHURY, Aryadeep. 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.

DE AC ALMEIDA, Francisco et al. Crioconservação de sementes de mamona das variedades nordestina e pernambucana1. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 6, n. 2, p. 295-302, 2002.

DIAS, N. da S.; BLANCO, Flávio F. Efeitos dos sais no solo e na planta. 2010.

FERREIRA, Alfredo Gui; BORGUETTI, Fabian. **Germinação: do básico ao aplicado**. Artmed Editora, 2009.

FONTES, Eliana MG et al. The cotton agricultural context in Brazil. In: **Environmental risk assessment of genetically modified organisms. Volume 2: methodologies for assessing Bt cotton in Brazil**. Wallingford UK: CABI Publishing, 2006. p. 21-66.

FROST, Christopher J. et al. Plant defense priming against herbivores: getting ready for a different battle. **Plant physiology**, v. 146, n. 3, p. 818-824, 2008.

GHANBARI, Fatemeh. The effect of ultrasound on biological changes of medicinal plants. **Apex**, v. 9, n. 22, p. 71-81.

GUPTA, Bhaskar; HUANG, Bingru. Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization. **International journal of genomics**, v. 2014, n. 1, p. 701596, 2014.

HASANUZZAMAN, Mirza et al. Regulation of reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under salinity. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 17, p. 9326, 2021.

HOSSAIN, Mohammad Anwar; BURRITT, David J.; FUJITA, Masayuki. Cross-Stress Tolerance in Plants: Molecular Mechanisms and Possible Involvement of Reactive Oxygen Species and Methylglyoxal Detoxification Systems. **Abiotic stress response in plants**, p. 327-380, 2016.

JÁCOME, Aleksandra Gomes et al. Crescimento de genótipos de algodoeiro em função da salinidade da água de irrigação. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 25, n. 2, p. 305-313, 2003.

JELLER, Helma; PEREZ, Sonia Cristina Juliano Gualtieri de Andrade. Condicionamento osmótico na germinação de sementes de cássia-do-nordeste sob estresse hídrico, térmico e salino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, p. 1025-1034, 2003.

KALITA, Dipsikha et al. Sono-hydro priming process (ultrasound modulated hydration): Modelling hydration kinetic during paddy germination. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 70, p. 105321, 2021.

LAHIJANIAN, Soheila; NAZARI, Meisam. Increasing germination speed of common bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds by ultrasound treatments. **Seed technology**, p. 49-55, 2017.

LI, MeiJuan et al. Effect of ultrasonic on rice seeds germination under salt stress. **Southwest China Journal of Agricultural Sciences**, v. 27, n. 6, p. 2440-2443, 2014.

LIMA, GPP. **Efeito do cálcio sobre o teor de poliaminas e atividade da peroxidase e redutase de nitrato em calos de arroz (Oryza sativa L. cv. IAC 4440).** Botucatu, 1994. Tese de Doutorado. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas). Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista.

LIU, Juan et al. Effects of ultrasonication on increased germination and improved seedling growth of aged grass seeds of tall fescue and Russian wildrye. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 22403, 2016.

LÓPEZ-RIBERA, Ignacio; VICIENT, Carlos M. Use of ultrasonication to increase germination rates of Arabidopsis seeds. **Plant Methods**, v. 13, p. 1-6, 2017.

LUTTS, Stanley et al. Seed priming: new comprehensive approaches for an old empirical technique. **New challenges in seed biology-basic and translational research driving seed technology**, v. 46, 2016.

MASON, Timothy J.; PETERS, Dietmar. **Practical sonochemistry: Power ultrasound uses and applications.** Woodhead Publishing, 2002.

MATSUNO, Hiroshi; URITANI, Ikuzo. Physiological behavior of peroxidase isozymes in sweet potato root tissue injured by cutting or with black rot. **Plant and Cell Physiology**, v. 13, n. 6, p. 1091-1101, 1972.

MEDEIROS, Pedro RF et al. Tolerância da cultura do tomate à salinidade do solo em ambiente protegido. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 16, p. 51-55, 2012.

MELONI, Diego A. et al. Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. **Environmental and experimental botany**, v. 49, n. 1, p. 69-76, 2003.

MILOŠEVIĆ, Mirjana; VUJAKOVIĆ, Milka; KARAGIĆ, Đura. Vigour tests as indicators of seed viability. **Genetika**, v. 42, n. 1, p. 103-118, 2010.

MÜNTZ, K. et al. Stored proteinases and the initiation of storage protein mobilization in seeds during germination and seedling growth. **Journal of Experimental Botany**, v. 52, n. 362, p. 1741-1752, 2001.

NAKAGAWA, J. et al. Vigor de sementes: conceitos e testes. **Vigor de Sementes: Conceitos e Testes.** ABRATES, Londrina, p. 1-24, 1999.

OLIVEIRA, Hallyson et al. Germinação de sementes e estabelecimento de plântulas de algodão submetidas a diferentes concentrações de NaCl e PEG 6000. **Revista Espacios**, v. 38, n. 47, p. 13, 2017.

ORABI, Salwa A.; ABOU-HUSSEIN, S. D. Antioxidant defense mechanisms enhance oxidative stress tolerance in plants. A review. **Curr. Sci. Int.**, v. 8, n. 3, p. 565-576, 2019.

PANG, Cai-Hong; WANG, Bao-Shan. Oxidative stress and salt tolerance in plants. In: **Progress in botany**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2008. p. 231-245.

PEDROTTI, Alceu et al. Causas e consequências do processo de salinização dos solos. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 19, n. 2, p. 1308-1324, 2015.

PIERIS, B.; SIEGEL, Z.; SIEGEL, S. M. The relation of electrolyte-induced peroxidase changes in salt-sensitive and salt-tolerance rice varieties to changes in other physiological parameters. **Biochemical, molecular, and physiological aspects of plant peroxidases**. University of Geneva, p. 425-432, 1991.

REED, Reagan C.; BRADFORD, Kent J.; KHANDAY, Imtiyaz. Seed germination and vigor: ensuring crop sustainability in a changing climate. **Heredity**, v. 128, n. 6, p. 450-459, 2022.

SANTOS, I. O. et al. Effect of Ultrasound on Sunflower Seeds *Helianthus Annuus* L. Planted on Organic Compound and Clay Substrate. In: **Latin American Conference on Biomedical Engineering**. Cham: Springer Nature Switzerland, 2022. p. 501-510.

TANOOU, Georgia; FOTOPOULOS, Vasileios; MOLASSIOTIS, Athanassios. Priming against environmental challenges and proteomics in plants: update and agricultural perspectives. **Frontiers in Plant Science**, v. 3, p. 31211, 2012.

VAN HULTEN, Marieke et al. Costs and benefits of priming for defense in *Arabidopsis*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 103, n. 14, p. 5602-5607, 2006.

VERSLUES, Paul E. et al. Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. **The Plant Journal**, v. 45, n. 4, p. 523-539, 2006.

VIEIRA, R. D. et al. Electrical conductivity and field performance of soybean seeds. **Seed Technology**, p. 15-24, 1999.

WANG, Jianfei; MA, Hui; WANG, Shunmin. Application of ultrasound, microwaves, and magnetic fields techniques in the germination of cereals. **Food Science and Technology Research**, v. 25, n. 4, p. 489-497, 2019.

Xia, J., Hao, X., Wang, T. *et al.* Seed Priming with Gibberellin Regulates the Germination of Cotton Seeds Under Low-Temperature Conditions. *J Plant Growth Regul* **42**, 319–334 (2023).

YANG, Zige; ZHI, Pengfei; CHANG, Cheng. Priming seeds for the future: Plant immune memory and application in crop protection. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 961840, 2022.

YIN, Juan *et al.* Effects of Ultrasound on Seed Germination and Seedling Physiological Characteristics of *Echinacea purpurea* under Salt Stress. **Journal of Henan Agricultural Sciences**, v. 51, n. 8, p. 117, 2022.

ZHANG, Xiang-Qian *et al.* Effects of mixed salt stress on germination percentage and protection system of oat seedling. **Advance Journal of Food Science and Technology**, v. 5, n. 2, p. 197-205, 2013.

ZHU, Jian-feng *et al.* Research advances in salt and alkali tolerance improvement technology at the seed germination stage. **Biotechnology Bulletin**, v. 36, n. 2, p. 158, 2020.

ZHU, Jian-Kang. Plant salt tolerance. **Trends in plant science**, v. 6, n. 2, p. 66-71, 2001.

Capítulo 2: Efeitos do *priming* ultrassônico na germinação de sementes de sorgo e respostas bioquímicas ao estresse salino induzido por NaCl

Resumo

A germinação rápida e o crescimento vigoroso das mudas são cruciais para o sucesso agrícola, especialmente em regiões áridas com escassez de água. A salinidade é um fator crítico que compromete processos vitais das plantas, como fotossíntese e metabolismo. Técnicas de condicionamento de sementes, como o *priming*, ajudam a melhorar a tolerância ao estresse abiótico através da memória de estresse. Este estudo investigou os efeitos do *priming* ultrassônico na germinação de sementes de sorgo sob estresse salino induzido por NaCl, avaliando parâmetros fisiológicos e bioquímicos. A metodologia incluiu o uso de sementes comerciais de sorgo, análise de teor de água e condutividade elétrica, e tratamento com ultrassom em diferentes potências (0W, 20W, 40W, 60W). Testes de germinação e parâmetros como comprimento de plântulas e massa fresca foram avaliados, assim como o conteúdo de proteínas solúveis e atividade da peroxidase do guaiacol (GPX). Os resultados mostraram que o *priming* ultrassônico aumentou a taxa de germinação e o índice de velocidade, principalmente com 40W. Este tratamento também melhorou o comprimento da raiz e a massa fresca das plântulas, além de aumentar o conteúdo de proteínas solúveis e a atividade de GPX, sugerindo uma melhor adaptação ao estresse salino. A análise de PCA revelou que os tratamentos com 60W e 40W se destacaram, especialmente sob condições de estresse, mostrando respostas fisiológicas e bioquímicas diferenciadas.

Palavras-Chave: ultrassom; salinidade; *Sorghum bicolor* ; *priming*;

Abstract

Rapid germination and vigorous seedling growth are crucial for agricultural success, especially in arid regions with water scarcity. Salinity is a critical factor that compromises vital plant processes such as photosynthesis and metabolism. Seed conditioning techniques, such as *priming*, help improve abiotic stress tolerance through stress memory. This study investigated the effects of ultrasonic priming on sorghum seed germination under NaCl-induced salinity stress, evaluating physiological and biochemical parameters. The methodology included using commercial sorghum seeds, analyzing moisture content and electrical conductivity, and treating with ultrasound at different powers (0W, 20W, 40W, 60W). Germination tests and parameters such as seedling length and fresh weight were assessed, as well as soluble protein content and guaiacol peroxidase (GPX) activity. The results showed that ultrasonic priming increased the germination rate and speed index, particularly at 40W. This treatment also improved root length and fresh weight of seedlings, as well as soluble protein content and GPX activity, suggesting better adaptation to salinity stress. PCA analysis revealed that treatments with 60W and 40W stood out, especially under stress conditions, showing differentiated physiological and biochemical responses.

Keywords: ultrasound; salinity; *Sorghum bicolor*; priming.

1. Introdução

A rápida germinação e o crescimento vigoroso das mudas são essenciais para o estabelecimento bem sucedido das plantas, especialmente em regiões áridas, onde a escassez de água pode comprometer a produção agrícola (Harris *et al.*, 1999). Além disso, a salinidade é um fator crítico que afeta o desenvolvimento das plantas, impactando significativamente processos vitais como a fotossíntese, o metabolismo energético, e a síntese de proteínas e lipídios (Mahajan e Tuteja, 2005; Aftab, 2021; Muhammad *et al.*, 2021).

Diversas técnicas de condicionamento de sementes, como o *priming*, podem induzir níveis controlados de estresse abiótico, fortalecendo a tolerância ao estresse em sementes germinadas e em fases subsequentes de crescimento, por meio da "memória de estresse" (Alfalahi *et al.*, 2022). Em particular, a estimulação ultrassônica tem se mostrado eficaz em aumentar a cavitação do tegumento, elevando a permeabilidade e, conseqüentemente, acelerando ou melhorando a taxa de germinação em sementes deterioradas (Nogueira *et al.*, 2024).

O ultrassom, uma técnica que aplica frequências sonoras inaudíveis (20–100 kHz), tem diversas aplicações na indústria química e agrícola, demonstrando potencial na melhoria da germinação de sementes (Gallego-Juárez, 2017). Estudos indicam que a aplicação de ultrassom em diferentes espécies, como cenoura, rabanete, milho, cevada e arroz, pode melhorar a germinação dependendo da frequência e da duração da exposição (Aladjadjiyan, 2002; Shimomura, 1990; Gong *et al.*, 2024; Miano *et al.*, 2015; Huang *et al.*, 2024).

O sorgo, um cereal de grande importância em regiões semiáridas, pertence à família Poaceae e é originário da África (Dos Santos *et al.*, 2015). Atualmente, é o quinto cereal mais cultivado no mundo, e o Brasil se destaca como o nono maior produtor, com uma produção de 4,76 milhões de toneladas na safra 2023/2024 (CONAB, 2024). Embora o sorgo seja conhecido por sua capacidade de resistir ao déficit hídrico, o sucesso de sua implementação também depende da sua habilidade de prosperar em solos com elevada concentração de sais dissolvidos. Nesse contexto, este estudo investiga os efeitos do *priming* ultrassônico na germinação de sementes de sorgo sob estresse salino induzido por NaCl, por meio de análises fisiológicas e bioquímicas.

2. Metodologia

2.1 Material vegetal

O experimento foi conduzido no Laboratório de bioprocessos, situado na Universidade Federal do Oeste da Bahia (UFOB), no município de Luís Eduardo Magalhães (BA). Foram utilizadas sementes comerciais de sorgo forrageiro safra 19/20 obtidas por doação da Fundação de Apoio à Pesquisa e Desenvolvimento do Oeste Baiano (Fundação Bahia – Luís Eduardo Magalhães/BA), onde foram previamente caracterizadas quanto ao teor de água e condutividade elétrica.

2.2 Determinação do teor de água e condutividade elétrica

O teor de água foi medido conforme as Regras para Análises de Sementes (RAS, Brasil, 2009). Foram pesadas e secas em estufa a 105 ± 3 °C por 24 h duas repetições de 50 sementes. A porcentagem média do teor de água foi calculada em base úmida (Equação 1). O teste de condutividade elétrica seguiu Nakagawa *et al.* (1999), com quatro repetições de 50 sementes. Estas foram pesadas, imersas em 75 mL de água deionizada em recipientes de 100 mL e incubadas a 25 °C por 24 h. A condutividade foi medida com um condutivímetro ION ® pH500 calibrado e os valores médios foram expressos em $\mu\text{S cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$ (Equação 2).

$$\% \text{ de umidade} = \frac{100 (P-p)}{(P-t)} \quad \text{Eq.1}$$

Onde: P = peso inicial; p = peso final; t = tara

$$CE = \frac{L - B}{M} \quad \text{Eq.2}$$

Onde, L é a leitura da amostra no condutivímetro, em $\mu\text{S.cm}^{-1}$; B = leitura do “branco”, água deionizada, em $\mu\text{S.cm}^{-1}$; M = massa da amostra em gramas.

2.3 Tratamento *priming* ultrassônico

A irradiação ultrassônica foi produzida com um gerador de ultrassom (Ultronique Ecosonics®) com frequência fixa de 40 kHz, temperatura ambiente e potência ultrassônica determinada, segundo Liu *et al* (2016). Foram usados três níveis de potência (20W, 40W e 60W), sendo cada potência representada por um tratamento, com tempo de 10 segundos aplicados em um único pulso. Duzentas sementes foram contadas e posteriormente foram colocadas em recipientes contendo 100 mL de água destilada. A micro sonda (4 mm de diâmetro) geradora de ultrassom foi imersa no líquido do recipiente, evitando o contato direto com as sementes. Para o controle negativo, aqui denominado 0W, foi considerado todo o procedimento anteriormente citado, exceto a aplicação do pulso ultrassônico.

2.4 Teste de germinação

O teste de germinação foi realizado conforme as Regras para Análises de Sementes-RAS (Brasil, 2009), conduzido com cinco amostras de 50 sementes, um total de 200 sementes para cada tratamento. As sementes foram semeadas entre três folhas de papel Germitest umedecidas com a solução de 200mM de cloreto de sódio (NaCl) para indução de estresse salino, sendo utilizada a quantidade de 2,5 vezes a massa de todos os papéis secos, aferida em balança de precisão. Após a disposição das sementes sobre as duas folhas, as sementes foram cobertas com outra folha de papel Germitest. A partir desse material foram feitos rolos, os mesmos foram colocados em sacos plásticos para manter a umidade e então incubados a 25 ° C. O percentual de germinação e contagem de plântulas normais foram obtidos segundo as RAS (BRASIL, 2009) e apresentados como a média das repetições.

2.5 Índice de velocidade de germinação (IVG):

A partir da instalação do teste de germinação, todas as sementes avaliadas no estudo, foram contadas até a germinação final durante 10 dias. Com as contagens, determinou-se o índice de velocidade de germinação para todos os tratamentos (Equação 3).

$$IVG = \Sigma \left(\frac{ni}{ti} \right) \quad \text{Eq.3}$$

Em que: ni = número de sementes que germinaram no tempo “i”; ti = tempo após instalação do teste; Unidade: adimensional.

2.6 Comprimento de plântulas

As plântulas originárias das sementes tratadas com *priming* ultrassônico e não tratadas, submetidas ao estresse salino e controle, foram avaliadas quanto ao crescimento. Medidas de comprimento das estruturas - cotilédone, hipocótilo (parte aérea) e da radícula (raiz primária), de dez plântulas normais foram realizadas no momento da contagem final com o auxílio de um paquímetro digital Western® DC-6. Os valores foram expressos em milímetros (mm) como a média aritmética das 10 medidas realizadas para cada repetição dos lotes de sementes selecionadas.

2.7 Massa fresca

Dez plântulas normais obtidas ao final do teste de germinação foram usadas para medidas da massa fresca. As medidas foram realizadas em balança analítica e os resultados foram apresentados como a média das 10 plântulas em 4 repetições. Após a pesagem as plântulas foram imediatamente congeladas e armazenadas. Esse material foi usado para a extração de proteínas solúveis e análise da atividade enzimática – peroxidase do guaiacol (GPX).

2.8 Extração de proteínas solúveis totais

O extrato de proteínas solúveis totais foi obtido das plântulas resultantes do ensaio de germinação. Para isso, foi montado um pool composto por duas plântulas/repetição de cada tratamento. Os pools foram pesados e macerados em presença do tampão de extração (p/v) onde a cada 1g de raiz foi adicionado 2mL de tampão. O tampão de extração foi composto por fosfato de potássio 50 mM (pH 7,0), contendo ácido L-ascórbico 1 mM e ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) 0,1 mM. Em seguida, a mistura foi centrifugada a 30.000×g por 20 minutos e o sobrenadante (extrato bruto solúvel) recuperado. Todo o material foi mantido em banho de gelo para preservar a estabilidade molecular das amostras.

2.9 Quantificação de proteínas solúveis totais

A concentração de proteínas solúveis totais foi determinada pelo Método de Bradford utilizando a albumina bovina (BSA) como padrão (Bradford, 1976). Volumes de 30 µL de extrato das amostras foram misturados a 70 µL de água destilada e 2,5mL de reagente de Bradford, em tubos de ensaio. Os tubos foram agitados em um agitador tipo Vortex e ficaram em repouso por 5 minutos ao abrigo da luz. O espectrofotômetro foi calibrado utilizando água

destilada e as leituras foram feitas na absorvância de 595 nm. A concentração de proteínas solúveis totais (ug/ul) foi calculada pela equação da reta ($y=0,0067x+0,7009$) com $R^2 = 0,9803$.

2.10 Atividade da Peroxidase do Guaiacol (GPX)

A atividade foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Matsuno e Uritani (1972). O tampão de reação contendo fosfato de sódio (25 mM pH 6,8), H_2O_2 (15 mM) e Guaiacol (10 mM) foi adicionado ao extrato bruto (50ug). As leituras de absorvância foram realizadas em 470 nm a 30 °C. A variação de absorvância foi acompanhada por 60 segundos com intervalos de 5 segundos entre as leituras. As medidas obtidas foram usadas para determinação do intervalo linear e o resultado foi expresso como $\Delta Abs_{470nm}/min/\mu g$ de PST.

2.11 Análise estatística

Os dados foram testados quanto a normalidade e homocedasticidade, e analisados em delineamento inteiramente casualizado. As análises estatísticas foram realizadas inteiramente ao acaso com o auxílio do programa estatístico Sisvar (SISVAR[®] versão 5.3), em um fatorial 2x4 com dois tratamentos (com salinidade e controle negativo) e quatro testes de potências (0, 20, 40 e 60W) em quadruplicata experimental. A análise de componentes principais (PCA) foi realizada por meio do software PAleontological STatistics 4.03 (PAST 4.03).

3. Resultados e discussões

Os testes de vigor estão ganhando crescente importância na avaliação da qualidade fisiológica das sementes, tanto para uso comercial na agricultura quanto para a recuperação de áreas degradadas (Syed e Rizvi, 2021). Um dos parâmetros avaliados nestes testes é o teor de umidade das sementes, que influencia diretamente diversos aspectos de sua qualidade fisiológica. Por conseguinte, a determinação deste teor é crucial para a avaliação da qualidade dos lotes de sementes (Carvalho e Nakagawa, 1983). Aspectos como o processo de maturação das sementes, sua capacidade de armazenamento, a necessidade de pré-tratamentos para os testes de germinação e o momento ideal para a colheita estão estreitamente ligados ao teor de umidade (Grabe, 1989).

O teste de condutividade elétrica se baseia no fato de que as sementes, ao serem embebidas em água, liberam íons, açúcares e metabólitos, especialmente no início do período de embebição, devido à alteração da integridade das membranas celulares (Gonzales; Paula; Valeri, 2009). No entanto, com o passar do tempo de embebição, suas estruturas se

reorganizam, retornando a uma configuração estável. Em sementes deterioradas, esse processo ou a velocidade de reorganização estão ausentes ou são ineficientes (Bewley e Black, 1994), resultando na liberação de uma quantidade maior de eletrólitos. No presente estudo, as sementes de sorgo apresentaram um teor de água de 16% e uma condutividade elétrica de $137,24 \mu\text{S cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$, respectivamente.

A qualidade fisiológica das sementes diz respeito à sua capacidade de expressar todo o seu potencial e realizar suas funções vitais através da germinação e do vigor (Popinigis, 1985). É fundamental destacar que a máxima qualidade fisiológica das sementes é atingida durante o estágio de maturidade fisiológica da cultura (Marcos-Filho, 2015). No caso específico do sorgo, esse estágio de maturação é alcançado quando o teor de água das sementes está entre 25% e 35% (Vanderlip e Reeves, 1972) indicando que as sementes utilizadas neste estudo possuíam baixa qualidade fisiológica em termos de base úmida. Valores de condutividade elétrica superiores a $110 \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ indicam baixa tolerância ao estresse hídrico ou salino e não estabelecem estande adequado (Vieira et al., 1999). Como as sementes avaliadas neste estudo apresentaram valores acima desse limite, elas se caracterizam por uma baixa tolerância ao estresse salino.

Para que as sementes germinem, é essencial utilizar as reservas armazenadas nelas. Entretanto, a salinidade dificulta a absorção de água pelas mudas (Rabbani *et al.*, 2013). Isso resulta na inibição da hidrólise das reservas de sementes, o que por sua vez atrasa e reduz a taxa de germinação das sementes (Hakim *et al.*, 2010.). A concentração salina empregada resultou em uma redução significativa tanto na germinação das sementes de sorgo quanto no índice de velocidade de germinação, conforme evidenciado na Tabela 1.

Tabela 1: Germinação final e IVG de um lote comercial de sorgo tratadas com *priming* ultrassônico sob estresse salino:

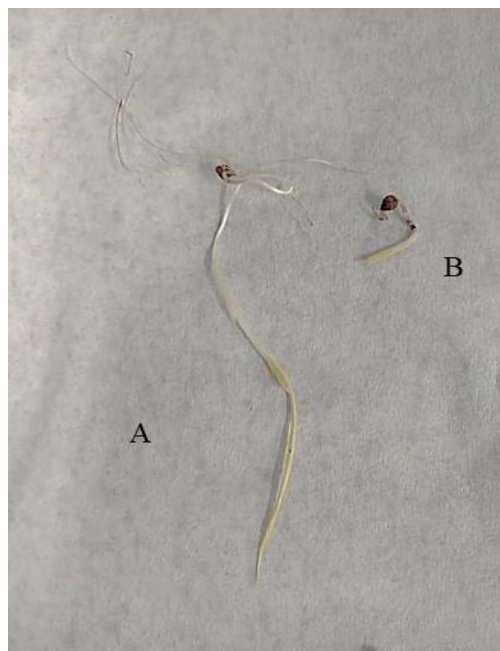
Amostras	GE (%)				IVG			
	0	20	40	60	0	20	40	60
Controle	87 aA	77 aA	88 aA	84 aA	47,38 aB	55,01 aA	62,51 aA	59,65 aA
Salinidade	75 bA	70 aA	82 aA	81 aA	38,02 bB	50 aA	58,23 aA	57,87 aA

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

A aplicação do ultrassom nas potências testadas não promoveu aumentos significativos ($p \leq 0,05$) quanto a taxa de germinação, tanto na condição de estresse quanto na ausência dele, porém foi capaz de elevar significativamente o índice de velocidade de germinação. Esse aumento foi observado em ambos os tratamentos (com e sem estresse). Os principais efeitos do ultrassom incluem impactos mecânicos, como a cavitação acústica, e a ruptura das paredes das células vegetais, levando a um aumento na absorção de água (Rajewska e Mierzwa, 2017). A cavitação, durante o processo de sonicação, foi sugerida como outra possível causa de microfissuras no tegumento da semente, o que pode ter contribuído para a melhoria da absorção de umidade e, conseqüentemente, para o aumento da velocidade de germinação nas sementes (Yaldagard; Mortazavi; Tabatabaie, 2008).

O acúmulo de íons é responsável pela toxicidade nas plantas. Além disso, a diferença de potencial hídrico entre o ambiente externo e as sementes, caracterizado pela menor disponibilidade de água, suprime o desenvolvimento das raízes principais (Delachiave e DePinho, 2003). O ultrassom afetou significativamente a maioria das características estudadas das plântulas de sorgo em comparação com os controles (Figura 1). Assim, o efeito positivo do condicionamento osmótico via ultrassom pode ser facilmente detectado.

Figura 1: Plântula de sorgo após *priming* sob estresse salino



Legenda: A- plântula tratada sob estresse salino; B- plântula não tratada sob estresse salino.

Nas avaliações realizadas, o estresse salino causou redução do desenvolvimento da raiz, hipocótilo e massa fresca das plântulas, enquanto houve um aumento na condição de estresse para o cotilédone (Tabela 2).

Tabela 2: Comprimento médio (mm) e massa fresca (g) de plântulas germinadas sob estresse salino pós *priming* ultrassônico

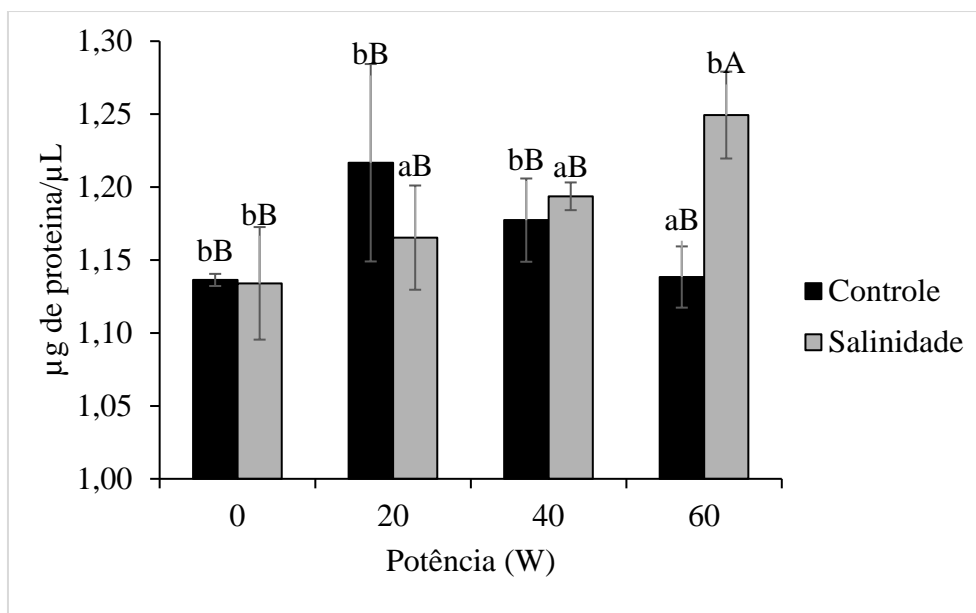
Amostra	Potência	Hipocótilo		Cotilédone	
	(W)	Raiz (mm)	(mm)	(mm)	Massa (g)
Controle	0	135,6 aA	91,1 aA	4,6 aA	0,1 aA
	20	130,5 aA	79,7 aB	4,6 aA	0,1 aA
	40	121,1 aA	77,7 aB	4,3 aB	0,1 aA
	60	149,2 aA	95,4 aA	4,3 bB	0,1 aA
Salinidade	0	60,7 bB	21,6 bA	4,7 aA	0,1 bA
	20	82,7 bA	17,3 bA	4,5 aA	0,1 aA
	40	90,6 bA	19,8 bA	4,4 aA	0,1 aA
	60	90,4 bA	17,6 bA	4,5 aA	0,1 bA

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula entre as potências e minúscula entre as amostras não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knoct, a 5% de probabilidade.

O *priming* promoveu um aumento apenas no comprimento da raiz em todas as potências testadas. De acordo com estudos, doses reduzidas de ultrassom podem acelerar a divisão celular em certos órgãos vegetais, enquanto doses mais elevadas podem inibir essa divisão (Ran; Yang; Cao, 2015.). Além disso, Machikowa e colaboradores (2013) observaram variações na germinação, no índice de vigor das sementes e nos comprimentos das raízes e partes aéreas das mudas tratadas com ultrassom, dependendo da intensidade desse tratamento.

O tratamento ultrassônico aumentou o conteúdo de proteínas solúveis totais na potência de 60W na condição de estresse (Figura 2).

Figura 2: Quantificação de proteínas solúveis totais em plântulas de sorgo submetidas a estresse salino após *priming* ultrassônico:



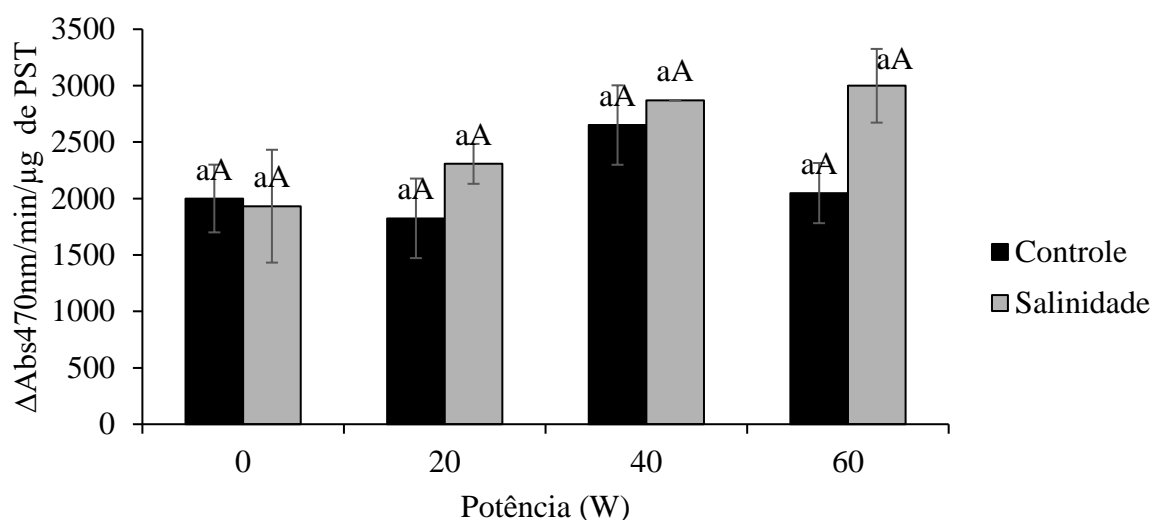
Médias seguidas de mesma letra, minúscula entre as colunas (Controle e salinidade) e maiúscula no eixo de potência (W), não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knoct, a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrão.

Sob estresse salino, as enzimas amilase e protease tornam-se mais ativas, o que poderia explicar o aumento no teor de proteínas nas plântulas tratadas (Ashraf *et al.*, 2002). A osmorregulação se manifesta através do aumento do conteúdo de solutos orgânicos nas células, como carboidratos solúveis e proteínas solúveis, o que resulta na diminuição do potencial hídrico celular (Ahanger *et al.*, 2013). Em resposta ao estresse salino, as plantas aumentam a concentração de solutos osmoprotetores, como prolina e carboidratos solúveis (Chelli-Chaabouni *et al.*, 2010). Um dos principais mecanismos de adaptação das plantas às alterações no potencial osmótico do ambiente é a síntese de metabólitos que funcionam como solutos compatíveis (Munns e Tester, 2008). Além disso, para se defenderem contra danos causados por espécies reativas de oxigênio (ROS), as plantas frequentemente acumulam proteínas solúveis, que desempenham um papel importante na osmorregulação e na manutenção do turgor celular (Anjum *et al.*, 2011).

Estresses ambientais que limitam a fotossíntese podem intensificar o dano celular causado pelo oxigênio, devido ao aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (Alscher *et al.*, 1997). Assim, a capacidade de resistência ao estresse salino pode estar relacionada à melhoria do sistema de defesa antioxidante, o qual abrange tanto compostos antioxidantes quanto diversas enzimas antioxidantes (Ahmad *et al.*, 2019). Nas análises realizadas, observou-se que a atividade da peroxidase do guaiacol (GPX) manteve-se semelhante ao controle após o *priming* ultrassônico em todas as potências testadas (Figura 3).

Embora o aumento na atividade enzimática não tenha apresentado significância estatística, o gráfico demonstra uma tendência clara de elevação da atividade com o incremento da potência, especialmente sob condições de salinidade. Esse padrão sugere que o *priming* ultrassônico pode estar potencializando a capacidade antioxidante das plântulas de sorgo, ajudando-as a minimizar os efeitos do estresse oxidativo induzido pelo sal.

Figura 3: Atividade da GPX em plântulas de sorgo submetidas a estresse salino após *priming* ultrassônico:



Médias seguidas de mesma letra, minúscula entre as colunas (Controle e salinidade) e maiúscula no eixo de potência (W), não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knoct, a 5% de probabilidade. As barras representam os desvios padrão.

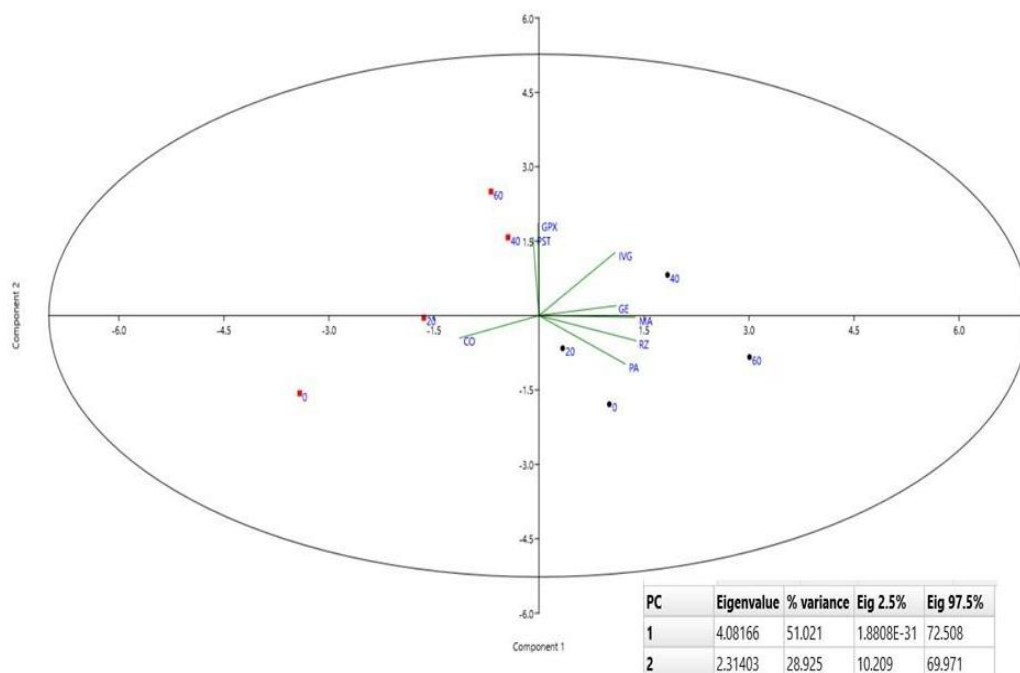
A indução das atividades das enzimas antioxidantes, como GPX, é uma estratégia geral de adaptação que as plantas utilizam para superar os estresses oxidativos (Bhaduri e Fulekar, 2012.). Em particular, a resistência ao estresse salino está fortemente associada à atividade constitutiva e/ou induzida de várias enzimas antioxidantes (Abogadallah, 2010). A atividade dessas enzimas é frequentemente aumentada em resposta a diversos estresses ambientais, como salinidade, o que tem sido observado em várias espécies vegetais (Zare e Pakniyat, 2012). Cultivares tolerantes ao sal geralmente exibem atividades mais elevadas dessas enzimas em comparação com cultivares sensíveis, sugerindo que a alta atividade enzimática desempenha um papel crucial na conferência de tolerância ao sal (Sreenivasasulu *et al.*, 2000).

No presente estudo, a tendência de aumento na atividade de GPX, especialmente sob estresse salino, reforça a hipótese de que essa enzima pode estar atuando como um mecanismo de defesa essencial para as plântulas de sorgo. A GPX, ao catalisar a redução de peróxidos,

ajuda a proteger as células vegetais contra os danos causados pelas espécies reativas de oxigênio (ROS), que são geradas em maior quantidade sob condições de estresse, como a salinidade (Gill e Tuteja, 2010). Resultados semelhantes foram observados em outras culturas, como batata (Spychalla E Desborough, 1990.), ervilha (Hernandez et al., 2000), e trigo (Sairam *et al.*, 2002), onde o aumento na atividade de enzimas antioxidantes foi associado à maior tolerância ao estresse salino.

Após a realização de todos os testes, foi montado o arranjo para a análise de PCA. Nesta análise, foram considerados todos os dados obtidos. O gráfico resultante mostrou como os diferentes potenciais ultrassônicos se agruparam, destacando as variáveis mais relevantes para o arranjo final (Figura 4). A análise do gráfico de PCA revela uma clara separação entre os tratamentos com e sem sal, com as duas primeiras componentes principais explicando quase 80% da variância total. Observa-se que os tratamentos de 60W, tanto com sal quanto sem sal, são os que mais contribuíram para a separação das amostras, destacando-se pela sua posição mais afastada no gráfico. Isso sugere que, em condições de estresse elevado, as plantas submetidas a 60W exibem respostas fisiológicas ou bioquímicas mais diferenciadas.

Figura 4: Análise de componentes principais biplot mostrando a projeção das variáveis nos dois primeiros componentes principais.



Legenda: CO - cotilédone; PST - proteínas solúveis totais; PA - hipocótilo; RZ - raiz; GE - germinação; IVG - índice de velocidade de germinação; MA - massa fresca; GPX - peroxidase do guaiacol. Onde os pontos em preto representam a condição controle e os quadrados representam a condição salina. A elipse indica a área onde 95% dos dados estão localizados, mostrando a variabilidade e a dispersão dos dados em torno da média.

Observa-se que as variáveis GPX e PST emergem como as principais responsáveis pela distinção dos tratamentos com sal, influenciando fortemente tanto a PC1 quanto a PC2 nos tratamentos de 40 e 60W. Por outro lado, as variáveis GE, PA e RZ mostraram-se mais influentes para os tratamentos sem sal, contribuindo significativamente para a separação observada nos tratamentos de 60 e 40W. Isso sugere que, sob condições normais, as plantas investem mais na eficiência de crescimento e na absorção de recursos, o que pode ser menos pronunciado sob estresse salino. Adicionalmente, a variável IVG também contribuiu para a separação, principalmente nos tratamentos de estresse intermediário sem sal (como 20W e 40W), sugerindo que o vigor inicial das plantas pode ser um indicador sensível das condições de estresse moderado. Entre as variáveis, GPX e PST foram as mais influentes para os tratamentos com sal, sugerindo que esses marcadores são mais expressivos sob condições salinas. Por outro lado, GE, PA e RZ tiveram maior impacto nos tratamentos sem sal, especialmente nos tratamentos de 60W e 40W.

4. Conclusão

A aplicação do ultrassom demonstrou um efeito positivo em todos os aspectos analisados, especialmente na germinação e no índice de velocidade de germinação, em todas as potências testadas nas sementes tanto em condições normais quanto sob estresse salino. O *priming* também promoveu um aumento significativo no conteúdo de proteínas solúveis e na atividade da peroxidase do guaiacol (GPX), sugerindo uma potencial adaptação bioquímica das plantas para tolerar o estresse oxidativo induzido pela salinidade.

A análise de componentes principais contribuiu para elucidar qual potência tem maior influência sobre as variáveis analisadas, evidenciando que as variáveis relacionadas ao estresse oxidativo, como GPX e proteínas solúveis totais, são determinantes na separação dos tratamentos sob estresse salino, enquanto parâmetros de crescimento, como germinação e comprimento de raiz, foram mais influentes em condições sem estresse. Esses resultados sugerem que o uso de *priming* ultrassônico, especialmente com potência de 40W e 60W, pode ser uma estratégia eficaz para melhorar a tolerância das sementes de sorgo ao estresse salino, potencializando mecanismos de defesa antioxidante e promovendo uma melhor germinação e crescimento inicial das plântulas.

Referências

- HOSSAIN, Md Saddam et al. Sorghum: A prospective crop for climatic vulnerability, food and nutritional security. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 8, p. 100300, 2022.
- ABOGADALLAH, Gaber M. Insights into the significance of antioxidative defense under salt stress. **Plant signaling & behavior**, v. 5, n. 4, p. 369-374, 2010.
- AFTAB, Tariq. Photosynthetic and cellular responses in plants under saline conditions. **Frontiers in Plant–Soil Interaction: Molecular Insights into Plant Adaptation**, p. 293, 2021.
- AHANGER, Mohammad Abass et al. Drought tolerance: role of organic osmolytes, growth regulators, and mineral nutrients. In: **Physiological Mechanisms and Adaptation Strategies in Plants Under Changing Environment: Volume 1**. New York, NY: Springer New York, 2013. p. 25-55.
- AHMAD, Riaz et al. Oxidative stress and antioxidant defense mechanisms in plants under salt stress. **Plant abiotic stress tolerance: Agronomic, molecular and biotechnological approaches**, p. 191-205, 2019.
- ALADJADJIYAN, A. Increasing carrot seeds (*Daucus carota* L.), cv. Nantes, viability through ultrasound treatment. 2002.
- ALFALAHI, Ayoob Obaid et al. Ultrasonic treatment enhances germination and affects antioxidant gene expression in soybean (*Glycine max* L. Merr). **Agronomy**, v. 12, n. 10, p. 2446, 2022.
- ALSCHER, Ruth G.; DONAHUE, Janet L.; CRAMER, Carole L. Reactive oxygen species and antioxidants: relationships in green cells. **Physiologia plantarum**, v. 100, n. 2, p. 224-233, 1997.
- ANJUM, Shakeel Ahmad et al. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. **African journal of agricultural research**, v. 6, n. 9, p. 2026-2032, 2011.
- ASHRAF, M. Yasin et al. Salinity induced changes in α -amylase and protease activities and associated metabolism in cotton varieties during germination and early seedling growth stages. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 24, p. 37-44, 2002.
- BHADURI, Anwesha M.; FULEKAR, M. H. Antioxidant enzyme responses of plants to heavy metal stress. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 11, p. 55-69, 2012.

BRADFORD, Marion M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

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

CHELLI-CHAABOUNI, Azza et al. In vitro salinity tolerance of two pistachio rootstocks: *Pistacia vera* L. and *P. atlantica* Desf. **Environmental and experimental botany**, v. 69, n. 3, p. 302-312, 2010.

Conab - Safra Brasileira de Grãos. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>>. Acesso em 13 de agosto.

DE CARVALHO, Nelson Moreira; NAKAGAWA, João. Sementes: ciência, tecnologia e produção. 1983.

DOS SANTOS, Rayssa Fernanda et al. Sorgo sacarino na produção de agroenergia. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v. 4, n. 1, 2015.

ENSMINGER, Dale; BOND, Leonard J. **Ultrasonics: fundamentals, technologies, and applications**. CRC press, 2024.

FOSCHI, María Laura et al. Effects of high intensity ultrasound stimulation on the germination performance of caper seeds. **Plants**, v. 12, n. 12, p. 2379, 2023.

GALLEGO-JUÁREZ, Juan A. Basic principles of ultrasound. **Ultrasound in food processing: Recent advances**, p. 1-26, 2017.

GILL, Sarvajeet Singh; TUTEJA, Narendra. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant physiology and biochemistry**, v. 48, n. 12, p. 909-930, 2010.

GONG, Min et al. Ultrasonic treatment can improve maize seed germination and abiotic stress resistance. **BMC Plant Biology**, v. 24, n. 1, p. 758, 2024.

GONZALES, José Luis Soto; PAULA, Rinaldo César de; VALERI, Sérgio Valiengo. Teste de condutividade elétrica em sementes de *Albizia hassleri* (Chodat) Burkart. Fabaceae-Mimosoideae. **Revista Árvore**, v. 33, p. 625-634, 2009.

GRABE, D. F. Measurement of seed moisture. **Seed moisture**, v. 14, p. 69-92, 1989.

HAKIM, M. A. et al. Efeito do estresse salino na germinação e no crescimento inicial de plântulas de arroz (*Oryza sativa* L.). **Revista africana de biotecnologia**, v. 9, n. 13, p. 1911-1918, 2010.

HARRIS, D. et al. On-farm seed priming in semi-arid agriculture: development and evaluation in maize, rice and chickpea in India using participatory methods. **Experimental Agriculture**, v. 35, n. 1, p. 15-29, 1999.

HERNANDEZ, Jose Antonio et al. Tolerance of pea (*Pisum sativum* L.) to long-term salt stress is associated with induction of antioxidant defences. **Plant, cell & environment**, v. 23, n. 8, p. 853-862, 2000.

HUANG, Suihua et al. Ultrasonic seed treatment improved seed germination, growth, and yield of rice by modulating associated physio-biochemical mechanisms. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 104, p. 106821, 2024.

MACHIKOWA, Thitiporn; KULRATTANARAK, Thanawit; WONPRASAID, Sodchol. Effects of ultrasonic treatment on germination of synthetic sunflower seeds. **International Journal of Agricultural and Biosystems Engineering**, v. 7, n. 1, p. 1-3, 2013.

MAHAJAN, Shilpi; TUTEJA, Narendra. Cold, salinity and drought stresses: an overview. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 444, n. 2, p. 139-158, 2005.

MARCOS FILHO, Julio. Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. **Scientia agricola**, v. 72, n. 4, p. 363-374, 2015.

MATSUNO, Hiroshi; URITANI, Ikuzo. Physiological behavior of peroxidase isozymes in sweet potato root tissue injured by cutting or with black rot. **Plant and Cell Physiology**, v. 13, n. 6, p. 1091-1101, 1972.

MIANO, Alberto Claudio et al. Effect of ultrasound technology on barley seed germination and vigour. **Seed Science and Technology**, v. 43, n. 2, p. 297-302, 2015.

MUHAMMAD, Izhar et al. Mechanisms regulating the dynamics of photosynthesis under abiotic stresses. **Frontiers in plant science**, v. 11, p. 615942, 2021.

MUNNS, Rana; TESTER, Mark. Mechanisms of salinity tolerance. **Annu. Rev. Plant Biol.**, v. 59, n. 1, p. 651-681, 2008.

NOGUEIRA, António et al. Seed germination and seedling development assisted by ultrasound: gaps and future research directions. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 104, n. 2, p. 583-597, 2024.

POPINIGIS, F. Fisiologia da Semente [Seed physiology], Ed. **Pax, DF, Brasília**, 1985.

RABBANI, Allívia Rouse Carregosa et al. Efeito do estresse salino sobre atributos da germinação de sementes de girassol. **Scientia plena**, 2013.

RAJEWSKA, Kinga; MIERZWA, Dominik. Influence of ultrasound on the microstructure of plant tissue. **Innovative food science & emerging technologies**, v. 43, p. 117-129, 2017.

RAN, Haiyan; YANG, Liyan; CAO, Yanling. Ultrasound on seedling growth of wheat under drought stress effects. **Agricultural Sciences**, v. 6, n. 7, p. 670-675, 2015.

SAIRAM, Raj Kumar; RAO, K. Veerabhadra; SRIVASTAVA, G. C. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. **Plant science**, v. 163, n. 5, p. 1037-1046, 2002.

SHIMOMURA, Sumitake. The effects of ultrasonic irradiation on sprouting radish seed. In: **IEEE Symposium on Ultrasonics**. IEEE, 1990. p. 1665-1667.

SREENIVASULU, N. et al. Differential response of antioxidant compounds to salinity stress in salt-tolerant and salt-sensitive seedlings of foxtail millet (*Setaria italica*). **Physiologia plantarum**, v. 109, n. 4, p. 435-442, 2000.

SYED, Afrayeem; RIZVI, Anam. Maintaining Seed viability and Seed vigour: Important Aspects. **Justagriculture. In. Retrieved September**, v. 28, p. 2023, 2021.

VANDERLIP, R. L.; REEVES, H. E. Growth stages of sorghum [*Sorghum bicolor*,(L.) Moench.] 1. **Agronomy journal**, v. 64, n. 1, p. 13-16, 1972.

VIEIRA, R. D. et al. Electrical conductivity and field performance of soybean seeds. **Seed Technology**, p. 15-24, 1999.

YALDAGARD, Maryam; MORTAZAVI, Seyed Ali; TABATABAIE, Farideh. Application of ultrasonic waves as a priming technique for accelerating and enhancing the germination of barley seed: Optimization of method by the Taguchi approach. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 114, n. 1, p. 14-21, 2008.

ZARE, Sajjad; PAKNIYAT, Hassan. Changes in activities of antioxidant enzymes in oilseed rape in response to salinity stress. **Int J Agri Crop Sci**, v. 4, n. 7, p. 398-403, 2012.

Conclusão Geral

A aplicação do *priming* ultrassônico demonstrou efeitos positivos em diversos aspectos fisiológicos e bioquímicos das sementes, tanto de sorgo quanto de algodão, em condições normais e sob estresse salino. Em ambas as culturas, o tratamento com ultrassom melhorou significativamente a germinação e o índice de velocidade de germinação (IVG), além de aumentar a atividade antioxidante, como indicado pelo aumento na atividade da peroxidase do guaiacol (GPX) e no conteúdo de proteínas solúveis. Esses resultados sugerem uma adaptação bioquímica das plantas ao estresse oxidativo induzido pela salinidade, potencializando a tolerância ao estresse salino.

As potências de 40W e 60W se destacaram como as mais eficazes para promover maior germinação e melhor resposta antioxidante em ambas as espécies. A análise de componentes principais reforçou a importância das variáveis ligadas ao estresse oxidativo, como GPX e proteínas solúveis, em condições salinas, enquanto os parâmetros de crescimento foram mais influenciados em condições sem estresse. Assim, o uso de *priming* ultrassônico se mostrou uma estratégia promissora para aumentar a tolerância de sementes ao estresse salino, ao promover mecanismos de defesa antioxidante e otimizar a germinação e o desenvolvimento inicial das plântulas, com resultados especialmente relevantes em potências de 40W e 60W.