

FÁBIO STEINER | ORG.

PLANT ABIOTIC STRESS TOLERANCE



Pantanal Editora

2020

Fábio Steiner
(Organizador)

PLANT ABIOTIC STRESS TOLERANCE



Pantanal Editora

2020

Copyright© Pantanal Editora
Copyright do Texto© 2020 Os Autores
Copyright da Edição© 2020 Pantanal Editora
Editor Chefe: Prof. Dr. Alan Mario Zuffo
Editores Executivos: Prof. Dr. Jorge González Aguilera
Prof. Dr. Bruno Rodrigues de Oliveira

Diagramação: A editora
Edição de Arte: A editora e Canva.com
Revisão: Os autor(es), organizador(es) e a editora

Conselho Editorial

- Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – OAB/PB
- Profa. Msc. Adriana Flávia Neu – Mun. Faxinal Soturno e Tupanciretã
- Profa. Dra. Albys Ferrer Dubois – UO (Cuba)
- Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – IF SUDESTE MG
- Profa. Msc. Aris Verdecia Peña – Facultad de Medicina (Cuba)
- Profa. Arisleidis Chapman Verdecia – ISCM (Cuba)
- Prof. Dr. Bruno Gomes de Araújo - UEA
- Prof. Dr. Caio Cesar Enside de Abreu – UNEMAT
- Prof. Dr. Carlos Nick – UFV
- Prof. Dr. Claudio Silveira Maia – AJES
- Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – UFGD
- Prof. Dr. Cristiano Pereira da Silva – UEMS
- Profa. Ma. Dayse Rodrigues dos Santos – IFPA
- Prof. Msc. David Chacon Alvarez – UNICENTRO
- Prof. Dr. Denis Silva Nogueira – IFMT
- Profa. Dra. Denise Silva Nogueira – UFMG
- Profa. Dra. Dennyura Oliveira Galvão – URCA
- Prof. Dr. Elias Rocha Gonçalves – ISEPAM-FAETEC
- Prof. Dr. Fábio Steiner – UEMS
- Prof. Dr. Gabriel Andres Tafur Gomez (Colômbia)
- Prof. Dr. Hebert Hernán Soto Gonzáles – UNAM (Peru)
- Prof. Dr. Hudson do Vale de Oliveira – IFRR
- Prof. Msc. Javier Revilla Armesto – UCG (México)
- Prof. Msc. João Camilo Sevilla – Mun. Rio de Janeiro
- Prof. Dr. José Luis Soto Gonzales – UNMSM (Peru)
- Prof. Dr. Julio Cezar Uzinski – UFMT
- Prof. Msc. Lucas R. Oliveira – Mun. de Chap. do Sul
- Prof. Dr. Leandro Argente-Martínez – Tec-NM (México)
- Profa. Msc. Lidiene Jaqueline de Souza Costa Marchesan – Consultório em Santa Maria
- Prof. Msc. Marcos Pisarski Júnior – UEG
- Prof. Dr. Mario Rodrigo Esparza Mantilla – UNAM (Peru)
- Profa. Msc. Mary Jose Almeida Pereira – SEDUC/PA
- Profa. Msc. Nila Luciana Vilhena Madureira – IFPA
- Profa. Msc. Queila Pahim da Silva – IFB
- Prof. Dr. Rafael Chapman Auty – UO (Cuba)
- Prof. Dr. Rafael Felipe Ratke – UFMS
- Prof. Dr. Raphael Reis da Silva – UFPI
- Prof. Dr. Ricardo Alves de Araújo – UEMA
- Prof. Dr. Wéverson Lima Fonseca – UFPI

- Prof. Msc. Wesclen Vilar Nogueira – FURG
- Profa. Dra. Yilan Fung Boix – UO (Cuba)
- Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – UFT

Conselho Técnico Científico

- Esp. Joacir Mário Zuffo Júnior
- Esp. Maurício Amormino Júnior
- Esp. Tayronne de Almeida Rodrigues
- Esp. Camila Alves Pereira
- Lda. Rosalina Eufrausino Lustosa Zuffo

Ficha Catalográfica

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)	
P713	Plant Abiotic Stress Tolerance [recurso eletrônico] / Organizador Fábio Steiner. – Nova Xavantina, MT: Pantanal, 2020. 149p.
	Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web Inclui bibliografia ISBN 978-65-88319-02-4 DOI https://doi.org/10.46420/9786588319024
	1. Ecologia e Recursos Naturais (Ecofisiologia vegetal). 2. Meio ambiente – Conservação. 3. Sustentabilidade. I. Steiner, Fábio.
	CDD 581.5
Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422	

O conteúdo dos livros e capítulos, seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva do(s) autor (es). O download da obra é permitido e o compartilhamento desde que sejam citadas as referências dos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Pantanal Editora

Rua Abaete, 83, Sala B, Centro. CEP: 78690-000.
Nova Xavantina – Mato Grosso – Brasil.
Telefone (66) 99682-4165 (Whatsapp).
<https://www.editorapantanal.com.br>
contato@editorapantanal.com.br

APRESENTAÇÃO

A obra “Plant Abiotic Stress Tolerance”, uma publicação da Pantanal Editora, apresenta, em seus 9 capítulos, uma ampla gama de assuntos sobre os recentes avanços e conhecimentos científicos nas áreas de ecofisiologia da produção vegetal e conservação dos recursos naturais e meio ambiente. Os temas abordados mostram algumas das ferramentas atuais que permitem o incremento da produção de alimentos, a melhoria da qualidade de vida da população, e a preservação e a sustentabilidade dos recursos disponíveis no planeta. A obra, vem a materializar o anseio da Editora Pantanal na divulgação de resultados e conhecimentos, que contribuem de modo direto no desenvolvimento humano.

Nas últimas décadas, a produção de alimentos tem sido frequentemente limitada por inúmeros fatores de estresse abióticos, dentre os quais, podemos citar a baixa disponibilidade de água (deficiência hídrica), temperaturas extremas (frio, geadas, calor e fogo), salinidade, deficiência de nutrientes minerais e toxicidade. Esses fatores são responsáveis por consideráveis perdas econômicas tanto para os pequenos agricultores quanto para os produtores de commodities como a cultura da soja, entre outras. Além disso, estes danos podem ser potencialmente agravados pelos efeitos das recentes mudanças climáticas globais, sendo, portanto, a sua mitigação um grande desafio para a comunidade científica. O foco principal das pesquisas abordadas neste e-book é compreender os mecanismos de defesa/tolerância dos estresses abióticos em plantas e apresentar tecnologias e práticas de manejo que possibilitem o aumento da tolerância das plantas a esses estresses abióticos.

Temas associados à identificação de cultivares de soja tolerantes à seca e o manejo da salinidade e da restrição hídrica nas culturas de soja, amendoim e pepino são abordados. A tolerância de plantas de pinhão-manso a toxicidade do alumínio (Al³⁺), a tolerância de quatro espécies hortícolas ao estresse térmico causado por altas temperaturas e a tolerância de mutantes de trigo ao estresse salino também é sugerido. Na área de recursos naturais é mostrado os efeitos fitotóxicos dos metais pesados nas plantas cultivadas e o estresse ambiental causado pelo fogo na região do Cerrado. Portanto, esses conhecimentos irão agregar muito aos seus leitores que procuram promover melhorias quantitativas e qualitativas na produção de alimentos e, ou melhorar a qualidade de vida da sociedade. Sempre em busca da sustentabilidade do planeta.

Aos autores dos diversos capítulos, pela dedicação e esforços sem limites, que viabilizaram esta obra que retrata os recentes avanços científicos e tecnológicos nas áreas de ecofisiologia da produção vegetal e conservação dos recursos naturais e meio ambiente, os agradecimentos do Organizador e da Pantanal Editora.

Por fim, esperamos que este e-book possa colaborar e instigar mais estudantes e pesquisadores na constante busca de novas tecnologias. Assim, garantir uma difusão de conhecimento fácil, rápido para a sociedade.

Fábio Steiner

PRESENTATION

The eBook “Plant Abiotic Stress Tolerance”, a publication by Pantanal Editora, presents in its 9 chapters a wide range of questions about recent advances and scientific knowledge in the areas of ecophysiology of plant production and conservation of natural resources and the environment. The topics presented show some of the current tools that allow the increase in food production, the improvement of quality of life in people's and the preservation and sustainability of the resources available on the planet. This eBook materializes Editora Pantanal's desire to disseminate results and knowledge, which directly contribute to the development of society.

In the last decades, food production has often been limited by numerous abiotic stress factors, among which, we can mention the low availability of water (water deficit), extreme temperatures (cold, frosts, heat and fire), salinity, mineral nutrient deficiency and toxicity. These factors are responsible for considerable economic losses, both for small farmers and for producers of commodities such as soybean, among others. In addition, these damages can potentially be aggravated by the effects of recent global climate changes, and therefore, mitigating these damages is a major challenge for the scientific community. The main objective of the research presented in this e-book is to understand the defense or tolerance mechanisms of abiotic stresses in plants and to present technologies and management practices that enable greater tolerance of plants to these abiotic stresses.

Topics associated with the identification of drought-tolerant soybean cultivars and the management of salinity and water restriction in soybean, peanut and cucumber crops are presented. The tolerance of physic nut plants to aluminum toxicity (Al^{3+}), the tolerance of four vegetable species to heat stress caused by high temperatures and the tolerance of wheat mutants to salt stress is also suggested. In the area of natural resources, the phytotoxic effects of heavy metals on plant growth and the environmental stress caused by fire in the Cerrado region are shown. Therefore, this knowledge can add much to its readers who seek to promote quantitative and qualitative improvements in food production and, or improve the quality of life in society. Always in search of the planet's sustainability.

To the authors of the chapters, for their dedication and efforts, that made this eBook possible, which exposes the recent scientific and technological advances in the areas of ecophysiology of plant production and conservation of natural resources and the environment, thanks to the Organizer and Pantanal Editora.

Finally, we hope that this e-book can collaborate and instigate more students and researchers in the constant search for new technologies. Thus, ensuring an easy and quick dissemination of knowledge to society.

Fábio Steiner

PRESENTACIÓN

El trabajo “Plant Abiotic Stress Tolerance”, publicación de Pantanal Editora, presenta, en sus 9 capítulos, una amplia gama de temas sobre avances recientes y conocimientos científicos en las áreas de ecofisiología de la producción vegetal y conservación de los recursos naturales y el medio ambiente. Los temas tratados muestran algunas de las herramientas actuales que permiten el aumento de la producción de alimentos, la mejora de la calidad de vida de la población y la preservación y sostenibilidad de los recursos disponibles en el planeta. El trabajo materializa el afán de Editora Pantanal por difundir resultados y conocimientos, que contribuyan directamente al desarrollo humano.

En las últimas décadas, la producción de alimentos se ha visto a menudo limitada por numerosos factores de estrés abiótico, entre los que podemos mencionar la baja disponibilidad de agua (deficiencia de agua), temperaturas extremas (frío, heladas, calor y fuego), salinidad, deficiencia, nutrientes minerales y toxicidad. Estos factores son responsables de considerables pérdidas económicas tanto para los pequeños agricultores como para los productores de commodities como la soja, entre otros. Además, estos daños pueden verse potencialmente agravados por los efectos de los cambios climáticos globales recientes y, por lo tanto, mitigarlos es un desafío importante para la comunidad científica. El foco principal de las investigaciones cubiertas en este libro electrónico es comprender los mecanismos de defensa / tolerancia contra el estrés abiótico en las plantas y presentar tecnologías y prácticas de manejo que permitan aumentar la tolerancia de las plantas a estos estreses abióticos.

Se abordan temas relacionados con la identificación de cultivares de soja tolerantes a la sequía y el manejo de la salinidad y la restricción hídrica en cultivos de soja, maní y pepino. También se sugiere la tolerancia de las plantas de frutos secos a la toxicidad del aluminio (Al^{3+}), la tolerancia de cuatro especies hortícolas al estrés por calor causado por las altas temperaturas y la tolerancia de los mutantes del trigo al estrés por sal. El área de recursos naturales muestra los efectos fitotóxicos de los metales pesados en las plantas cultivadas y el estrés ambiental causado por los incendios en la región del Cerrado. Por tanto, este conocimiento aportará mucho a sus lectores que buscan promover mejoras cuantitativas y cualitativas en la producción de alimentos y, o mejorar la calidad de vida en la sociedad siempre en busca de la sostenibilidad del planeta.

A los autores de los distintos capítulos, por su dedicación y esfuerzo irrestricto, que hizo posible este trabajo, que retrata los recientes avances científicos y tecnológicos en las áreas de ecofisiología de la producción vegetal y conservación de los recursos naturales y el medio ambiente, gracias a la Organización y a Pantanal Editora.

Finalmente, esperamos que este libro electrónico pueda colaborar e instigar a más estudiantes e investigadores en la búsqueda constante de nuevas tecnologías. De esta forma, se garantiza una fácil y rápida difusión del conocimiento a la sociedad.

Fábio Steiner


SUMÁRIO

Apresentação	5
Presentation	6
Presentación	7
Capítulo I	8
Selection indices to identify drought-tolerant soybean cultivars	8
Capítulo II	27
Identificação de cultivares de soja para tolerância à salinidade	27
Capítulo III	41
Co-inoculation of peanut with <i>Bradyrhizobium</i> and <i>Azospirillum</i> promotes greater tolerance to drought	41
Capítulo IV	55
Tolerancia de hortalizas al estrés térmico causado por las altas temperaturas	55
Capítulo V	69
Aluminum toxicity inhibits growth and nutrient uptake in physic nut plants	69
Capítulo VI	81
Potassium nitrate priming to induce salt stress tolerance in cucumber seeds	81
Capítulo VII	97
Respostas Ecofisiológicas de Plantas ao Lodo de Esgoto	97
Capítulo VIII	120
Efeito do fogo em plantas nativas do Cerrado: estresse ambiental <i>versus</i> resiliência	120
Capítulo IX	140
Modelo de desarrollo y tolerancia a la salinidad de mutantes de trigo cultivadas en condiciones Salinas	140
Índice Remissivo	149


Selection indices to identify drought-tolerant soybean cultivars

Received at: 25/06/2020


Accepted at: 02/07/2020


 10.46420/9786588319024cap1

Rogério do Carmo Cabral¹ 

Simone Cândido Ensinas Maekawa² 

Maickon Alexandri Rezende Paulino¹ 

Lucila Silva Molina¹ 

Sara da Silva Abes¹ 

Fábio Steiner^{1*} 

INTRODUCTION

Soybean [*Glycine max* (L.) Merrill.] is one of the oilseed crops of greatest socioeconomic importance for world agribusiness. Brazil is one of the largest producers and exporters of soybeans in the world, in the 2019/2020 growing season, the crop occupied an area of 36.85 million hectares, with a production of 121.1 million tons, which represented an average productivity of 3,313 kg ha⁻¹ (Conab, 2020). Currently, the Cerrado region is the largest soybean producer in the country, representing about 60% of national production (Dickie et al., 2016). Soybean production in this region will certainly continue to be an important driver of economic growth in Brazil in the coming years.

Despite this favorable scenario for soybean cropping in the Midwest region of Brazil, the occurrence of climatic adversities is still a risk factor for the success of the cultivation of this crop. Among these climatic adversities, the occurrence of water deficiency is identified as the main factor that limits the development and grain yield of the crop (Mertz-Henning et al., 2018). Therefore, studies that aim to identify soybean genotypes with greater drought tolerance are important to increase agricultural production in regions with water deficiency.

Water restriction affects several biochemical, physiological and morphological processes in plants, and the responses of soybean plants to drought stress depend on the genotype, the stage of development of the plant, the severity and duration of water restriction, among other environmental factors (Kron et al., 2008; Catuchi et al. 2012; Zoz et al., 2013). Plants exposed to water restriction

¹ Curso de Agronomia, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS), Rod. MS 306, km 6,4, CEP 795400-000, Cassilândia, MS, Brasil.

² Curso de Tecnologia em Produção Sucroalcooleira, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS), Rua Projetada A, CEP 79730-000, Glória de Dourados, MS, Brasil.

* Autor de correspondência: steiner@uems.br

conditions have reduced stomatal conductance, transpiration rate, leaf area, photosynthetic rate, reduced relative growth rate and increased leaf and flower abscission rate (Kron et al., 2008; Fioreze et al., 2011; Vieira et al., 2017; Silva et al., 2019), in addition to changes in the activity of nitrogen and carbon metabolism enzymes and changes in antioxidant levels (Mantovani et al., 2015). Some of these responses are part of strategies that aim to reduce the negative effects of water restriction, thus constituting drought tolerance mechanisms.

The main characteristics for drought tolerance in soybean genotypes are related to the efficiency of water use by plants, the reduction in leaf area, the ability of cells to make the osmotic adjustment and the ability of roots to explore deeper layers of soil (Kron et al., 2008; Fioreze et al., 2011; Basu et al., 2016). Bahrami-Radb and Hajiboland (2017) reported that under conditions of water restriction, osmotic adjustment has a direct implication in maintaining stomatal conductance, leaf water content, photosynthetic rate, and consequently, plant growth rate. Genetic differences in drought tolerance under greenhouse conditions have been reported in Brazilian soybean genotypes (Zoz et al., 2013), which can be useful in identifying genotypes that are more adapted to adverse environmental conditions. However, the identification of drought-tolerant genotypes is not an easy task due to the fact that strong interactions between genotypes and the environment occur, in addition to the limited knowledge regarding the function and role of tolerance mechanisms (Naghavi et al., 2013).

The relative performance of grain production in optimal environmental conditions with adequate water availability or in water-restricted environments seems to be the beginning for the identification of desirable genotypes for cultivation in water-restricted conditions (Mohammadi et al., 2010). Therefore, the main conditions that must be considered during the selection and identification of drought-tolerant genotypes are cropping under optimal non-stressful conditions (irrigated system, for example) and under rain-fed conditions with water restriction (Naghavi et al., 2013; Menezes et al., 2014).

Several studies have proposed the use of different methods and/or selection indexes to assess genetic differences for drought tolerance. Some of these selection indices were used to assess genetic differences in genotypes of maize (Naghavi et al., 2013), sorghum (Menezes et al., 2014), wheat (Akçura et al., 2011; Farshadfar et al., 2013; El-Rawy; Hassan, 2014), sunflower (Gholinezhad et al., 2014) and common beans (Sánchez-Reinoso et al., 2020). However, these studies for soybeans are still unknown.

This research was carried out with the purpose of evaluating the response of 22 soybean genotypes grown under adverse environmental conditions (irrigated and rainfed systems), aiming to determine the best selection indexes to identify drought-tolerant genotypes.

MATERIAL AND METHODS

Location and Characterization of the Experimental Areas

Two field experiments were conducted during the 2018/2019 growing season in the municipality of Cassilândia, Mato Grosso do Sul, Brazil (Figure 1). The first experiment was carried out under rainfed conditions in the experimental area of the State University of Mato Grosso do Sul – UEMS (19°05'45" S, 51°48'51" W, and altitude of 520 m). The second experiment was conducted in an irrigated area with a central pivot system, located in a private area close to the Agricultural Experimental Station of UEMS/Cassilândia (19°05'16" S, 51°48'04" W, and average altitude of 470 m).

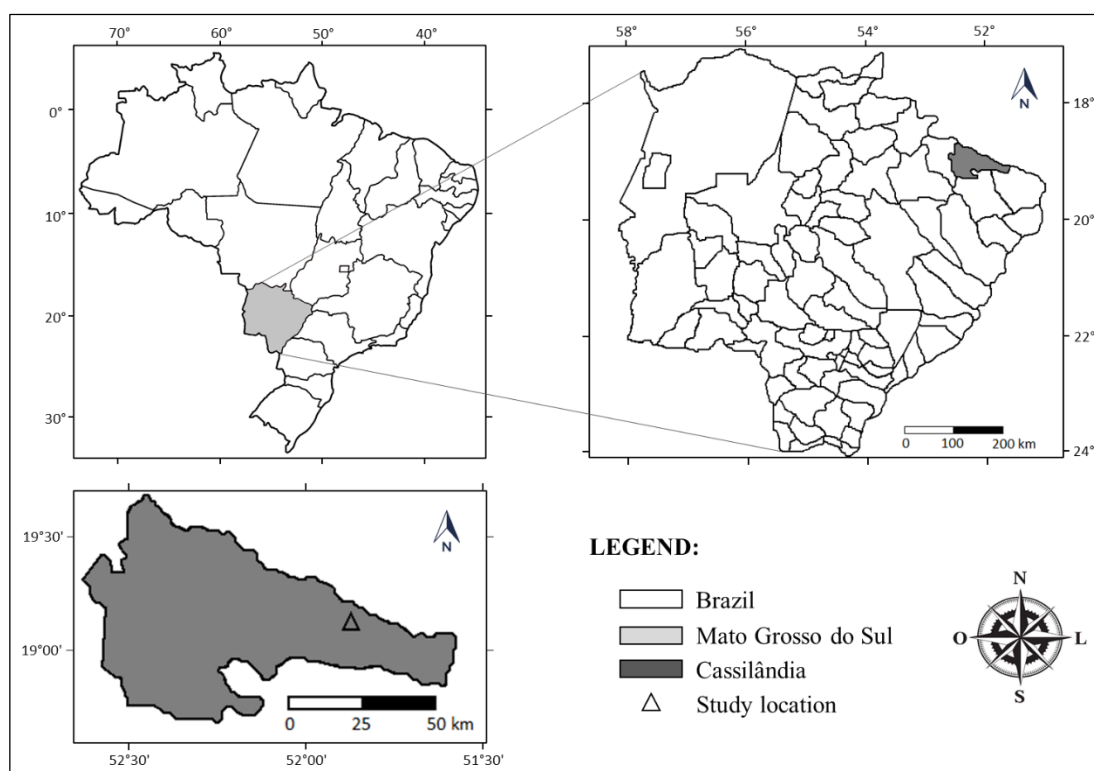


Figure 1. Location of the study area in the municipality of Cassilândia, State of Mato Grosso do Sul, Brazil. Source: The authors.

The region's climate, according to Köppen's classification, is tropical rainy (Aw), with rainy summer and dry winter between the months of May and September (winter rainfall less than 60 mm), with annual rainfall and an average annual temperature of 1,520 mm and 24.1 °C, respectively. The rainfall data collected during the conduction of the experiments are shown in Figure 2. The total rainfall accumulated during the cultivation of soybean genotypes in the dry area was 520 mm, with monthly

rainfall of 143, 108, 149 and 72 mm during the months of December, January, February, and March (Figure 2).

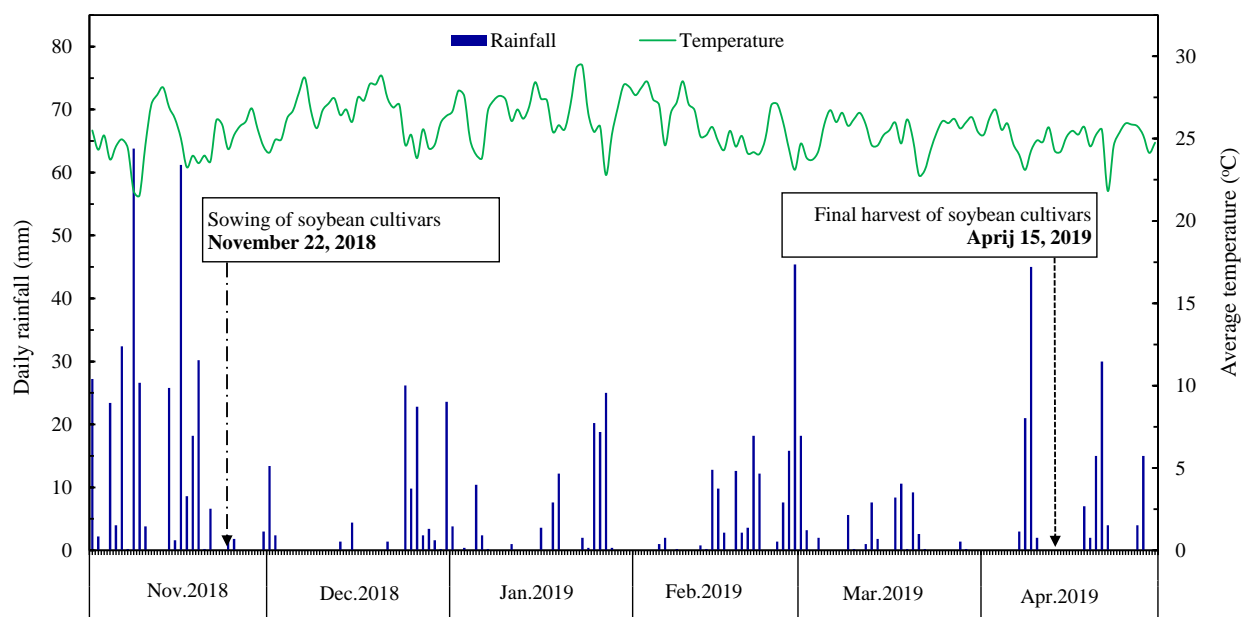


Figure 2. Daily rainfall (mm) and average temperature (°C) during the period of conducting soybean experiments in Cassilândia, MS, Brazil. Source: The authors.

The soil of the two experimental areas was classified as Neossolo Quartzarênico Órtico latossólico (NQo), with 120 g kg⁻¹ of clay, 40 g kg⁻¹ of silt and 840 g kg⁻¹ of sand). Before the implementation of the experiments, soil samples were collected in layers 0.0–0.20 in depth, and the main chemical properties of the soils are shown in Table 1.

Table 1. Main chemical properties of soils in the 0.0–0.20 m depth layer before the implementation of the experiments.

Field	pH	P	OM	H + Al	Al	K	Ca	Mg	CEC	V
		mg dm ⁻³	g dm ⁻³	----- cmol _c dm ⁻³ -----						%
Rainfed	5.5	12.3	19.0	2.10	0.00	0.15	2.50	1.10	5.6	64
Irrigated	5.2	10.7	14.4	2.30	0.00	0.12	2.10	0.90	5.4	57

pH in CaCl₂. P Mehlich-1. OM: organic matter. CEC: cation exchange capacity. V: soil base saturation.

Experimental Design and Treatments

The experimental design used was randomized blocks, in a 2×22 factorial scheme with four replications. The treatments consisted of two cropping systems (rainfed and irrigated) and 22 soybean genotypes. The management of irrigation in the experimental area with a central pivot system was carried out by applying a daily irrigation depth of 15 mm, which was applied every day when there was no rainfall. The seeds of the 22 soybean genotypes were purchased directly from the companies holding their registration with the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply. The agronomic characteristics of soybean genotypes are shown in Table 2. Each experimental unit consisted of 5.0 m in length and 2.25 m in width (5 rows with 0.45 m spacing). For the measurement of grain yield, the three central rows were considered, disregarding 1.0 m from the ends of each row of plants, totaling 4.05 m^2 ($3.0 \times 1.35 \text{ m}$).

Table 2. Agronomic characteristics and germination rate of the 22 soybean genotypes [*Glycine max* (L.) Merrill.] used in the study.

Genotype	Agronomic characteristics			Germination rate
	Cycle (days) ¹	RMG	Growth type	(%)
TMG 2383 IPRO	120	8,3	Semi-determined	87
TMG 2381 IPRO	120	8,1	Indeterminate	100
TMG 2378 IPRO	125	7,8	Semi-determined	96
TMG 7067 IPRO	112	7,2	Semi-determined	100
TMG 7063 IPRO	110	7,0	Indeterminate	86
TMG 2165 IPRO	112	6,5	Indeterminate	98
TMG 7061 IPRO	110	6,1	Indeterminate	98
97R50 IPRO	115	7,5	Indeterminate	100
98R31 IPRO	130	8,3	Indeterminate	97
98R35 IPRO	130	8,3	Indeterminate	98
HO Cristalino IPRO	125	8,3	Indeterminate	100
HO Maracaí IPRO	120	7,7	Indeterminate	87
HO Paranaíba IPRO	115	7,4	Indeterminate	93
BMX Foco IPRO	110	7,2	Indeterminate	83
BMX Bônus IPRO	120	7,9	Indeterminate	100

ST 777 IPRO	108	7,7	Indeterminate	100
ST 797 IPRO	110	7,9	Indeterminate	100
RK 8115 IPRO	120	8,1	Indeterminate	96
RK 6719 IPRO	105	6,7	Indeterminate	100
RK 7518 IPRO	112	7,5	Indeterminate	100
RK 8317 IPRO	125	8,3	Indeterminate	88
M 5917 IPRO	95	5,9	Indeterminate	93

¹ Average cycle, in days, from plant emergence to harvest. RMG: Relative maturity group. Source: The authors.

Implementation and Conduction of Experiments

The soil preparation was carried out using two harrows, leaving the land level and suitable for soybean cropping and free of weeds. Sowing of soybean genotypes was carried out on November 22, 2018, in rows spaced 0.45 m apart. The sowing density was defined based on the technical recommendations for each genotype. Soybean seeds previously treated with pyraclostrobin + methyl thiophanate + fipronil (Standak Top[®]) in a rate of 2 mL kg⁻¹ were inoculated with *Bradyrhizobium japonicum*, using a commercial liquid inoculum Simbiose Nod Soja[®] (Symbiosis: Biological Agrotechnology) containing the strains SEMIA 5079 and SEMIA 5080 (minimum concentration of 7.2 x 10⁹ colony-forming units per mL), at a rate of 3 mL kg⁻¹ of seed.



Figure 3. Illustration of two soybean genotypes during the beginning bloom stage – R1 (at the left) and during the beginning seed - R5 (at the right) in the 2018/2019 growing season, in Cassilândia, Mato Grosso do Sul, Brazil. Source: The authors.

The base fertilization was carried out with the application of 600 kg ha⁻¹ of the fertilizer formulation NPK 04-22-09 in the sowing furrow. Topdressing fertilization was carried out, at 30 and

50 days after the emergence of the plants, with the application of 200 kg ha⁻¹ of the fertilizer formulation NPK 20-00-20. During the development of soybean genotypes, the management of weeds, pests and diseases was carried out according to the needs of the crop and technical recommendations (Embrapa, 2011). The optimal phytosanitary level of soybean plants during the reproductive stage can be seen in Figure 3.

Yield and Calculation of Drought Tolerance Indexes

Harvesting of soybean genotypes was carried out manually at the R8 development stage (95% of mature pods). All plants contained in 3.0 m of the three central rows of each plot were harvested, placed in the shade for drying for 5 days, and then mechanically traced. Grain yield was converted to kg ha⁻¹, correcting for 13% moisture (dry basis). From the grain yield data recorded for each genotype, in each production environment, drought tolerance indexes were calculated (Table 3).

Table 3. Drought tolerance indexes to assess the grain yield response of the 22 soybean genotypes grown under adverse environmental conditions (rainfed and irrigated systems)

Drought tolerance index	Equation†	Reference
1. Tolerance	$TOL = Y_P - Y_S$	Rosielle & Hamblin (1981)
2. Mean productivity	$MP = (Y_S + Y_P)/2$	Rosielle & Hamblin (1981)
3. Yield stability index	$YSI = Y_S/Y_P$	Bousslama & Schapaugh (1984)
4. Drought resistance index	$DI = [Y_S \times (Y_S/Y_P)] / \bar{Y}_S$	Blum (1988)
5. Stress tolerance index	$STI = (Y_S \times Y_P) / (\bar{Y}_P)^2$	Fernández (1992)
6. Geometric mean productivity	$GMP = \sqrt{Y_S \times Y_P}$	Fernández (1992)
7. Yield index	$YI = Y_S / \bar{Y}_S$	Gavuzzi et al. (1997)
8. Modified stress tolerance (k ₁)	$k_1STI = Y_P^2 / \bar{Y}_P^2$	Farshadfar & Sutka (2002)
9. Modified stress tolerance (k ₂)	$k_2STI = Y_S^2 / \bar{Y}_S^2$	Farshadfar & Sutka (2002)
10. Stress susceptibility percentage index	$SSPI = [Y_P - Y_S/2 \times \bar{Y}_P] \times 100$	Moosavi et al. (2008)
11. Abiotic tolerance index	$ATI = [(Y_P - Y_S) / (\bar{Y}_P / \bar{Y}_S)] \times \sqrt{Y_P \times Y_S}$	Moosavi et al. (2008)
12. Harmonic mean	$HM = [2 \times (Y_S \times Y_P)] / (Y_S + Y_P)$	Jafari et al. (2009)

† In the above equations, Y_S, Y_P, represent the soybean grain yield under water restricted conditions (rainfed system) and under conditions of adequate water availability (irrigated system) for each genotype, respectively, whereas \bar{Y}_S and \bar{Y}_P represent the average grain yield under conditions of water restriction (rainfed system) and under conditions of adequate water availability (irrigated system) of all soybean genotypes, respectively.

In this study, 12 drought tolerance indexes proposed by several researchers were used to evaluate the grain yield response of the 22 soybean genotypes, grown under optimal environmental conditions (irrigated system) and under water restriction conditions (rainfed system). The drought tolerance indexes used in this study are shown in Table 3.

Statistical Analysis

The data were subjected to analysis of variance (ANOVA), and the averages were grouped by the Scott-Knott test at 5% probability level, in order to discriminate soybean genotypes within adverse production environments (irrigated and rainfed systems) and between environments by drought tolerance indexes. The analyzes were performed using the Sisvar software version 5.6 for Windows (Ferreira, 2014).

The identification of drought-tolerant and/or susceptible genotypes was carried out based on all drought tolerance indexes, using the three multivariate analysis methods (ranking method, hierarchical clustering method and principal component analysis).

The ranking method was used as proposed by Farshadfar et al. (2012), with modifications. In this method, a genotype with the highest value for each of the YP, YS, MP, YSI, DI, STI, GMP, YI, k_1 STI, k_2 STI, SSPI, ATI and HM tolerance scores received a ranking score of 1, whereas for the genotype with the lowest value for the TOL tolerance index it received a ranking score equal to 22. The average ranking score (\bar{R}) and the ranking standard deviation (RSD) were calculated for all drought tolerance indexes of the 22 soybean genotypes under irrigated or rainfed conditions. The discrimination of soybean genotypes regarding the level of drought tolerance was performed based on the average ranking score of each genotype, considering the quartile value that divides the 22 possible ranking positions into four equal parts. Therefore, a genotype with an average ranking score below the value of the first quartile (<6.25 points) is classified as drought tolerant (I); a genotype with an average score between the value of the first and second quartiles (6.25 to 11.50 points) is classified as moderately tolerant (MT) to drought; a genotype with an average ranking score between the value of the second and third quartiles (11.51 to 16.75 points) is classified as moderately susceptible (MS) to drought; and, in turn, the group of drought susceptible (S) genotypes is represented by genotypes with an average ranking score above the value of the third quartile (> 16.75 points).

The multivariate analysis using the hierarchical clustering method was performed based on Euclidean distance and Ward's minimum variance method, to classify the 22 soybean genotypes in different levels of drought tolerance (tolerant, moderately tolerant, moderately sensitive, and sensitive).

Principal component analysis (PCA) based on the correlation matrix of drought tolerance indexes and Biplot analysis were performed using the statistical software Action Stat Pro® version 3.6 for Windows.

RESULTS AND DISCUSSION

Grain yield and drought tolerance indexes

The grain yield in the irrigated system (Y_p) allowed to separate soybean genotypes in seven groups; genotypes RK 8317 IPRO and 98R35 IPRO represented the two groups with the highest grain yield, and genotypes TMG 7067 IPRO, TMG 7061 IPRO 97R50 IPRO, RK 6719 IPRO and M5917 IPRO represented the group with the lowest grain yield (Table 4). Under rainfed conditions with drought stress, grain yield (Y_s) separated the soybean genotypes into six groups, in which the genotypes RK 8115 IPRO, RK 8317 IPRO, 98R35 IPRO and TMG 2381 IPRO were classified into the two groups with the highest grain yield, whereas the group lower grain yield was represented by genotypes TMG 7067 IPRO, TMG 7061 IPRO, 97R50 IPRO, HO Maracaí IPRO, RK 6719 IPRO and M5917 IPRO (Table 4).

The average grain yield in the irrigated system was $2,620 \text{ kg ha}^{-1}$, and under dry conditions it was $1,150 \text{ kg ha}^{-1}$, which represents a loss of grain yield of approximately 56% (Table 4). The average grain yield obtained in the irrigated system was lower than the average yield of soybeans $2,960 \text{ kg ha}^{-1}$, recorded for the state of Mato Grosso do Sul in the 2018/2019 growing season (Conab, 2019). Of the 22 soybean genotypes tested in the municipality of Cassilândia, MS, Brazil, only seven genotypes had grain yields higher than the average grain yield of the state of Mato Grosso do Sul for the 2018/2019 season. Therefore, based on the above, it appears that the genotypes TMG 2378 IPRO, 98R31 IPRO, 98R35 IPRO, ST 777 IPRO, ST 797 IPRO, RK 8115 IPRO and RK 8317 IPRO are the genetic materials most adapted to the edaphoclimatic conditions of Cassilândia, MS, Brazil. It should be noted that due to the drought and excess temperature during the vegetative phases and during flowering and grain filling, between the months of December 2018 and January 2019 (Figure 2), the grain yield of all soybean genotypes in the rainfed system was lower than the average grain yield of crop in the 2018/2019 growing season for the state of Mato Grosso do Sul.

The tolerance index (TOL) separated the genotypes into nine distinct groups, with the group with the best index being represented by the genotypes TMG 7067 IPRO, RK 7518 IPRO and M 5917 IPRO, and the genotype RK 8317 IPRO was classified in the group of lowest TOL index (Table 4). The drought tolerance index of mean productivity (MP) classified soybean genotypes in eight groups; genotypes 98R50 and RK 8317 IPRO represented the two groups with the highest MP index, while the

group with the lowest MP index was represented by genotypes TMG 7067 IPRO, TMG 7061 IPRO, 97R50 IPRO, RK 6719 IPRO and M 5917 IPRO (Table 4).

Table 4. Grain yield and drought tolerance indexes for the 22 soybean genotypes under optimum environmental conditions (irrigated system) and under water restriction conditions (rainfed system), during the 2018/2019 growing season, in the municipality of Cassilândia, Mato Grosso do Sul, Brazil.

Genotype	Y _p (kg/ha)	Y _s (kg/ha)	TOL	MP	YSI	DI	STI	GMP	YI	k ₁ STI	k ₂ STI	SSPI	ATI	HM
TMG 2383 IPRO	2240f	1423c	817b	1832f	0.64b	0.79b	0.47c	1785e	1.24c	0.73e	1.54c	15.6h	642910f	1740c
TMG 2381 IPRO	2500e	1683b	817b	2092e	0.67a	0.99a	0.62d	2051d	1.46b	0.91e	2.16b	15.6h	733731f	2011b
TMG 2378 IPRO	3.487c	1123d	2363g	2305d	0.32g	0.32f	0.57d	1979d	0.98d	1.77c	0.96e	45.1c	2055328d	1699c
TMG 7067 IPRO	1220g	737f	483a	978h	0.60b	0.39e	0.13g	948g	0.64f	0.22f	0.41f	9.2i	200816g	918f
TMG 7063 IPRO	1883f	1177d	707b	1530g	0.63b	0.64c	0.32f	1488f	1.02d	0.52f	1.05d	13.5h	463025g	1447d
TMG 2165 IPRO	2277f	1300c	977c	1788f	0.57c	0.65c	0.43e	1720e	1.13c	0.76e	1.29d	18.6g	741840f	1655c
TMG 7061 IPRO	1487g	733f	753b	1110h	0.49d	0.32f	0.16g	1044g	0.64f	0.32f	0.41f	14.4h	345104g	982f
97R50 IPRO	1560g	740f	820b	1150h	0.47e	0.31f	0.17g	1074g	0.64f	0.36f	0.42f	15.6h	388141g	1004f
98R31 IPRO	3537c	1417c	2120f	2477d	0.40f	0.49d	0.73c	2238c	1.23c	1.82c	1.52c	40.5d	2083048d	2023b
98R35 IPRO	4237b	1693b	2543g	2965b	0.40f	0.59c	1.05b	2678b	1.47b	2.62b	2.18b	48.5c	2996440b	2419a
HO Cristalino IPRO	2833d	1070d	1763e	1952f	0.38f	0.35e	0.44e	1741e	0.93d	1.18d	0.87e	33.7e	1354237e	1553c
HO Maracá IPRO	2197f	853f	1343d	1525g	0.39f	0.29f	0.27f	1369f	0.74f	0.70e	0.55f	25.6f	807998f	1229e
HO Paranaíba IPRO	2153f	973e	1180d	1563g	0.45e	0.38e	0.31f	1448f	0.85e	0.68e	0.72e	22.5f	751089f	1340d
BMX Foco IPRO	2907d	900e	2007f	1903f	0.31g	0.24f	0.38e	1617e	0.78e	1.24d	0.62f	38.3d	1430068e	1374d
BMX Bônus IPRO	2637e	983e	1653e	1810f	0.37f	0.32f	0.38e	1610e	0.86e	1.02d	0.73e	31.6e	1171278e	1432d
ST 777 IPRO	3403c	990e	2413g	2197e	0.29g	0.25f	0.49e	1835e	0.86e	1.69c	0.74e	46.1c	1951363d	1534c
ST 797 IPRO	3773c	1020e	2753h	2397d	0.27g	0.24f	0.56d	1962d	0.89e	2.08c	0.79e	52.6b	2377613c	1606c
RK 8115 IPRO	3590c	1880a	1710e	2735c	0.52d	0.86b	0.98b	2598b	1.63a	1.88c	2.68a	32.6e	1949428d	2467a
RK 6719 IPRO	1547g	667f	880b	1107h	0.43e	0.25f	0.15g	1015g	0.58f	0.35f	0.34f	16.8h	393709g	932f
RK 7518 IPRO	2077f	1430c	647a	1753f	0.69a	0.86b	0.43e	1723e	1.24c	0.63e	1.55c	12.3i	494134g	1692c
RK 8317 IPRO	4770a	1827a	2943i	3298a	0.38f	0.61c	1.27a	2952a	1.59a	3.32a	2.53a	56.2a	3818061a	2641a
M 5917 IPRO	1320g	680f	640a	1000h	0.51d	0.31f	0.13g	947g	0.59f	0.26f	0.36f	12.2i	266035g	896f
Mean	2620	1150	1470	1885	0.46	0.47	0.48	1719	1.00	1.14	1.11	28.0	1246154	1572
CV (%)	6.82	8.87	7.28	7.18	5.37	12.90	16.76	7.57	8.87	14.78	19.98	7.28	14.88	8.02

For abbreviation of drought tolerance indices, see Table 3. CV: Coefficient of variation. Source: The authors.

The yield stability index (YSI) separated soybean genotypes into seven groups; genotypes TMG 2383 IPRO, TMG 2381 IPRO, TMG 7067 IPRO, TMG 7063 IPRO and RK 7518 IPRO were classified in the two groups with the highest YSI indices, and genotypes TMG 2378 IPRO, BMX Foco IPRO, ST 777 IPRO and ST 797 IPRO were classified in the group with the lowest YSI index. The drought resistance index (DI) classified soybean genotypes into six groups, in which the genotypes TMG 2383 IPRO, TMG 2381 IPRO, RK 8115 IPRO and RK 7518 IPRO were classified in the two groups with the highest DI indices, while whereas the group with the lowest DI index was represented by genotypes TMG 2378 IPRO, TMG 7061 IPRO, 97R50 IPRO, HO Maracaí IPRO, BMX Foco IPRO, BMX Bonus IPRO, ST 777 IPRO, ST 797 IPRO, RK 6719 IPRO and M 5917 IPRO (Table 4).

The stress tolerance index (STI) and the geometric mean productivity (GMP) classified soybean genotypes into seven distinct groups, with the two groups with the highest STI and GMP indexes being represented by the genotypes 98R35 IPRO, RK8115 IPRO and RK 8317 IPRO, while the group with the lowest STI and GMP indexes were represented by genotypes TMG 7067 IPRO, TMG7061 IPRO, 97R50 IPRO, RK 6719 IPRO and M5917 IPRO. The yield index (YI) separated soybean genotypes into six groups; the two groups with the highest YI indexes were represented by the genotypes TMG 2381 IPRO, 98R35 IPRO, RK 8115 IPRO and RK 8317 IPRO, while the group with the lowest YI index was represented by the genotypes TMG 7067 IPRO, TMG 7061 IPRO, 97R50 IPRO , HO Maracaí IPRO, RK 6719 IPRO and M 5917 IPRO (Table 4).

The k_1 modified stress tolerance index (k_1 STI) classified soybean genotypes into six groups; the two groups with the highest k_1 STI indexes were represented by the genotypes 98R50 IPRO and RK 8317 IPRO, and the genotypes TMG 7067 IPRO, TMG 7063 IPRO, TMG 7061 IPRO, 97R50 IPRO, RK 6719 IPRO and M 5917 IPRO were classified in the group with the lowest k_1 STI index. The k_2 modified stress tolerance index (k_2 STI) separated soybean genotypes into six groups, and the two groups with the highest k_2 STI indexes were represented by genotypes TMG 2381 IPRO, 98R50 IPRO, RK 8115 IPRO and RK 8317 IPRO, while the group with the lowest k_2 STI index was represented by the genotypes TMG 7067 IPRO, TMG 7061 IPRO, 97R50 IPRO, HO Maracaí IPRO, BMX Foco IPRO, RK 6719 IPRO and M 5917 IPRO (Table 4).

The stress susceptibility percentage index (SSPI) classified soybean genotypes into nine distinct groups, with the two groups with the highest SSPI indices being represented by the genotypes ST 797 IPRO and RK 8317 IPRO, and the genotypes TMG 7067 IPRO, RK 7518 IPRO and M 5917 IPRO were classified in the group with the lowest SSPI index. The abiotic tolerance index (ATI) separated soybean genotypes into seven groups, in which the genotypes 98R50 IPRO and RK 8317 IPRO were classified in the two groups with the highest ATI index, while the group with the lowest ATI index was represented by genotypes TMG 7067 IPRO, TMG 7063 IPRO, TMG 7061 IPRO, 97R50 IPRO, RK

6719 IPRO, RK 7518 IPRO and M 5917 IPRO. The tolerance index based on the harmonic mean (HM) classified soybean genotypes into six groups, with genotypes TMG 2381 IPRO, 98R31 IPRO, 98R35 IPRO, RK 8115 IPRO and RK 8317 IPRO being grouped in the two groups with the largest HM indexes, and the genotypes TMG 7067 IPRO, TMG 7061 IPRO, 97R50 IPRO, RK 6719 IPRO and M 5917 IPRO were grouped in the group with the lowest HM index (Table 4).

The HM, YI, DI, k_1 STI and k_2 STI indexes separated the soybean genotypes into six groups, while the STI, GMP, YSI and ATI indexes separated genotypes into seven different groups. These results indicate that these drought tolerance indices were less sensitive to differentiate soybean genotypes in terms of drought tolerance. In turn, the MP index separated soybean genotypes into eight groups, and the TOL and SSPI indices separated genotypes into nine groups (Table 4). These results indicate that these tolerance indices are the most sensitive to identify and differentiate soybean genotypes in terms of drought tolerance. Menezes et al. (2014) evaluating eight drought tolerance indices, reported that the TOL and YSI indices were not adequate to differentiate drought tolerant grain sorghum genotypes. In another study, Naghavi et al. (2013) found that the STI, YI, SSPI, k_1 STI and k_2 STI indices were the most appropriate, and can be used to identify drought-tolerant corn genotypes.

Ranking Method

The ranking of the 22 soybean genotypes based on the different drought tolerance indexes calculated based on grain yield in irrigated system (Y_I) and under rainfed system with water restriction (Y_S) are shown in Table 5. The discrimination of the level of tolerance, or susceptibility of soybean genotypes to drought stress based on only a single criterion or drought tolerance index can be contradictory (Table 5). For example, according to the YSI index, genotypes RK 7518 IPRO, TMG 2381 IPRO and TMG 2383 IPRO were considered the most drought tolerant, while according to the MP, STI, GMP, YI, k_2 STI and HM indices, the genotypes RK 8317 IPRO, 98R35 IPRO and RK 8115 IPRO were considered the most drought tolerant. Therefore, differentiation and separation of genotypes at different levels of drought tolerance must be carried out considering all tolerance indices (Naghavi et al., 2013). In this sense, the ranking method has been used to classify genotypes in different levels of drought tolerance (Farshadfar et al., 2012).

Considering all drought tolerance indexes, soybean genotypes 98R35 IPRO, RK 8115 IPRO and RK 8317 IPRO were classified in the best average classification in the ranking method, receiving scores between 4.2 and 4.9 (Table 6) and, therefore, these genotypes were classified as drought tolerant. The genotypes TMG 7067 IPRO, TMG 7061 IPRO, RK 6719 IPRO and M 5917 IPRO

received the highest score in the ranking method and were then classified as susceptible to drought stress for cropping in the region of Cassilândia, State of Mato Grosso do Sul, Brazil (Table 6).

Table 5. Ranking, average ranking score (\bar{R}) and ranking standard deviation (RSD) for grain yield under irrigated (Y_P) and rainfed system (Y_S) and drought tolerance indices of 22 soybean genotypes under optimal environmental conditions (irrigated system) and under drought stress conditions (rainfed system) during the 2018/2019 growing season, in the municipality of Cassilândia, Mato Grosso do Sul, Brazil.

Genotype	Y_P	Y_S	TOL	MP	YSI	DI	STI	GMP	YI	k_1 STI	k_2 STI	SSPI	ATI	HM	$\bar{R}(\pm SD)$	Tolerance level [†]
TMG 2383 IPRO	13	6	7	11	3	4	9	9	6	13	6	17	15	6	8,9 ($\pm 3,5$)	MT
TMG 2381 IPRO	11	4	6	8	2	1	5	5	4	11	4	16	14	5	6,9 ($\pm 3,7$)	MT
TMG 2378 IPRO	6	10	18	6	19	15	6	6	10	6	10	5	5	7	9,2 ($\pm 3,8$)	MT
TMG 7067 IPRO	22	19	1	22	5	10	22	21	19	22	19	22	22	21	17,6 ($\pm 5,3$)	S
TMG 7063 IPRO	17	9	4	16	4	6	15	15	9	17	9	19	17	13	12,1 ($\pm 4,6$)	MS
TMG 2165 IPRO	12	8	10	13	6	5	11	12	8	12	8	13	13	9	10,0 ($\pm 2,3$)	MT
TMG 7061 IPRO	20	20	5	19	9	14	19	19	20	20	20	18	20	19	17,3 ($\pm 3,4$)	S
97R50 IPRO	18	18	8	18	10	17	18	18	18	18	18	15	19	18	16,5 ($\pm 2,4$)	MS
98R31 IPRO	5	7	17	4	13	9	4	4	7	5	7	6	4	4	9,9 ($\pm 2,7$)	MT
98R35 IPRO	2	3	20	2	14	8	2	2	3	2	3	3	2	3	4,9 ($\pm 3,9$)	T
HO Cristalino IPRO	9	11	15	9	17	12	10	10	11	9	11	8	9	11	10,9 ($\pm 1,7$)	MT
HO Maracá IPRO	14	17	12	17	15	18	17	17	17	14	17	11	11	17	15,3 ($\pm 2,1$)	MS
HO Paranaíba IPRO	15	15	11	15	11	11	16	16	15	15	15	12	12	16	13,9 ($\pm 1,8$)	MS
BMX Foco IPRO	8	16	16	10	20	21	13	13	16	8	16	7	8	15	13,4 ($\pm 3,8$)	MS
BMX Bónus IPRO	10	14	13	12	18	13	14	14	14	10	14	10	10	14	12,9 ($\pm 1,8$)	MS
ST 777 IPRO	7	13	19	7	21	19	8	8	13	7	13	4	6	12	11,2 ($\pm 4,5$)	MT
ST 797 IPRO	3	12	22	5	22	22	7	7	12	3	12	2	3	10	10,1 ($\pm 5,8$)	MT
RK 8115 IPRO	4	1	14	3	7	3	3	3	1	4	1	9	7	2	4,4 ($\pm 2,8$)	T
RK 6719 IPRO	19	22	9	20	12	20	20	20	22	19	22	14	18	20	18,4 ($\pm 2,9$)	S
RK 7518 IPRO	16	5	3	14	1	2	12	11	5	16	5	20	16	8	9,6 ($\pm 5,4$)	MT
RK 8317 IPRO	1	2	21	1	16	7	1	1	2	1	2	1	1	1	4,2 ($\pm 4,6$)	T
M 5917 IPRO	21	21	2	21	8	16	21	22	21	21	21	21	21	22	18,5 ($\pm 4,2$)	S

[†] T = refers to a drought-tolerant soybean genotype, receiving an average ranking score (\bar{R}) of 1 to 6.25; MT = moderately tolerant genotype with an average ranking score (\bar{R}) of 6.26 to 11.50; DM = moderately susceptible genotype with an average ranking score (\bar{R}) of 11.51 to 16.75; S = drought-sensitive soybean genotype with an average ranking score (\bar{R}) of 16.76 to 22. Source: The authors.

Multivariate Analysis of Hierarchical Clustering

The multivariate analysis of hierarchical clustering of the 22 soybean genotypes, based on grain yield in irrigated and rainfed conditions and on the 12 drought tolerance indexes, separated soybean genotypes in four groups with 5, 5, 4 and 8 genotypes, respectively (Figure 3). The first group was represented by the genotypes with the lowest drought tolerance indexes and, therefore, was considered the group most susceptible to drought stress. The second and fourth groups represented the genotypes with the intermediate values of drought tolerance indexes and, therefore, the genotypes belonging to these groups were classified as moderately susceptible and moderately tolerant to drought stress, respectively. In turn, the third group represented the genotypes with the highest drought tolerance indexes and, thus, classified as the most tolerant to the adverse effects of drought.

Therefore, soybean genotypes 98R35 IPRO, RK 8317 IPRO, 98R31 IPRO and RK 8115 IPRO were identified as the most drought tolerant, whereas genotypes TMG 7067 IPRO, RK 6719 IPRO, M 5917 IPRO, TMG 7061 IPRO and 97R50 IPRO were classified as the most sensitive to drought for cultivation conditions in the region of Cassilândia, Mato Grosso do Sul, Brazil (Figure 4).

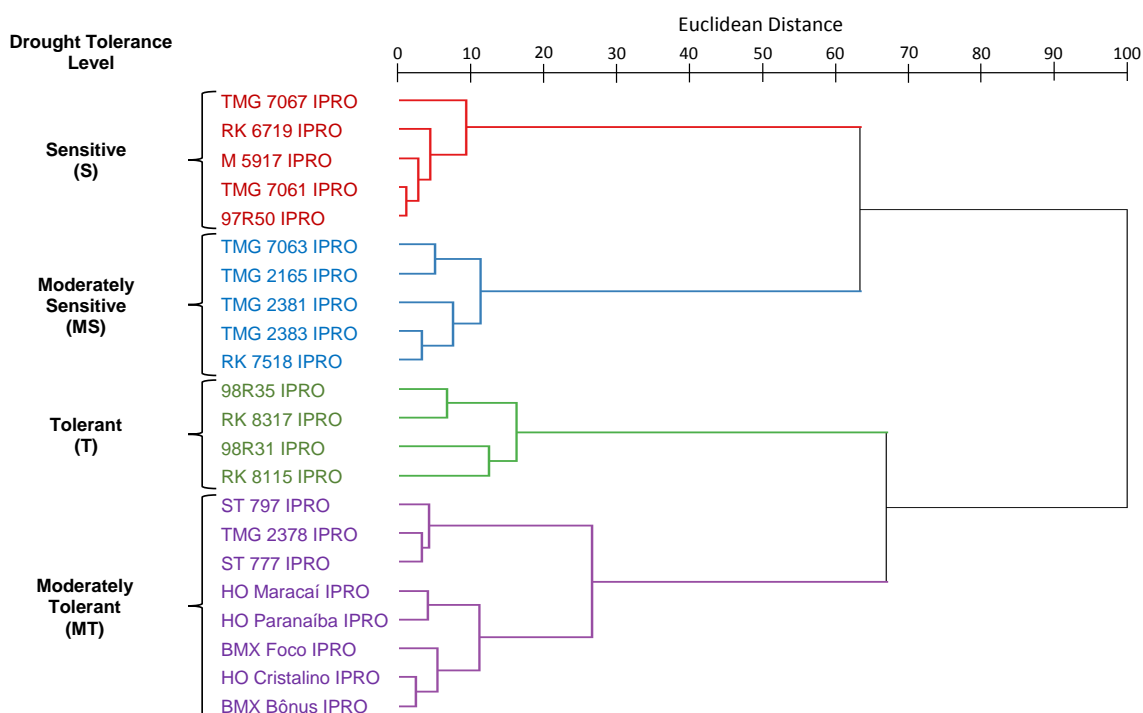


Figure 4. Dendrogram of the hierarchical cluster analysis of the 22 soybean genotypes based on Euclidean distance and Ward's minimum variance method using grain yield in irrigated system (Y_p) and rainfed system (Y_s) and drought tolerance indexes (TOL, MP, YSI, DI, STI, GMP, YI, k_1 STI, k_2 STI, SSPI, ATI and HM) during the 2018/2019 growing season, in the municipality of Cassilândia, Mato Grosso do Sul, Brazil. Source: The authors.

Principal Component Analysis (PCA)

The first principal component explains 61.25% of the total variance, while the second principal component explains 37.15% of the variation (Figure 5). According to the eigenvector value, the weights of the MP (-0.318), GMP (-0.315), STI (-0.313), YP (-0.311), k_1 STI (-0.308), HM (-0.301), ATI (-0.300), SSPI (-0.265), YS (-0.261), YI (-0.261) and k_2 STI (-0.258) are negative for this principal component. This indicates that the higher the value of these drought tolerance indexes, the lower the score of the first main component. Therefore, the higher the score of these drought tolerance indexes, the lower the score of the first main component, and then the genotype can be considered tolerant to water restriction.

The first principal component can be interpreted as a global performance index of the tolerance of soybean genotypes to drought. As the weights are negative, the higher the drought tolerance indexes, the lower the value of this component and the better the global tolerance index of the soybean genotype. Therefore, a lower score on the first principal component indicates that the genotype's tolerance index is better. The soybean genotypes RK 8317 IPRO, 98R35IPRO and RK 8115 IPRO had the best overall performance indexes, respectively, and, therefore, these genotypes were classified as tolerant to drought stress. In turn, the lowest global performance indices were observed in soybean genotypes TMG 7067 IPRO and M 5917 IPRO, and thus these genotypes were classified as sensitive to drought stress.

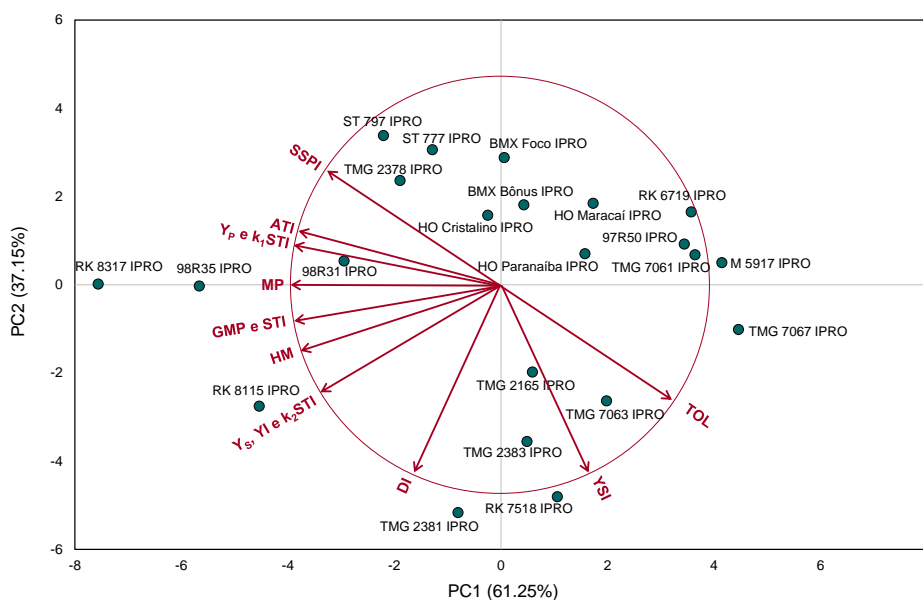


Figure 5. Biplot diagram based on the first and second principal components (PC) for grain yield of the 22 soybean genotypes under irrigated system (Y_P) and rainfed system (Y_S) and drought tolerance indexes (TOL, MP, YSI, DI, STI, GMP, YI, k_1 STI, k_2 STI, SSPI, ATI and HM) during the 2018/2019 growing season, in the municipality of Cassilândia, Mato Grosso do Sul, Brazil. Source: The authors.

In summary, the three multivariate analysis methods used in this study (ranking method, hierarchical cluster analysis and principal component analysis) grouped soybean genotypes RK 8115 IPRO, RK 8317 IPRO and 98R35 IPRO as drought tolerant (Table 5, Figures 4 and 5), whereas the genotype 98R31 IPRO was classified as drought tolerant only by the hierarchical cluster analysis method (Figure 4). Therefore, these soybean genotypes are the most suitable to be recommended for cropping in conditions with high probability of occurrence of water restriction in the Cerrado region.

The ranking, hierarchical cluster analysis and principal component analysis methods grouped 4, 5 and 2 soybean genotypes, respectively, as sensitive to drought stress (Table 5, Figures 4 and 5). The soybean genotypes TMG 7067 IPRO and M5917 IPRO were classified as sensitive to drought by the three methods of multivariate analysis. In turn, the genotypes TMG 7061 IPRO and RK 6719 IPRO were classified as sensitive to drought stress by the methods of ranking and hierarchical cluster analysis (Table 5 and Figure 5). Therefore, when soybean sowing is carried out in the Cassilândia region at a time with high probability of occurrence of water restriction during cultivation, these genotypes should not be recommended for sowing.

FINAL CONSIDERATIONS

The soybean genotypes 98R35 IRPO, RK 8317 IPRO and RK 8115 IPRO have greater tolerance to drought, and are the most suitable genotypes to be cultivated in Cerrado regions with occurrence of water restriction. In contrast, the genotypes TMG 7067 IPRO, M 5917 IPR, TMG 7061 IPRO and RK 6719 IPRO are more susceptible to water restriction, and should not be recommended for cultivation in the Cassilândia region under rainfed conditions with high probability of occurrence of water restriction.

The tolerance indexes MP, STI, GMP and HM were the most suitable to identify soybean genotypes with greater drought tolerance and with high grain yield potential in irrigated and rainfed systems in the region of Cassilândia, State of Mato Grosso do Sul, Brazil.

REFERENCES

Akçura M, Partigo F, Kaya Y (2011). Evaluating of drought stress tolerance based on selection indices in Turkish bread wheat landraces. *The Journal of Animal and Plant Sciences*, 21(8): 700-709.

- Bahrami-Radb S, Hajiboland R (2017). Effect of potassium application in drought-stressed tobacco (*Nicotiana rustica* L.) plants: Comparison of root with foliar application. *Annals of Agricultural Sciences*, 62(2): 121-130.
- Basu S, Ramegowda V, Kumar A, Pereira A (2016). Plant adaptation to drought stress. *F1000 Research*, 5: e1554.
- Blum A (1988). *Plant breeding for stress environments*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Bousslama M, Schapaugh WT (1984). Stress tolerance in soybean. Part 1: evaluation of three screening techniques for heat and drought tolerance. *Crop Science*, 24(9): 933-937.
- Catuchi TA, Guidorizzi FVC, Guidorizi KA, Barbosa AM, Souza GM (2012) Respostas fisiológicas de cultivares de soja à adubação potássica sob diferentes regimes hídricos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 47(4): 519-527.
- Companhia Nacional de Abastecimento – Conab (2020). *Acompanhamento da safra brasileira grãos: Safra 2019/2020*, Brasília: Conab.
- Dickie A, Magno I, Giampietro J, Dolginow A (2016). *Challenges and opportunities for conservation, agricultural production, and social inclusion in the Cerrado biome*. California Environmental Associates (CEA): San Francisco, CA-USA. 51p.
- El-Rawy MA, Hassan MI (2014). Effectiveness of drought tolerance indices to identify tolerant genotypes in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 17(4): 255-266.
- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa (2011). *Tecnologias de produção de soja: região central do Brasil*. Londrina: Embrapa Soja.
- Farshadfar, E.; Poursiahbidi, M.M.; Abooghadareh, A.R.P. (2012). Repeatability of drought tolerance indices in bread wheat genotypes. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 4(13), 891-903.
- Farshadfar E, Mohammadi R, Farshadfar M, Dabiri S (2013). Relationships and repeatability of drought tolerance indices in wheat-rye disomic addition lines. *Australian Journal of Crop Science*, 7(2): 130-198.
- Farshadfar E, Sutka J (2002). Multivariate analysis of drought tolerance in wheat substitution lines. *Cereal Research Communications*, 31(1): 33-39.
- Fernandez GCJ (1992). *Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance*. In: Proceedings of the International Symposium on Adaptation of Vegetables and other Food Crops in Temperature and Water Stress, Taiwan, p.257-270.
- Ferreira DF (2014). *Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons*. *Ciência e Agrotecnologia*, 38(2): 109-112.
- Fioreze SL, Pivetta LA, Fano A, Machado FR, Guimarães VF (2011). Comportamento de genótipos de soja submetidos a déficit hídrico intenso em casa de vegetação. *Revista Ceres*, 58(6): 342-349.


- Gavuzzi P, Rizza F, Palumbo M, Campaline RG, Ricciardi GL, Borghi B (1997). Evaluation of field and laboratory predictors of drought and heat tolerance in winter cereals. *Canadian Journal of Plant Science*, 77(4): 523-531.
- Gholinezhad E, Darvishzadeh R, Bernousi I (2014). Evaluation of drought tolerance indices for selection of confectionery sunflower (*Helianthus annuus* L.) landraces under various environmental conditions. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 42(3): 187-201.
- Jafari A, Paknejad F, Jami Al-Ahmadi M (2009). Evaluation of selection indices for drought tolerance of corn (*Zea mays* L.) hybrids. *International Journal of Plant Production*, 3(4): 33-38.
- Kron AP, Souza GM, Ribeiro RV (2008). Water deficiency at different developmental stages of *Glycine max* can improve drought tolerance. *Bragantia*, 67(1): 43-49.
- Mantovani D, Veste M, Boldt-Burisch K, Fritsch S, Koning LA, Freese D (2015). Carbon allocation, nodulation, and biological nitrogen fixation of black locust (*Robinia pseudoacacia* L.) under soil water limitation. *Annals Forestry Science*, 58(2): 259-274.
- Menezes CB, Ticona-Benavente CA, Tardin FD, Cardoso MJ, Bastos EA, Nogueira DW, Portugal AF, Santos CV, Schaffert RE (2014). Selection indices to identify drought-tolerant grain sorghum cultivars. *Genetics and Molecular Research*, 13(4): 9817-9827.
- Mertz-Henning LM, Ferreira LC, Henning FA, Mandarino JMG, Santos ED, Oliveira MCND, Nepomuceno AEL, Farias JRB, Neumaier N (2018). Effect of water deficit-induced at vegetative and reproductive stages on protein and oil content in soybean grains. *Agronomy*, 8(1): 1-11.
- Mohammadi R, Armion M, Kahrizi D, Amri A (2010). Efficiency of screening techniques for evaluating durum wheat genotypes under mild drought conditions. *International Journal of Plant Production*, 4(1): 11-24.
- Moosavi SS, Samadi BY, Naghavi MR, Zali AA, Dashti H, Pourshahbazi A (2008). Introduction of new indices to identify relative drought tolerance and resistance in wheat genotypes. *Desert*, 12(4): 165-178.
- Naghavi MR, Pour-Aboughadareh A, Khalili M (2013). Evaluation of drought tolerance indices for screening some of corn (*Zea mays* L.) cultivars under environmental conditions. *Notulae Scientia Biologicae*, 5(3): 388-393.
- Rosielle AA, Hamblin J (1981). Theoretical aspects of selection for yield in stress and non-stress environments. *Crop Science*, 21(8): 943-946.
- Sánchez-Reinoso AD, Ligarreto-Moreno GA, Restrepo-Díaz H (2020). Evaluation of drought indices to identify tolerant genotypes in common bean bush (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Integrative Agriculture*, 19(1): 99-107.

- Silva ER, Zoz J, Oliveira CES, Zuffo AM, Steiner F, Zoz T, Vendruscolo EP (2019). Can co-inoculation of *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* alleviate adverse effects of drought stress on soybean (*Glycine max* L. Merrill.)? *Archives of Microbiology*, 201(3): 325–335.
- Vieira EA, Silva MG, Moro CF, Laura VA (2017). Physiological and biochemical changes attenuate the effects of drought on the Cerrado species *Vatairea macrocarpa* (Benth.) Ducke. *Plant Physiology and Biochemistry*, 115(4): 472-483.
- Zoz T, Steiner F, Guimarães VF, Castagnara DD, Meinerz CC, Fey R (2013). Peroxidase activity as an indicator of water deficit tolerance in soybean cultivars. *Bioscience Journal*, 29(6): 1664-1671.

Identificação de cultivares de soja para tolerância à salinidade


Recebido em: 01/07/2020


Aceito em: 10/07/2020


 10.46420/9786588319024cap2


Rogério do Carmo Cabral¹ 

Simone Cândido Ensinas Maekawa² 

Vitória Carolina Dantas Alves¹ 

Laura Martins Ferreira¹ 

Sara da Silva Abes¹ 

Fábio Steiner^{1*} 

INTRODUÇÃO

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é uma das principais culturas oleaginosas do mundo. Com uma área plantada de 36,8 milhões de hectares e produção de 120,3 milhões de toneladas na safra 2019/2020 (Conab, 2020), o Brasil é um dos maiores produtores e exportadores de soja do mundo. Atualmente, a região do Cerrado é a maior produtora de soja do país, representando cerca de 60% da produção nacional (Dickie et al., 2016). A produção agrícola nesta região certamente continuará a ser um importante impulsionador do crescimento econômico agrícola do Brasil nos próximos anos.

Apesar desse cenário favorável para o cultivo de soja na região Centro-Oeste do Brasil, o desenvolvimento das plantas e a produção de grãos da cultura podem ser limitados pelo excesso de sais no solo ou na água de irrigação. Atualmente, o estresse salino tem se intensificado devido ao uso inadequado e excessivo de fertilizantes minerais, manejo inadequado da irrigação e da drenagem ou da irrigação com águas salinas (Gheyi et al., 2010). Os sais solúveis, normalmente, presentes na solução em solos salinos são: sódio (Na^+), cálcio (Ca^{2+}), (Mg^{2+}), potássio (K^+), cloreto (Cl^-), sulfato (SO_4^{2-}), bicarbonato (HCO_3^-), carbonato (CO_3^{2-}), borato (BO_3^{3-}) e nitrato (NO_3^-) (Chhabra, 1996). O aumento da concentração de sais solúveis na solução no solo altera o crescimento e desenvolvimento das plantas em virtude do aumento do potencial osmótico da solução, que reduz a absorção de água pelas sementes e pelas plantas, da acumulação de quantidade elevadas e fitotóxicas de vários íons, especialmente de

¹ Curso de Agronomia, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS), Rod. MS 306, km 6,4, CEP 795400-000, Cassilândia, MS, Brasil.

² Curso de Tecnologia em Produção Sucroalcooleira, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS), Rua Projetada A, CEP 79730-000, Glória de Dourados, MS, Brasil.

* Autor de correspondência: steiner@uems.br

sódio (Na^+) e cloro (Cl^-), e de distúrbios no balanço de íons (Acosta-Motos et al., 2017). Esses efeitos causam alterações adversas no metabolismo fisiológico e bioquímico do processo de germinação das sementes. Altos níveis de salinidade podem inibir a absorção de água pelas sementes, tornando a germinação impossível, enquanto o nível mais baixo de salinidade resulta no atraso do processo de germinação das sementes (Ibrahim, 2016; Steiner et al., 2019).

A germinação das sementes é a primeira e a fase mais sensível e crítica para o ciclo de vida das plantas, e o estresse salino é um dos principais fatores abióticos que restringem o adequado estabelecimento das culturas no campo (Petrović et al., 2016). A salinidade desempenha importante papel na determinação da taxa de germinação das sementes e no crescimento inicial das plantas (Patanè et al., 2013; Steiner et al., 2019). Portanto, os ensaios de tolerância à salinidade durante os estádios iniciais de crescimento das plantas são importantes para identificar genótipos superiores quando expostos às condições de salinidade. Isso porque um genótipo com germinação mais rápida sob condições de estresse salino, pode alcançar um rápido estabelecimento de plantas no campo, resultando em maiores rendimentos de grãos.

Muitos fatores podem afetar as respostas das plantas ao estresse salino, como genótipo, estágio de desenvolvimento, severidade e duração do estresse, dentre outros fatores ambientais (Patanè et al., 2013; Naghavi et al., 2013; Petrovic et al., 2016; Zuffo et al., 2020). Diferenças genéticas na tolerância aos estresses abióticos em condições de laboratório têm sido reportadas em cultivares de soja brasileiras (Zuffo et al., 2020), o que pode ser útil na identificação de genótipos mais adaptados a semeadura sob condições ambientais adversas. No entanto, embora alguns estudos tenham reportado os efeitos do estresse salino no processo de germinação das sementes de soja (Soares et al., 2015; Zuffo et al., 2020), nenhum estudo analisou os efeitos adversos da salinidade na germinação das sementes por meio dos métodos de análises multivariadas utilizando diferentes índices de tolerância de estresse.

Este estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar o nível de tolerância à salinidade de 25 cultivares de soja durante as fases de germinação e crescimento inicial das plântulas.

MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi realizado em condições de laboratório para testar os efeitos do estresse salino na germinação e no crescimento inicial de diferentes genótipos de soja. Sementes de um total de 25 cultivares comerciais de soja foram adquiridas diretamente das empresas detentoras do seu registro no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Inicialmente, foram determinados o teor de água, massa de mil sementes e taxa de germinação das sementes. As principais características agrônômicas e intrínsecas das sementes são mostradas na Tabela 1.

Tabela 1. Características agronômicas, teor de água, massa de mil sementes e germinação das 25 cultivares de soja [*Glycine max* (L.) Merrill.] utilizadas no estudo.

Cultivar	Características Agronômicas		Teor de água	Massa de 1000 sementes (g)	Germinação	
	Ciclo ¹	GMR	Tipo de crescimento		(%)	(%)
TMG 2383 IPRO	120	8,3	Semideterminado	9,51	175	87
TMG 2381 IPRO	120	8,1	Indeterminado	9,77	160	100
TMG 2378 IPRO	125	7,8	Semideterminado	8,96	165	96
TMG 7067 IPRO	112	7,2	Semideterminado	9,87	170	100
TMG 7063 IPRO	110	7,0	Indeterminado	9,75	175	86
TMG 2165 IPRO	112	6,5	Indeterminado	9,14	180	98
TMG 7061 IPRO	110	6,1	Indeterminado	10,17	185	98
97R50 IPRO	115	7,5	Indeterminado	8,15	190	100
98R31 IPRO	130	8,3	Indeterminado	9,89	175	97
98R35 IPRO	130	8,3	Indeterminado	9,57	180	98
HO Cristalino IPRO	125	8,3	Indeterminado	8,93	160	100
HO Maracaí IPRO	120	7,7	Indeterminado	9,60	170	87
HO Paranaíba IPRO	115	7,4	Indeterminado	9,75	210	93
BMX Foco IPRO	110	7,2	Indeterminado	9,11	175	83
BMX Bônus IPRO	120	7,9	Indeterminado	9,42	185	100
ST 777 IPRO	108	7,7	Indeterminado	9,41	155	100
ST 797 IPRO	110	7,9	Indeterminado	9,45	150	100
RK 8115 IPRO	120	8,1	Indeterminado	9,02	200	96
RK 6719 IPRO	105	6,7	Indeterminado	9,57	190	100
RK 7518 IPRO	112	7,5	Indeterminado	10,08	180	100
RK 8317 IPRO	125	8,3	Indeterminado	10,46	185	88
M 5917 IPRO	95	5,9	Indeterminado	9,42	170	93
NS 8399 IPRO	120	8,3	Indeterminado	9,02	185	89
NS 7007 IPRO	98	7,1	Indeterminado	9,77	210	99
NS 7505 IPRO	118	7,5	Indeterminado	8,97	200	84

¹ Ciclo médio, em dias, da emergência ao ponto de colheita. GMR: Grupo de maturidade relativa. Fonte: Dados da pesquisa.

As sementes foram previamente desinfecionadas, por imersão durante 10 minutos, em solução de hipoclorito de sódio 1% (v/v). Em seguida procedeu-se à lavagem em água corrente e,

posteriormente, foram colocadas para germinar sob condições de estresse salino induzido por solução com potencial osmótico de $-0,30$ MPa preparada com cloreto de sódio (NaCl). A quantidade de NaCl adicionada para obter a solução com potencial osmótico de $-0,30$ Mpa, foi calculada pela equação de van't Hoff (Hillel, 1971): $\Psi_s = -RTC_i$, onde R é a constante universal dos gás nobres ($0,008314$ MPa mol⁻¹ K⁻¹); T é a temperatura absoluta ($273,15 + ^\circ\text{C}$); C é a concentração molar do soluto (mol L⁻¹); e i é o fator de van't Hoff, ou seja, a razão entre a quantidade de partículas na solução e a quantidade de íons dissolvidos [isto é, para NaCl este valor é 2,0 (Na⁺ e Cl⁻)]. Como tratamento controle foi utilizado água destilada com potencial osmótico $\Psi_s = 0,00$ MPa.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro repetições de 50 sementes. Os tratamentos foram constituídos pela exposição ou não das sementes, das 25 cultivares de soja, ao estresse salino. Quatro subamostras de 50 sementes foram colocadas para germinar sobre três folhas de papel-toalha Germitest[®], previamente umedecidas com a água destilada ou solução salina em quantidade equivalente a 2,5 vezes a massa seca do papel. Em seguida, foram confeccionados rolos, os quais foram mantidos em sala de germinação sob temperatura constante de 25 °C e fotoperíodo de 12 horas, durante 10 dias (Figura 1). O fungicida Vitavax–Thiram[®] foi adicionado às soluções na concentração de 0,2% (v/v) para controlar a infecção por fungos. O detalhe do processo inicial da germinação das sementes de soja aos cinco dias após a semeadura é mostrado na Figura 2.



Figura 1. Ilustração da disposição dos rolos de germinação para as sementes de soja na sala de germinação. UEMS/Cassilândia, 2019. Fonte: Os autores.

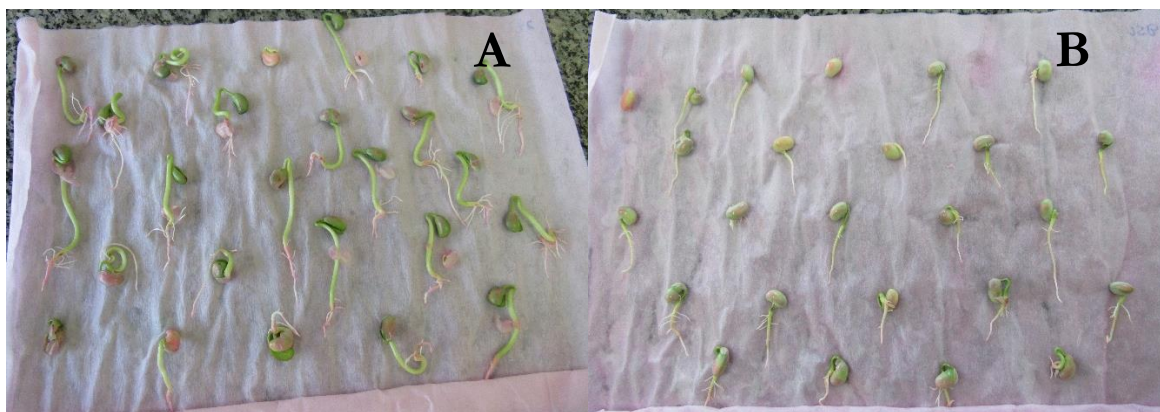


Figura 2. Ilustração das plântulas de soja com cinco dias de germinação sob condições controle (A) e sob condições de estresse salino (B). UEMS/Cassilândia, 2019. Fonte: Os autores.

Foram consideradas sementes germinadas aquelas que apresentaram protrusão da radícula, com no mínimo 10,0 mm de comprimento. Após a determinação da taxa de germinação, 10 plântulas foram escolhidas aleatoriamente para a mensuração do comprimento e da matéria seca da parte aérea e das raízes. O comprimento da parte aérea (CPA) e das raízes (CR) foi mensurado com auxílio de uma régua graduada em milímetros. A matéria seca da parte aérea (MSPA) e das raízes (MSR) foi determinada em balança analítica após secagem do material vegetal em estufa à 85 °C, por 48 h.

Os índices de tolerância de estresse (ITE) foram calculados, a partir dos dados de germinação, comprimento de plântulas e de matéria seca de plântulas expostas às condições de estresse salino e condições controle, utilizando-se as seguintes equações propostas por Partheeban et al. (2017):

$$ITE-G = \left(\frac{\text{Germinação de sementes sob estresse}}{\text{Germinação de sementes do controle}} \right) \times 100$$

$$ITE-CPA = \left(\frac{\text{Comprimento da parte aérea das plantas sob estresse}}{\text{Comprimento da parte aérea das plantas do controle}} \right) \times 100$$

$$ITE-CR = \left(\frac{\text{Comprimento da raiz das plantas sob estresse}}{\text{Comprimento da raiz das plantas do controle}} \right) \times 100$$

$$ITE-CT = \left(\frac{\text{Comprimento total das plantas sob estresse}}{\text{Comprimento total das plantas do controle}} \right) \times 100$$

$$ITE-MSPA = \left(\frac{\text{Matéria seca da parte aérea das plantas sob estresse}}{\text{Matéria seca da parte aérea das plantas do controle}} \right) \times 100$$

$$ITE-MSR = \left(\frac{\text{Matéria seca das raízes das plantas sob estresse}}{\text{Matéria seca das raízes das plantas do controle}} \right) \times 100$$

$$ITE-MSR = \left(\frac{\text{Matéria seca total das plantas sob estresse}}{\text{Matéria seca total das plantas do controle}} \right) \times 100$$

Os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias das cultivares de soja foram agrupadas pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. As análises foram realizadas utilizando-se o software Sisvar versão 5.6 para Windows (Ferreira, 2011).

A identificação dos cultivares tolerantes e, ou suscetíveis ao estresse salino foi realizada com base em todos os índices de tolerância de estresse (ITE), por meio do método do ranqueamento, conforme apresentado por Farshadfar et al. (2012). O cultivar com o maior valor para cada um dos índices de tolerância de estresse recebeu uma pontuação de classificação igual a 1, ao passo que o cultivar com o menor valor para cada um dos índices de tolerância de estresse, recebeu uma pontuação de classificação igual a 25. Foram calculados a pontuação média do ranqueamento (\bar{R}) e o desvio padrão dos ranqueamentos (DP_R) para todos os índices de tolerância de estresse dos 25 cultivares de soja em condições de estresse salino.

A discriminação dos cultivares de soja quanto ao nível de tolerância à salinidade foi realizada com base na pontuação média do ranqueamento de cada cultivar, considerando-se o valor do quartil que divide as 25 posições possíveis do ranqueamento em quatro partes iguais. Portanto, um cultivar com pontuação média do ranqueamento abaixo do valor do primeiro quartil (<7,0 pontos) é classificado como tolerante (T) à salinidade; um cultivar com pontuação média entre o valor do primeiro e segundo quartil (7,0 a 13,0 pontos) é classificado como moderadamente tolerante (MT) ao estresse salino; um cultivar com pontuação média do ranqueamento entre o valor do segundo e terceiro quartil (13,1 a 19,0 pontos) é classificado como moderadamente suscetível (MS) ao estresse salino; e, por sua vez, o grupo de cultivares suscetíveis (S) à salinidade é representado pelos cultivares com pontuação média do ranqueamento acima do valor do terceiro quartil (>19,0 pontos).

As análises multivariadas pelo método de agrupamento hierárquico, foram realizadas com base na distância Euclidiana e no método de variância mínima de Ward para classificar os 25 cultivares de soja em diferentes níveis de tolerância ao estresse salino (cultivares tolerantes, moderadamente tolerantes, moderadamente suscetíveis e cultivares suscetíveis). A análise de componentes principais (ACP), com base na matriz de covariância dos índices de tolerância de estresse e análise biplot, foram realizadas utilizando-se o software estatístico Action Stat Pro[®] versão 3.6 para Windows.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O índice de tolerância de estresse para a germinação (ITE-G) permitiu separar os cultivares de soja em quatro grupos, sendo que o grupo com maior índice de tolerância ao estresse salino foi representado pelos cultivares TMG 2383 IPRO, TMG 2378 IPRO, M 5917 IPRO, ST 777IPRO, 98R31 IPRO e 98R35 IPRO. Por sua vez, os cultivares HO Cristalino IPRO, HO Maracaí IPRO e HO

Paranaíba IPRO foram agrupados no grupo de menor índice de tolerância ao estresse salino (Tabela 2). O valor do ITE-G foi inferior a 100% para todos os cultivares de soja, indicando que o estresse salino afetou negativamente o processo de germinação das sementes de soja. Resultados semelhantes foram reportados por Soares et al. (2015), os quais constataram que a germinação das sementes de soja foi negativamente afetada pelo estresse salino induzido por NaCl. Isso ocorreu porque a salinidade, além de inibir a taxa de germinação das sementes pela redução do potencial hídrico, também pode causar efeitos fitotóxicos específicos devido à absorção dos íons Na^+ e Cl^- (Acosta-Motos et al., 2017).

O índice de tolerância de estresse para o comprimento da parte aérea (ITE-CPA) permitiu separar os cultivares de soja em quatro grupos; os cultivares TMG 2383 IPRO e 98R31 IPRO representaram o grupo com maior índice de tolerância ao estresse salino, ao passo que os cultivares HO Cristalino IPRO, HO Maracaí IPRO, HO Paranaíba IPRO, BMX Foco IPRO e NS 8399 IPRO representaram o grupo com menor índice de tolerância ao estresse salino. O índice de tolerância de estresse para o comprimento radicular (ITE-CR) permitiu enquadrar os cultivares em três grupos, sendo que os cultivares TMG 2383 IPRO, 98R31 IPRO, ST 797 IPRO e M 5917 IPRO foram classificados no grupo de maior índice de tolerância ao estresse salino, ao passo que o grupo de menor índice de tolerância ao estresse salino foi representado pelos cultivares TMG 2381 IPRO, TMG 7061 IPRO, HO Cristalino IPRO, HO Paranaíba IPRO, BMX Foco IPRO, RK 7518 IPRO, NS 8399 IPRO e NS 7505 IPRO (Tabela 2).

O ITE-CPA em condições de estresse salino variou de 35 a 82%, enquanto o ITE-CR em condições de estresse salino variou de 36 a 107% (Tabela 2). Em condições de estresse salino, o comprimento da parte aérea das plantas representou, em média, apenas 57% do comprimento da parte aérea das plantas do tratamento controle. Por sua vez, o comprimento das raízes sob condições de estresse salino representou, em média, 70% do comprimento das raízes do tratamento controle. Estes resultados indicam que o crescimento da parte aérea das plantas de soja foi mais afetado pelas condições de estresse salino quando comparado ao crescimento das raízes. Durante a exposição aos estresses abióticos, as plantas exibem uma ampla gama de respostas em níveis molecular, genético e celular, incluindo alterações fisiológicas, morfológicas e de desenvolvimento (inibição do crescimento da parte aérea e do sistema radicular), além de alterações nas vias metabólicas (síntese de osmólitos e de enzima antioxidante e degradação de proteínas) (Roychoudhury et al., 2013).

Tabela 2. Índices de tolerância de estresse (ITE) para a germinação e o crescimento inicial das plântulas dos 25 cultivares de soja [*Glycine max* (L.) Merrill.] expostas ao estresse salino. UEMS, Cassilândia (MS), 2019

Cultivar	ITE-G	ITE-CPA	ITE-CR	ITE-CT	ITE-MSPA	ITE-MSR	ITE-MST
	----- (%) -----						
TMG 2383 IPRO	95 a	82 a	92 a	86 a	94 a	124 a	99 a
TMG 2381 IPRO	87 b	55 c	52 c	53 c	74 b	81 c	76 b
TMG 2378 IPRO	93 a	60 b	69 b	64 b	87 a	99 b	90 a
TMG 7067 IPRO	88 b	63 b	72 b	67 b	88 a	119 a	97 a
TMG 7063 IPRO	90 b	52 c	69 b	59 c	90 a	106 b	95 a
TMG 2165 IPRO	83 c	62 b	82 b	72 b	75 b	97 b	82 b
TMG 7061 IPRO	85 b	55 c	56 c	56 c	72 b	101 b	82 b
97R50 IPRO	91 b	63 b	83 b	72 b	82 a	116 a	92 a
98R31 IPRO	96 a	71 a	89 a	80 a	83 a	100 b	88 a
98R35 IPRO	94 a	66 b	77 b	72 b	84 a	121 a	94 a
HO Cristalino IPRO	74 d	42 d	51 c	46 d	61 c	74 c	65 c
HO Maracaí IPRO	76 d	38 d	66 b	52 c	86 a	106 b	91 a
HO Paranaíba IPRO	74 d	35 d	52 c	42 d	57 c	76 c	62 c
BMX Foco IPRO	89 b	46 d	47 c	46 d	63 c	77 c	67 c
BMX Bônus IPRO	87 b	48 c	72 b	58 c	76 b	96 b	81 b
ST 777 IPRO	95 a	63 b	74 b	68 b	86 a	121 a	93 a
ST 797 IPRO	89 b	66 b	95 a	82 a	78 b	95 b	83 b
RK 8115 IPRO	83 c	56 c	75 b	66 b	87 a	91 c	88 a
RK 6719 IPRO	90 b	52 c	73 b	62 b	78 b	100 b	85 b
RK 7518 IPRO	81 c	58 b	58 c	58 c	72 b	91 c	78 b
RK 8317 IPRO	86 b	66 b	84 b	73 b	86 a	69 c	82 b
M 5917 IPRO	94 a	68 b	107 a	85 a	96 a	94 b	95 a
NS 8399 IPRO	87 b	41 d	46 c	44 d	44 d	65 c	51 d
NS 7007 IPRO	90 b	54 c	75 b	64 b	90 a	87 c	89 a
NS 7505 IPRO	86 b	55 c	36 c	43 d	87 a	83 c	85 b
Média	87	57	70	63	79	96	83
CV (%)	5,59	12,51	16,75	10,99	10,98	15,25	8,81

Média seguida de letras distintas, na coluna, mostra diferença significativa pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. CV: coeficiente de variação. ITE-G: Índice de tolerância de estresse para germinação. ITE-CPA: Índice de tolerância de estresse para comprimento da parte aérea. ITE-CR = Índice de tolerância de estresse para comprimento da raiz. ITE-CT: Índice de tolerância de estresse para comprimento total das plantas. ITE-MSPA: Índice de tolerância de estresse para matéria seca da parte aérea. ITE-MSR: Índice de tolerância de estresse para matéria seca das raízes. ITE-MST: Índice de tolerância de estresse para matéria seca total das plantas. Fonte: Os autores.

O índice de tolerância de estresse para o comprimento total (ITE-CT) das plântulas de soja permitiu classificar as cultivares em quatro grupos de tolerância; os cultivares TMG 2383 IPRO, 98R31 IPRO, ST 797 IPRO e M 5917 IPRO foram enquadrados no grupo com maior índice de tolerância ao estresse salino, e os cultivares HO Cristalino IPRO, HO Paranaíba IPRO, BMX Foco IPRO, NS 8399 IPRO e NS 7505 IPRO ficaram restritos ao grupo de menor índice de tolerância ao estresse salino (Tabela 2). O comprimento total das plântulas de todas as cultivares de soja foi inibido pelas condições de estresse salino, o que foi evidenciado pelos valores de ITE-CT, menores que 100%. O menor crescimento das plantas de soja provocado pelos estresses abióticos é causada pela redução da expansão celular (Taiz et al., 2017). Ao reduzir a pressão de turgor, o estresse osmótico suprime a expansão e o crescimento celular, afetando o metabolismo, crescimento e estabelecimento das plântulas (Jaleel et al. 2009).

O ITE-MSPA permitiu separar os cultivares de soja em quatro grupos, sendo que o grupo com maior índice de tolerância ao estresse salino foi representado por 14 cultivares de soja, e o cultivar NS 8399 IPRO ficou restrito ao grupo com menor índice de tolerância ao estresse salino. O ITE-MSR permitiu agrupar os cultivares de soja em três grupos de tolerância; os cultivares TMG 2383 IPRO, TMG 7067 IPRO, 97R50 IPRO, 98R35 IPRO e ST 777 IPRO foram enquadrados no grupo de maior índice de tolerância ao estresse salino, ao passo que o grupo com menor índice de tolerância ao estresse salino foi representado por 10 cultivares de soja. O ITE-MST permitiu classificar os cultivares de soja em quatro grupos de tolerância; o grupo com maior índice de tolerância ao estresse salino foi representado por 12 cultivares de soja, e o cultivar NS 8399 IPRO foi enquadrado no grupo com menor índice de tolerância ao estresse salino (Tabela 2).

Considerando todos os índices de tolerância de estresse, o método do ranqueamento agrupou, respectivamente, 5, 9, 7 e 4 cultivares de soja como tolerantes, moderadamente tolerantes, moderadamente suscetíveis e suscetíveis ao estresse salino (Tabela 3).

Para os cultivares de soja TMG 2383 IPRO, 98R31 IPRO, 98R35 IPRO, ST 777 IPRO e M 5917 IPRO se registrou pontuação média inferior a 7,0, sendo por isso classificados como tolerantes ao estresse salino. Por sua vez, os cultivares HO Cristalino IPRO, HO Paranaíba IPRO, BMX Foco IPRO e NS 8399 IPRO foram classificados como suscetíveis ao estresse salino, em virtude do registro quanto à pontuação média do ranqueamento (\bar{R}), ser maior que 19,1 (Tabela 3).

Tabela 3. Ranqueamento, pontuação média do ranqueamento (\bar{R}) e desvio padrão do ranqueamento (DP_R) para os índices de tolerância de estresse salino para os 25 cultivares de soja [*Glycine max* (L.) Merrill.]. UEMS, Cassilândia (MS), 2019.

Cultivar	Índice de Tolerância de Estresse (ITE)							\bar{R}	DP_R	Nível de Tolerância†
	G	CPA	CR	CT	MSPA	MSR	MST			
TMG 2383 IPRO	2	1	3	1	2	1	1	1,6	0,7	T
TMG 2381 IPRO	14	16	20	19	19	20	21	18,4	2,0	MS
TMG 2378 IPRO	6	11	16	13	7	11	9	10,4	2,7	MT
TMG 7067 IPRO	13	9	13	10	5	4	2	8,0	3,7	MT
TMG 7063 IPRO	9	18	15	15	3	7	4	10,1	5,0	MT
TMG 2165 IPRO	21	10	7	6	18	12	16	12,9	4,7	MT
TMG 7061 IPRO	19	14	19	18	21	8	18	16,7	3,3	MS
97R50 IPRO	7	8	6	7	14	5	8	7,9	1,8	MT
98R31 IPRO	1	2	4	4	13	9	12	6,4	4,2	T
98R35 IPRO	5	6	8	8	12	2	5	6,6	2,4	T
HO Cristalino IPRO	25	22	21	22	22	23	23	22,6	0,9	S
HO Maracaí IPRO	23	24	17	20	11	6	7	15,4	6,4	MS
HO Paranaíba IPRO	24	25	20	25	24	22	24	23,4	1,4	S
BMX Foco IPRO	11	21	22	21	22	21	22	20,0	2,6	S
BMX Bônus IPRO	15	20	14	16	17	13	19	16,3	2,0	MS
ST 777 IPRO	3	7	11	9	9	3	6	6,9	2,4	T
ST 797 IPRO	12	4	2	3	16	14	15	9,4	5,5	MT
RK 8115 IPRO	20	13	9	11	8	17	11	12,7	3,4	MT
RK 6719 IPRO	10	19	12	14	15	10	14	13,4	2,4	MS
RK 7518 IPRO	22	12	18	17	20	16	20	17,9	2,4	MS
RK 8317 IPRO	17	5	5	5	10	24	17	11,9	6,4	MT
M 5917 IPRO	4	3	1	2	1	15	3	4,1	3,1	T
NS 8399 IPRO	16	23	23	23	25	25	25	22,9	2,0	S
NS 7007 IPRO	8	17	10	12	4	18	10	11,3	3,8	MT
NS 7505 IPRO	18	15	24	24	6	19	13	17,0	4,9	MS

† T = refere-se a um cultivar de soja tolerante ao estresse salino, recebendo pontuação média do ranqueamento (\bar{R}) de 1 a 7,0; MT = cultivar moderadamente tolerante com pontuação média do ranqueamento (\bar{R}) de 7,1 a 13,0; MS = cultivar moderadamente suscetível com pontuação média do ranqueamento (\bar{R}) de 13,1 a 19,0; S = cultivar de soja suscetível ao estresse salino com a pontuação média do ranqueamento (\bar{R}) de 19,1 a 25. Fonte: Os autores.

A análise multivariada de agrupamento hierárquico dos 25 cultivares, com base em todos os índices de tolerância de estresse salino, agrupou os cultivares de soja em quatro grupos contendo 4, 8,

8 e 5 cultivares (Figura 3). O primeiro grupo representou os cultivares com os menores índices de tolerância de estresse e, portanto, foi considerado o grupo dos cultivares suscetíveis ao estresse salino. O segundo grupo representou os cultivares com os maiores índices de tolerância de estresse e, assim, foram classificados como os cultivares tolerantes ao estresse salino. Por sua vez, o terceiro e quarto grupo representou os cultivares com valores intermediários dos índices de tolerância de estresse e, portanto, os cultivares pertencentes a esses grupos foram classificados como moderadamente tolerante e moderadamente suscetível à salinidade, respectivamente.

Diante do exposto, os cultivares TMG 7067 IPRO, 98R50 IPRO, 98R35 IPRO, ST 777 IPRO, TMG 2383 IPRO, M 5917 IPRO, 98R31 IPRO e ST 797 IPRO foram classificados como os mais tolerantes ao estresse salino, ao passo que os cultivares HO Cristalino IPRO, HO Paranaíba IPRO, BMX Foco IPRO e NS 8399 IPRO foram classificados como as mais suscetíveis ao estresse salino (Figura 3).

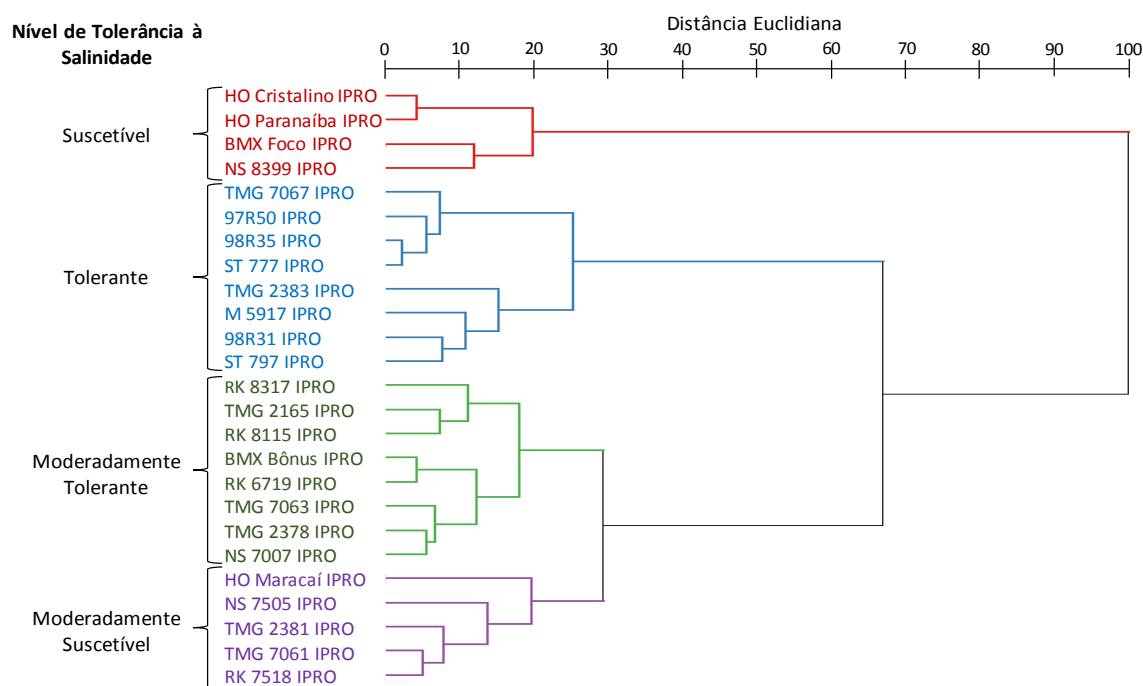


Figura 3. Dendrograma da análise de agrupamento hierárquico dos 25 cultivares de soja com base na distância Euclidiana e no método de variância mínima de Ward utilizando os índices de tolerância de estresse salino (ITE-G, ITE-CPA, ITE-CR, ITE-CT, ITE-MSPA, ITE-MSR e ITE-MST). UEMS/Cassilândia, 2019. Fonte: Os autores.

O primeiro componente principal explica 72,59% da variação total, e de acordo com a os valores dos autovetores, os pesos dos índices ITE-CR (-0,513), ITE-MSR (-0,441), ITE-CT (-0,412), ITE-

MST (-0,361), ITE-MSPA (-0,350) e ITE-CPA (-0,317) são negativamente altos para esse componente. Isso indica que quanto maior o valor desses índices de tolerância, menor é o escore do primeiro componente principal e, então, o cultivar pode ser considerado tolerante ao estresse salino. Portanto, o primeiro componente principal pode ser entendido como um índice global da tolerância dos cultivares de soja.

O escore mais baixo no primeiro componente indica a maior tolerância dos cultivares de soja à salinidade. Para os cultivares de soja TMG 2383 IPRO, M5917 IPRO, 98R35 IPRO, 98R31 IPRO, ST 777 IPRO, TMG 7067 IPRO e ST 797 IPRO se registraram os menores escores, e, portanto, estes cultivares foram classificados como tolerantes ao estresse salino. Por sua vez, os maiores escores registrados nos cultivares de soja NS 8399 IPRO, HO Paranaíba IPRO, HO Cristalino IPRO, BMX Foco IPRO e NS 7505 IPRO, classificam estes cultivares de soja como suscetíveis ao estresse salino (Figura 4).

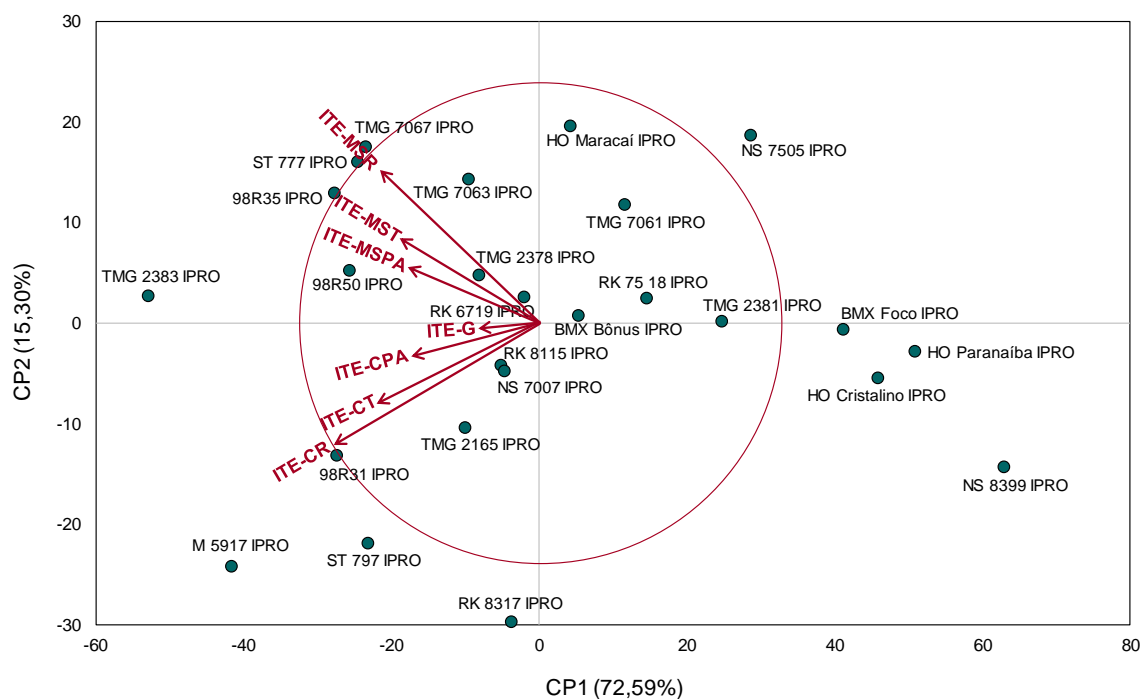


Figura 4. Diagrama biplot com base no primeiro e segundo componente principal dos índices de tolerância ao estresse salino (ITE-G, ITE-CPA, ITE-CR, ITE-CT, ITE-MSPA, ITE-MST e ITE-MR). UEMS/Cassilândia, 2019. Fonte: Os autores.

Em síntese, os três métodos de análises multivariadas (método do ranqueamento, análise de agrupamento hierárquico e análise de componente principal) classificou os cultivares TMG 2383 IPRO, 98R31 IPRO, 98R35 IPRO, ST 777 IPRO e M5917 IPRO como tolerantes ao estresse salino (Tabela

2, Figuras 3 e 4). Além destes, os cultivares ST 797 IPRO e TMG 7067 IPRO também foram classificados como tolerante ao estresse salino pelos métodos da análise de agrupamento hierárquico e análise dos componentes principais (Figuras 3 e 4). Por outro lado, os cultivares de soja NS 8399 IPRO, HO Paranaíba IPRO, HO Cristalino IPRO e BMX Foco IPRO foram classificados como suscetíveis ao estresse salino pelos três métodos de análise multivariada utilizados.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os cultivares de soja TMG 2383 IPRO, 98R31 IPRO, 98R35 IPRO, ST 777 IPRO, M5917 IPRO, ST 797 IPRO e TMG 7067 foram classificados com maior tolerância à salinidade, e são os cultivares mais indicados para serem semeados em condições de alta concentração de sais na solução do solo.

Os cultivares de soja NS 8399 IPRO, HO Paranaíba IPRO, HO Cristalino IPRO e BMX Foco IPRO possuem maior suscetibilidade ao estresse salino, e não devem ser recomendados para o cultivo em condições de solos salinos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS


- Acosta-Motos JR, Ortuño MF, Bernal-Vicente A, Diaz-Vivancos P, Sanchez-Blanco MJ, Hernandez JA (2017). Plant responses to salt stress: adaptive mechanisms. *Agronomy*, 7: 1-18.
- Chhabra R (1996). *Soil salinity and water quality*. A.A. Balkema Publishers: Rotterdam, 283p.
- Companhia Nacional de Abastecimento – Conab (2020). *Acompanhamento da Safra Brasileira Grãos*, v. 6, Safra 2019/2020. 81p.
- Dickie A, Magno I, Giampietro J, Dolginow A (2016). *Challenges and opportunities for conservation, agricultural production, and social inclusion in the Cerrado biome*. California Environmental Associates (CEA): San Francisco, CA-USA. 51p.
- Farshadfar E, Poursiahbidi MM, Abooghadareh ARP (2012). Repeatability of drought tolerance indices in bread wheat genotypes. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 4(13): 891-903.
- Ferreira DF (2011). Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, 35(6): 1039-1042.
- Gheyi HR, Dias NS, Lacerda CF (2010). *Manejo da Salinidade na Agricultura*. Estudos Básicos e Aplicados. INCT Sal.: Fortaleza, 472p.
- Hillel D (1971). *Soil and water: physical principles and process*. New York: Academic Press, 288p.
- Ibrahim EA (2016). Seed priming to alleviate salinity stress in germinating seeds. *Journal of Plant Physiology*, 192: 38-46.

- Jaleel CA, Manivannan P, Wahid A, Farooq M, Al-Juburi HJ, Somasundaram R, Panneerselvam R (2009). Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. *International Journal of Agriculture Biology*, 11(1): 100-105.
- Naghavi MR, Pour-Aboughadareh A, Khalili M (2013). Evaluation of drought tolerance indices for screening some of corn (*Zea mays* L.) cultivars under environmental conditions. *Notulae Scientia Biologicae*, 5(3):388-393.
- Partheeban C, Chandrasekhar CN, Jeyakumar P, Ravikesavan R, Gnanam R (2017). Effect of PEG induced drought stress on seed germination and seedling characters of maize (*Zea mays* L.) genotypes. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(5): 1095-1104.
- Patanè C, Saita A, Sortino O (2013). Comparative effects of salt and water stress on seed germination and early embryo growth in two cultivars of sweet sorghum. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 199: 30-37.
- Petrović G, Jovičić D, Nikolić Z, Tamindžić G, Ignjatov M, Milošević D, Milošević B (2016). Comparative study of drought and salt stress effects on germination and seedling growth of pea. *Genetika*, 48(1): 373-381.
- Roychoudhury A, Paul S, Basu S (2013). Cross-talk between abscisic acid-dependent and abscisic acid-independent pathways during abiotic stress. *Plant Cell Reports*, 32(7): 985-1006.
- Soares MM, Santos-Junior HC, Simões MG, Pazzin D, Silva LJ (2015). Estresse hídrico e salino em sementes de soja classificadas em diferentes tamanhos. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 45(4): 370-378.
- Steiner F, Zuffo AM, Busch A, Sousa TO, Zoz T (2019). Does seed size affect the germination rate and seedling growth of peanut under salinity and water stress? *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 49: e54353.
- Taiz L, Zeiger E, Møller IM, Murphy A (2017). *Fisiologia e desenvolvimento vegetal*. Artmed: Porto Alegre, 858p.
- Zuffo AM; Steiner F, Aguilera JG, Teodoro PE, Teodoro LPR, Busch A (2020). Multi-trait stability index: A tool for simultaneous selection of soya bean genotypes in drought and saline stress. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 206: 1-8.


Co-inoculation of peanut with *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* promotes greater tolerance to drought

Received at: 01/07/2020

Accepted at: 10/07/2020


 10.46420/9786588319024cap3

Gabriela da Silva Freitas¹ 

Giselle Feliciani Barbosa¹ 

Hector José Valerio Ardon¹ 

Vitória Carolina Dantas Alves¹ 

Laura Martins Ferreira¹ 

Fábio Steiner^{1*} 

INTRODUCTION

Peanut (*Arachis hypogaea* L.) is one of the main oil crops in the world. Brazil is the second largest producer and exporter of peanuts in Latin America with 470 thousand tons, surpassed only by Argentina, which annually produces around 1.0 million tons (Conab, 2020). Peanut cultivation has been an excellent diversification alternative for family farmers, especially due to its multiple uses and high energy and nutritional value (Nakagawa; Rosolem, 2011). However, the occurrence of water deficiency has often limited the development and productivity of culture in all producing regions of Brazil (Ferrari-Neto et al., 2012; Pereira et al., 2012; Martins, 2013). Therefore, studies that aim to evaluate management strategies that mitigate the negative effects of water restriction are important for agricultural research.

Drought results in the reduction of transpiration rate, stomatal conductance, photosynthetic rate (Vieira et al. 2017), and may lead to changes in the root growth rate, initiation rate of the reproductive structures and the rate of leaf initiation and expansion (Silva et al., 2019). Also, drought stress alters the activity of the nitrogen and carbon metabolism enzymes, as well as cause changes in the antioxidant levels (Mantovani et al. 2015). An early response to drought stress is a reduction in leaf area and plant growth rate, which allows plants to reduce their transpiration rate, thus increasing water use efficiency (WUE) (Xu et al. 2010). Plant response to drought stress includes morphological and biochemical changes. However, this response depends on several factors such as developmental stage, severity, and duration of stress and cultivar genetics.

¹ Curso de Agronomia, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS), Rod. MS 306, km 6,4, CEP 795400-000, Cassilândia, MS, Brasil.

* Autor de correspondência: steiner@uems.br

Many factors can affect plant responses to drought stress, such as genotype, stage of plant development, severity, and duration of water restriction (Patanè et al., 2013; Naghavi et al., 2013; Petrovic et al., 2016), among other environmental factors. The peanut development stages most sensitive to water stress are the plant emergence and pod formation (fruiting) phases (Ferrari-Neto et al., 2012). The occurrence of water restriction during these two periods of development results, respectively, in the failure to establish the plant stand and in reducing the filling of grains, which compromises the yield of crop pods (Nakagawa; Rosolem, 2011).

Among the management practices which can be adopted to mitigate the deleterious effects of drought stress, the use of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) along with rhizobia has been increasing in recent years (Gusain et al. 2015; Agami et al. 2016; Vurukonda et al., 2016; Silva et al., 2019; Souza et al., 2020). The PGPR may promote plant growth by regulating plant hormones, improve nutrition acquisition and symbiotic nitrogen fixation, siderophore production, and enhance the antioxidant system (Perrig et al., 2007; Hungria et al., 2013; Inagaki et al., 2014; Chibeba et al., 2015; Fukami et al., 2018). Also, some PGPR may also infer more specific plant growth-promoting traits, such as drought tolerance (Naveed et al. 2014; Agami et al. 2016; Silva et al., 2019).

Bacteria of the genus *Azospirillum* are, certainly, the most employed PGPR in Brazil and worldwide (Hungria e Nogueira, 2013; Agami et al. 2016; Vurukonda et al., 2016; Silva et al., 2017; Silva et al., 2019; Souza et al., 2020), but the beneficial effects of the association of *Azospirillum* with rhizobia, when both are applied in the leguminous plants, are still incipient and contradictory (Chibeba et al. 2015; Fipke et al. 2016; Zuffo et al. 2016; Bulegon et al. 2017). Recent research results have shown that co-inoculation of rhizobia and *Azospirillum brasilense* improves seed germination, plant growth, root branching and nodulation of soybean plants (Bulegon et al. 2017; Silva et al., 2019). Furthermore, *Azospirillum* can stimulate root hair formation and root growth, increasing the volume of soil explored by the root system, which can help plants to overcome environmental stresses (Chibeba et al. 2015; Bulegon et al. 2017; Fukami et al., 2018). However, the effects of the co-inoculation of these rhizobacteria in improving the tolerance of peanut crops to water deficiency are still incipient and inconclusive.

This study was designed to investigate the effectiveness of inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum brasilense* either alone or in combination on the growth and tolerance of peanut plants [*Arachis hypogaea* L., cv. RUNNER IAC 886] to drought stress.

MATERIAL AND METHODS

The experiment was carried out under greenhouse conditions in Cassilândia, MS, Brazil (19°05'29" S, 51°28'29" W, and altitude of 535 m), in 12-L plastic pots, where the midday photosynthetic

photon flux density was $980 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, the mean air temperature was $26.8 \text{ }^\circ\text{C}$ during the day and was $23.4 \text{ }^\circ\text{C}$ during the night, and mean relative humidity was 68%.

The soil used in the experiments was a sandy Arenic Entisol collected from the plow layer in a savanna area with 130 g kg^{-1} of clay, 30 g kg^{-1} of silt, and 840 g kg^{-1} of sand. The soil had the following properties: pH in $\text{CaCl}_2 = 4.5$; P (Mehlich-1) = 4.8 mg dm^{-3} ; K (Mehlich-1) = 31 mg dm^{-3} ; Al^{3+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , $\text{H}^+ + \text{Al}^{3+} = 0.55, 1.30, 0.40, 3.70 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$, respectively; CEC = $5.48 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; base saturation = 32%; and organic matter = 6.5 g dm^{-3} . The field capacity, or its equivalent for soils in pots, the "pot capacity", was measured under free draining conditions using the decrease rate of water content of $0.1 \text{ g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ as previously recommended by Casaroli and Lier (2008), and the soil moisture content at pot capacity (PC) was 210 g kg^{-1} .

Lime (36% CaO, 14% MgO and ECC 85%) was incorporated into each pot at the rate of 820 mg dm^{-3} of soil to raise soil base saturation to 60% (Sousa; Lobato, 2004). The limed soil was then moistened and maintained for 40 days with water content close to pot capacity. After this period, soil was fertilized with 30 mg dm^{-3} of N (urea), 250 mg dm^{-3} of P (triple superphosphate), 100 mg dm^{-3} of K (potassium chloride), 15 mg dm^{-3} of S (gypsum), 2 mg dm^{-3} of Cu (copper sulfate), 2 mg dm^{-3} of Zn (zinc sulfate), 1 mg dm^{-3} of Mo (ammonium molybdate), and then subjected to peanut cropping.

The experiment was arranged in a randomized block design, using four inoculation treatments [control (uninoculated), inoculation with *Bradyrhizobium japonicum*, inoculation with *Azospirillum brasilense*; co-inoculation with *B. japonicum* and *A. brasilense*] and three levels of drought stress [100% of PC (well-watered control), 50% of PC (moderate stress) and 25% of PC (severe stress)], considering a factorial arrangement (4×3) with four replicates.

A total of 96 pots were used – 8 pots per treatment. Four replicates were used for destructive samplings, including leaf area (LA) and dry matter production of plants after 18 days of drought stress. The other four pots were used for the measurement of leaf relative water content and electrolyte leakage from cells during the 18 days of drought stress and after 3 day's recovery of plants in well-watered conditions. Each plastic pot was filled with 14 kg (or 10.5 dm^3) of air-dried soil and, sieved in a 4.0 mm mesh.

Seed inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* was carried out with the commercial liquid inoculant Simbiose Nod Soja[®] (Simbiose: Biological Agrotechnology) containing the SEMIA 5079 and SEMIA 5080 strains (minimum concentration of 7.2×10^9 viable cells per mL), at a rate of 3 mL kg^{-1} of seed. For the inoculation with *Azospirillum brasilense*, the commercial liquid inoculant AzoTotal[®] (Total Biotechnology) containing the AbV₅ and AbV₆ strains (minimum concentration of 2.0×10^8 viable cells per mL) was used, at a rate of 4 mL kg^{-1} of seed. The co-inoculation was performed by mixing the two rhizobacteria at the same proportions used when inoculated alone, that is, 3 mL of

inoculant containing *B. japonicum* + 4 mL of inoculant containing *A. brasilense* per kilogram of seed. The amount of inoculants used were added to a solution containing 2 mL kg⁻¹ of additive for inoculant Protege[®] TS (Total Biotecnologia), and then both products (inoculant + additive) were applied to the seeds. The inoculant additive consists of active metabolites of bacteria, sugar complex and encapsulating biopolymers, and has the purpose of improving the protection and viability of the bacteria on the seeds.

Seven peanut seeds from cultivar RUNNER IAC 886 previously inoculated with the respective treatments were sown in each plastic pot, and seven days after seedling emergence, seedlings were thinned to two plants per pot. The peanut cultivar used in the experiment has a creeping growth habit, 100-grain mass of 48 to 60 g, and an average cycle ranging from 125 to 135 days. Until the beginning of peg development (R2 growth stage), the soil water content was maintained at pot capacity (210 g kg⁻¹) with daily irrigation. Posteriorly, the plants were divided into three groups of water regimes [well-watered control (100% of PC), moderate stress (50% of PC) and severe stress (25% of PC)]. The plants were kept under different water regime for 18 days and evaluated by the third day after rehydration (well-watered conditions). In a previous trial, a three-day period was sufficient for the full recovery of peanut plants subjected to severe drought stress. The soil water content was monitored daily at 9:00 h and 15:00 h using humidity sensors installed at 12 cm depth. The soil moisture content (SMC, g kg⁻¹) during the 18 days of exposure to drought stress and 3-days recovery of the peanut plants under well-watered conditions was determined by the gravimetric method as described by Embrapa (1997). The effect of water stress on the growth of peanut plants is shown in Figure 1.

The water status of the plants was determined by the leaf relative water content (RWC) at 1, 3, 6, 9, 12, 15 and 18 days after starting the drought stress and at 3 days after recovery. Twenty leaf discs of 8.5 mm diameter were collected at 5:00 h (pre-dawn) from two pot plants. RWC was calculated according to the equation: $RWC (\%) = [(FW - DW)/(TW - DW)] \times 100$, where FW is the fresh weight, DW is the dry weight, after drying in the oven at 60 °C for 48 h. Turgor weight (TW) was determined by subjecting leaves to rehydration for 6 h at 25 °C.

Leaf membrane stability index (MSI) was assessed after 18 days of drought stress and 3-d recovery as described by Lutts et al. (1996). Twenty leaf discs of 8.5 mm diameter were thoroughly washed in distilled water, placed in closed tubes containing 30 mL of deionized water and incubated at 25 °C in a water bath for 6 h. Then the electrical conductivity of the solution was recorded by EC meter (C₁). Subsequently, the same samples were placed in a boiling water bath (100 °C) for 1 h, and their electrical conductivity (C₂) was also recorded after equilibration at 25 °C. The membrane stability index was calculated according to the following formula: $MSI (\%) = [1 - (C_1/C_2)] \times 100$.



Figure 1. Detail of the growth of peanut plants cv. RUNNER IAC 886 coinoculated with *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum brasilense* and grown with 100% (control), 50% (moderate stress) and 25% (severe stress) of the maximum water retention capacity of the soil for 18 days. UEMS, Cassilândia, MS, Brazil, 2018. Source: The authors.

After the 18th day of exposure to drought stress, the plants were harvested and then the plant height, leaf area, root volume, and dry matter of the plant parts were measured. The plants were separated into leaves, stem, and roots, oven-dried at 65 °C for three days and then weighed. The shoot dry matter was obtained from the sum of the dry matter of the stem and leaves. The total dry matter was obtained from the sum of all plant parts (stem, leaves, and roots).

Leaf area (LA) was determined following the methodology described by Benincasa (2003). Fifteen discs were detached from basal, median, and apical leaves. Total LA was estimated using the following equation: $LA = [(A_D \times TDM_L) / DM_D]$, where A_D is the known area of the detached leaf discs, TDM_L is the total dry matter of the leaves, and DM_D is the dry matter of the detached leaf discs. Root volume (RV, $\text{cm}^3 \text{ plant}^{-1}$) was determined by water displacement using a calibrated cylinder of 250 mL.

The data normality was previously tested by the Kolmogorov-Smirnov test ($p < 0.05$) and then data were submitted to analysis of variance (ANOVA), and means were compared Tukey test at the 0.05 level of confidence. All analyses were performed using Sisvar[®] version 5.6 software for Windows (Statistical Analysis Software, UFPA, Lavras, MG, BRA).

RESULTS AND DISCUSSION

The inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum brasilense* either alone or in combination did not significantly affect ($p > 0.05$) the leaf relative water content (RWC) until the 9th day of exposure of plants to water restriction (Table 1). At 12, 15 and 18 days of water restriction, plants

co-inoculated with *B. japonicum* and *A. brasilense* showed higher CRA when compared to non-inoculated plants (Table 1). These results indicate that the co-inoculation with rhizobia and azospirilla mitigated the water loss of the peanut leaves during the period of exposure of the plants to drought stress. This increase in RWC may be due to the beneficial effect of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on improving the plant water status under drought conditions as reported in other crops. Inoculation of *A. brasilense* in wheat plants (*Triticum aestivum*) under drought stress-induced an increase in leaf water content, which was attributed to the production of plant hormones such as auxin by the PGPR that enhanced root growth and formation of lateral roots thereby increasing uptake of water and nutrients under water restriction (Arzanesh et al. 2011). Similarly, maize plants (*Zea mays*) inoculated with *A. brasilense* and *Herbaspirillum seropedicae* exhibited higher RWC in the leaf tissue and better osmoregulation in drought conditions (Curá et al. 2017).

Table 1. Effects of (co)inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* and/or *Azospirillum brasilense* and drought stress levels on the leaf relative water content (RWC) of peanut (*Arachis hypogaea* L., cv. RUNNER IAC 886) at pre-dawn during 18 days of exposure to drought stress and after 3 days of recovery of the plants under non-stress conditions. UEMS, Cassilândia, MS, Brazil, 2018

Causes of variation	Days after the imposition of drought stress							
	1 st	3 rd	6 th	9 th	12 th	15 th	18 th	21 st (†)
Inoculation treatment								
Non-inoculated plants	88 a	86 a	77 a	74 a	76 b	72 b	72 b	90 a
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	88 a	85 a	80 a	76 a	80 ab	73 b	75 ab	91 a
<i>Azospirillum brasilense</i>	89 a	86 a	80 a	78 a	81 ab	76 a	77 a	90 a
<i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	90 a	85 a	82 a	80 a	83 a	78 a	79 a	90 a
Drought stress level								
Control (100% PC)	91 a	92 a	91 a	92 a	91 a	90 a	92 a	92 a
Moderate stress (50% PC)	88 a	85 b	79 b	80 b	78 b	79 b	76 b	89 a
Severe stress (25% PC)	87 a	78 c	70 c	62 c	57 c	53 c	50 c	90 a
CV (%)	5.31	6.28	4.87	6.34	5.86	6.12	7.83	5.61

Mean followed by distinct letters for the factors inoculation and drought stress show significant differences (Tukey test, $P \leq 0.05$). PC: pot capacity. CV: coefficient of variation. (†) Relative water content (RWC) measured after three days of recovery of the plants under non-stress conditions. Source: The authors.

The RWC of the control plants under well-watered conditions remained constant with values reaching from 90 to 92% (Table 1). Drought stress caused a decrease in the RWC of peanut plants with values reaching 85% and 76% (moderate stress) and 78% and 50% (severe stress) at 3 and 18 days, respectively (Table 1). The decrease of 42% (severe stress) in the leaf RWC at 18 days resulted in decreased turgescence, chlorosis mainly in the old leaves, and high leaf abscission rate. After rehydration, RWC reached values similar to the control plants, restoring the leaf turgescence (Table 1). Water stress adversely affects many physiological processes in plants, and the decrease in leaf relative water content is one of the first adverse effects of drought (Taiz et al., 2017).

The inoculation with *B. japonicum* and *A. brasilense* and water restriction levels significantly affects ($p < 0.05$) the leaf membrane stability index (MSI) of peanut plants (Table 2). Plants inoculated with *B. japonicum* and *A. brasilense* either alone or in combination resulted in higher MSI when compared to non-inoculated plants (Table 2). These results indicate that damage to cell membranes caused by drought was reduced by inoculation of *A. brasilense* alone or in association with rhizobia. A similar result was reported by Abbasi et al. (2013) who showed that soybean co-inoculation with *B. japonicum*, *Azotobacter chroococcum* and *A. brasilense* in drought stress conditions improved membrane integrity when compared to non-inoculated plants. This improvement in the stability of plant cell membranes with the inoculation of *A. brasilense* and rhizobia may be due to activation of the antioxidant defense system by PGPR, enhancing drought tolerance in plants (Gusain et al. 2015). According to Vurukonda et al. (2016), PGPR-mediated changes in the integrity of the cell membranes is one of the first steps towards enhanced tolerance to water deficiency.

Drought stress led to a significant decrease in membrane stability index (Table 2). The lower stability of leaf membranes observed in peanut plants under water restriction conditions indicates that cell membrane injury was increased. Under drought stress conditions, plants produce reactive oxygen species (ROS) such as hydrogen peroxide (H_2O_2), superoxide anion radicals (O_2^-), and hydroxyl radicals (OH). These ROS react with proteins, lipids and deoxyribonucleic acid causing oxidative damage and impairing the cell membrane permeability (Vurukonda et al. 2016). The damage caused by ROS on cell integrity is due to the lipid peroxidation of cellular membranes (Taiz et al., 2017).

Table 2. Effects of (co)inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* and/or *Azospirillum brasilense* on the leaf membrane stability index (MSI) of peanut plants [*Arachis hypogaea* L., cv. RUNNER IAC 886] under non-stress conditions (control) or plants exposed to 50% pot capacity (moderate drought stress) and 25% pot capacity (severe drought stress) for 18-days and after 3-days of plant recovery under non-stress conditions. UEMS, Cassilândia-MS, 2018

Inoculation	Water restriction level			Mean
	Control	Moderate stress	Severe stress	
	(100% PC)	(50% PC)	(25% PC)	
After 18 days of water stress				
Uninoculated plants	89.20	79.18	71.12	79.83 b
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	91.32	83.51	77.58	84.10 a
<i>Azospirillum brasilense</i>	93.10	84.62	79.61	85.78 a
<i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	93.25	85.48	83.42	87.38 a
Mean	91.72 A	83.20 B	77.93 C	
CV (%)	9.81			
After 3 days of plant recovery				
Uninoculated plants	89.08	81.78	78.78	83.21 b
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	89.49	88.10	86.38	88.00 a
<i>Azospirillum brasilense</i>	90.72	89.36	89.48	89.85 a
<i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	90.10	90.70	91.32	90.71 a
Mean	89.85 A	87.48 B	86.49 B	
CV (%)	8.34			

Mean followed by distinct lowercase letters, for inoculation treatment (in the column) or distinct uppercase letters, for the drought levels (in the line) show significant differences (Tukey test, $p \leq 0.05$). CV: coefficient of variation. Source: The authors.

The inoculation with *A. brasilense* alone or combined with *B. japonicum* resulted in greater plant height under severe stress conditions (Figure 2A). Bulegon et al. (2016) also showed that inoculation with *A. brasilense* and *B. japonicum* resulted in higher height of soybean plants. According to Fukami et al. (2018), *A. brasilense* has the ability to produce plant hormones, such as indolacetic acid (AIA) and gibberellic acid, which improve the growth rate of plants. However, these effects were not observed

under conditions of adequate water availability (control) and under moderate water restriction (Figure 2A).

In control conditions, the leaf area was significantly larger in plants inoculated with *A. brasilense*, whereas under moderate and severe drought stress the inoculation of *B. japonicum* alone or in combination with *A. brasilense* did not significantly affect ($p > 0, 05$) the leaf area of peanut plants (Figure 2B). The root volume of plants under control conditions was significantly higher with the co-inoculation of *B. japonicum* and *A. brasilense*, whereas under conditions of severe drought stress the largest root volume was obtained in plants inoculated with *B. japonicum* alone (Figure 1C). The *A. brasilense* can promote plant growth through the production of plant hormones, mainly indole-3-acetic acid (IAA), which can help plants overcome environmental stresses, inducing the formation of lateral roots and increased growth roots (Chibeba et al., 2015; Vurukonda et al., 2016).

The inoculation with *A. brasilense* alone and combined with *B. japonicum* resulted in an increase of 21% in the shoot dry matter production of the plants under control conditions and under severe drought stress (Figure 2D). The inoculation of *A. brasilense* alone or in combination with *B. japonicum* resulted in greater production of root dry matter under conditions of severe drought stress (Figure 2E). Plants inoculated with *B. japonicum* and *A. brasilense* alone or in combination had higher total dry matter production when compared to non-inoculated plants and exposed to severe drought stress (Figure 2F).

In general, these results suggest that the inoculation of *B. japonicum* and *A. brasilense* either *alone* or in *combination* led to an increase in the growth of peanut plants grown under water restriction conditions, resulting in higher dry matter production (Figure 2). Specifically, plants co-inoculated with both bacteria produced 19% more shoot and root dry matter than non-inoculated plants (Figure 2D and 2D). These results show that the co-inoculation of *PGPR* and rhizobia has a synergistic effect on the growth of peanut plants, as reported in other crops, such as soybeans (Chibeba et al., 2015; Silva et al., 2019) and common beans (Hungary et al., 2013). Bai et al. (2003) showed that co-inoculation of soybean plants with *B. japonicum* and *Bacillus* strains provided the largest increases in shoot dry matter, root dry matter, and total biomass. Use of *Azospirillum* may *improve* effectiveness of *Bradyrhizobium* by improving the availability of N, due to symbiotic nitrogen fixation (Chibeba et al. 2015; Fipke et al. 2016) and by producing plant hormones that stimulate plant growth (Cassán et al. 2009; Curá et al. 2017; Bulegon et al. 2017) among other factors.

The plant height, leaf area, root volume and dry matter production were drastically reduced with drought stress (Figure 2). Plants exposed to severe drought stress had on average a reduction of plant height, leaf area, root volume and shoot and root dry matter of 32%, 44%, 47%, 35 and 38%, respectively, when compared to plants under well-watered conditions (Figure 2). These results report the typical response of plants to drought stress usually reported in the literature (Zoz et al., 2013; Naveed

et al., 2014; Curá et al., 2017; Silva et al., 2019). One of the first processes affected in response to decreased soil water availability is cell expansion, highly dependent process turgidity of the plants (Taiz et al., 2017). However, with the advancement of drought, other physiological processes are affected, with direct effects on the photoassimilates accumulated by the plant, reduction in the carbon assimilation rate and relative growth rate (Pineiro; Chaves, 2011). As a result of these effects, there is a reduction in leaf area and dry matter production. The reduction of leaf area and leaf production occurs as a defense reaction of plants to drought, reducing transpiration rate and therefore, the water loss to the atmosphere (Taiz et al., 2017).

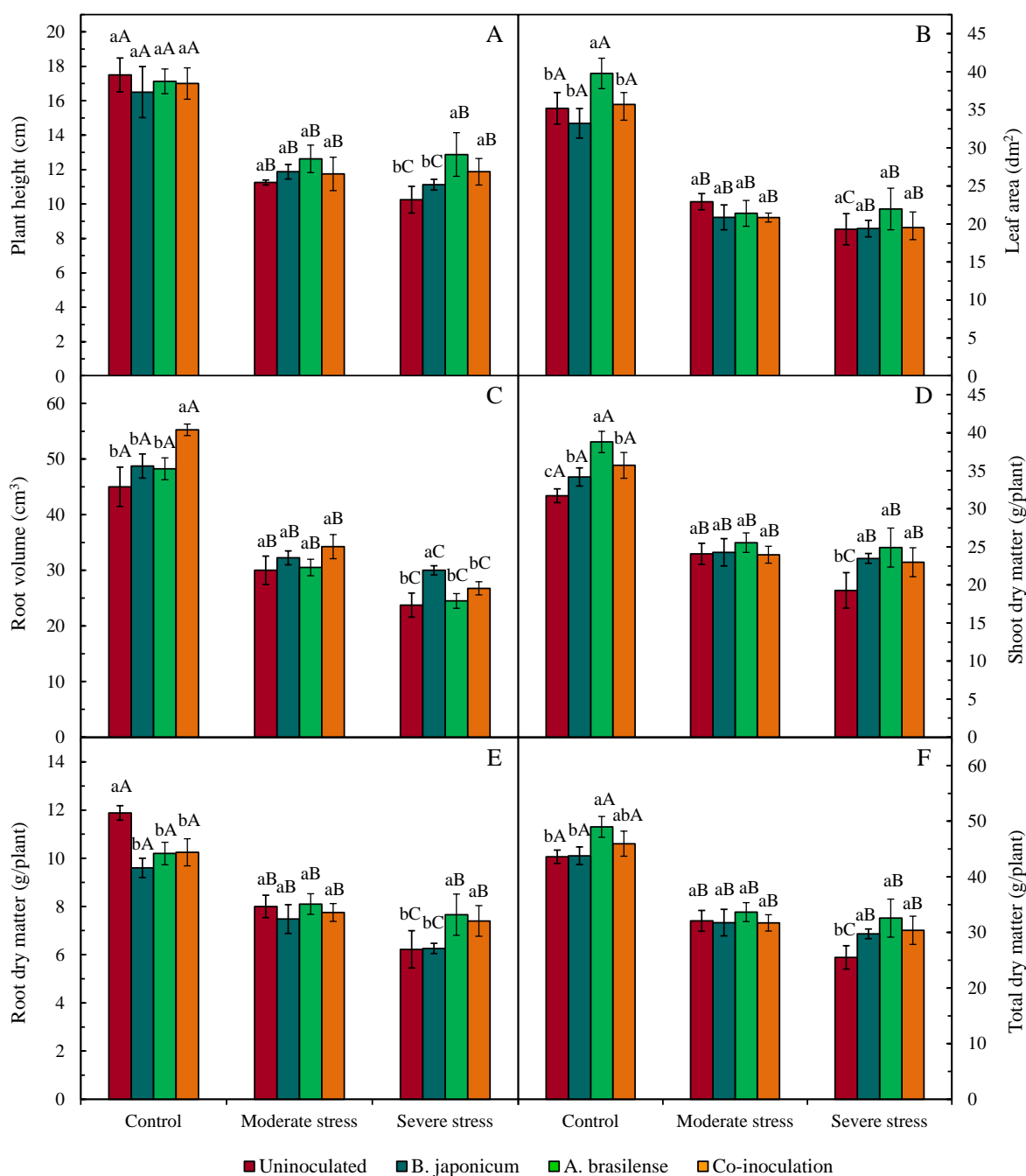


Figure 2. Effects of (co)inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* and/or *Azospirillum brasilense* on the plant height (A), leaf area (B), root volume (C), shoot dry matter (D), root dry matter (E), and total dry matter (F) of peanut plants [*Arachis hypogaea* L., cv. RUNNER IAC] under non-stress conditions (control) or plants exposed to 50% pot capacity (moderate drought stress) and 25% pot capacity (severe drought stress) for 18 days. Bars followed by distinct lowercase letters, for inoculation treatment or distinct uppercase letters, for the drought levels show significant differences (LSD test, $p \leq 0.05$). Data refer to mean values ($n = 4$) \pm standard error. UEMS, Cassilândia-MS, 2018. Source: The authors.

FINAL CONSIDERATIONS

The inoculation of peanut plants with *B. japonicum* and *A. brasilense* either *alone* or in *combination* improved leaf membrane stability and minimized water loss from peanut leaves when exposed to drought stress. In addition, inoculation with *A. brasilense* alone or in combination with *B. japonicum* resulted in higher plant height and greater root dry matter under conditions of severe drought stress. Therefore, our results suggest that inoculation with *B. japonicum* and *A. brasilense* either *alone* or in *combination* can mitigate the adverse effects of drought stress, maintaining the growth and dry matter accumulation of plants when exposed to water restriction un greenhouse conditions. Thus, important contributions from the use of biological and low-cost technologies are being made available to peanut farmers in the Cerrado region. However, the beneficial effects of the use of co-inoculation of bacteria of the genus *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* in the cropping of peanut crop under Cerrado conditions must be confirmed with further studies under field conditions.

REFERENCES

- Abbasi S, Zahedi H, Sadeghipour O, Akbari R (2013). Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on physiological parameters and nitrogen content of soybean grown under different irrigation regimes. *Research on Crops*, 14(3): 798-803.
- Agami RA, Medani RA, Abd El-Mola IA, Taha RS (2016). Exogenous application with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) or proline induces stress tolerance in basil plants (*Ocimum basilicum* L.) exposed to water stress. *International Journal of Environmental & Agriculture Research*, 2(5):78-92.
- Arzanesh MH, Alikhani HA, Khavazi K, Rahimian HA, Miransari M (2011). Wheat (*Triticum aestivum* L.) growth enhancement by *Azospirillum* sp. under drought stress. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(2): 197-205.

- Bai Y, Zhou-Xiao M, Smith DL (2003). Enhanced soybean plant growth resulting from coinoculation of *Bacillus* strains with *Bradyrhizobium japonicum*. *Crop Science*, 43(5): 1774-1781.
- Benincasa MPM (2003). *Análise de crescimento de plantas: noções básicas*. Jaboticabal: FUNEP.
- Bulegon LG, Rampim L, Klein J, Kestring D, Guimarães VF, Battistus AG, Inagaki AM (2016). Componentes de produção e produtividade da cultura da soja submetida à inoculação de *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*. *Terra Latinoamericana*, 34(2): 169-176.
- Bulegon LG, Guimarães VF, Klein J, Battistus AG, Inagaki AM, Offmann LC, Souza AKP (2017). Enzymatic activity, gas exchange and production of soybean co-inoculated with *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum brasilense*. *Australian Journal of Crop Science*, 11(7): 888-896.
- Casaroli D, Lier QJ (2008) Critérios para determinação da capacidade de vaso. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 32(1): 59-66.
- Chibeba AM, Guimarães MF, Brito OR, Nogueira MA, Araujo RS, Hungria M (2015). Co-inoculation of soybean with *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* promotes early nodulation. *American Journal of Plant Sciences*, 6(10): 641-1649.
- Companhia Nacional de Abastecimento - CONAB. (2020). *Levantamento da safra 2019/2020: grãos*. Brasília: Conab.
- Curá JA, Franz DR, Filosofia JE, Balestrasse KB, Burgueño LE (2017). Inoculation with *Azospirillum* sp. and *Herbaspirillum* sp. bacteria increases the tolerance of maize to drought stress. *Microorganisms*, 5(3): e41.
- Embrapa - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (1997). Centro Nacional de Pesquisa de Solos. *Manual de métodos de análise do solo*. 2.ed. Rio de Janeiro. 212p
- Fipke GM, Conceição GM, Grando LF, Teleken L, Nunes RL, Ubirajara R, Martin TN (2016). Co-inoculation with diazotrophic bacteria in soybeans associated to urea topdressing. *Ciência e Agrotecnologia*, 40(5): 522-533.
- Ferrari-Neto J, Costa CHM, Castro GSA (2012). Ecofisiologia do amendoim. *Scientia Agraria Paranaensis*, 11(4): 1-13.
- Fukami J, Cerezini P, Hungria M (2018). Azospirillum: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. *AMB Express*, 8(73): 1-12.
- Gusain YS, Singh US, Sharma AK (2015). Bacterial mediated amelioration of drought stress in drought tolerant and susceptible cultivars of rice (*Oryza sativa* L.). *African Journal of Biotechnology*, 14(9): 764-773.
- Hungria M, Nogueira MA (2013). Efeitos da co-inoculação. *Cultivar Grandes Culturas*, 170(1): 40-41.
- Hungria M, Nogueira MA, Araujo RS (2013). Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability. *Biology Fertility of Soils*, 49(7): 791-801.


- Inagaki AM, Guimarães VF, Rodrigues LFOS, Silva MB, Diamante MS, Rampim L, Mioranza TM, Duarte-Júnior JB (2014). Phosphorus fertilization associated to inoculation of maize with diazotrophic bacteria. *African Journal of Agricultural Research*, 9(48): 3480-3487.
- Lutts S, Kinet JM, Bouharmont J (1996). Effects of salt stress on growth, mineral nutrition and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Plant Growth Regulation*, 19(9): 207-218.
- Mantovani D, Veste M, Boldt-Burisch K, Fritsch S, Koning LA, Freese D (2015). Carbon allocation, nodulation, and biological nitrogen fixation of black locust (*Robinia pseudoacacia* L.) under soil water limitation. *Annals of Forest Research*, 58(2): 259-274.
- Martins R (2013). *O agronegócio do amendoim no Brasil*. Brasília: Embrapa, 585 p.
- Naghavi MR, Pour-Aboughadareh A, Khalili M (2013). Evaluation of drought tolerance indices for screening some of corn (*Zea mays* L.) cultivars under environmental conditions. *Notulae Scientia Biologicae*, 5(3): 388-393.
- Nakagawa J, Rosolem CA (2011). *O amendoim: Tecnologia de produção*. Botucatu: FEPAF.
- Naveed M, Hussain MB, Zahir ZA, Mitter B, Sessitsch A (2014). Drought stress amelioration in wheat through inoculation with *Burkholderia phytofirmans* strain PsJN. *Plant Growth Regulation*, 73(2): 121-131.
- Patanè C, Saita A, Sortino O (2013). Comparative effects of salt and water stress on seed germination and early embryo growth in two cultivars of sweet sorghum. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 199(1): 30-37.
- Pereira JW, Melo-Filho PA, Albuquerque MB, Nogueira RJMC, Santos RC (2012). Mudanças bioquímicas em genótipos de amendoim submetidos a déficit hídrico moderado. *Revista Ciência Agronômica*, 43(4): 766-773.
- Perrig D, Boiero L, Masciarelli O, Penna C, Cassán F, Luna V (2007). Plant growth promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and their implications for inoculant formulation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 75(5): 1143-1150.
- Petrović G, Jovičić D, Nikolić Z, Tamindžić G, Ignjatov M, Milošević D, Milošević B (2016). Comparative study of drought and salt stress effects on germination and seedling growth of pea. *Genetika*, 48(1): 373-381.
- Pinheiro C, Chaves MM (2011). Photosynthesis and drought: can we make metabolic connections from available data? *Journal of Experimental Botany*, 62(3): 869-882.
- Silva ER, Busch A, Zuffo AM, Steiner F (2017). Coinoculação de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* em sementes de amendoim de diferentes tamanhos. *Revista de Agricultura Neotropical*, 4(4): 93-102.

- Silva ER, Zoz J, Oliveira CES, Zuffo AM, Steiner F, Zoz T, Vendruscolo EP (2019). Can co-inoculation of *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* alleviate adverse effects of drought stress on soybean (*Glycine max* L. Merrill.)? *Archives of Microbiology*, 201(3): 325–335.
- Sousa DMG, Lobato E (2004). *Cerrado: correção do solo e adubação*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica.
- Souza FG, Silva ELS, Alvarez RCF, Zanella MS, Lima SF (2020). Inoculação e co-inoculação de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* na cultura da soja. *Research, Society and Development*, 9(6), e170963553.
- Taiz L, Zeiger E, Möller IM, Murphy A (2017). *Fisiologia e desenvolvimento vegetal*. Porto Alegre: Artmed.
- Vieira EA, Silva MG, Moro CF, Laura VA (2017). Physiological and biochemical changes attenuate the effects of drought on the Cerrado species *Vatairea macrocarpa* (Benth.) Ducke. *Plant Physiology and Biochemistry*, 115(4): 472-483.
- Vurukonda SSKP, Vardharajula S, Shrivastava M, Skz A (2016). Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. *Microbiological Research*, 184(1): 13-24.
- Xu Z, Zhou G, Shimizu H (2010). Plant responses to drought and rewatering. *Plant Signaling & Behavior*, 5: 649-654
- Zoz T, Steiner F, Guimarães VF, Castagnara DD, Meinerz CC, Fey R (2013). Peroxidase activity as an indicator of water deficit tolerance in soybean cultivars. *Bioscience Journal*, 29(5): 1664-1671.
- Zuffo AM, Bruzi AT, Rezende PM, Bianchi MC, Zambiazzi EV, Soares IO, Ribeiro ABM, Vilela GLD (2016). Morphoagronomic and productive traits of RR soybean due to inoculation via *Azospirillum brasilense* groove. *African Journal of Microbiology Research*, 10(13): 438-444.

Tolerancia de hortalizas al estrés térmico causado por las altas temperaturas


Recebido em: 17/07/2020

Aceito em: 25/07/2020


 10.46420/9786588319024cap4

Hector José Valerio Ardon¹ 

Vitória Carolina Dantas Alves¹ 

Laura Martins Ferreira¹ 

Maickon Alexandri Rezende Paulino¹ 

Lucila Silva Molina¹ 

Fábio Steiner^{1*} 

INTRODUCCIÓN

El cambio climático es uno de los problemas que más dificultades ha generado en la producción hortícola en los últimos años, debido a que este genera escasez de agua, propagación de plagas, pérdidas de especies vegetales, aumento y disminución de la temperatura de diferentes zonas del planeta (Joya y Zeledón, 2016). Estos cambios repentinos de temperatura han hecho con que la horticultura sufra una disminución de la producción mundial y en casos extremos la desaparición de zonas hortícolas en distintos países, generando así serias amenazas para lograr la seguridad alimentaria del planeta.

Uno de los escenarios que genera el cambio climático es el aumento de la temperatura en zonas hortícolas y esto puede tener efectos beneficiosos o perjudiciales dependiendo de la especie o genotipo de hortaliza. El aumento de temperatura puede limitar el crecimiento de las plantas debido a cambios en los procesos fisiológicos y metabólicos, incluyendo el proceso de germinación, tasa fotosintética, asimilación de CO₂ y la inactivación de varias enzimas de la planta (alterando la velocidad de formación y la velocidad de su degradación) (Carvalho; Nakagawa, 2000; Marcos-Filho, 2015).

El éxito de la producción de hortalizas dependerá de muchos aspectos, entre los cuales uno de los más relevantes es el establecimiento adecuado de plántulas en el campo, un factor que está directamente relacionado con el proceso de germinación de semillas. Cada especie tiene una temperatura mínima, máxima y óptima para la germinación, y dentro de cada especie, puede haber marcadas diferencias entre los genotipos con respecto a la germinación a diferentes temperaturas (Marcos-Filho, 2015). Las temperaturas muy altas pueden modificar la velocidad y el porcentaje final de germinación

¹ Curso de Agronomia, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS), Rod. MS 306, km 6,4, CEP 795400-000, Cassilândia, MS, Brasil.

* Autor de correspondência: steiner@uems.br

de muchas especies de hortalizas (Steiner et al., 2009; Steiner et al., 2010; Pinto-Junior et al., 2011). En condiciones de temperaturas extremas, la germinación puede verse gravemente afectada y en algunos casos llevar a la semilla a una condición de latencia.

La exposición de altas temperaturas (superiores a 30 °C) durante el proceso de imbibición de las semillas puede conducir a una reducción drástica en la germinación y deterioro en el desarrollo inicial de la planta. Las semillas de lechuga expuestas a altas temperaturas pueden estar sujetas a la ocurrencia de dos fenómenos, la termo-imbibición y termo-latencia, el primero es un proceso reversible, ya que la germinación ocurre cuando la temperatura cae a un nivel apropiado y el segundo, donde las semillas no germinarán después de reducir la temperatura (Popinigis, 1985; Carvalho; Nakagawa, 2000). Las semillas de zanahoria (*Daucus carota* L.) son susceptibles al estrés térmico causado por las altas temperaturas, a una temperatura de 35 °C las semillas de zanahoria pueden reducir la germinación disminuyendo la densidad de plántulas en el campo, (Pereira et al., 2007). Pinheiro et al. (2014) encontraron que las temperaturas superiores a 30 °C eran desfavorables para el proceso de germinación de semillas de cebolla (*Allium cepa* L.). Steiner et al. (2009) encontraron que las altas temperaturas (35 °C) afectaron negativamente el crecimiento de las raíces y provocando la degradación de las semillas de rábano (*Raphanus sativus* L.). Nascimento y Cantliffe (2002) informaron que la temperatura óptima para la germinación de semillas de lechuga es de alrededor de 20 °C, y que la mayoría de los genotipos comerciales no germinan a temperaturas superiores a 30 °C.

Por lo tanto, ya que la temperatura tiene una gran influencia en la germinación de semillas de especies hortícolas. Esta investigación tiene como objetivo determinar el efecto del estrés térmico causado por altas temperaturas en la germinación y crecimiento inicial de genotipos de achicoria (*Cichorium intybus* L.), chile (*Capsicum* sp.), rábano (*Raphanus sativus* L.) y rúcula (*Eruca sativa* Miller).

MATERIAL Y MÉTODOS

Los experimentos se llevaron a cabo en condiciones de laboratorio en la Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), en el municipio de Marechal Cândido Rondon, PR, Brasil. Las semillas comerciales de cultivares de achicoria, chile, rábano y rúcula se compraron en el mercado local y se llevaron al laboratorio para realizar las pruebas de germinación y longitud de la raíz. Se evaluaron cuatro genotipos de achicoria [*Cichorium intybus* L. ('Folha amarela', 'Pão de açúcar', 'Cabeça Vermelha' y 'Folha Larga')]; siete genotipos de chile [un genotipo de la especie *Capsicum frutescens* ('Malagueta'), una de las especies *Capsicum annuum* ('Jalapeño'), dos de las especies *Capsicum baccatum* ('Dedo-de-Moça' y 'Chapéu-de-Bispo') y tres de las especies *Capsicum chinense* ('Bode', 'Habanero Red' y 'Cumari do Pará')]; cinco genotipos de rábano [*Raphanus sativus* L. ('Sparkler', 'Saxa', 'Branco Comprido', 'Gigante Siculo' y 'Vermelho Comprido')], y cuatro genotipos de rúcula [un genotipo de la especie *Diplotaxis tenuifolia* (L.)

DC., (Selvática) y tres genotipos de la especie *Eruca sativa* Miller ('Cultivada', 'Gigante Folha Larga' y 'Apreciatta Folha Larga']).

Las semillas se desinfectaron previamente por inmersión durante 10 minutos, en una solución de hipoclorito de sodio al 1% (v/v), luego se lavaron en agua corriente y rápidamente se colocaron para germinar en condiciones de control (20 °C) y bajo de estrés térmico por temperatura extrema (35 °C).

El diseño experimental utilizado fue completamente al azar con cuatro repeticiones de 50 semillas para cada genotipo. Los tratamientos para todas las especies de hortalizas estuvieron constituidos por los diferentes genotipos y por las dos condiciones de germinación y crecimiento de las plántulas (control o estrés por temperatura extrema). Las semillas de las diferentes especies de hortalizas se sometieron a las pruebas y determinaciones que se describen a continuación:

Prueba de germinación se evaluó con cuatro repeticiones de 50 semillas para cada genotipo. Las semillas se distribuyeron en dos hojas de papel secante, previamente humedecidas con agua destilada, en una cantidad equivalente a 2.5 veces la masa del papel seco, y se colocaron dentro de cajas de plástico transparentes (11.5 × 11.5 × 3,5 cm) tipo Gerbox[®] con tapas. Luego, estos se mantuvieron en un germinador de tipo *Biochemical Oxygen Demand* (BOD) regulado a 20 °C (control) y 35 °C (estrés térmico), con un fotoperíodo de 12 horas. La evaluación del porcentaje de germinación final de semillas de achicoria se realizó a los 14 días, de semillas de chile a los 17 días, de semillas de rábano a los 7 días y de semillas de rúcula a los 8 días después de la instalación de la prueba, de acuerdo con Reglas para el análisis de semillas (Brasil, 2009). Los resultados se expresan como un porcentaje de plántulas normales. Las plántulas normales fueron aquellas que tenían todas sus estructuras esenciales bien desarrolladas, completas y saludables (Brasil, 2009).

El primer recuento de la prueba de germinación: se evaluó junto con la prueba de germinación, contando el porcentaje de plántulas normales de achicoria a los 5 días, de chile a los 10 días, de rábano a los 4 días y de rúcula a los 4 días después de la instalación de la prueba y los resultados son expresados como porcentaje de plántulas normales (Brasil, 2009).

Longitud de raíz: se tomaron las raíces primarias de 10 plántulas normales de achicoria (14 días), chile (17 días), rábano (7 días) y rúcula (8 días) obtenidas de la prueba de germinación a diferentes temperaturas se midieron con la ayuda de un pie de rey digital.

Los datos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) y a la prueba de Tukey comparando los factores de estrés por calor y los genotipos de especies de hortalizas con un erro experimental del 5%, estos análisis estadísticos se realizaron con el software Sisvar[®] versión 5.6 para Windows (Ferreira, 2014).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estrés térmico en genotipos de achicoria (Ensayo 1)

Los resultados obtenidos de la germinación final, primer recuento de germinación y la longitud de la raíz primaria informaron efectos significativos de la interacción ($p < 0.01$) entre los genotipos de achicoria y las temperaturas adversas. La exposición de las semillas de achicoria al estrés térmico causado por la alta temperatura resultó en un valor bajo, en comparación al tratamiento de control del primer recuento de la prueba de germinación, conteo final de germinación y la longitud de radícula de los cuatro genotipos de achicoria (Figura 1).

El primer recuento de la prueba de germinación de las semillas, comúnmente, se ha utilizado para comparar el vigor entre lotes de semillas (Bhering et al., 2000). Sin embargo, en este estudio, esta prueba se utilizó para investigar el efecto de la temperatura en el desarrollo inicial de las plántulas de achicoria sometidas a diferentes temperaturas. Esta prueba se puede utilizar para identificar genotipos con aparición más rápida en el campo o en condiciones de cultivos protegidos. Los lotes de semillas con germinación más rápida están menos sujetos a las condiciones adversas de temperatura que pueden ocurrir durante la emergencia y el establecimiento de las plántulas.

En condiciones de control, el primer recuento de la prueba de germinación varió del 35% al 61%, mientras que en condiciones de estrés térmico causado por altas temperaturas el primer recuento de la prueba de germinación varió del 45% al 76% (Figura 1A). La germinación de los genotipos de achicoria en condiciones de control varió de 76% al 88%, mientras que en condiciones de altas temperaturas la germinación varió de 66% al 77% (Figura 1B). Estos resultados indican que el estrés térmico causado por la alta temperatura (35 °C) redujo la tasa de germinación de los genotipos de achicoria en aproximadamente un 10%.

Menezes et al. (2000) encontraron que la temperatura de 35 °C inhibía por completo la germinación de diferentes genotipos de lechuga (*Lactuca sativa* L). Bertagnolli et al. (2003) observaron tasas de germinación inferiores al 20%, cuando las semillas de lechuga fueron expuestas a una temperatura de 35 °C. Estos resultados demuestran que, a diferencia de la lechuga, una especie que también pertenece a la familia Asteraceae, la germinación de las semillas de achicoria se ve menos afectada por el estrés térmico causado por las altas temperaturas, con una tasa de germinación que oscila entre los 35 al 77%.

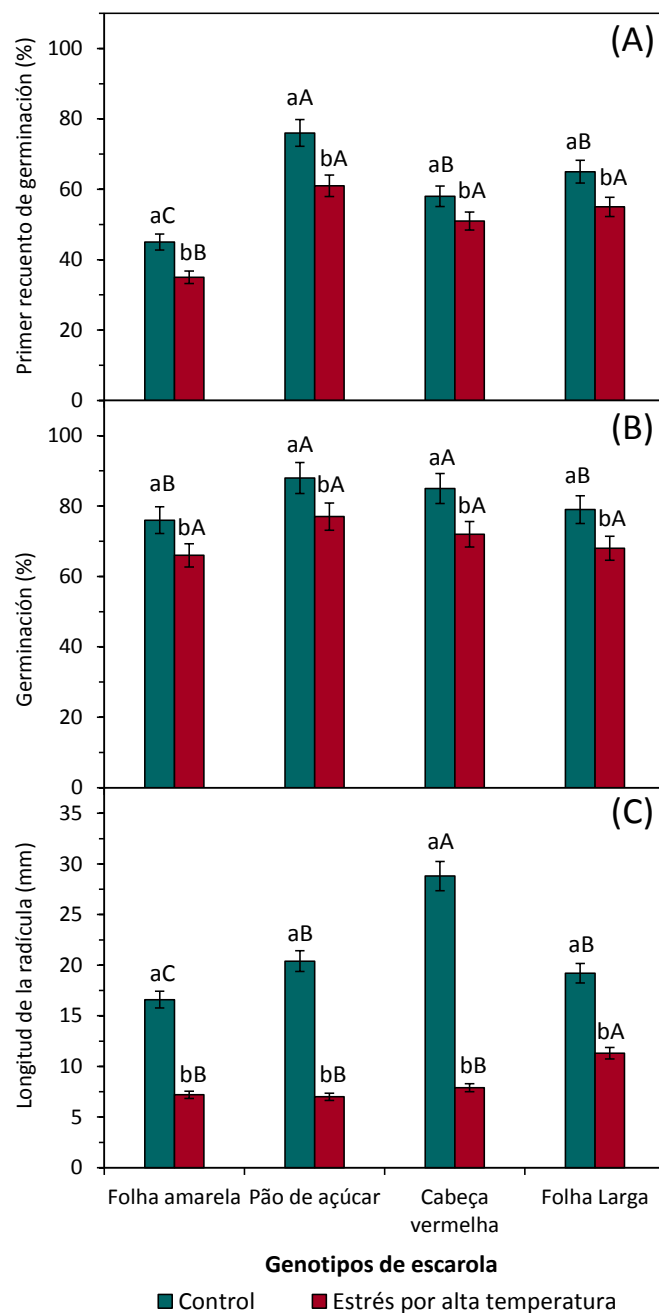


Figura 1. Primer recuento de la prueba de germinación (A), germinación final (B) y longitud de la raíz primaria (C) de plántulas de achicoria (*Cichorium intybus* L.) expuestas a las condiciones de germinación de control (20 °C) y bajo condiciones de estrés térmico a alta temperatura (35 °C). Las barras seguidas de letras diferentes, minúsculas para el estrés por calor o letras mayúsculas para diferentes genotipos, muestran diferencias significativas mediante la prueba de Tukey con un 5% de probabilidad. UEMS, Cassilândia-MS, 2020. Fuente: autores.

En condiciones de control, la longitud de la raíz primaria varió de 16.6 a 28.8 mm, mientras que en condiciones de estrés debido a la alta temperatura la longitud de la radícula varió de 7.0 a 11.3 mm

(Figura 1C). Estos resultados indican que el crecimiento inicial de las raíces de los genotipos de achicoria se redujo drásticamente por el estrés térmico causado por la temperatura de 35 °C. Nakagawa (1999) afirma que la diferencia de 1 °C en la temperatura durante el transcurso de la prueba de germinación probablemente tendrá un efecto insignificante en el porcentaje de germinación, pero esta misma diferencia proporcionará un efecto considerable en la longitud de la raíz de la plántula.

Estrés térmico en genotipos de chile (Ensayo 2)

La exposición de las semillas de chile al estrés térmico causado por la alta temperatura resultó en un valor bajo, en comparación al tratamiento de control del primer recuento de la prueba de germinación, conteo final de germinación y la longitud de radícula de la mayoría de genotipos de chile (Figura 2). En condiciones de control, el primer recuento de la prueba de germinación varió del 33% al 95%, mientras que, en condiciones de estrés térmico causado por altas temperaturas, el primer recuento de la prueba de germinación varió del 6% al 74% (Figura 2A). El genotipo 'Chapéu-de-Bispo' mostró una mayor velocidad de germinación cuando se expuso a 35 °C en comparación con los otros genotipos (Figura 2A). Genotipos con germinación más rápida están menos sujetos a sufrir influencias de las condiciones adversas de temperatura que pueden ocurrir durante la emergencia y el establecimiento de las plántulas.

La germinación de los genotipos de chile en condiciones de control varió de 59% a 95%, mientras que en condiciones de altas temperaturas la germinación varió de 45% a 91% (Figura 2B). Estos resultados indican que el estrés térmico causado por la alta temperatura (35 °C) redujo la tasa de germinación de los genotipos de chile en aproximadamente un 13%. Sin embargo, el estrés a alta temperatura no afectó la tasa de germinación de los genotipos 'Dedo-de-Moça' y 'Chapéu-de-Bispo', lo que indica que estos genotipos están más adaptados a las condiciones de alta temperatura.

En las condiciones del tratamiento control la longitud de la raíz primaria varió de 16.0 a 24.7 mm, mientras que en condiciones de estrés causado a la alta temperatura la longitud de la radícula varió de 8.0 a 17.5 mm (Figura 2C). Estos resultados indican que el crecimiento inicial de las raíces de los genotipos de chile se redujo drásticamente por el estrés térmico causado por la temperatura de 35 °C, excepto el genotipo 'Malagueta'. Steiner et al. (2009) también informaron que la temperatura de 35 °C limitó el crecimiento del sistema radicular de genotipos de rábano. Según Nakagawa (1999) la diferencia de 1 °C en la temperatura durante el transcurso de la prueba de germinación probablemente tendrá un efecto insignificante en el porcentaje de germinación, pero esta misma diferencia proporcionará un efecto considerable en la longitud de la raíz de la plántula.

Los genotipos de chile 'Dedo-de-Moça' y 'Chapéu-de-Bispo' tienen una mayor tasa de germinación en condiciones de estrés térmico en comparación con los otros genotipos (Figura 2B),

mientras que los genotipos 'Malagueta', 'Dedo-de-Moça' y 'Habanero Red' tienen un mayor crecimiento del sistema radicular en condiciones de estrés térmico en comparación con los otros genotipos de Chile (Figura 2C). Por lo tanto, estos genotipos son los más recomendados para el cultivo en regiones tropicales con altas temperaturas.

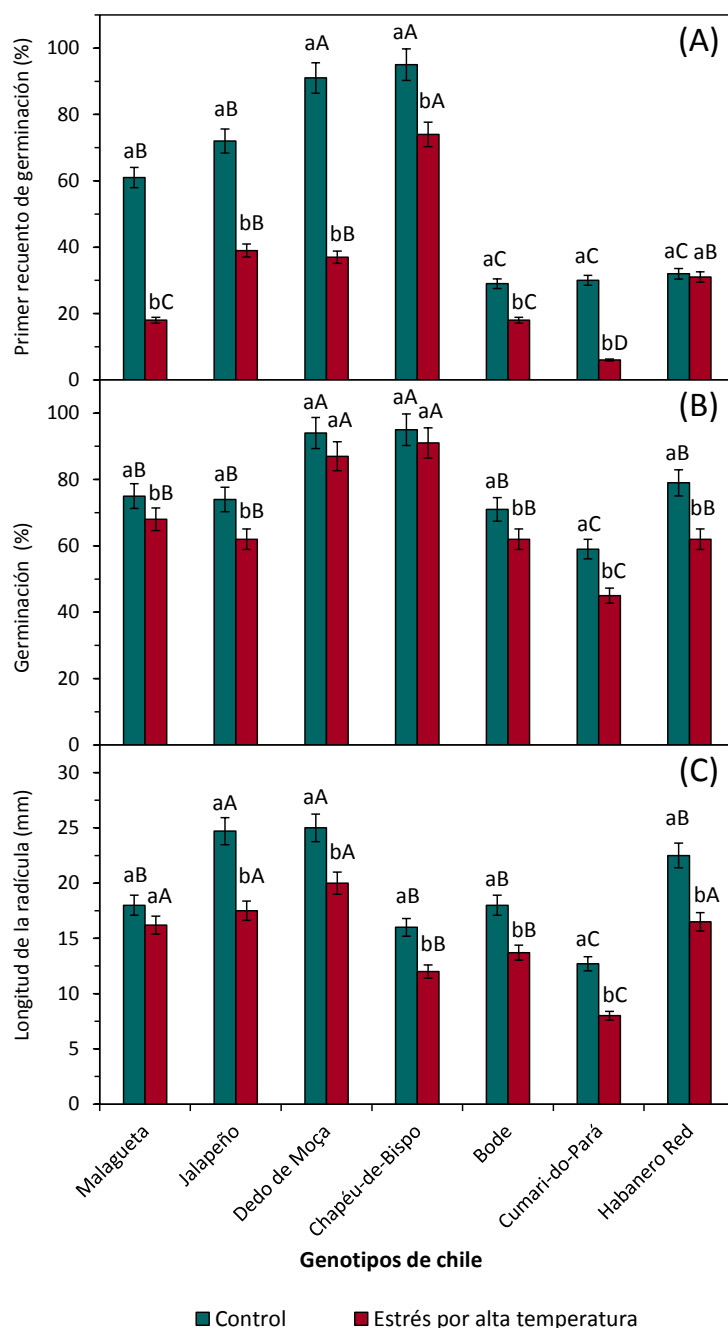


Figura 2. Primer recuento de la prueba de germinación (A), germinación final (B) y longitud de la raíz primaria (C) de plántulas de Chile (*Capsicum* sp.) expuestas a las condiciones de germinación de control (20 °C) y bajo condiciones de estrés térmico a alta temperatura (35 °C). Las barras seguidas de letras diferentes, minúsculas para el estrés por calor o letras mayúsculas para diferentes genotipos, muestran diferencias significativas mediante la prueba de Tukey con un 5% de probabilidad. UEMS, Cassilândia-MS, 2020. Fuente: autores.

Anguiano (2010) demostró que la temperatura del suelo afecta a la germinación como en el desarrollo del sistema radicular del chile jalapeño, la tasa de germinación aumenta a medida que la temperatura del suelo asciende, confirmando los datos obtenidos con los estudios de Rangel (2016) que define que la temperatura óptima para la germinación de chile fluctúa entre los 18 y 35 °C, siendo la óptima de 30 °C.

Según Gómez et al. (2019) la temperatura óptima para que la raíz de chile se desarrolle oscila entre el 22 a 24 °C si las temperaturas disminuyen o aumentan generaran daños irreversibles para la raíz. Según Velásquez et al. (2003) los efectos negativos que las altas temperatura causan sobre la raíz de chile tienen un efecto en la absorción de nutrientes debido a una malformación en la raíz lo que conlleva a que sea susceptible a plagas y enfermedades.

Estrés térmico en genotipos de rábano (Ensayo 3)

La exposición de las semillas de rábano al estrés térmico causado por la alta temperatura no afectó significativamente ($p > 0.05$) el primer recuento de la prueba de germinación y el porcentaje de germinación de la mayoría de los genotipos de rábano, a excepción de los genotipos 'Branco Comprido' y 'Vermelho Comprido' (Figura 3A y 3B). En condiciones de control, el primer recuento de la prueba de germinación varió de 96 a 99%, mientras que en condiciones de estrés térmico causado por altas temperaturas el primer recuento de la prueba de germinación varió de 73 a 95% (Figura 3A). La germinación de los genotipos de rábano en condiciones de control varió de 97 a 100%, mientras que en condiciones de altas temperaturas la germinación varió de 83 a 96% (Figura 3B). Estos resultados indican que el estrés térmico causado por la alta temperatura (35 °C) tiene poco efecto sobre la tasa de germinación para la mayoría de los genotipos de rábano. Sin embargo, el estrés por altas temperaturas redujo la tasa de germinación de los genotipos 'Branco Comprido' y 'Vermelho Comprido', lo que indica que la germinación de estos genotipos es más sensible a las condiciones de alta temperatura (Figura 3B).

La exposición de las semillas de rábano al estrés térmico causado por la alta temperatura resultó en un valor más bajo de la longitud de radícula para todos los genotipos (Figura 3C). En condiciones de control, la longitud de la raíz primaria varió de 35.7 a 49.8 mm, mientras que, en condiciones de estrés causado por la alta temperatura, la longitud de la radícula varió de 14.0 a 23.2 mm (Figura 3C). Estos resultados indican que el estrés térmico causado por la alta temperatura (35 °C) redujo el crecimiento inicial de las raíces de los genotipos de rábano en aproximadamente un 56%. Las altas temperaturas pueden limitar el crecimiento de las raíces, especialmente al favorecer el deterioro de las semillas, según lo verificado por Steiner et al. (2010) en semillas de rúcula a 35 °C. Steiner et al. (2009) también informaron que la temperatura de 35 °C limitó el crecimiento del sistema radicular de genotipos de rábano. Según Nakagawa (1999), la diferencia de 1 °C en la temperatura durante el transcurso de la

prueba de germinación probablemente tendrá un efecto insignificante en el porcentaje de germinación, pero esta misma diferencia proporcionará un efecto considerable en la longitud de la raíz de la plántula.

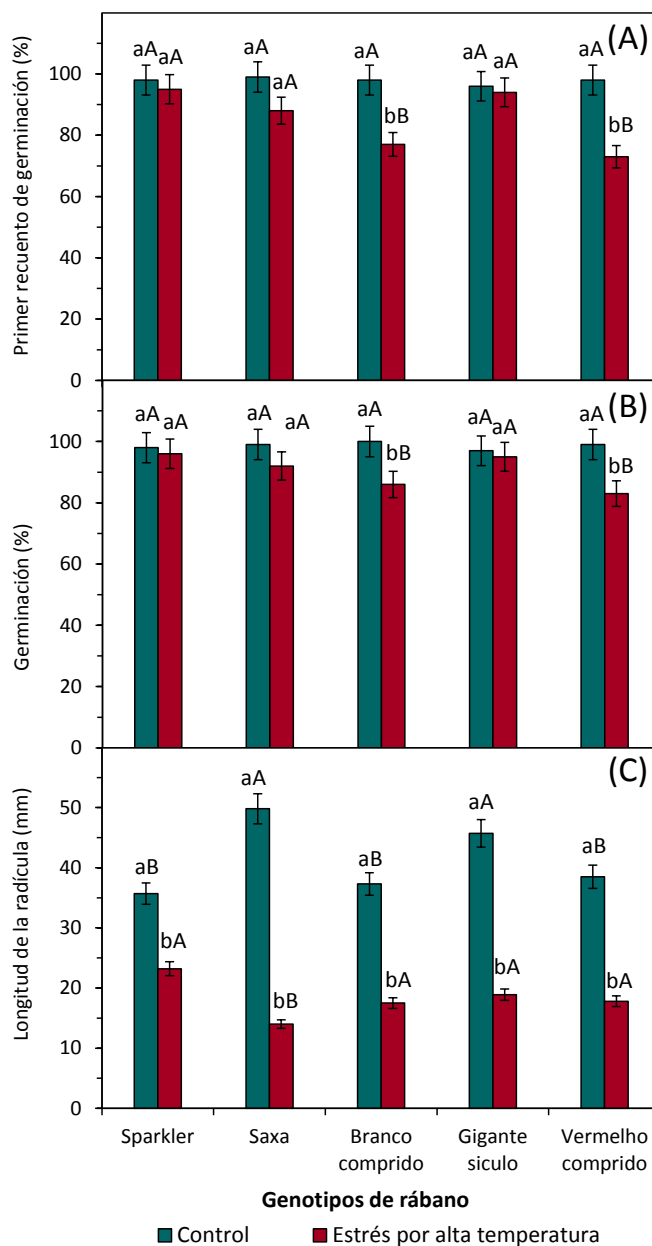


Figura 3. Primer recuento de la prueba de germinación (A), germinación final (B) y longitud de la raíz primaria (C) de plántulas de rábano (*Raphanus sativus* L.) expuestas a las condiciones de germinación de control (20 °C) y bajo condiciones de estrés térmico a alta temperatura (35 °C). Las barras seguidas de letras diferentes, minúsculas para el estrés por calor o letras mayúsculas para diferentes genotipos, muestran diferencias significativas mediante la prueba de Tukey con un 5% de probabilidad. UEMS, Cassilândia-MS, 2020. Fuente: autores.

Los genotipos de rábano 'Sparkler', 'Saxa' y 'Gigante Siculo' tienen una mayor tasa de germinación en condiciones de estrés térmico en comparación con los otros genotipos (Figura 3B),

mientras que los genotipos 'Sparkler', 'Branco Comprido', 'Gigante Siculo' y 'Vermelho Comprido' tienen un mayor crecimiento del sistema radicular en condiciones de estrés térmico en comparación con los otros genotipos de rábano (Figura 3C). Por lo tanto, estos genotipos son los más recomendados para el cultivo en regiones tropicales con altas temperaturas.

Estrés térmico en genotipos de rúcula (Ensayo 4)

La exposición de las semillas de rúcula al estrés térmico causado por la alta temperatura no afectó significativamente ($p > 0.05$) el primer recuento de la prueba de germinación ni el porcentaje de germinación de la mayoría de los genotipos de rúcula a excepción de el genotipo 'Selvática' (Figura 4A y 4B). En condiciones de control el primer recuento de la prueba de germinación varió de 61 a 100%, mientras que en condiciones de estrés térmico causado por altas temperaturas el primer recuento de la prueba de germinación varió de 46 al 97% (Figura 4A). La germinación de los genotipos de rúcula en condiciones de control varió de 76 a 100%, mientras que en condiciones de altas temperaturas la germinación varió de 64 a 98% (Figura 4B). Estos resultados indican que el estrés térmico causado por la alta temperatura (35 °C) tiene poco efecto sobre la tasa de germinación para la mayoría de los genotipos de rúcula. Sin embargo, el estrés por altas temperaturas redujo la tasa de germinación del genotipo 'Selvática', lo que indica que la germinación de este genotipo es más sensible a las condiciones de alta temperatura.

La exposición de las semillas de rúcula al estrés térmico causado por alta temperatura, resultó con valores bajos de longitud radicular, para todos los genotipos de rúcula (Figura 4C). En condiciones de control la longitud de la raíz primaria varió de 8.3 a 24.2 mm, mientras que en condiciones de estrés causado por altas temperaturas la longitud de la radícula varió de 5.2 a 9.3 mm (Figura 4C). Estos resultados indican que el estrés térmico causado por la alta temperatura (35 °C) redujo el crecimiento inicial de las raíces de los genotipos de rúcula en aproximadamente un 59%. Las altas temperaturas pueden limitar el crecimiento de las raíces, especialmente al favorecer el deterioro de las semillas, según lo verificado por Steiner et al. (2010) en semillas de rúcula a 35 °C. Steiner et al. (2009) también informaron que la temperatura de 35 °C limitó el crecimiento del sistema radicular de genotipos de rábano. Resultados diferentes fue reportado por Ferreira et al. (2008), quienes encontraron que las semillas de rúcula 'Cultivadas' cuando se las sometía a altas temperaturas (30 °C) originaron plántulas con mayor longitud de raíz. Según Nakagawa (1999) la diferencia de 1 °C en la temperatura durante el transcurso de la prueba de germinación probablemente tendrá un efecto insignificante en el porcentaje de germinación, pero esta misma diferencia proporcionará un efecto considerable en la longitud de la raíz de la plántula.

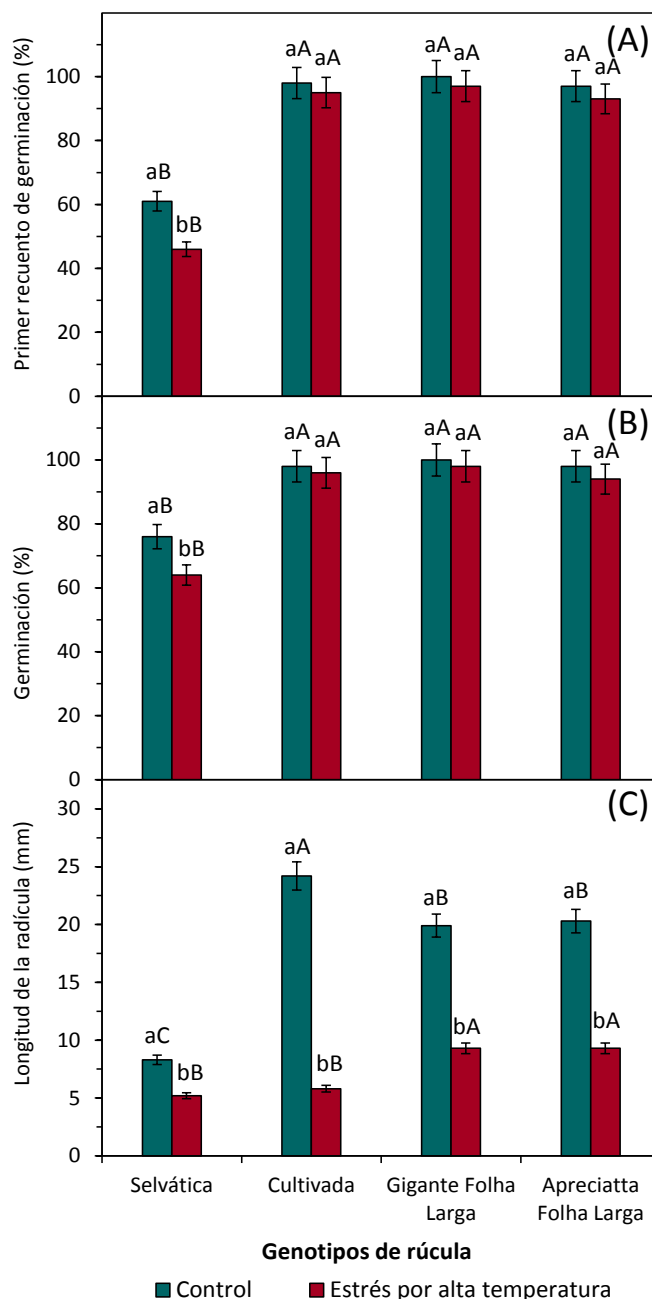


Figura 4. Primer recuento de la prueba de germinación (A), germinación final (B) y longitud de la raíz primaria (C) de plántulas de rúcula [*Diplotaxis tenuifolia* (L.) DC. o *Eruca sativa* Miller] expuestas a las condiciones de germinación de control (20 °C) y bajo condiciones de estrés térmico a alta temperatura (35 °C). Las barras seguidas de letras diferentes, minúsculas para el estrés por calor o letras mayúsculas para diferentes genotipos, muestran diferencias significativas mediante la prueba de Tukey con un 5% de probabilidad. UEMS, Cassilândia-MS, 2020. Fuente: autores.

Los genotipos de rábano 'Cultivada', 'Gigante Folha Larga' y 'Apreciatta Folha Larga' tienen una mayor tasa de germinación en condiciones de estrés térmico en comparación con lo genotipo 'Selvática' (Figura 3B), mientras que los genotipos 'Gigante Folha Larga' y 'Apreciatta' tienen un mayor crecimiento

del sistema radicular en condiciones de estrés térmico en comparación con los otros genotipos de rúcula (Figura 4C). Por lo tanto, estos genotipos son los más recomendados para el cultivo en regiones tropicales con altas temperaturas.

CONSIDERACIONES FINALES

El estrés térmico causado por las altas temperaturas (35 °C) reduce la tasa de germinación de semillas y la tasa de crecimiento de las raíces de las plántulas de achicoria y chile.

El estrés térmico causado por las altas temperaturas (35 °C) reduce drásticamente la tasa de crecimiento de las raíces de las plántulas de rábano y rúcula, pero las altas temperaturas tienen poco efecto sobre la tasa de germinación de estas especies hortalizas.

El genotipo de achicoria 'Folha Larga' tiene una mayor tolerancia al estrés térmico causado por las altas temperaturas en comparación con los genotipos 'Folha amarela', 'Pão de açúcar' y 'Cabeça Vermelha', y es el genotipo más adecuado para cultivarse en regiones con altas temperaturas.

Los genotipos de chile 'Malagueta', 'Dedo-de-Moça' y 'Habanero Red' son más tolerantes el estrés térmico causado por las altas temperaturas en comparación con los genotipos 'Jalapeño', 'Chapéu-de-Bispo', 'Bode' y 'Cumari do Pará', y son los genotipos más adecuados para cultivar en regiones tropicales con altas temperaturas.

El genotipo de rábano 'Sparkler' tiene una mayor tolerancia al estrés térmico causado por las altas temperaturas en comparación con los genotipos 'Saxa', 'Branco Comprido', 'Gigante Siculo' y 'Vermelho Comprido', y es el genotipo más adecuado para cultivarse en regiones con altas temperaturas.

Los genotipos de rúcula 'Gigante Folha Larga' y 'Apreciatta Folha Larga' son más tolerantes el estrés térmico causado por las altas temperaturas en comparación con los genotipos 'Selvática' y 'Cultivada', y son los genotipos más adecuados para cultivar en regiones tropicales con altas temperaturas.

REFERENCES

- Anguiano J (2010). Comparación en la respuesta fisiológica en plantas de chile bajo el efecto de tres temperaturas nocturnas. León: Niargua, 31p.
- Bertagnolli CM, Menezes NL, Storck L, Santos OS, Pasqualli LL (2003). Desempenho de sementes nuas e peletizadas de alface (*Lactuca sativa* L.) submetidas a estresses hídrico e térmico. *Revista Brasileira de Sementes*, 25(1): 7-13.


- Bhering MC, Dias DCFS, Gomes JM, Barros DI (2000). Métodos para avaliação do vigor de sementes de pepino. *Revista Brasileira de Sementes*, 22(2): 171-175.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2009). *Regras para análise de sementes*. Brasília: Mapa/ACS, 399p.
- Carvalho NM, Nakagawa J (2000). *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. 4.ed. Jaboticabal: FUNEP, 588p.
- Ferreira DF (2014). Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. *Ciência e Agrotecnologia*, 38(2),109-112.
- Ferreira EGBS, Matos VP, Sales AGA, Pacheco MV (2008). Influência da temperatura e do substrato na germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de rúcula (*Eruca sativa* Mill.). *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 3(3): 209-212.
- Gómez A, Reyes J, García E, López J, Silos H (2019). Efecto de la orientación y forma de contenedor sobre el crecimiento y desarrollo de chile ancho cultivado en invernadero. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 22: 44-55.
- Joya J, Zeledon ML (2016). Influencia del cambio climático en la producción de hortalizas en La Sub Zona de Santa Cruz del Municipio de Estelí. *Biblioteca virtual de la universidad autónoma de Nicaragua*, 143: 17-26.
- Marcos-Filho J (2015). *Fisiologia de sementes de plantas cultivadas*. 2. ed., Londrina: ABRATES, 660p.
- Menezes NL, Santos OS, Nunes EP, Schmidt D (2000). Qualidade fisiológica de sementes de alface submetidas a diferentes temperaturas na presença e ausência de luz. *Ciência Rural*, 30(6): 941-945.
- Nakagawa J (1999). Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: Krzyzanowski, F. C.; Vieira, R. D.; França Neto, J. B. (Ed.). *Vigor de sementes: conceitos e testes*. Londrina: ABRATES, p. 1-24.
- Nascimento WM, Cantliffe DJ (2002). Germinação de sementes de alface sob altas temperaturas. *Horticultura Brasileira*, 20(1): 103-106.
- Pereira RS, Nascimento WM, Vieira JV (2007). Germinação e vigor de sementes de cenoura sob condições de altas temperaturas. *Horticultura Brasileira*, 25(2): 215-219.
- Pinheiro GS, Angelotti F, Santana CVS, Dantas BF, ND. Costa BF (2014). Efeito da temperatura sobre a germinação de sementes de cebola. *Scientia Plena*, 10(11):1-6.
- Pinto-Júnior AS, Steiner F, Zoz T, Dranski JAL, Guimarães VF, Echer MM (2011). Germinação de sementes de almeirão em diferentes temperaturas. *Varia Scientia - Agrárias*, 2:11-21.
- Popinigis F (1985). *Fisiologia de Sementes*. 2. ed. Brasília: ABRATES, 298p.
- Rangel L (2016). Crecimiento de chile habanero (*Capsicum chinense*) bajo diferente espaciamiento entre hileras en la comarca lagunera. Torreón, Coahuila, México.17p.

- Steiner F, Pinto-Júnior AS, Dranski JAL, Zoz T, Rheinheimer AR (2010). Germinação de sementes de rúcula sob diferentes temperaturas. *Scientia Agraria*, 11: 119-124.
- Steiner F, Pinto-Júnior AS, Zoz T, Guimarães VF, Dranski JAL, Rheinheimer AR (2009). Germinação de sementes de rabanete sob temperaturas adversas. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 4: 430-434.
- Velásquez V, Rodolfo; Medina A, María M; Macías V, Luis M (2003) Reacción de líneas avanzadas de chile (*Capsicum annuum*) provenientes de Zacatecas a enfermedades comunes en Aguascalientes. *México Revista Mexicana de Fitopatología*, 21(1): 71-74.

Aluminum toxicity inhibits growth and nutrient uptake in physic nut plants


Received at: 01/07/2020


Accepted at: 10/07/2020


 10.46420/9786588319024cap5


Hector José Valerio Ardon¹ 

Gabriela da Silva Freitas¹ 

Daniel Henrique Santana Rodrigues¹ 

Talita Cristina Campos Pereira da Silva¹ 

Flávia Clemente de Oliveira¹ 

Fábio Steiner^{1*} 

INTRODUCTION

Physic nut (*Jatropha curcas* L.) is a native species to tropical America and belongs to the family Euphorbiaceae. This species is widely distributed in tropical areas, both wild and cultivated, in Central and South America, Africa, India, Southeast Asia and Australia (King et al., 2009). In the last years, it has received special attention due to its high seed oil content and quality, which can be converted into biodiesel by the industry (Arruda et al., 2004; Kumar; Sharma, 2008).

Physic nut grows in environments with constraining conditions, such as reduced rainfall, high temperatures, poor soil conditions, where most of the agriculturally important plant species are not able to grow satisfactorily (Francis et al., 2005). However, to achieve high yield levels, plant requires fertile soils and good physical conditions (Kumar; Sharma, 2008). According to Arruda et al. (2004), in acid soils with pH below 4.5, roots of physic nut do not grow. Thus, the acidity correction and soil fertility are critical for success and profitability in this culture (Laviola; Dias, 2008; Souza et al., 2011). This finding becomes even more relevant because the main producing regions of physic nut in Brazil are located in acid soils, characterized by low base saturation and high aluminum (Al^{3+}) levels, sufficient to alter the optimal growth of many species of cultivated plants.

Aluminum toxicity is considered one of the main factors limiting plant growth in acidic soils of tropical regions, mainly by inhibiting root growth (Giannakoula et al., 2008). In Brazil, toxic levels of aluminum are present in 60% of areas with agricultural potential (Sánchez; Salinas, 1981). Thus,

¹ Curso de Agronomia, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS), Rod. MS 306, km 6,4, CEP 795400-000, Cassilândia, MS, Brasil.

* Autor de correspondência: steiner@uems.br.

knowledge and selection of species less susceptible to the deleterious effects of aluminum is an alternative to the deployment of crops in agricultural areas with these conditions of fertility.

Several studies have been conducted using nutrient solutions to determine the Al tolerance of perennial species (Braccini et al., 1998a; Dantas et al., 2001; Tecchio et al., 2006; Mattiello et al., 2008; Macedo et al., 2011; Lana et al., 2013). Aluminum toxicity manifests initially as a reduced rate of root elongation after contact with a solution containing Al (Hartwig et al., 2007), and drastic reduction in shoot growth (Beutler et al., 2001). Phytotoxic effects of Al on roots include reductions in dry matter yield, the number and length of lateral roots, and root area, which are often associated with increases in the mean root diameter and root volume (Barceló; Poschenrieder, 2002; Hartwig et al., 2007). The damage to the root system results in exploitation of a smaller volume of soil by the plants and losses in nutrient uptake and utilization of soil water. Research results have shown that Al negatively affects the uptake of essential nutrients such as phosphorus (P), calcium (Ca) and magnesium (Mg) (López-Bucio et al., 2000).

Studies with castor beans, species also belonging to the family Euphorbiaceae, reported high sensitivity of this species to the presence of exchangeable Al in soil (Lima et al., 2007). Studies of physic nut plants are still rare and inconclusive. Macedo et al. (2011) found that the presence of Al in nutrient solution affected only the root growth of physic nut plants, and had no effect on shoot growth. However, in this study, plants were grown in the presence of Al for only seven days and, because physic nut is a perennial species, responsiveness to environmental change is slow. Thus, the deleterious effects resulting from Al toxicity may have been minimized. An improved understanding of physic nut Al tolerance is essential in order to adopt competitive strategies for improving crop production.

The present study analyzes the effect of aluminum on growth and uptake of P, Ca, Mg and Al on young physic nut plants grown in nutrient solution.

MATERIAL AND METHODS

The experiment was carried out under greenhouse conditions, where the environmental conditions were minimum and maximum mean air temperature of 18 and 34°C, respectively; mean air relative humidity of 65%. *Jatropha curcas* L. seeds, collected directly from the treetop of a plant population in Eldorado, Mato Grosso do Sul State, Brazil, were previously selected considering the seed size and weight. Afterwards, seeds were germinated in sand. Twelve days after germination in sand, seedlings were transferred to plastic pots (2.5 L), containing Hoagland and Arnon (1950) nutrient solution (pH 6.0) with one-quarter strength in the first week and full strength thereafter.

After fourteen days of adaptation to nutrient solution, plants were exposed to Al concentrations of 0, 370, 740, 1,100 and 1,480 $\mu\text{mol L}^{-1}$, corresponding to an active Al^{3+} solution, estimated by the

software Visual MINTEQ 3.0 (Gustafsson, 2020) of: 13.3, 35.3, 90.0, 153.3 and 220.7 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectively. Aluminum was added in form of $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. The pH of the solution (4.1 ± 0.1) was monitored daily, and adjusted when necessary using 0.5 mol L^{-1} NaOH or 0.5 mol L^{-1} HCl solutions. During the experiment, the nutrient solutions, under constant aeration, were changed every 15 days and the volume in each pot was complemented daily with deionized water.

After 75 days exposure to Al^{3+} , the plants in all treatments were harvested and separated into roots, stems, and leaves. The plant parts were removed carefully and washed with deionized water, dried for four days at 65 °C, and then weighed. The root and shoot lengths were measured (centimeter plant) using meter scale. The leaf area (LA, $\text{dm}^2 \text{ plant}^{-1}$) was determined using the following equation proposed by Severino, Vale and Beltrão (2007): $\text{LA} = 0.84 (L \times W) 0.99$, where L and W are leaf length and width, respectively. The leaf, stem and root material was ground, digested in nitric-perchloric acid, and the Ca and Mg content was determined by flame atomic absorption spectrophotometry, and P content was determined by colorimetry at 725 nm wave length, as previously described (Malavolta et al., 1997). Aluminum content was determined by spectrophotometry with Eriochrome cyanine R, as described by Miyazawa et al. (1999). The amount of Al accumulated in leaf, stem and root was calculated from the dry mass of each plant part and its Al content in dry matter.

The experiment was arranged in a completely randomized design with five replicates (an individual pot containing one plant represented one replicate). Data were subjected to analysis of variance (ANOVA); regression analysis was carried out by F test for variables that presented a significant difference ($p < 0.05$) between treatments. The significant equations with the greatest determination coefficients were adjusted. All analyses were performed using SigmaPlot 11.0 software for Windows (Systat Software, Inc., San Jose, CA, USA).

RESULTS AND DISCUSSION

The plant shoot growth of physic nut was negatively affected by the presence of Al (Figure 1). Increasing levels of Al^{3+} activity in solution linearly decreased the plant height, leaf area and dry matter production. The phytotoxic effect of this metal in plant development was reflected in the lowest shoot growth at the highest level of active Al^{3+} in solution. According to Beutler et al. (2001), among the effects of Al^{3+} toxicity on shoots was a reduction in the height and dry matter production of plants.

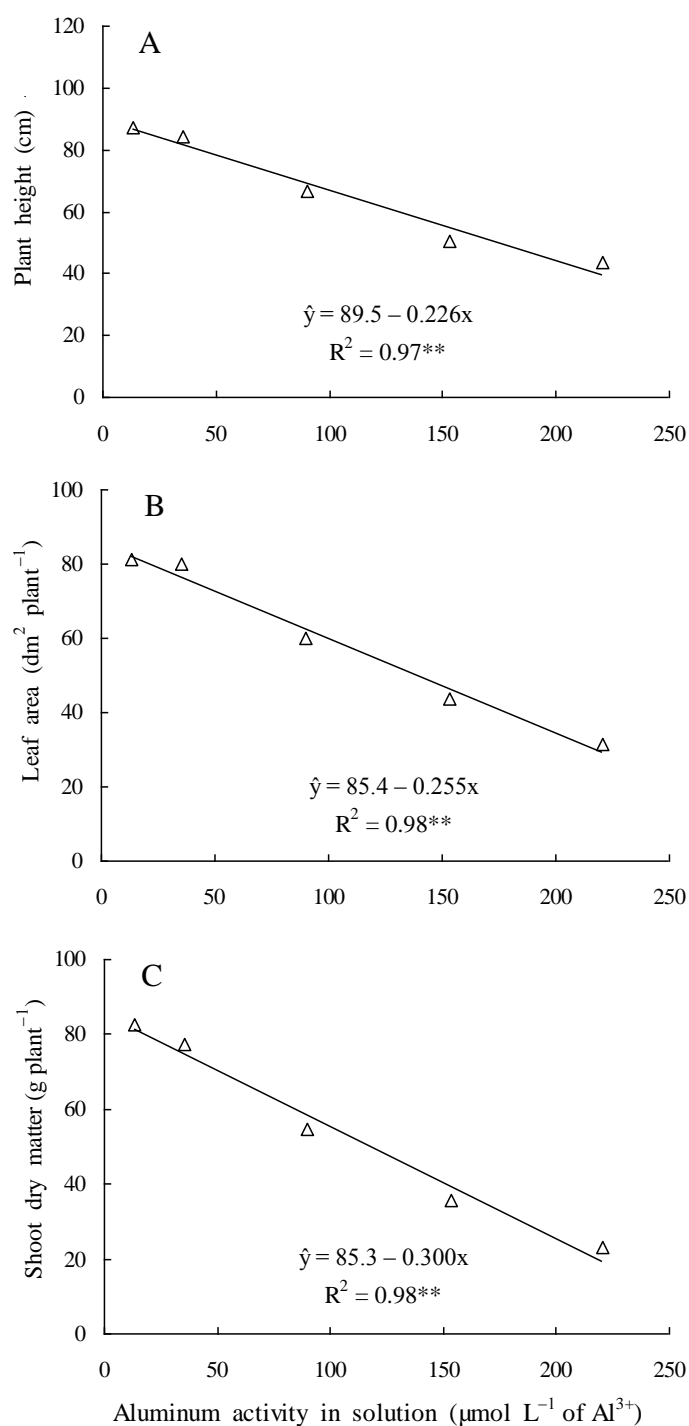


Figure 1. Effects of aluminum activity in nutrient solution on plant height (A), leaf area (B) and shoot dry matter (C) of young physic nut (*Jatropha curcas* L.) plants. Measurements were taken after 75 days of exposure to stressful conditions. Data refer to mean values ($n = 5$). **: statistical significance at 1% by F test. Source: The authors.

In coffee (Braccini et al., 1998a) and apple (Dantas et al., 2001) plants, one of the main effects of Al in the shoot was the shortening of internodes, resulting in plants with reduced height. In this

study of physic nut plants, plant height was the characteristic of shoots that was least affected, with a 54% decrease when comparing plants exposed to solutions of 13.3 and 220.7 $\mu\text{mol L}^{-1}$ active Al^{3+} (Figure 1a). For leaf area and shoot dry matter, this decrease was 64% and 76%, respectively, when comparing plants exposed to 13.3 and 220.7 $\mu\text{mol L}^{-1}$ of Al^{3+} (Figure 1b, c). Our findings are similar to those reported for apple rootstocks (Tecchio et al., 2006), where reductions of 65% in leaf number, 81% in plant height, and 85% in the dry matter of shoots were observed at 1.110 $\mu\text{mol L}^{-1}$ Al in nutrient solution after 75 days.

The root length (Figure 2a) and root dry matter (Figure 2b) of physic nut decreased progressively with increasing levels of Al^{3+} activity in solution. When the plants were exposed to active Al^{3+} of 153.3 and 220.7 $\mu\text{mol L}^{-1}$, there was practically no root growth. The percentage reduction in root length and root dry matter was 74% and 57%, respectively, when comparing the growth of plants exposed to active Al^{3+} of 13.3 and 220.7 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (Figure 2a, b). A major reported effect of Al^{3+} is the inhibition of root growth, where roots become short and thick (Barceló; Poschenrieder, 2002). This feature, incidentally, serves as the best indicator to assess the tolerance of a species to Al in nutrient solution.

However, a tolerance index based only on root elongation may not be the best indicator of Al tolerance (Massot et al., 1992). The growth of shoots should be considered since damage to the root system may result in reduced shoot growth. In agreement with this, Braccini et al. (1998a) found that the percentage reduction in the dry mass of shoots and roots were more appropriate characteristics to classify the genotypes of coffee according to Al tolerance. They also reported that when a reduction in the dry mass of shoots and roots was greater than 40%, the genotype in question was classified as sensitive to Al. Based on these data and the results presented here, we infer that the genotype of physic nut plants used in this study is sensitive to Al toxicity. Another species belonging to the same family (Euphorbiaceae) as physic nut, the castor bean (*Ricinus communis*), is also extremely sensitive to Al (Lima et al., 2007).

Plants exposed to the higher active Al^{3+} levels (153.3 and 220.7 $\mu\text{mol L}^{-1}$) showed characteristic symptoms of Al toxicity. The young leaves were small, chlorotic, with small necrotic spots on the border, and with the typical appearance of winding. On the other hand, the older leaves had marginal chlorosis, which progressed to the center of the lamina. In roots, the symptoms of Al toxicity were quite evident, manifested by a delay and/or an inhibition of lengthening of the main shaft, thickening of the tips of the roots, reduction of the number of lateral roots, and yellowing of the roots. These symptoms of Al toxicity in the leaves and roots of physic nut were similar to those reported in coffee plants (Braccini et al., 1998a).

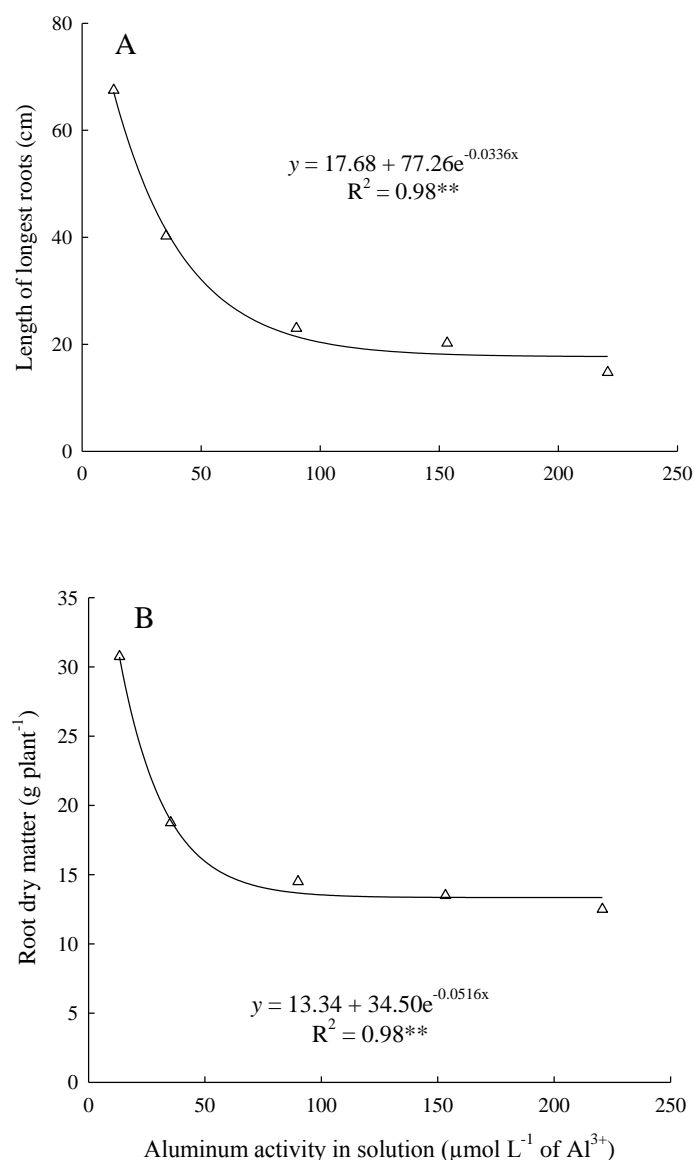


Figure 2. Effects of aluminum activity in nutrient solution on the length of longest roots (A) and root dry matter (B) of young physic nut (*Jatropha curcas* L.) plants. Measurements were taken after 75 days of exposure to stressful conditions. Data refer to mean values ($n = 5$). **: statistical significance at 1% by F test. Source: The authors.

In general, the deleterious effects of Al are most evident in the roots and can be attributed to the low mobility of this metal in the plant (Massot et al., 1992). The damage to the structure of roots – an increase in diameter and a decrease in the permeability of root cells – accentuates the deleterious effects of Al on the root system (Barceló; Poschenrieder, 2002). Moreover, as the roots are the organs in direct contact with the nutrient solution, they are more likely to be affected by stressful factors in this environment. The effects of Al on roots are well documented in the literature, and the reduction in root

growth (elongation and cell division) of susceptible species has been considered the main effect of toxic levels of Al (Mengel; Kirkby, 2001). Consistent with this interpretation, Samac and Tesfaye (2003) found that the primary site of the toxic action of Al is the distal part of the transition zone at the apex of the roots, where the cells are entering the elongation phase. Inhibition of root growth is the most visible symptom of Al toxicity in plants (Samac; Tesfaye, 2003; Hartwig et al., 2007).

These morphological anomalies and the damage to root systems result in the exploration of a reduced volume of soil by plants, with consequent losses in nutrient uptake and soil water utilization. As a result, the ability of plants to acquire nutrients in the presence of Al, especially P, Ca and Mg, has been interpreted as differing tolerances to this metal between plant species (Braccini et al., 1998b; López-Bucio et al., 2000).

Increasing the active Al^{3+} in solution decreased the concentration of P in the leaves of physic nut (Table 1). There was an average reduction in P levels of 52% between plants exposed to 13.3 and 220.7 $\mu\text{mol L}^{-1}$ of Al^{3+} . In roots, the P content was not affected by the presence of Al (Table 1). The higher P content measured in the roots of physic nut (Table 1) is due to the fact that the Al precipitates with the P in root apoplast, reducing translocation to shoots (Giannakoula et al., 2008). Studies suggest that this interaction occurs in the cell wall and outside the cell plasma membrane of the root cap (McCormick; Borden, 1974), or in the vacuole of the root cells (Macklon; Sim, 1992). Furthermore, Al can reduce the solubility of P, making it less available to plants (Pavan; Bingham, 1982).

Increased active Al^{3+} in solution reduced the Ca and Mg contents in leaves and roots of physic nut (Table 1). There was an average reduction in Ca and Mg content of 33% and 39% in leaves, and 42% and 37% in roots, respectively, when comparing the plants exposed to 13.3 and 220.7 $\mu\text{mol L}^{-1}$ of Al^{3+} . The lower Ca and Mg content in plant tissues in the presence of Al is due to both ions competing for binding with Al to the active site of ion channels involved in the absorption process (Malavolta et al., 1997). However, inhibition of Ca^{2+} and Mg^{2+} influx into the cell by Al^{3+} is rapid and reversible. The Ca^{2+} channels in the plasma membrane of root cells are very sensitive to Al. This block may be involved in Al toxicity to plants, and it may contribute to a disruption of intracellular Ca^{2+} homeostasis (Kochian et al., 2004).

Table 1. Effects of aluminum activity in nutrient solution on the phosphorus, calcium and magnesium content of the leaves and roots of young physic nut (*Jatropha curcas* L.) plants. Data refer to mean values (n = 5).

Aluminum activity	Phosphorus		Calcium		Magnesium	
	Leaf	Root	Leaf	Root	Leaf	Root
$\mu\text{mol L}^{-1}$ of Al^{3+}	-----		g kg^{-1}		-----	
13.3	3.42	5.27	30.31	14.36	7.53	5.56
35.3	2.85	6.71	31.71	12.82	7.14	5.75
90.0	2.26	5.73	28.32	10.75	6.71	5.46
153.3	1.97	5.49	25.06	9.26	5.27	4.12
220.7	1.63	5.58	20.19	8.34	4.58	3.48
Mean	2.43	5.76	27.12	11.10	6.25	4.87
F test	**	ns	**	**	**	*
Regression	L	ns	L	L	L	L
CV (%)	9.4	12.6	8.7	9.2	6.4	8.8

ns: not significant. * and **: statistical significance at 5% and 1%, respectively, by F test. L: linear equation. CV: coefficient of variation.

Aluminum content was highest in roots, followed by leaves and stems (Table 2). Increasing levels of active Al^{3+} in solution led to increased Al content in leaves, stems, and roots of physic nut plants (Table 2). Al accumulation in leaves, stems and roots was similar in all Al treatments, differing significantly only from the treatment without addition of metal.

Table 2. Effects of aluminum activity in nutrient solution on the aluminum content and accumulation of the leaves, stems and roots of young physic nut (*Jatropha curcas* L.) plants. Data refer to mean values (n = 5).

Aluminum activity	Aluminum content			Aluminum accumulated		
	Leaf	Stem	Root	Leaf	Stem	Root
$\mu\text{mol L}^{-1}$ of Al^{3+}	----- mg kg^{-1} -----			----- mg plant^{-1} -----		
13.3	46.8	13.5	890	2.35 (7.8) [†]	0.44 (1,5)	27.4 (90.8)
35.3	162.9	60.9	5,728	7.81 (6.7)	1.79 (1,5)	107.4 (91.8)
90.0	199.5	80.5	6,575	7.80 (7.4)	1.62 (1,5)	95.3 (91.0)
153.3	302.9	179.7	7,398	6.92 (6.3)	2.38 (2,2)	100.0 (91.5)
220.7	425.3	316.9	8,521	5.87 (5.1)	2.99 (2,6)	106.5 (92.3)
Mean	227.5	130.3	5,822	6.15 (6.4)	1.84 (1,9)	87.3 (91.6)
F test	**	**	**	*	**	**
Regression	L	L	Q	Exp	L	Exp
CV (%)	13.7	11.5	9.6	14.8	11.5	18.5

* and **: statistical significance at 5% and 1%, respectively, by F test. L: linear equation. Q: quadratic equation. Exp: exponential equation. CV: coefficient of variation. † Values in parentheses represent the percentage of Al accumulated in each part of the plant (leaf, stem, and root) in relation to the total amount accumulated in the plant.

Aluminum accumulated preferentially in the root system of physic nut plants (Table 2). On average, only 8.3% of total Al accumulated by plants was transported to the shoot – long-distance transport. These results confirm the general finding that Al accumulation occurs preferentially in the root system of plants (Massot et al., 1992; Mattiello et al., 2008). This accumulation may explain the deleterious effect of Al on the growth of the physic nut roots reported in this study. The retention of Al in the roots, preventing its transport to the shoot of the plant, can be an important factor for Al tolerance in plants, by preventing the deleterious effects of this metal in other organs.

FINAL CONSIDERATIONS

Physic nut shoot and root growth progressively decreased with increasing Al^{3+} activity in solution, and plants showed morphological abnormalities typical of injury caused by this metal at the two highest Al levels. Increasing active Al^{3+} levels reduced P concentrations in leaves, and Ca and Mg in leaves and roots of physic nut, demonstrating the effect of Al on the uptake, transport and use of

these nutrients by plants. Aluminum accumulated preferentially in the roots of physic nut, whereas only a small amount was transported to shoots.

REFERENCES

- Arruda FP, Beltrão NEM, Andrade AP, Pereira WE, Severino LS (2004). Cultivo de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) como alternativa para o semi-árido nordestino. *Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibras*, 8(1): 789–799.
- Barceló J, Poschenrieder C (2002). Fast root growth responses, root exudates and internal detoxification as clues to the mechanisms of aluminum toxicity and resistance: a review. *Environmental and Experimental Botany*, 48(1): 75–92.
- Beutler AN, Fernandes LA, Faquin V (2001). Efeito do alumínio sobre o crescimento de duas espécies florestais. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 25(4): 923–928.
- Braccini MCL, Martinez HEP, Pereira PRG, Sampaio NF, Silva EAM (1998a). Tolerância de genótipos de cafeeiro ao Al em solução nutritiva. I. Crescimento e desenvolvimento da parte aérea e sistema radicular. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 22(3): 435–442.
- Braccini MCL, Martinez HEP, Pereira PRG, Sampaio NF, Pereira AA (1998b). Tolerância de genótipos de cafeeiro ao Al em solução nutritiva. II. Teores de P, Ca e Al e eficiência ao P e Ca. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 22(3): 443–450.
- Dantas ACM, Fortes GRL, Silva JB, Nezi AN, Rodrigues AC (2001). Tolerância ao alumínio em porta-enxertos somaclonais de macieira cultivados em solução nutritiva. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 36(4): 615–623.
- Francis G, Edinger R, Becker K (2005). A concept for simultaneous wasteland reclamation, fuel production, and socio-economic development in degraded areas in India: Need, potential and perspectives of *Jatropha* plantations. *Nature Resources Forum*, 29(1): 12–24.
- Giannakoula A, Moustakas M, Mylona P, Papadakis I, Yupsanis T (2008). Aluminum tolerance in maize is correlated with increased levels of mineral nutrients, carbohydrates and proline, and decreased levels of lipid peroxidation and Al accumulation. *Journal of Plant Physiology*, 165(4): 385–396.
- Gustafsson JP (2020). Visual MINTEQ: version 3.0. Online. Disponível em: <http://www.lwr.kth.se/English/OurSoftware/Vminteq>. Acesso em 10/05/2020.
- Hartwig I, Oliveira AC, Carvalho FIF, Bertan I, Silva JAG, Schmidt DAM, Valério IP, Maia LC, Fonseca DAR, Reis CES (2007). Mecanismos associados à tolerância ao alumínio em plantas. *Semina: Ciências Agrárias*, 28(2): 219–228.


- Hoagland DR, Arnon DI (1950). *The water culture method for growing plants without soils*. Berkeley: California Agricultural Experimental Station, 347p.
- King AJ, He W, Cuevas JA, Freudenberger M, Ramiaramananana D, Graham IA (2009). Potential of *Jatropha curcas* as a source of renewable oil and animal feed. *Journal of Experimental Botany*, 60(10): 2897–2905.
- Kochian LV, Hoekenga OA, Piñeros MA (2004). How do crop plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorous efficiency. *Annual Review of Plant Biology*, 55(2): 459–493.
- Kumar A, Sharma S (2008). An evaluation of multipurpose oil seed crop for industrial uses (*Jatropha curcas* L.): A review. *Industrial Crops and Products*, 28(1): 1–10.
- Lana MC, Steiner F, Zoz T, Fey R, Frandoloso JF (2013). Tolerance of physic nut plants to aluminum activity in nutrient solution. *Bioscience Journal*, 29(3): 582-589.
- Laviola BG, Dias LAS (2008). Teor e acúmulo de nutrientes em folhas e frutos de pinhão-manso. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 32(5): 1969–1975.
- Lima RLS, Severino LS, Ferreira GB, Silva MIL, Albuquerque RC, Beltrão NEM (2007). Crescimento da mamoneira em solo com alto teor de alumínio na presença e ausência de matéria orgânica. *Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas*, 11(1): 15–21.
- López-Bucio L, Neto Jacobo MF, Ramirezrodrigues V, Herrera-Estella L (2000). Organic acids metabolism in plants: From adaptive physiology to transgenic varieties for cultivation in extreme soils. *Plant Science*, 160(1): 1–13.
- Macedo FL, Pedra WN, Silva AS, Barreto MCV, Silva-Mann R (2011). Efeito do alumínio em plantas de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.), cultivadas em solução nutritiva. *Semina: Ciências Agrárias*, 32(1): 157–164.
- Macklon AES, Sim A (1992). Modifying effects of a non-toxic level of aluminium on phosphate fluxes and compartmentation in root cortex cells of intact ryegrass seedlings. *Journal of Experimental Botany*, 43(11): 1483–1490.
- Malavolta E, Vitti GC, Oliveira AS (1997). *Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações*. Piracicaba: Potafos, 319p.
- Massot N, Poschenrieder C, Barceló J (1992). Differential response of three bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars to aluminum. *Acta Botanica Neerlandica*, 41(2): 293–298.
- Mattiello EM, Pereira MG, Zonta E, Mauri J, Mattiello JD, Meireles PG, Silva IR (2008). Produção de matéria seca, crescimento radicular e absorção de cálcio, fósforo e alumínio por *Coffea canephora* e *Coffea arabica* sob influência da atividade do alumínio em solução. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 32(1): 425–434.

- McCormick LH, Borden FY (1974). The occurrence of aluminum phosphate in plant roots. *Soil Science Society of America Proceedings*, 38(6): 931–933.
- Mengel K, Kirkby EA (2001). *Principles of plant nutrition*. 5th ed. Dordrecht, Kluwer: Academic Publishers, 849 p.
- Miyazawa M, Pavan MA, Muraoka T, Carmo CAFS, Mello WJ (1999). Análises químicas de tecido vegetal. In: SILVA, F.C. *Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes*. Brasília: Embrapa, 370p.
- Pavan MA, Bingham FT (1982). Toxidez de alumínio em cafeeiros cultivados em solução nutritiva. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 17(9): 1293–1302.
- Samac DA, Tesfaye M (2003). Plant improvement for tolerance to aluminum in acid soils: a review. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 75(3): 189–207.
- Sanchez PA, Salinas JG (1981). Low-input technologies for managing Oxisols and Ultisols in tropical America. *Advances in Agronomy*, 34(1): 279–406.
- Severino SL, Vale LS, Beltrão MED (2007). A simple method for measurement of *Jatropha curcas* leaf area. *Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosa*, 11(1): 9–14.
- Souza PT, Silva EB, Graziotti PH, Fernandes LA (2011). NPK fertilization on initial growth of physic nut seedlings in Quartzarenic Neossol. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 35(2): 559–566.
- Tecchio MA, Pires EJP, Terra MM, Grassi-Filho H, Corrêa JC, Vieira CRYI (2006). Tolerância de porta-enxertos de videira cultivados, em solução nutritiva, ao alumínio. *Revista Ceres*, 53(306): 243–250.

Potassium nitrate priming to induce salt stress tolerance in cucumber seeds

Received at: 01/07/2020

Accepted at: 10/07/2020


 10.46420/9786588319024cap6


Carlos Eduardo da Silva Oliveira¹ 

Talita Cristina Campos Pereira da Silva¹ 

Gabriela da Silva Freitas¹ 

Daniel Henrique Santana Rodrigues¹ 

Alan Mario Zuffo² 

Fábio Steiner^{1*} 

INTRODUCTION

Cucumber (*Cucumis sativus* L.) is the fourth most cultivated vegetable crop in Brazil, both in outdoor fields and greenhouses (Carvalho et al., 2016). However, the sustainability of vegetable production in many areas of Brazil, especially under greenhouse conditions is at risk due to excess salts in the soil or irrigation water (Pereira et al., 2017). Salinity is one of the most serious stress factors that limit plant growth and yield of cucumber in arid, semiarid, and irrigated areas, mainly due to its dramatic effects on plant physiology and performance (Acosta-Motos et al., 2017). A soil is considered saline when the electric conductivity of the extract (ECe) from the water saturated soil reaches 4.0 dS m⁻¹ (equivalent to 40 mmol L⁻¹ NaCl), generating an osmotic pressure of about -0.2 MPa and significantly reducing the yields of most vegetables (Munns; Tester, 2008).

Soil salinity may adversely affect plant growth either through osmotic inhibition of water uptake by plant roots or phytotoxic effects of specific ions that lead to secondary oxidative stress in plants (Acosta-Motos et al., 2017). Salinity generates a low water potential in the soil, making it difficult for plants to acquire water, and resulting in water restriction conditions (Porcel et al., 2012). Therefore, excessive concentration of salt in the soil solution negatively affects the physiology, growth, and yield of crops (Lima et al., 2016; Sá et al., 2018).

¹ Curso de Agronomia, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS), Rod. MS 306, km 6,4, CEP 795400-000, Cassilândia, MS, Brasil.

² Curso de Agronomia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Rod. MS 306, km 105, CEP 79560-000, Chapadão do Sul, MS, Brasil.

* Autor de correspondência: steiner@uems.br

Salinity affects plant growth at all developmental stages; however, sensitivity varies from one growth stage to another. Seed germination is one of the most salt-sensitive plant growth stages and is severely inhibited with increasing salt level (Fuller et al., 2012; Zuffo et al., 2020). Delayed and reduced seedling emergence cause non-uniform stand establishment, which results in reduced crop yields (Lawles et al., 2012). In this regard, several approaches including seed priming, seed soaking, and seed coating have been employed to improve seed germination and plant establishment under salt stress.

Among the strategies used to mitigate the salt stress-induced adverse effects the priming of seeds by soaking in inorganic salt solutions (halopriming) or water (hydropriming) are cited as the most appropriate, efficient and economic techniques to enhance the rate and the uniformity of germination under saline conditions (Singh et al., 2015; Matias et al., 2018). (Nerson; Govers. 1986) suggested that nitrate-containing compounds may function more efficiently than other salts as priming agents. Indeed, the seed priming with potassium nitrate (KNO_3) solution have been shown to have beneficial effects on germination and growth rate of a wide range of vegetable crops under stressful environments, as in eggplant (Nascimento and Lima, 2008), melon (Nerson; Govers, 1986; Oliveira et al., 2019), tomato (Ebrahimi et al., 2014), and pepper (Batista et al., 2015). Ebrahimi et al. (2014) indicated that seed priming with KNO_3 led to increasing of germination and growth rate of tomato seedlings under salinity conditions. However, Oliveira and Steiner (2017) showed that the priming of cucumber seeds with KNO_3 had insignificant effect to improve germination capacity and growth rate of seedlings under salt stress conditions.

On the other hand, Matias et al. (2018) recommended the soaking of seeds in water to improve plant tolerance under salt stress conditions. These authors argue that the hydropriming stands out for its practicality and requires low investments in reagents, compared with the other methods, besides avoiding interference of substances that are undesirable or harmful to the seeds during soaking. Therefore, these and other contradictory results justify the need of conducting more research to investigate the effectiveness of seed pretreatment with KNO_3 or water in the induction of salt stress tolerance in cucumber plants.

The study was carried out to investigate the effects of halopriming and hydropriming as inducers of salt stress tolerance in cucumber seeds (*Cucumis sativus* L., cv. Aodai Melhorado) exposed to different salinity levels.

MATERIAL AND METHODS

Seeds of cucumber (*Cucumis sativus* L., cv. Aodai Melhorado) were surface-sterilized in 2% (v/v) sodium hypochlorite solution for 5 minutes and rinsed three times in distilled water. The “Aodai Melhorado” cucumber cultivar is considered a moderately tolerant genotype to salt stress during the

germination and seedling establishment stage (Oliveira; Steiner, 2017). The sterilized seeds were then primed by soaking with 5 g L⁻¹ KNO₃ solution (halopriming) or distilled water (hydropriming) for 22 hours at 25 °C. After priming, seeds were removed and washed with tap water and then put to dry at room temperature (23–28 °C) for 48 hours. A set of unprimed dry seeds were taken as control.

To compare the effect of priming techniques on plant tolerance to saline stress, the seeds were exposed to 0.0, -0.30 and -0.60 MPa iso-osmotic solutions with NaCl. The concentration of NaCl required to obtain the osmotic potential of -0.3 and -0.6 MPa was calculated by the van't Hoff equation (Hillel, 1971): $\Psi_s = -RTC_i$, where Ψ_s is the osmotic potential (MPa); R is the ideal gas constant (0.008314 MPa mol⁻¹ K⁻¹); T is the absolute temperature (273.15 + °C); C_i is the concentration in molarity of the solute (mol L⁻¹); and i is the van't Hoff factor, the ratio of amount of particles in solution to amount of formula units dissolved [i.e., for NaCl this value is 2.0 (Na⁺ and Cl⁻)].

Treatments were arranged in a completely randomized design in a 3 × 3 factorial: three priming techniques [hydropriming (water), halopriming (0.5% KNO₃) or unprimed seeds] and three salt stress levels [0 MPa (control), -0.3 MPa (mild stress) and -0.6 MPa (severe stress)], with four replicates.

Four replicates of 30 seeds were evenly distributed in plastic boxes type Gerbox[®] (11.0 × 11.0 × 3.5 cm) with blotter paper, properly moistened with the salt solution of each treatment, in a volume equivalent to three times the weight of dry paper. The boxes were then closed with lids to prevent evaporation and maintain the relative humidity close to 100%. Germination was carried out in a germination chamber under 12/12 h photoperiod (light/darkness), photosynthetic photon flux density (PPFD) of 180 μmol m⁻² s⁻¹ and temperature of 25 °C for 14 days. Thiram was added to the solutions at a concentration of 0.2% (v/v) to control the fungi infection. Seeds were considered germinated when radicle was longer than 10.0 mm. Germinated seeds were recorded every 24 h for 14 days.

The number of germinated seeds was recorded daily, and the final germination percentage was determined after 14 days. The germination rate index (GRI) was calculated using Maguire's equation (Maguire, 1962): $GRI = \sum (n_i/t_i)$, where n_i is the number of germinated seeds on a given day, and t_i is the time in days from the starting/sowing day (0). The mean germination time (MGT) was calculated using the equation of Labouriau (1983): $MGT = (\sum n_i t_i) / \sum n_i$, where n_i is the number of germinated seeds on a given day, and t_i is the time in days from the starting/sowing day (0).

The hypocotyl length (HL, in cm) and radicle length (RL, in cm) was measured in ten normal seedlings randomly obtained after count of the total germination (14th day) using meter scale. To determine the dry matter partitioning into shoot and roots, all seedlings obtained at the end of the germination test (14 days) were separated into shoots and roots, dried in an oven for three days at 65 °C, and then weighed. The results were expressed in mg seedling⁻¹. To determine root: shoot ratio (RSR), root dry matter obtained was divided by the shoot dry matter.

The data of germination percentage, seedling length, and dry matter accumulation were used to calculate the seedling vigor and drought tolerance indices. Seedling weight and length vigor indices in each treatment were calculated using following equations, as suggested by Abdul-Baki and Anderson (1973): $SLVI = [\text{seedling length (cm)} \times \text{seed germination (\%)}]$ and $SWVI = [\text{seedling dry weight (mg)} \times \text{seed germination (\%)}]$.

The salt tolerance index was calculated using the equation of Bouslama and Schapaugh (1984): $YSI = Y_s/Y_c$, where YSI is the yield stability index, Y_s and Y_c are the total dry matter yield (mg per seedling) under saline stress and non-stress conditions (control), respectively.

The normality of data was previously tested by the Kolmogorov-Smirnov test at the 5% level and then data were submitted to analysis of variance (ANOVA), and means of seed priming and stress level were compared by Fisher's Least Significant Difference (LSD) test at the 0.05 level of confidence. For statistical analysis, the data expressed in percentage were previously transformed into $\arcsin\sqrt{(x/100)}$. The analyses were performed using Sisvar[®] version 5.6 software for Windows (Statistical Analysis Software, UFLA, Lavras, MG, BRA).

RESULTS AND DISCUSSION

The results of the analysis of variance showed significant effects ($p < 0.05$) for the main effects of seed priming with KNO_3 and salinity levels, as well as for interaction, for the majority of the traits measured (Table 1). The significant interaction between the main effects of seed priming and salt stress for most of the evaluated traits indicates germination and initial growth of cucumber seedlings from seeds submitted to different priming techniques has a distinct response when exposed to different saline stress levels.

Table 1. Summary of the analysis of variance for the measurements of germination traits, initial growth, dry matter partitioning and vigor indexes of cucumber seedlings for the effects of seed priming and saline stress

Causes of variation	Probability > F										
	GC	GRI	MGT	HL	RL	SDM	RDM	TDM	RSR	SLVI	SWVI
Priming (P)	0.004	<0.000	0.181	0.538	<0.000	0.005	<0.000	0.001	0.215	0.134	0.442
Salinity (S)	<0.000	<0.000	<0.000	<0.000	<0.000	<0.000	<0.000	0.018	<0.000	<0.000	0.002
P × S	0.005	<0.000	0.002	0.067	0.031	0.035	0.003	0.043	0.055	0.042	0.003
CV (%)	7.92	7.80	5.23	10.54	10.82	12.73	11.06	8.00	11.93	12.88	12.32

GC: germination capacity. GRI: germination rate index. MGT: mean germination time. HL: Hypocotyl length. RL: radicle length. SDM: shoot dry matter. RDM: Root dry matter. TDM: Total dry matter. RSR: Root: shoot ratio. SLVI: Seedling length vigor index. SWVI: Seedling weight vigor index. Source: The authors.

Effect of seed priming and salt stress on germination

The germination percentage of cucumber seeds in the salt-free control treatment was higher than the standard value used as reference for the commercialization of cucumber seeds in Brazil (i.e., 80%) (Figure 1A). This indicates that the seeds used in this study were of high physiological quality.

The different priming techniques did not interfere in the germination capacity, germination rate index and mean germination time when the cucumber seeds were submitted to the salt-free control conditions (Figure 1). These results indicate that the germination response of cucumber seeds has not been improved by hydropriming and halopriming when the seeds are exposed to non-stressful environments. However, when the seeds were submitted to mild salt stress the germination percentage was significantly greater with hydropriming, and lower for unprimed seeds (Figure 1A). Under conditions of severe salt stress, the germination ranged from 60 to 84% and was significantly greater when the seeds were primed with KNO₃, followed by hydropriming, and lower for unprimed seeds (Figure 1A).

The hydropriming was efficient to improve the germination capacity and germination rate index only under conditions of mild salt stress (Figure 1). However, under severe salt stress conditions, seeds primed with KNO₃ must be used to obtain higher germination percentage and germination rate index and lower mean germination time. These results show that priming of cucumber seeds with KNO₃ can have significant improvements of germination under conditions of high salt levels. Ebrahimi et al. (2014) also reported that the use of priming with KNO₃ may enhance the germination and growth rate of tomato seedlings under high salinity conditions. These findings agree with Kubala et al. (2015) who

found that halopriming may improve germination performance through metabolic activation involving the synthesis of proteins, nucleic acids, and enzymes, and increasing water uptake, respiratory activity, and reserve mobilization. Therefore, in field or greenhouse conditions where the soil or substrate is affected by salinity, the use of cucumber seeds primed with KNO_3 could make the difference between successful field germination and establishment or substantial crop failure (Ashraf et al., 2008).

The exogenous application of KNO_3 can stimulate seed germination at salt stress conditions due to the production of substances that release nitric oxide (NO) (Kaiser et al., 2016). These substances act in membrane permeability, preventing or reversing the damage caused by osmotic stresses (Pereira et al., 2010). Therefore, as the process of saline stress involves changes in osmotic pressure and tension on the cell membrane, it is possible that substances NO-liberating improves the germination process under salt stress (Kaiser et al., 2016). Nitric oxide is a molecule that acts as a signaler in higher plants and studies on their functions in the physiological processes of plants indicate that NO is involved in the regulation of plant growth and development, defense against pathogen and responses to abiotic stress (Sanz et al., 2015).

The germination rate index (GRI) of cucumber seeds is reduced with the increase of the salt stress level; however, this effect can be partially reversed with the KNO_3 priming under severe salt stress (Figure 1B). The decrease of the GRI was due to lower capacity of water uptake by the seeds with highly negative osmotic pressure. According to Feijão et al. (2011), the lower germination rate and growth inhibition due to salinity are caused by low external water potential, ion imbalance, and specific ion toxicity. Under severe salt stress conditions, there is a decrease in water uptake and an excessive uptake of ions (Akram et al., 2010). Osmotic stress affects the starch synthesis reactions and energy production process (adenosine triphosphate – ATP) through respiration, resulting in reduced of germination (Figure 1A), germination rate index (Figure 1B) and thus in delay of germination time (Figure 1C).

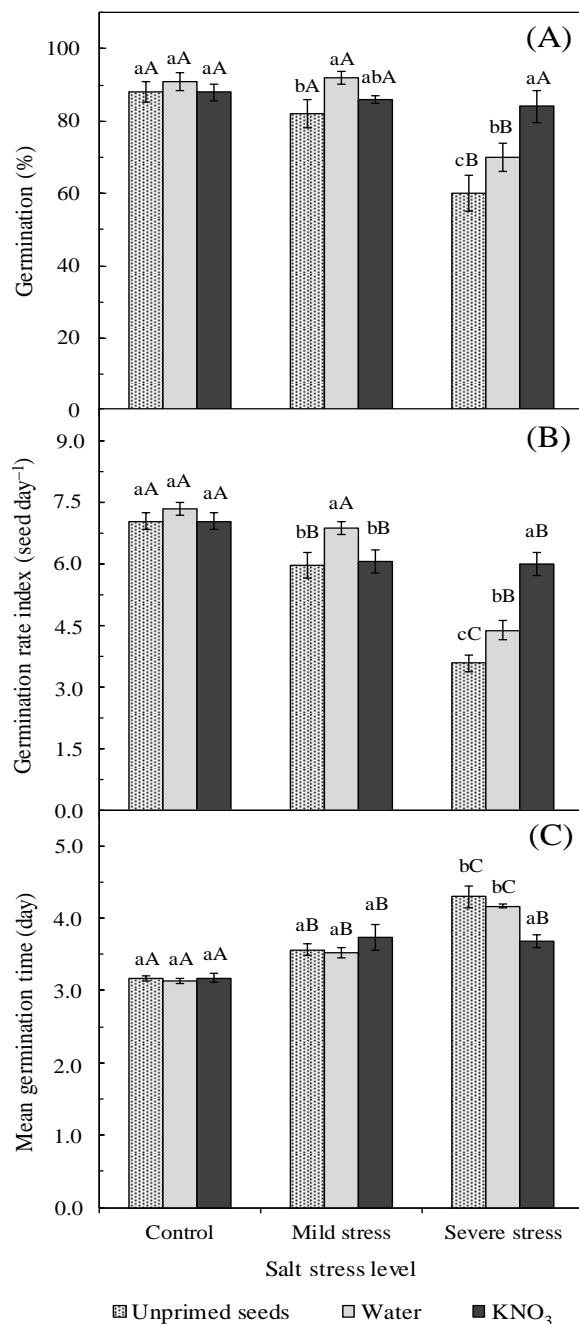


Figure 1. Effects of salt stress levels on germination capacity (A), germination rate index (B), and mean germination time (C) of cucumber (*Cucumis sativus* L., cv. Aodai Melhorado) from seeds submitted to priming with water (hydropriming) or 0.5% KNO₃ solution (halopriming) and unprimed seeds. Bars followed by distinct lower-case letters, between the priming techniques or upper-case letters, for the salt stress levels, show significant difference (LSD test, $p \leq 0.05$). Data refer to mean values ($n = 4$) \pm mean standard error. UEMS/Cassilândia-MS, 2018. Source: The authors.

The mean germination time (MGT) was delayed with the rise of salt stress levels (Figure 1C). Under severe salt stress, the MGT was delayed in 1.1 days (from 3.17 to 4.30 days) for the unprimed

seeds, in 1.0 days (from 3.14 to 4.17 days) for the seeds primed with water, against 0.5 days (from 3.17 to 3.68 days) for the KNO_3 priming compared to the NaCl-free treatment (control). A delay in the time to seed germination may be disadvantageous for successful establishment, since the delayed germination leaving the seeds more vulnerable to attack from predators (pests and pathogens) and, therefore, compromise the establishment of a uniform stand.

The delay of germination was due to salinity affect the water uptake of the seeds, which is the first step to occur germination process (i.e., imbibition). According to Marcos-Filho (2005), it is necessary that the seeds reach an adequate level of hydration during the imbibition phase, to occur reactivation of seed metabolic processes and growth of embryonic axis. Seeds subjected to osmotic stress require more time to adjust the internal osmotic potential in accordance with the external environment (Parida; Das, 2005; Munns; Tester, 2008). Meneses et al. (2011) reported that highly negative osmotic pressure may affect the seeds water uptake, making germination not possible. Additionally, the osmotic potential of the external medium can affect the enzymatic reactions in the seed, therefore, the delay in germination is due to delay of enzymatic reactions (Marcos-Filho, 2005), caused by the break of the imbibition period. The most common responses of plants to the reduction of osmotic pressure are a delay in initial germination and a reduction in the rate and total germination (Oliveira; Gomes-Filho, 2009). The result of these changes is an unevenness in the germination process and stand establishment.

Effect of seed priming and salt stress on early seedling growth

The initial growth of cucumber seedlings was little influenced by the priming or not of the seeds with water or KNO_3 (Figure 2). These results show that although KNO_3 priming can improve seed germination performance, it has an insignificant effect on improving the growth of cucumber seedlings. Equivalent results were reported by Oliveira and Steiner (2017), who verified that the halopriming of cucumber seeds had little effect to improve germination and growth rate of seedlings under salt stress conditions.

The length of hypocotyl and primary root were severely inhibited by the increase of salt stress level (Figures 2A and 2B). The hypocotyl length of cucumber seedlings ranged from 4.7 to 5.1 cm in the NaCl-free control treatment, whereas under severe salt stress the hypocotyl length ranged from 1.5 to 1.6 cm (Figure 2A). In turn, the primary root length decreased from 8.2–9.0 cm in the control treatment to 1.9–2.7 cm under severe salt stress conditions (Figure 1B). These results indicate that there was a mean reduction in hypocotyl and root length of 216% and 274%, respectively.

Under high salinity level an irreversible impairment of the photosynthetic apparatus, associated with a reduction of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco) activity, occurs when the stress is prolonged, and salt continues to accumulate in the leaves (Acosta-Motos et al., 2017). On the other hand, the noticed decrease in the length of the hypocotyl and primary root could be due to the negative effect of this salt on the changes in enzyme activity (that subsequently affects protein synthesis), and also the decrease in the level of carbohydrates and growth hormones, both of which can lead to inhibition of the growth (Mazher et al., 2007).

The dry matter yield of the shoots was increased with mild and severe salt stress levels (Figure 2C). This increase in shoot dry matter may be because the salt added in the solution may induce osmotic adjustment activity in the plants, which improved seedling growth. (Memon et al., 2010) reported that the addition of low NaCl concentrations led to increases in the growth of pak choi seedlings, however, higher NaCl concentrations caused inhibition.

On the other hand, the dry matter yield of roots was reduced with salt stress levels, except for seeds primed with KNO_3 (Figure 2D). The lower dry matter yield of roots due to increasing salinity level was caused by low external water potential, ion imbalance and specific ion toxicity (Feijão et al., 2011). One of the initial effects of salt stress on the plant is the reduction of growth rate and dry matter accumulation. (Oliveira; Steiner, 2017) reported that salinity decreases the dry matter accumulation of cucumber plants, and the salt level of 100 mmol L^{-1} decreased the root dry matter at around of 40%.

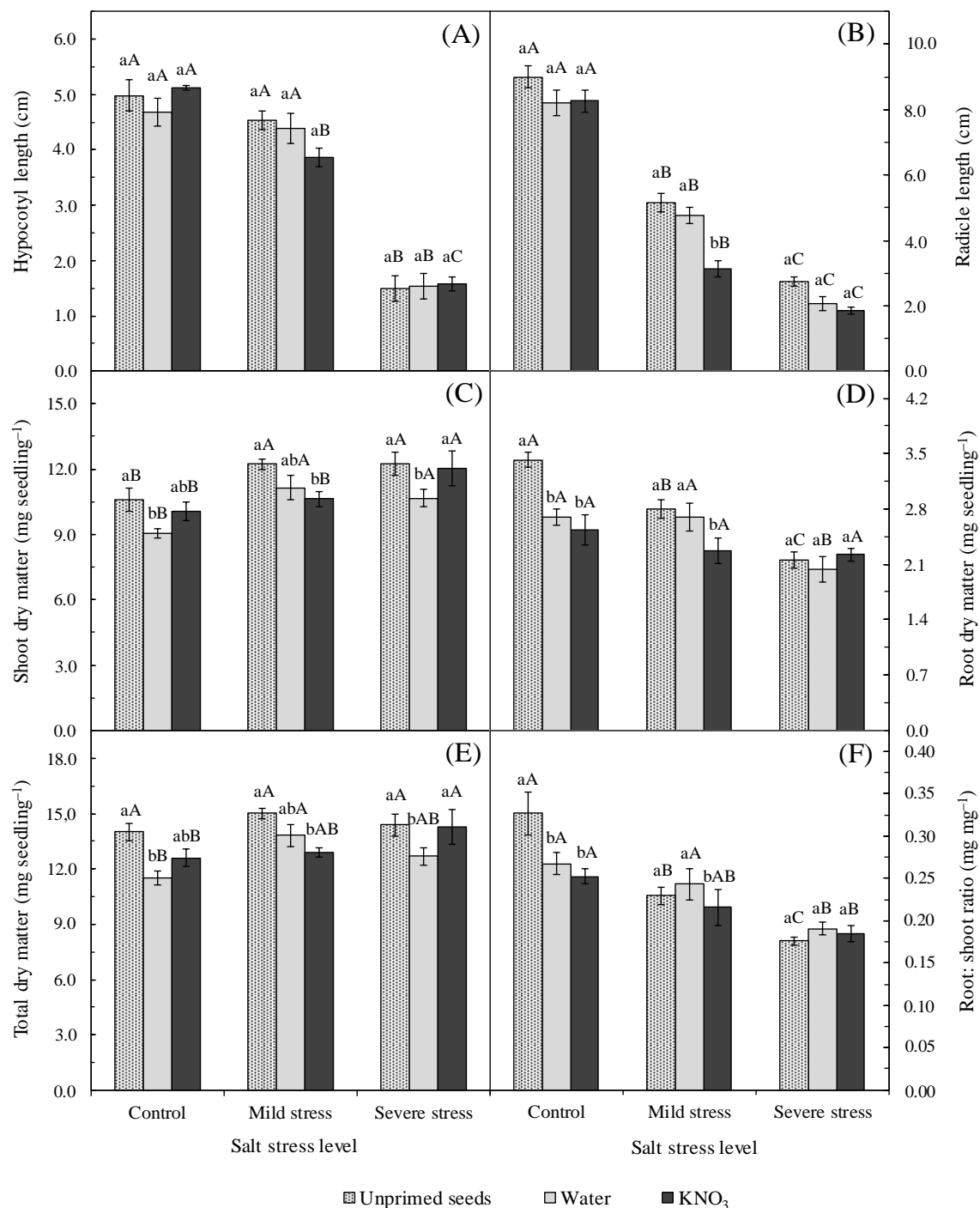


Figure 2. Effects of salt stress levels on hypocotyl length (A), radicle length (B), shoot dry matter (C), root dry matter (D), total dry matter (E) and root: shoot dry matter ratio (F) of cucumber (*Cucumis sativus* L., cv. Aodai Melhorado) from seeds submitted to priming with water (hydropriming) or 0.5% KNO₃ solution (halopriming) and unprimed seeds. Bars followed by distinct lower-case letters, between the priming techniques or upper-case letters, for the salt stress levels, show significant difference (LSD test, $p \leq 0.05$). Data refer to mean values ($n = 4$) \pm mean standard error. UEMS/Cassilândia-MS, 2018. Source: The authors.

In general, the highest total dry matter yield at most salt stress levels was obtained with the use of unprimed seeds (Figure 2E). These results show that the priming of seeds with water or KNO_3 did not improve the growth of cucumber seedlings. However, under mild and severe salt stress conditions the priming of water and KNO_3 resulted in the highest total dry matter compared to the control (Figure 2E). Contrary results were reported by (Oliveira; Steiner, 2017), who found that inhibiting action of salt stress on early seedling growth was increased with the rise of salinity levels, and the exposure of seeds to severe salt stress resulted in the decrease of total dry matter in 34% and 41% compared to the NaCl-free treatment, respectively, for the seeds primed with water or KNO_3 .

The root: shoot ratio is one of several ratios, which give estimates of dry matter partitioning into roots and shoots, and it is a good indicator for abiotic stress effects on root and shoot dry matter (Boutraa et al., 2010). The root to shoot ratio of cucumber seedlings was reduced with the rise of saline stress levels in all priming treatments (Figure 2F). An increase in the root to shoot ratio was expected to be a common response of plants to salt stress (Acosta-Motos et al., 2017). The greater root proportion under salt stress can favor the retention of toxic ions in this organ, controlling their translocation to the shoots. This response can constitute a typical mechanism of plant resistance or survival under saline conditions (Munns; Tester, 2008; Acosta-Motos et al., 2017). The results presented here suggest that the genotype of cucumber used in this study does not have the capacity to prioritize its allocation of photoassimilates to the roots in detriment to the aerial part and, thus, to improve its tolerances to saline stress. Assimilate partitioning is a complicated process that can be controlled simultaneously by sources and sinks (Taiz et al., 2017).

The length vigor index (SLVI) of cucumber seedlings ranged from 255 to 1,227 units and was drastically reduced with the rise of salt stress levels (Figure 3A). These results evidenced the harmful effect of salt stress on the elongation of cucumber seedlings, as reported by the lower length of the hypocotyl (Figure 2A) and primary root (Figure 2B). The priming treatments only had a significant effect under conditions of mild salt stress, and the greater length vigor index was obtained with the use of hydropriming and unprimed seeds (Figure 3A). On the other hand, the weight vigor index (SWVI) of cucumber seedlings ranged from 865 to 1,273 units and was little affected by salinity levels and priming treatment (Figure 3B). The lowest weight vigor indexes were obtained under severe stress condition with the use of hydropriming and unprimed seeds.

The seedling vigor index has been used as a tolerance index to evaluate the effect of salt stress on seedling growth (Ashkan; Jalal, 2013). Seedling vigor is a measure of the extent of damage that accumulates as viability declines, and the damage accumulates in seeds until the seeds are unable to germinate and eventually die (Marcos-Filho, 2005). The lower seedling vigor index obtained under severe salt stress was due to the salinity inhibit the initial growth of seedlings. The reduction in vigor

index of seedlings under salinity or water restriction conditions is usually reported by other research (Ashkan; Jalal, 2013; Singh et al., 2015; Oliveira; Steiner, 2017).

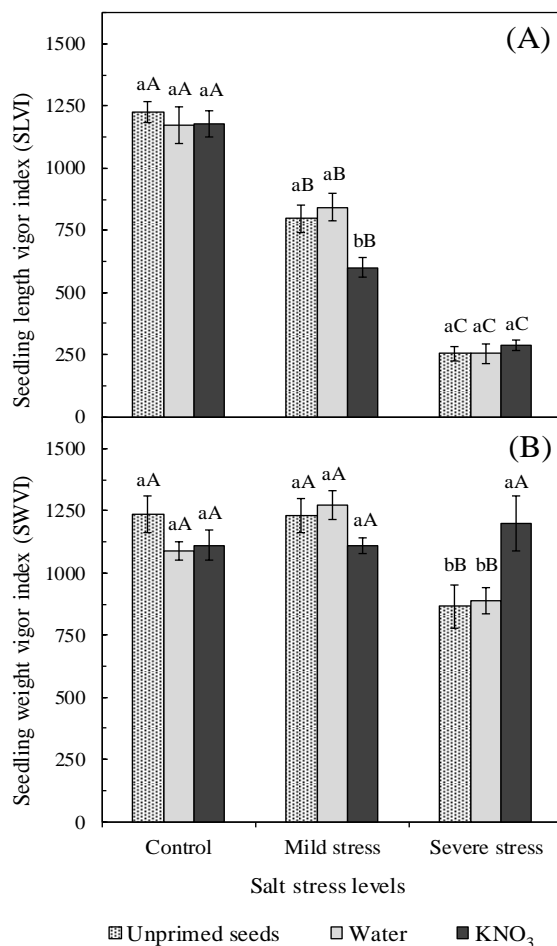


Figure 3. Effects of salt stress levels on length vigor index (A) and weight vigor index (B) of cucumber seedlings (*Cucumis sativus* L., cv. Aodai Melhorado) from seeds submitted to priming with water (hydropriming) or 0.5% KNO₃ solution (halopriming) and unprimed seeds. Bars followed by distinct lower-case letters, between the priming techniques or upper-case letters, for the salt stress levels, show significant difference (LSD test, $p \leq 0.05$). Data refer to mean values ($n = 4$) \pm mean standard error. UEMS/Cassilândia-MS, 2018. Source: The authors.

The yield stability index of cucumber seedlings ranged from 1.02 to 1.20 and 1.03 to 1.13 for the seeds exposed to mild and severe saline stress, respectively (Figure 4). The yield stability index was suggested by Bouslama and Schapaugh (1984) and has been considered a good salt tolerance index. When yield stability index (YSI) in response to saline conditions is greater than 1.0 indicates that the plant genotype is tolerant to salt stress. These results confirm the assertions of (Oliveira; Steiner, 2017), which reported that the cultivar “Aodai Melhorado” is moderately tolerant to saline stress. Three main

salinity tolerance mechanisms have been proposed by (Munns and Tester, 2008): ion exclusion – the net exclusion of toxic ions from the shoot; tissue tolerance – the compartmentalization of toxic ions into specific tissues, cells and subcellular organelles; and shoot ion-independent tolerance – the maintenance of growth and water uptake independent of the extent of Na^+ accumulation in the shoot.

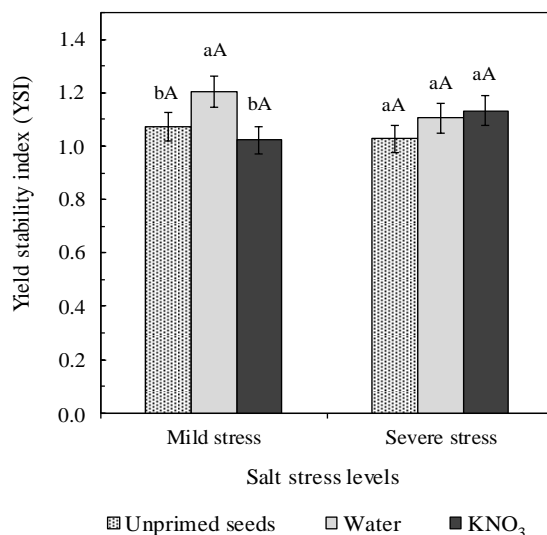


Figure 4. Effects of salt stress levels on the yield stability index (YSI) of cucumber seedlings (*Cucumis sativus* L., cv. Aodai Melhorado) from seeds submitted to priming with water (hydropriming) or 0.5% KNO_3 solution (halopriming) and unprimed seeds. Bars followed by distinct lower-case letters, between the priming techniques or upper-case letters, for the salt stress levels, show significant difference (LSD test, $p \leq 0.05$). Data refer to mean values ($n = 4$) \pm mean standard error. UEMS/Cassilândia-MS, 2018. Source: The authors.

FINAL CONSIDERATIONS

The seed priming with KNO_3 (halopriming) may be successfully applied on cucumber seeds to improve germination performance in saline conditions, especially under severe salt stress. Under mild salt stress conditions, the hydropriming is enough to improve the germination rate of cucumber seeds. The priming of seeds with water or KNO_3 had an insignificant effect on the initial growth and vigor of cucumber seedlings.

REFERENCES

Abdul-Baki AA, Anderson JD (1973). Vigor Determination in soybean seed by multiple criteria. *Crop Science*, 13 (6), 630-633.

- Acosta-Motos JR, Ortuño MF, Bernal-Vicente A, Diaz-Vivancos P, Sanchez-Blanco MJ, Hernandez JA (2017). Plant responses to salt stress: adaptive mechanisms. *Agronomy*, 7: 1-18.
- Akram M, Ashraf MY, Ahmad R, Waraich EA, Iqbal J, Mohsan M (2010). Screening for salt tolerance in maize (*Zea mays* L.) hybrids at an early seedling stage. *Pakistan Journal of Botany*, 42: 141-154.
- Ashkan A, Jalal M (2013). Effects of salinity stress on seed germination and seedling vigor indices of two halophytic plant species (*Agropyron elongatum* and *A. pectiniforme*). *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 22: 2669-2676.
- Ashraf M, Athar HR, Harris PJC, Kwon TR (2008). Some prospective strategies for improving crop salt tolerance. *Advances in Agronomy*, 97: 45-110.
- Batista TB, Binotti FFS, Cardoso ED, Bardivieso EM, Costa E (2015). Aspectos fisiológicos e qualidade de mudas da pimenteira em resposta ao vigor e condicionamento das sementes. *Bragantia*, 74: 367-373.
- Bousslama M, Schapaugh WT (1984). Stress tolerance in soybean. Part 1: evaluation of three screening techniques for heat and drought tolerance. *Crop Science*, 24: 933-937.
- Boutraa T, Akhkha A, Al-Shoaibi AA, Alhejeli AM (2010). Effect of water stress on growth and water use efficiency (WUE) of some wheat cultivars (*Triticum durum*) grown in Saudi Arabia. *Journal of Taibab University for Science*, 3: 39-48.
- Carvalho C, Kist BB, Treichel M (2016). *Anuário brasileiro das hortaliças 2016*. Editora Gazeta Santa Cruz: Santa Cruz do Sul, 89p.
- Ebrahimi R, Ahmadizadeh M, Rahbarian P (2014). Enhancing stand establishment of tomato cultivars under salt stress condition. *South-Western Journal of Horticulture, Biology and Environment*, 5: 19-42.
- Feijão AR, Silva JCB, Marques EC, Prisco JT, Gomes-Filho E (2011). Efeito da nutrição de nitrato na tolerância de plantas de sorgo sudão à salinidade. *Ciência Agrônômica*, 42: 675-683.
- Fuller MP, Hamza JH, Rihan HZ, Al-Issawi M (2012). Germination of primed seed under NaCl stress in wheat. *International Scholarly Research Network*, 2012: 1-5.
- Hillel D (1971). *Soil and water: physical principles and process.*: Academic Press: New York, 281p.
- Kaiser IS, Machado LC, Lopes JC, Mengarda LHG (2016). Efeito de liberadores de óxido nítrico na qualidade fisiológica de sementes de repolho sob salinidade. *Revista Ceres*, 63: 39-45.
- Kubala S, Garnczarska M, Wojtyła L, Clippe A, Kosmala A, Żmieńko A, Lutts S, Quinet M (2015). Deciphering priming-induced improvement of rapeseed (*Brassica napus* L.) germination through an integrated transcriptomic and proteomic approach. *Plant Science*, 231: 94-113.
- Labouriau LGA (1983). *Germinação de sementes*. Organização dos Estados Americanos: Washington, 112p.


- Lawles K, Raun W, Desta K, Freeman K (2012). Effect of delayed emergence on corn grain yields. *Journal of Plant Nutrition*, 35: 480-496.
- Lima GS, Santos JB, Soares LAA, Gheyi HR, Nobre RG, Pereira RF (2016). Irrigação com águas salinas e aplicação de prolina foliar em cultivo de pimentão 'All Big'. *Comunicata Scientiae*, 7: 513-522.
- Maguire JD (1962). Speeds of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, 2: 176-177.
- Marcos-Filho J (2005). Fisiologia de sementes de plantas cultivadas. FEALQ: Piracicaba, 585p.
- Matias JR, Torres SB, Leal CCP, Leite MS, Carvalho SMC (2018). Hydropriming as inducer of salinity tolerance in sunflower seeds. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 22: 255-260.
- Mazher AMA, El-Quesni EMF, Farahat MM (2007). Responses of ornamental and woody trees to salinity. *World Journal of Agricultural Science*, 3: 386-395.
- Memon SA, Hou X, Wang LJ (2010). Morphological analysis of salt stress response of pak Choi. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food*, 9: 248-254.
- Meneses CHSG, Bruno RLA, Fernandes PD, Pereira WE, Lima LHGM, Lima MMA, Vidal MS (2011). Germination of cotton cultivar seeds under water stress induced by polyethyleneglycol-6000. *Scientia Agrícola*, 68: 131-138.
- Munns R; Tester M (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59: 651-681.
- Nascimento WM, Lima LB (2008). Condicionamento osmótico de sementes de berinjela visando a germinação sob temperaturas baixas. *Revista Brasileira de Sementes*, 30: 224-227.
- Nerson H, Govers A (1986). Salt priming of muskmelon for low temperature germination. *Scientia Horticulturae*, 28, 85-91.
- Oliveira CES; Steiner F (2017). Potassium nitrate priming to mitigate the salt stress on cucumber seedlings. *Scientia Agraria Paranaensis*, 16: 454-462.
- Oliveira AB; Gomes-Filho E (2009). Germinação e vigor de sementes de sorgo forrageiro sob estresse hídrico e salino. *Revista Brasileira de Sementes*, 31: 48-56.
- Oliveira CES, Steiner F, Zuffo AM, Zoz T, Alves CZ, Aguiar VCB (2019). Seed priming improves the germination and growth rate of melon seedlings under saline stress. *Ciência Rural*, 49(7): e20180588.
- Parida AK, Das AB (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60: 324-349.
- Pereira BLC, Borges EEL, Oliveira AC, Leite HG, Gonçalves JFC (2010). Influência do óxido nítrico na germinação de sementes de *Plathymenia reticulata* Benth com baixo vigor. *Scientia Forestalis*, 38: 629-636.


- Pereira FAL, Medeiros JF, Gheyi HR, Dias NS, Preston W; Vasconcelos CBEL (2017). Tolerance of melon cultivars to irrigation water salinity. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 21: 846-851.
- Porcel R, Aroca R, Ruiz-Lozano JM (2012). Salinity stress alleviation using arbuscular mycorrhizal fungi. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 32: 181-200.
- Sá FVS, Gheyi HR, Lima GS, Paiva EP, Moreira MRL, Silva LA (2018). Water salinity, nitrogen and phosphorus on photochemical efficiency and growth of west Indian cherry. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 22: 158-163.
- Sanz L, Albertos P, Mateos I, Sánchez-Vicente I, Lechón T, Fernández-Marcos M, Lorenzo O (2015). Nitric oxide (NO) and phytohormones crosstalk during early plant development. *Journal of Experimental Botany*, 66: 2857-2868.
- Singh S, Sengar RS, Kulshreshtha N, Datta D, Tomar RS, Rao VP, Garg D, Ojha A (2015). Assessment of multiple tolerance indices for salinity stress in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Agricultural Science*, 7: 49-57.
- Taiz L, Zeiger E, Møller IM, Murphy A. 2017. Fisiologia e desenvolvimento vegetal. 6th. edn. Porto Alegre, Artmed. 888p.
- Zuffo AM; Steiner F, Aguilera JG, Teodoro PE, Teodoro LPR, Busch A (2020). Multi-trait stability index: A tool for simultaneous selection of soya bean genotypes in drought and saline stress. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 206: 1-8.

Respostas Ecofisiológicas de Plantas ao Lodo de Esgoto


Recebido em: 29/07/2020


Aceito em: 31/07/2020

 10.46420/9786588319024cap7

Michele Aparecida dos Santos Nobrega^{1,2} 

Montcharles da Silva Pontes^{1,3} 

Jaqueline da Silva Santos^{1,3} 

Shaline Séfara Lopes Fernandes^{1,2} 

Yaovi Abel Kissi¹ 

Etenaldo Felipe Santiago^{1,2*} 

INTRODUÇÃO

Inerente ao crescimento dos centros urbanos, o lodo de esgoto (LE) sanitário é derivado das atividades das empresas de tratamento de água e esgoto. Implica no resíduo gerado a partir do tratamento biológico de efluentes oriundos de esgotos domésticos, sendo acumulado temporariamente nas próprias instalações destas empresas, em diferentes tipos de tanques, até seu destino final, que, de modo geral, são os aterros sanitários.

Atualmente, um dos maiores passivos ambientais associados às populações humanas implica no resíduo proveniente do tratamento dos esgotos sanitários (Abreu et al., 2019). Este material é denominado, popularmente, como lodo de esgoto quando proveniente do tratamento final das estações de tratamento de esgoto (ETE), e biossólido quando apresenta características que permitem sua reutilização em meio agrícola (Andreoli et al., 2006; Nobrega et al., 2017).

O passivo ambiental representado pelo LE implica na necessidade crescente de alternativas para seu uso, como forma de redução do volume de descarte deste resíduo no meio ambiente. A descarga de LE compreende importante fonte de poluição ambiental (Li et al., 2018), além de constituir em custos para as empresas de saneamento quanto ao transporte e deposição de um volume crescente de resíduo sólido. Dados da produção anual média de LE em 16 países da União Europeia (UE), por exemplo, registraram valores em torno de 290 mil toneladas em 2017 (Tabela 1).

¹ Grupo de Estudos dos Recursos Vegetais – GERV.

² Dr(a) Docente Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul – UEMS.

³ Doutorando(a) do Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais – PGRN.

* Autor para correspondência: felipe@uems.br

Tabela 1. Produção anual de resíduos sólidos secos de lodo de esgoto (LE) em dezesseis países da União Europeia (UE), entre 2008-2017 (1.000 toneladas). Fonte: Dados extraídos de European Statistical System (<http://epp.eurostat.ec.europa.eu>).

	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Alemanha	2052.6	1949.9	1893.643	1946.286	1848.854	1808.648	1802.988	1803.087	1794.443	*1798.765
Bósnia	0.8	0.7	0.7	0.5	1.2	1.3	1.3	1.3	9.5	9.5
Bulgária	42.9	39.4	49.8	51.4	59.3	60.3	54.9	57.4	65.8	68.6
Chipre	7.5	9.2	7.083	6.815	6.533	6.123	6.16	6.695	7.408	*7.0515
Eslováquia	20.1	27.3	30.1	26.8	26.2	27.2	28.3	29.1	32.8	36.7
Eslovênia	57.82	58.58	54.76	58.72	58.71	57.43	56.88	56.24	53.05	54.52
Estônia	22.2	21.8	19	18.3	21.700	18.800	20.340	19.140	18.340	*18.740
França	1086.7	*1055.85	1025	1022	1043	909	1059	1238	1006	1174
Hungria	172.2	*149.3	170.34	168.33	160.6	170.47	163.12	172.01	215.08	264.71
Irlanda	103.3	106.8	90	85.7	72.429	64.546	53.543	58.387	56.018	58.773
Letônia	19.3	22.3	21.4	19.7	20.114	22.816	22.079	21.922	25.923	24.94
Malta	0.1	0.8	1.24	6.06	10.5	9.64	8.5	8.44	10.77	10.3
Polônia	567.3	563.3	526.7	519.2	533.3	540.3	556	568	568.329	584.454
Rep. Tcheca	220	207.2	196.3	217.9	263.3	260.1	238.59	210.24	206.71	223.27
Romênia	79.2	120.5	82.1	114.1	85.4	172.8	192.33	210.45	240.41	283.34
Suécia	213.8	212.4	203.5	200.1	207.5	207.9	200.5	197.5	204.3	200.9
Médias	282.465,9	276.284,1	265.924,5	271.112,4	266.897,4	261.789,2	269.449,4	281.039,9	272.626,4	290.490,1

* Dados não disponíveis, estimados a partir da média entre os dois anos mais próximos.

No Brasil, a produção de lodo atinge de 150 a 220 mil toneladas de matéria seca/ano (Manca et al., 2020), valores baseados nos dados de Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental, Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento – SNIS (Tabela 2), contabilizam uma produção anual média aproximada de 3,7 bilhão de metros cúbicos, dos quais 2,3 bilhão de metros cúbicos foram tratados, sendo o volume de coleta e tratamento de esgoto distintos nas diferentes regiões do país, e a produção de resíduo sólido de LE diretamente relacionada ao aumento populacional.

Tabela 2. Produção anual de lodo de esgoto (LE), por região no Brasil entre 2001-2010. Fonte: Dados obtidos de Brasil. Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental. Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento - SNIS. Diagnóstico dos Serviços de Água e Esgotos - 2011/2015. Brasília, DF, 2011/2015. Disponível em <<http://www.snis.gov.br/diagnostico-agua-e-esgotos/diagnostico-ae-2015>>. Acesso em: 21 de julho 2020.

Volume de esgoto coletado (mil metros ³)										
	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
Norte	11.834	30.166	32.567	31.918	43.355	44.134	46.392	45.44	50.922	71.573
Nordeste	435.527	511.262	491.084	524.606	508.48	475.401	473.717	509.204	563.614	530.364
Sudeste	2.195.981	2.261.548	2.244.777	2.273.204	2.445.490	2.663.719	2.705.628	2.785.662	2.891.521	3.283.928
Sul	283.517	294.946	312.884	330.716	346.113	371.294	399.3	422.511	448.692	491.321
Centro-O	214.92	224.325	221.324	227.214	232.667	253.323	261.738	255.569	275.94	285.661
total	3.141.779	3.322.247	3.302.636	3.387.658	3.576.105	3.807.871	3.886.775	4.018.386	4.230.689	4.662.847
Volume de esgoto tratado (mil metros ³)										
	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
Norte	6.139	9.988	13.978	11.752	21.979	24.401	26.486	32.073	43.931	65.772
Nordeste	351.264	441.96	401.488	461.46	458.271	423.795	420.033	439.87	461.577	456.899
Sudeste	967.937	1.023.702	1.124.323	1.181.112	1.267.096	1.370.849	1.457.870	1.628.430	1.774.432	1.955.645
Sul	204.491	228.005	250.915	261.203	269.227	279.032	312.374	333.056	365.441	385.936
Centro-O	119.406	124.052	131.102	156.641	185.308	213.621	226.329	227.119	249.603	260.175
total	1.649.237	1.827.707	1.921.806	2.072.168	2201.881	2.311.698	2.443.092	2.660.548	2.894.984	3.124.427

Neste cenário, a utilização do LE como substrato é uma prática desejável por dar uma destinação sustentável para esse resíduo, contribuindo para a sua diminuição nos aterros sanitários. O LE tem altos níveis de elementos minerais nutrientes para plantas, sendo considerado como um potencial fertilizante para a agricultura ou como condicionador do solo (Khan et al., 2013). Em vários países da UE mais de dois terços do volume total de LE tratado é utilizado para fins agrícolas (Eurostat, 2020). O uso agrícola do LE ainda que seja uma realidade em muitos países, depende de uma série de cuidados prévios, uma vez que neste resíduo também estão presentes metais pesados (MP) e outras substâncias potencialmente tóxicas para as plantas sendo necessários tratamentos prévios antes da sua utilização na agricultura, desta forma, ainda são diminuídos os riscos de impactos ao meio ambiente (Chang et al., 2019).

Nas plantas, apesar do crescimento ser na maioria dos casos afetado pelos MP, dependendo da concentração destes, algumas espécies possuem a capacidade de desencadear mecanismos de tolerância a níveis tóxicos ou letais para as demais espécies. Além dos MP, o desbalanço nas proporções dos elementos minerais presentes no LE também constituem fator desencadeador de respostas de estresse.

Neste capítulo, buscou-se descrever as respostas ecofisiológicas de plantas ao LE, abordando os pontos relevantes para compreensão dos mecanismos por meio dos quais são desencadeadas as respostas de tolerância ou suscetibilidade ao LE, além de discutir a viabilidade de substratos à base de LE na produção de mudas.

RESPOSTAS ECOFISIOLÓGICAS AO ESTRESSE

Independentemente do tipo de fator de estresse, as respostas observadas numa planta ou população de plantas expostas ao estresse envolvem mudanças internas tanto no sentido da alteração das atividades regulares do metabolismo celular, quanto aquelas no sentido do reparo e manutenção de suas funções vitais. Muitas destas respostas podem permanecer restritas aos processos metabólicos ou envolverem também alterações estruturais, percebidas por mudanças na morfologia da planta (Figura 1).

Sob estresse, o tipo de resposta do organismo depende ainda da informação presente em seu componente genético, cuja expressão pode resultar em respostas com baixo valor adaptativo (aquelas que normalmente são deletérias e não controladas, como por exemplo reações catalíticas que resultam em morte celular e necrose de tecidos) ou respostas com valor adaptativo, normalmente associadas a genes estresse-tolerantes cuja expressão desencadeiam respostas de reparo e normalização das funções metabólicas das plantas (Khassanova et al., 2019, Singh et., al 2019).

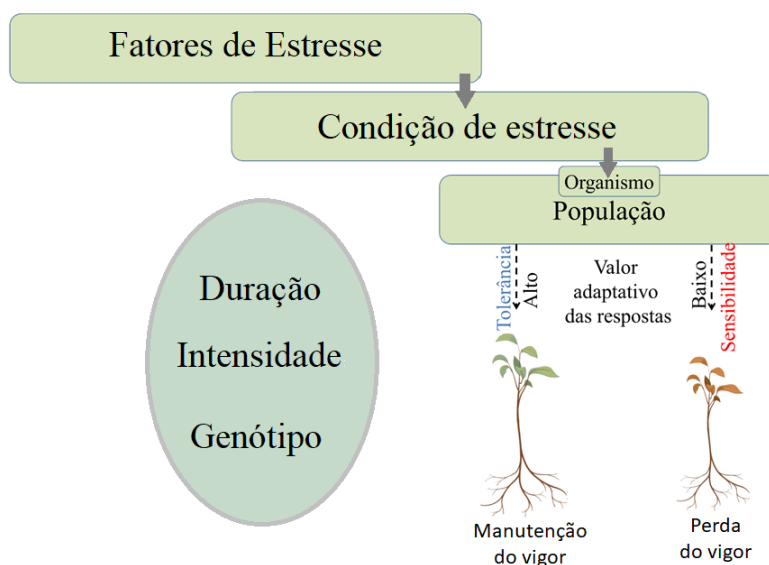


Figura 1. Respostas ecofisiológicas das plantas ao estresse. Diferentes fatores de estresse podem gerar a condição de estresse, a depender do fator ou fatores, tempo de duração, intensidade, e características genéticas, organismos ou populações de organismos podem apresentar respostas com alto ou baixo (nenhum) valor adaptativo, como resultado podem ser observados a tolerância ou a sensibilidade ao estresse com manutenção ou perda de vigor. Fonte: Os autores.

A seleção de genes estresse-tolerantes ocorre de modo artificial por meio de seleção de progênies e/ou indução em processos de melhoramento genético, ou por vias naturais sob pressão de seleção, em ambos os casos a seleção de genes depende de indução externa (sinal ambiental), tanto durante a seleção dos genes quanto da sua indução (Figura 2).

As modificações observadas nas plantas associadas à tolerância e superação do estresse podem ser interpretadas como mecanismos de plasticidade adaptativa que permitem ajustes estruturais/funcionais às alterações do meio (Falcão et al., 2015, Santiago et al., 2015). No entanto, sob estresse, distúrbios metabólicos verificados como alterações em processos fisiológicos representam suscetibilidade e são refletidos no desenvolvimento vegetal (Bezerra et al., 2017).

Processos morfofisiológicos podem ser desencadeados no sentido do ajuste e/ou aclimação quando o organismo é exposto a fatores de estresse, a tolerância do organismo é o resultado da informação adquirida durante a exposição da população ao estresse, assim o organismo tolerante/adaptado é detentor da informação, que quando acessada, resulta em respostas com valor adaptativo (Santiago et al., 2015; Araújo-Junior et al., 2019), como a tolerância à restrição hídrica, alterações de pH do solo, baixa disponibilidade de nutrientes e/ou altas concentrações de elementos minerais associados à fitotoxicidade, entre outros.

De modo geral, quando expostas ao estresse são desencadeados nas plantas distintos mecanismos: *i*) **rápidos ou de curto prazo** - aqueles que envolvem os componentes celulares já

presentes nas plantas (muitos dos quais de natureza proteica), as respostas observadas resultam, por exemplo, no fechamento estomático, alterações nas taxas fotossintéticas, alterações nas taxas respiratórias; *ii*) **respostas lentas ou de longa duração** - estas normalmente envolvem a expressão gênica e a síntese proteica, são comumente observadas como respostas morfogênicas que envolvem: alterações anatômicas, alterações de crescimento e/ou desenvolvimento, modificações na expansão foliar, entre outras (Carneiro et al., 2011; Pereira et al., 2012; Chakraborty et al., 2015).

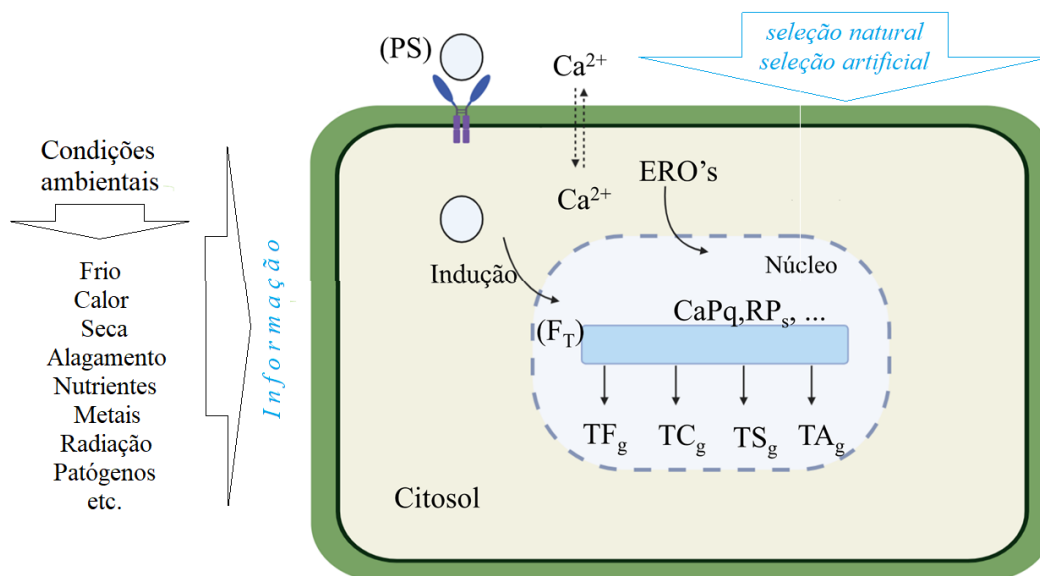


Figura 2. Seleção de genes estresse-tolerantes. Fatores geradores de estresse compreendem a informação ambiental responsável pela percepção do sinal (PS) a partir de receptores na membrana celular, que por sua vez, em conjunto com mecanismos de bombeamento de íons Ca^{+2} , proteínas amplificadoras de sinal no citoplasma (Pa) e outros fatores de transcrição (F_T), regulam a transcrição de genes no núcleo, envolvendo a Calmodulina quinase (CaP) e outras proteínas oxidativas (RPs), resultando em diferentes genes estresse-induzidos, cuja seleção, fixa nas populações os diferentes genes responsáveis pela tolerância ao frio (TFg), calor (TCg), seca (TSg), ao alagamento (TAg), entre outros. Fonte: Os autores.

Dentre os fatores promotores de estresse vegetal, incluindo elementos normalmente presentes no LE, tem destaque a exposição à metais pesados (MP), fator este capaz de desencadear respostas de sensibilidade nas quais as plantas exibem sintomas de toxicidade (Rodrigues et al., 2016) que envolvem, por exemplo, desde respostas de fechamento estomático, alterações funcionais e estruturais no aparato fotossintético, a alterações de natureza anatômica que afetam o desenvolvimento e o vigor. A expressão de mecanismos que evitam os efeitos deletérios desses elementos é diversa, e normalmente são

encontrados em espécies de plantas tolerantes que são utilizadas na biorremediação (Lasat, 2002; Chen et al., 2020).

As respostas ecofisiológicas ao estresse em plantas com certo grau de tolerância, incluem elementos associados ao ajuste das funções metabólicas, neste caso, são ativados mecanismos de reparo (Rodrigues et al., 2016), tais respostas podem ser variáveis de acordo com a espécie (Hall 2002, Rodrigues et al., 2016). Os mecanismos desenvolvidos podem ser intra ou extracelulares atuando na inibição dos efeitos prejudiciais em sua estrutura ou desencadeando mecanismos de ajuste de modo a utilizar o fator estressante para otimizar seu desenvolvimento (Souza et al., 2011).

Quanto ao estresse por MP, por exemplo, a resposta fisiológica e bioquímica da planta é diretamente relacionada a fatores qualitativos (tipo de metal) e quantitativos (suas concentrações) durante o tempo de exposição, são ainda relevantes outras variáveis, como por exemplo, a capacidade de translocação do elemento ao longo do corpo vegetal (Souza et al., 2011, Bezerra et al., 2017). Os estudos relacionados às respostas ecofisiológicas de plantas ao estresse são de grande relevância uma vez que possibilitam a compreensão do estado de integridade ambiental por meio da bioindicação, reconhecimento de fatores abióticos de risco ambiental, bem como colaboram com a mitigação dos impactos ambientais subsidiando as práticas de fitorremediação.

LODO DE ESGOTO – CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E BIOLÓGICAS

O LE é rico em matéria orgânica e nutrientes importantes às plantas, como nitrogênio e fósforo e potássio (Christofolletti et al., 2012), e pode melhorar as propriedades físico-químicas do solo, como umidade e retenção de água (Boudjabi et al., 2015; Debiase et al., 2016).

De modo geral, o LE contém MP além de uma ampla gama de compostos orgânicos tóxicos, como hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (Oleszczuk e Hollert, 2011; Oleszczuk et al., 2012), produtos farmacêuticos (Jelic et al., 2011), desreguladores endócrinos (Mailler et al., 2014) e nanopartículas (Joško e Oleszczuk, 2013). Atualmente, dois grupos tóxicos têm sido observados no LE, que são dibenzo-p-dioxinas policloradas e dibenzofuranos policlorados, eles provocam danos mutagênicos, carcinogênicos e imunotóxicos, além de efeitos sobre o desenvolvimento e a reprodução em organismos vivos (Gworek et al., 2013; Molina et al., 2000).

Segundo a Resolução CONAMA 175/2006, “de acordo com fatores naturais e/ou acidentais, o resíduo pode conter tanto MP e compostos orgânicos como patógenos em concentrações nocivas à saúde e ao meio ambiente”, sendo esse percentual muito variável em virtude de fatores como condições socioeconômicas, sanitárias, região geográfica, presença de indústrias agroalimentares e tipo de tratamento aplicado ao lodo (Abreu et al., 2019).

Embora apresente características que o incluem na classe de materiais altamente patogênicos (Castro et al., 2015), o LE possui em sua composição, elementos considerados essenciais para o desenvolvimento vegetal, constituindo fonte de matéria orgânica e de nutrientes para as plantas e que sua aplicação no solo pode trazer benefícios à agricultura (Brasil, 2006; Abreu et al., 2017; Nobrega et al., 2017; Abreu et al., 2019.).

Dentre as propriedades constituintes desse resíduo se destacam o elevado percentual de matéria orgânica e elementos mineralizados (Scheer et al., 2012; Castro et al., 2015), como por exemplo, altos teores de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) (Castro et al., 2015; Abreu et al., 2019) categorizando o LE como fonte de nutrientes para as plantas em razão da presença de elementos essenciais para o desenvolvimento vegetal.

PRODUÇÃO DE BIOSSÓLIDO A PARTIR DO LODO DE ESGOTO

O aumento nas discussões ambientais quanto à disposição final de resíduos, como o LE, tem aumentado a demanda por metodologias que se enquadrem nas práticas ambientalmente sustentáveis. Em virtude de suas características físico/químicas e microbiológicas, o LE convertido em biossólido tem potencial considerável para uso como substrato de plantas, demandando estudos das respostas das espécies vegetais quando da sua utilização, em especial das espécies tropicais utilizadas normalmente nas ações de restauração em áreas degradadas.

A crescente consciência das consequências do descarte inadequado dos resíduos industriais e/ou domésticos associados ao mau odor, riscos diretos e indiretos à saúde pública, poluição de mananciais de água (rios, lagos), contaminação dos solos entre outros problemas, tem estimulado os estudos visando à transformação, utilização e/ou reutilização destes materiais. O uso do LE em solos agrícolas é regulamentado pela resolução do Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA) nº 375/2006 (Brasil, 2006), e ressalta que para adotar a aplicação de resíduos de esgotamento sanitário é necessária uma análise de diversos parâmetros microbiológicos, como: bactérias, parasitas e vírus, que são considerados riscos à saúde pública (Brisolara; Sandberg, 2014).

Deste modo, o uso agrícola como coadjuvante na produção de substratos, se enquadra tanto na mitigação de impactos gerados pelo descarte inadequado quanto como instrumento de educação ambiental e despertar da consciência ecológica.

O LE é considerado um passivo ambiental e diversos estudos vêm abordando sua utilização como componente de substratos, em especial na forma de biossólido para produção de mudas florestais (Abreu et al., 2019). Em virtude do seu potencial para aumentar da capacidade de retenção hídrica do solo, aumentar a disponibilidade de nutrientes e redução ou mesmo eliminação da necessidade da aplicação de corretivos e fertilizantes minerais, principalmente de N, P e K (Siqueira et al., 2018). Isso

acarreta a economia na adubação suplementar, podendo ser uma alternativa menos onerosa que os substratos comerciais, ou outros componentes (Abreu-Junior et al., 2005; Scheer et al., 2010; Abreu et al., 2017).

O processamento do LE para sua conversão em bio sólido transformado pode ocorrer por meio das práticas de compostagem e/ou vermicompostagem. Na compostagem, a fração orgânica do resíduo é convertida em bio sólido mineralizado por atividade microbiana, induzida (quando são acrescentados microrganismos ao processo de cura) ou não (quando a atividade decompositora ocorre por conta dos microrganismos já presentes no meio), sendo portanto, um processo aeróbico exotérmico; já na vermicompostagem, além da atividade microbiana, são acrescentadas minhocas, organismos responsáveis pelo aumento na eficiência na conversão da matéria orgânica em material mineralizado (Dal Bosco et al., 2017).

Ao longo do processo de conversão da matéria orgânica ocorre a redução nas relações proporcionais entre o carbono e o nitrogênio presentes na matéria orgânica (relação C/N), desta forma, são descritos como ideais a alta relação C/N (em torno de 30/1) no início do processo (Dal Bosco et al., 2017). O LE de modo geral é caracterizado por apresentar baixa relação C/N sendo, portanto, desejável sua associação a outros resíduos que são fontes de carbono. Vários resíduos oriundos das atividades agroindustriais e disponíveis a baixo custo tais como bagaço de cana-de-açúcar, capim Napier, subprodutos do processamento de grãos como a casca de arroz, café, soja, entre outros, tem sido usados com eficiência nesse processo (Silva et al., 2018).

De modo geral, os processos de compostagem e vermicompostagem geram matéria orgânica estabilizada, rica em substâncias húmicas e elementos mineralizados apropriados à utilização como adubo orgânico na produção vegetal.

RESPOSTAS DE PLANTAS AO LODO DE ESGOTO

Existem vários relatos na literatura sobre respostas benéficas ou deletérias do LE na morfologia de plantas, na germinação e qualidade de plântulas, além de alterações na transpiração e fotossíntese (Figura 3). Todavia, segundo Manca et al. (2020) ainda são insuficientes as pesquisas sobre os efeitos nas propriedades químicas das raízes e brotações das plantas, bem como sobre as principais relações entre os danos provocados nos parâmetros morfológicos e fisiológicos. Em linhas gerais, são descritas tanto respostas negativas quanto positivas, isso parece estar relacionado, dentre outros fatores, à sensibilidade e tolerância das plantas, característica de cada espécie, além da composição do lodo, destacando a importância da caracterização física, química, e biológica deste resíduo, além do conhecimento prévio das plantas que serão produzidas ou tratadas com o mesmo.

Na literatura foram relatadas em plantas respostas de estresse ao LE, como produção excessiva de espécies reativas de oxigênio, alterações na produção de enzimas antioxidantes, interferência nos locais funcionais das proteínas, interrupção das funções enzimáticas, danos ao DNA, bioacumulação de metais, baixo enchimento de sementes (Fijalkowski; Kwarciak, 2020; Singh; Kumar, 2020), entre outras respostas. Por outro lado, algumas espécies vegetais apresentaram respostas positivas quando cultivadas em substratos a base de LE, apresentando otimização das respostas fisiológicas, com aumento da fotossíntese líquida, teores de clorofila, além de melhora na qualidade de mudas, com maior rendimento de biomassa, diâmetro do caule, altura, crescimento, floração, e produção de grãos (Bourioug et al., 2015; Rehman et al., 2018; Boudjabi et al., 2019; Koutroubas et al., 2020).

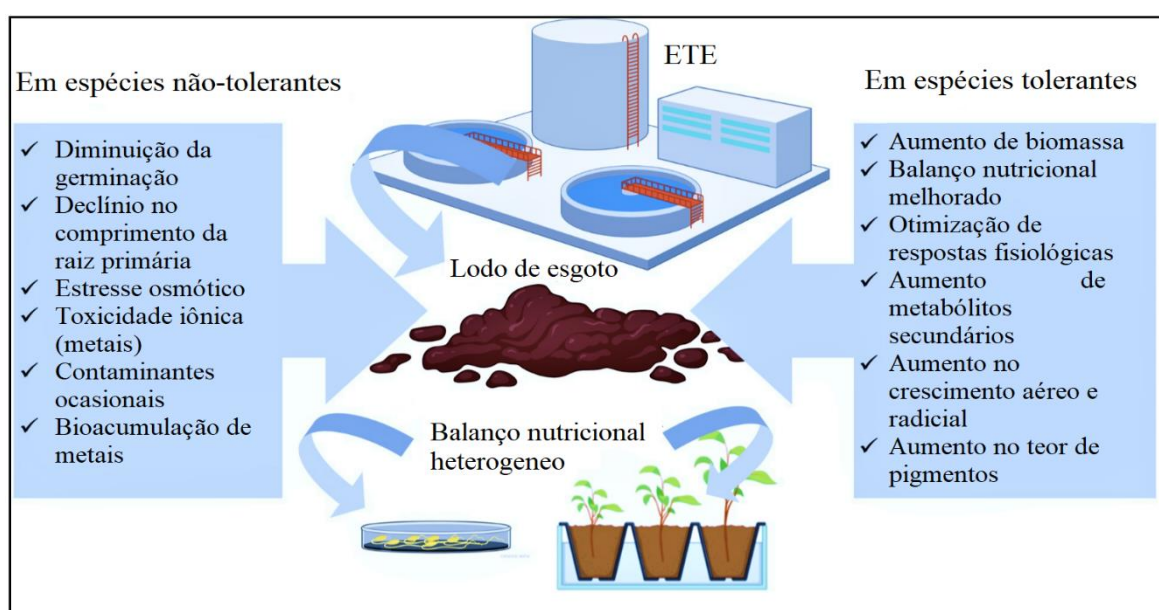


Figura 3. Esquema ilustrando as principais respostas de espécies arbóreas ao lodo de esgoto. Fonte: Os autores.

A utilização de resíduos provenientes de ETE e efluentes domésticos incorporados ao substrato como fertilizante para o cultivo de plantas, aumenta a disponibilidade de nutrientes no solo (Fytili; Zabaniotou, 2008; Oleszczuk et al., 2012). No entanto, efeitos benéficos ou deletérios podem ser observados, dependendo da dose aplicada, e da tolerância das espécies aos constituintes do LE (Nobrega et al., 2017). Portanto, os efeitos do LE nas plantas, em linhas gerais, estão bem fundamentados, com estudos desenvolvidos em diversas partes do mundo, sendo que atualmente, as pesquisas têm apontado para a busca de métodos de estabilização dos MP e redução de seu potencial contaminante, de modo que, os benefícios do teor nutricional do lodo sejam aproveitados sem maiores riscos ou prejuízos às plantas e ao meio (Nieminen; Räisänen, 2013; Machuca et al., 2019).

RESPOSTAS DE ESPÉCIES FLORESTAIS AO LODO DE ESGOTO

Diversos estudos têm sido realizados avaliando a influência do LE como substrato para as espécies florestais, apresentando resultados positivos quanto ao aumento na disponibilidade nutricional otimizando o desenvolvimento das plantas, também são relatados aspectos positivos na germinação e no desenvolvimento inicial de mudas das espécies arbóreas nativas (Scheer et al., 2010, Pontes et al., 2016, Fávarris et al., 2016, Nobrega et al., 2017, Abreu et al., 2019) confirmando que a utilização de LE na incorporação de substrato para a produção de mudas consiste em prática ambientalmente adequada para o destino final deste resíduo.

A germinação de sementes é um evento crucial para o ciclo de vida dos vegetais. A exposição ao LE, durante este estágio de desenvolvimento pode induzir alterações positivas ou negativas no comportamento germinativo. Em geral, devido a heterogeneidade de sua composição química, o LE promove alterações nas propriedades físicas e químicas dos solos ou substratos (McLachlan et al., 1994), como consequência desta heterogeneidade podem ocorrer pressões sobre os organismos, alterando assim a dinâmica do processo germinativo das sementes dependendo da dose ou concentração empregada.

Diversos trabalhos reportaram que o resíduo afeta de maneira significativa a germinação de sementes (Ramírez et al., 2008; Dash, 2012; Pontes et al., 2014). Dentre os efeitos deletérios em espécies não tolerantes, vale destacar os efeitos osmóticos e fitotóxicos na germinação de sementes descritos por diversos autores, por exemplo, a toxicidade de íons de sódio que é relatada como fator limitante na protrusão radicular (Ramírez et al., 2008).

Devido ao impacto dos elementos presentes no LE assim como suas concentrações sobre a capacidade germinativa das espécies, seu aproveitamento e utilização em programas de reflorestamento, deve ser envolvido de critérios como forma de se evitar riscos ao banco de sementes do solo (Wong et al., 2001; Fuentes et al., 2006).

Por outro lado, resultados positivos da aplicação do LE no plantio de mudas, foram reportados por Silva et al. (2012) em plantas de *Corymbia citriodora*, no qual observou-se incrementos na produção de biomassa foliar e lenhosa, aumentos na produção de óleo essencial, juntamente com um melhor balanço nutricional das mudas. Em mudas de *Sesbania virgata*, resultados positivos foram observados relacionados aos parâmetros morfológicos de crescimento e desenvolvimento das mudas, assim como em termos de qualidade fisiológica (Delarmelina et al., 2013; Pontes et al., 2016). Resultados positivos também foram descritos para a espécie arbórea decidual *Betula schmidtii* (Betulaceae), que quando tratadas com LE compostado apresentaram melhorias no desempenho fisiológico e bioquímico (Han et al., 2004). Em outro estudo, os tratamentos com LE em plântulas de *Eucalyptus urograndis*

apresentaram-se estatisticamente superiores ao controle para todas as variáveis avaliadas de crescimento, biomassa, pigmentos fotossintéticos e trocas gasosas das plantas (Zabotto et al., 2020).

MECANISMOS DE TOLERÂNCIA DAS PLANTAS AOS CONSTITUINTES MINERAIS DO LODO DE ESGOTO

Na agricultura, uma das principais limitações da utilização do LE implica na presença de MP, pois trata-se de um resíduo que varia conforme o local de origem. A existência de solos contaminados por MP representam um grande desafio ambiental por causarem disfunção na biodiversidade, reduzindo a fertilidade do solo e a atividade microbiana; desencadeando uma série de alterações fisiológicas nas plantas, como diminuição do potencial hídrico, aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), inibição de enzimas, oxidação de ácidos nucleicos e proteínas, morte celular e alterações e inibição do crescimento (Baig et al., 2020).

No entanto, quando expostas a níveis tóxicos de MP, as plantas podem exibir respostas variadas ao estresse, em escala estrutural e/ou molecular, envolvendo diferentes processos fisiológicos e de desenvolvimento (Rodrigues et al., 2016; Baig et al., 2020). Na desintoxicação de MP pelas plantas, mecanismos extracelulares e intracelulares celulares podem contribuir na tolerância ao estresse metálico (Hall, 2002), dentre os quais se destacam a redução da disponibilidade destes elementos no solo, por meio da imobilização promovida por organismos associados à rizosfera, processos ativos de efluxo, quelatção interna com redução de sua toxicidade entre outros (Figura 4).

Estudos tem comprovado que em solos com LE, a ligação dos MP à parede celular, a quelatção e precipitação de MP são expressivas, com pequenas atividades no solo (Angle et al., 1992). Nas plantas, substâncias são produzidas em tolerância ao estresse causado pelos MP, sendo conhecidas como metalotioneínas (MTs) e fitoquelatinas (PCs). Nos últimos anos, vários estudos mostraram o papel significativo das MTs nas plantas, no entanto, ainda são incipientes, pois para que ocorra aumento na capacidade de fitorremediação das plantas, pesquisas voltadas para a compreensão e manipulação da expressão de MTs são essenciais (Joshi et al., 2016).

Atualmente, pesquisadores tem utilizado microrganismos associados às plantas como estratégia para a produção agrícola sustentável, pois acredita-se que numerosos microrganismos associados às plantas, como por exemplo, bactérias e fungos, exibem características promotoras de crescimento de plantas mesmo em ambientes contaminados por MP.

Microrganismos associados às plantas podem diminuir o acúmulo de MP nos tecidos vegetais por meio da redução da biodisponibilidade destes. Estudos demonstram a capacidade de algumas espécies vegetais promoverem a extrusão de compostos tais como ácidos carboxílicos, aminoácidos, carboidratos e outros exsudatos associados ao aumento da diversidade de microrganismos na rizosfera

(Liu et al., 2020), além de novas estratégias fitobacterianas, como as bactérias geneticamente transformadas, utilizadas para aumentar a remediação de MP e a tolerância ao estresse nas plantas (Tiwari; Lata 2018).

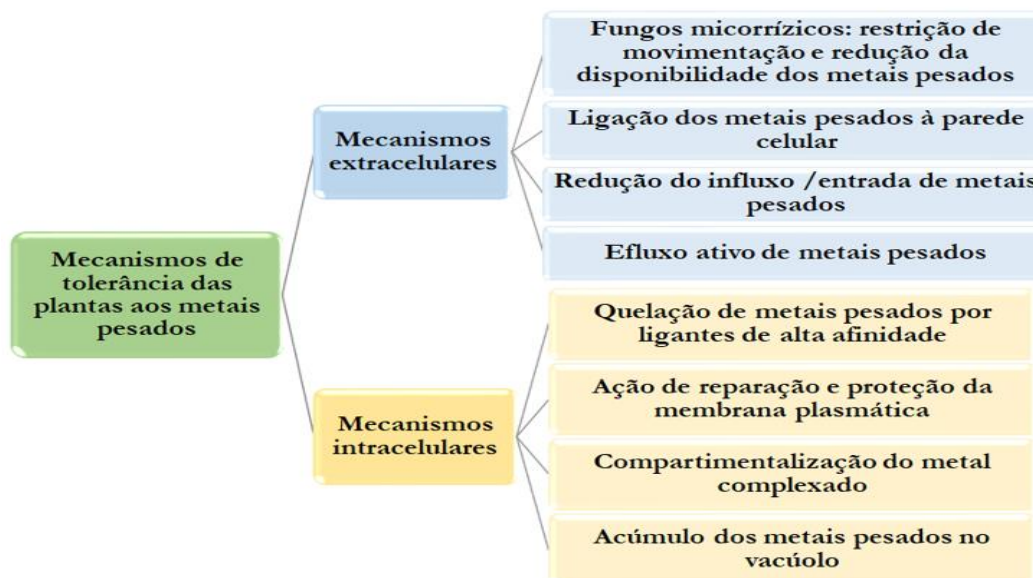


Figura 4. Esquemas dos mecanismos de tolerância das plantas aos metais pesados (MP). Fonte: Adaptado de Rodrigues et al. (2016) e Hall (2002).

Acredita-se que lacunas ainda estão abertas referentes aos mecanismos de tolerância das plantas nos constituintes minerais do logo de esgoto e precisam ser respondidas, pois sabe-se que existem variações na qualidade do LE quanto a sua origem, sendo necessárias diretrizes e pesquisas para identificação das dosagens adequadas para uso agrícola, além da diversidade de plantas que podem transferir MP para os consumidores de plantas primários, como os seres humanos (Dar et al., 2018).

FITOTOXICIDADE EM ESPÉCIES NÃO-TOLERANTES

Do ponto de vista ecotoxicológico o risco do LE nos ecossistemas depende tanto da toxicidade inerente de seus constituintes químicos (MP, presença de contaminantes e poluentes), quanto de suas propriedades físico-químicas (acidez e excesso de eletrólitos), assim como da dose empregada. A respeito do potencial fitotóxico do LE, os constituintes presentes no resíduo bruto podem interagir por diversas vias com o aparato celular, por meio de ligações com DNA, amino ácidos, sítios específicos de enzimas (Emamverdian et al., 2015).

De modo geral, os danos do LE às células de plantas de espécies não tolerantes (Figura 5) ocorrem por meio de vias oxidativas induzidas pela geração de espécies reativas de oxigênio (EROs), que podem desencadear múltiplas alterações fisiológicas e metabólicas (Emamverdian et al., 2015).

Conseqüentemente, podem ser induzidas alterações em sequências de DNA, mutações, interferindo no balanço homeostático celular, desnaturando proteínas, e induzindo danos irreversíveis às membranas celulares. Diversos autores reportam o potencial genotóxico e mutagênico do LE em plantas. Mutações pontuais, aberrações cromossômicas, distúrbios mitóticos e mutações somáticas são reportadas em ensaios em células de milho (Plewa, 1982; Rodrigues, 1999; Amin et al., 2009), de *Vicia faba* (Kanaya et al., 1994; Grant, 1999; Srivastava et al., 2005), de *Nicotiana tabacum* (Chenon et al., 2003), e *Allium cepa* (Rank e Nielsen 1998).

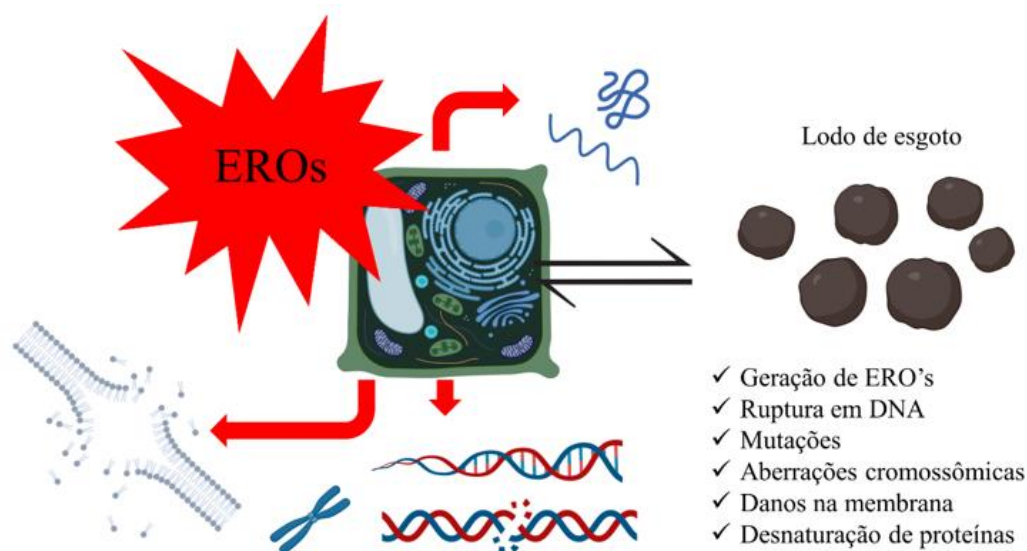


Figura 5. Esquema ilustrando as principais respostas fitotóxicas observadas em espécies não-tolerantes. Fonte: Os autores.

Atualmente, diversos autores reportaram que o LE pode induzir danos distintos nas plantas, desde mutações genéticas, alterações cromossômicas, danos morfológicos e fisiológicos (Srivastava et al., 2005; Ramírez et al., 2008; Pontes et al., 2014). Destacando, a capacidade de diferentes espécies florestais em bioacumular e fitorremediar os compostos tóxicos presentes no LE internalizando em seus tecidos. Estudos visando compreender os mecanismos de tolerância ao LE, sobretudo, associados às respostas ecofisiológicas em espécies nativas em populações naturais são ainda necessários, considerando a ampla diversidade genética da flora tropical.

VIABILIDADE DO LODO DE ESGOTO NA PRODUÇÃO DE MUDAS FLORESTAIS

Para a produção de mudas de espécies florestais para fins de restauração de áreas degradadas ou recomposição de florestas, é razoável a opção por alternativas sustentáveis e de baixo custo (Peruzzi et al., 2011; Trazzi et al., 2012). O aproveitamento de resíduos, sobretudo de LE como componente de substratos para produção de mudas pode ser sustentada nos seguintes pontos: *i*) implica em resíduo de

fácil aquisição – sendo encontrado em toda estação de tratamento nas empresas de saneamento; *ii*) volume produzido – ainda que dependente do tamanho da planta da empresa de saneamento, o LE é produzido em grande quantidade; *iii*) regularidade – é produzido regularmente, estando disponível o ano todo; *iv*) forma – implica em resíduo sólido facilitando o armazenamento como amontoa; *v*) composição química – é rico em elementos minerais nutrientes para plantas.

Como limitações ao uso do LE na produção de substratos para mudas florestais podem ser destacados os seguintes pontos: *i*) riscos à saúde – ainda que seja produto de tratamento, o LE apresenta contaminantes biológicos capazes de colocar em risco a saúde humana, sendo imprescindíveis o uso de equipamento de proteção individual (EPIs) em seu manejo; *ii*) riscos ao meio ambiente – o LE quando *in natura* tem alto potencial contaminante ao ambiente, em especial aos recursos hídricos; *iii*) limitações no transporte - devido a suas características contaminantes depende de transporte adequado; *iv*) características químicas – ainda que possua elementos minerais nutrientes para plantas, estes se encontram desbalanceados; *v*) respostas específicas – a tolerância ou sensibilidade ao LE é variável de acordo com a espécie; *vi*) limitações no manejo – o uso *in natura* é menos indicado que a forma de bio-sólido resultante de processos de compostagem ou vermicompostagem.

Para a produção de mudas florestais com alto vigor algumas características básicas são necessárias ao substrato, de modo a atender adequadamente tanto às demandas nutricionais das plantas quanto a viabilidade no manejo, sendo destacados: boa drenagem, retenção de água nas condições próximas à capacidade de campo, ser leve e de fácil manuseio (Silva et al., 2011). Destaca-se ainda que a viabilidade para a incorporação de resíduos no substrato, além de atender às premissas anteriores, deve estar disponível em grande quantidade e ser de fácil armazenamento.

Nesse sentido, avaliando os prós e contras, o LE apresenta grande potencial como biofertilizante, em especial para a produção de mudas florestais. No entanto, a presença de contaminantes diversos reforça a necessidade de cuidados no seu manejo, que por ser um resíduo urbano, seu potencial contaminante é variável dependendo da sua origem e tipo de processamento usado pela Estação de Tratamento de Águas Residuais (Kim et al., 2017).

O uso de LE como fonte de matéria orgânica e nutrientes para solos agrícolas e áreas florestais é uma prática utilizada em muitas partes do mundo, como Austrália, Inglaterra, União Europeia e Estados Unidos da América (Sharma et al., 2017). Todavia, estima-se que no Brasil apenas 10% do LE produzido é usado para fins agrícolas e florestais, enquanto o restante é descartado em aterros sanitários (Borba et al., 2018).

A utilização do LE em campo deve ser feita com cautela e de forma estratégica e planejada, pois a longo prazo, componentes tóxicos como MP podem ser translocados e armazenados nos tecidos vegetais (Antonkiewicz et al., 2020). Em espécies não comestíveis isso pode ser uma vantagem, uma

vez que, os contaminantes estarão estabilizados. Por outro lado, em espécies frutíferas os contaminantes podem ser transferidos para outros organismos, e no solo a contaminação pode prejudicar a microbiota (Abreu-Junior et al., 2019).

O potencial fitotóxico do LE não inviabiliza sua utilização como componente de substratos, pois sua toxicidade depende da quantidade utilizada, além disso técnicas como compostagem e biorremediação podem atenuar o poder fitotóxico deste resíduo, permitindo que ele seja utilizado com segurança no cultivo de mudas florestais em viveiro (Pontes et al., 2014; Nobrega et al., 2017; Guo et al., 2020). Todavia, seu uso em campo e na agricultura é uma questão ambiental desafiadora e discutível, e deve atender alguns pressupostos. No Brasil o uso deste resíduo é regulado pelo Decreto 4.954/2004 e limitado pelas Resoluções 375/2006, 380/2006 e 481/2017 (CONAMA) e pelas Instruções Normativas 27/2006 e 25/2009 (MAPA), essas regulamentações estabelecem os limites máximos permitidos de MP, microrganismos patogênicos e ovos de helmintos (Lopes et al., 2018), além de proibir o seu uso em hortaliças, raízes e tubérculos, como medida preventiva de saúde pública (Moretti., et al., 2015). Para compostos orgânicos persistentes até o momento no Brasil, nenhuma norma estabelece limite (Bettiol e Camargo, 2006).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As espécies apresentam diferentes respostas ecofisiológicas ao estresse podendo ser tolerantes ou sensíveis dependendo do tipo de fator de estresse, intensidade, tempo de exposição, e características inerentes às plantas.

O aumento das áreas urbanizadas e conseqüente aumento na produção de resíduos como o LE tornam imperativas a busca de alternativas para seu destino final. Os dados produzidos até o momento, bem como as práticas já realizadas com sucesso apontam para o emprego do LE como substrato para plantas, em especial as espécies arbóreas nativas.

Devido a diversidade da flora tropical ainda se fazem necessários estudos que abordem as especificidades das respostas ao uso de LE na composição do substrato de cultivo, bem como a combinação destes com outros tipos de resíduos no sentido de serem propostas combinações aplicáveis a um maior número de espécies, e que diminuam os riscos ao manejo e ao meio ambiente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abreu AHM, Alonso JM, Melo LA, Leles PSS, Santos GR (2019). Caracterização de bio-sólido e potencial de uso na produção de mudas de *Schinus terebinthifolia* Raddi. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, 24(3): 1-9.

- Abreu AHM, Leles PSS, Melo LA, Oliveira RR, Ferreira DHAA (2017). Caracterização e potencial de substratos formulados com biossólido na produção de mudas de *Schinus terebinthifolius* Raddi. e *Handroanthus heptaphyllus* (Vell.) Mattos. *Ciência Florestal*, 27(4): 1179-1190.
- Abreu-Junior CH, Boaretto A, Muraoka T, Kiehl JC (2005). Uso agrícola de resíduos orgânicos potencialmente poluentes: propriedades químicas do solo e produção vegetal. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 4: 391-470.
- Abreu-Junior CH, Lima BMJ, Monteiro RT, Cardoso PHS, Silva MT, Nogueira TAR, Ganga A, Filzmoser P, Oliveira FC, Firmef LP, Capra GF (2019). Effects of sewage sludge application on unfertile tropical soils evaluated by multiple approaches: A field experiment in a commercial *Eucalyptus* plantation. *Science of the Total Environment*, 655(1): 1457-1467.
- Amin AW, Sherif FK, El-Atar E, Ez-Eldin H (2009). Residual effects of sewage sludge on soil and several yield parameters of *Zea mays*. *Research Journal of Environmental Toxicology*. 3, 86-93.
- Andreoli CV, Tamanin CR, Holsbach B, Pegorini ES, Neves PS (2006). Uso de lodo de esgoto na produção de substrato vegetal. In: biossólidos-alternativas de uso de resíduos do saneamento. Rio de Janeiro: Editora ABES. p398.
- Angle JS, Madariaga GM, Heger EA (1992). Sewage sludge effects on growth and nitrogen fixation of soybean. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 41(3-4): 231-239.
- Antonkiewicz J, Popławska A, Kołodziej B, Ciarkowska K, Gambuś F, Bryk M, Babula J (2020). Application of ash and municipal sewage sludge as macronutrient sources in sustainable plant biomass production. *Journal of Environmental Management*, 264, 110450.
- Araújo-Junior GN, Gomes FT, Silva MJ, Jardim A MFR, Simões VJLP, Izidro LPS, Leite MLMV, Teixeira VIT, Silva TGF (2019). Estresse hídrico em plantas forrageiras: uma revisão. *PUBVET*, 13(1): 1-10.
- Baig MA, Qamar S, Ali AA, Ahmad J, Qureshi MI (2020). Heavy Metal Toxicity and Tolerance in Crop Plants. *Contaminants in Agriculture*. Springer, Cham, 2020. 201-216.
- Bettiol W, Camargo OA (2006). *Lodo de esgoto: impactos ambientais na agricultura*. Jaguariúna, São Paulo: Embrapa Meio Ambiente. 349p.
- Bezerra BKL, Alves DAS, Germino GH, Lima J, Bianchi L, Broetto F (2017). Estresse mineral (macronutrientes). In: Broetto F, Gomes ER, Joca TAC (Eds). *O estresse das plantas: teoria e prática*. São Paulo, Cultura Acadêmica, 25-41.
- Boudjabi S, Kribaa M, Chenchouni H (2019). Sewage sludge fertilization alleviates drought stress and improves physiological adaptation and yield performances in Durum Wheat (*Triticum durum*): a double-edged sword. *Journal of King Saud University-Science*, 31(3): 336-344.

- Boudjabi S, Kribaa M, Chenchouni, H (2015). Growth, physiology and yield of durum wheat (*Triticum durum*) treated with sewage sludge under water stress conditions. *EXCLI Journal*, 14: 320-334.
- Bouriou M, Alaoui-Sehmer L, Laffray X, Benbrahim M, Aleya L, Alaoui-Sossé B (2015). Sewage sludge fertilization in larch seedlings: effects on trace metal accumulation and growth performance. *Ecological engineering*, 77: 216-224.
- Borba RP, Ribeirinho VS, Camargo OAD, Andrade CAD, Kira CS, Coscione AR. (2018) Ion leaching and soil solution acidification in a vadose zone under soil treated with sewage sludge for agriculture. *Chemosphere*. 192: 81–89. pmid:29100125
- Brasil. Decreto n. 4.954, de 14 de janeiro de 2004. Altera o Anexo ao Decreto nº 4.954, de 14 de janeiro de 2004, que aprova o Regulamento da Lei no 6.894, de 16 de dezembro de 1980, que dispõe sobre a inspeção e fiscalização da produção e do comércio de fertilizantes, corretivos, inoculantes, ou biofertilizantes, remineralizadores e substratos para plantas destinados à agricultura. *Diário Oficial da União*, Brasília.
- Brasil. Instrução Normativa MAPA nº 25, de 23 de julho de 2009. Estabelece normas sobre as especificações e as garantias, as tolerâncias, o registro, a embalagem e a rotulagem dos fertilizantes orgânicos simples, mistos, compostos, organominerais e biofertilizantes destinados à agricultura. Brasília: *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa SDA nº 17, de 21 de maio 2007. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF. Seção 1.
- Brasil. Resolução CONAMA nº 375, de 29 de agosto de 2006. Define critérios e procedimentos, para o uso agrícola de lodos em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados, e dá outras providências. Brasília: *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*.
- Brasil. Resolução CONAMA nº 380, de 31 de outubro de 2006. Retifica o anexo 1 da Resolução CONAMA 375/06. Brasília: *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*.
- Brasil. Resolução CONAMA nº 481, de 3 de outubro de 2017. Estabelece critérios e procedimentos para garantir o controle e a qualidade ambiental do processo de compostagem de resíduos orgânicos, e dá outras providências. Brasília: *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*.
- Brisolara KF, Sandberg MA (2014). Biosolids and Sludge Management. *Water Environment Research*, 86(10): 1274-1283.
- Carneiro MML, Deuner S, Oliveira PV, Teixeira SB, Sousa CP, Bacarin MA, Moraes DM (2011). Atividade antioxidante e a viabilidade de girassol após estresse hídrico e salino. *Revista brasileira de sementes*, 33(4): 752-761.
- Castro, ALFG, Silva OR, Scalize, P.S (2015). Cenário da disposição do lodo de esgoto: uma revisão das publicações ocorridas no Brasil de 2004 a 2014. *Multi-Science Journal*, 1(2): 66-73.

- Chakraborty L, Singh A, Kalariya KA, Goswami N, Zala PV (2015). Physiological responses of peanut (*Aragis hypogaea* L.) cultivars to water deficit stress: status of oxidative stress and antioxidant enzyme activities. *Acta Botanica Croatica*, 74(1): 123-142.
- Chang JH, Cheng SF, Timofeeva SS, Shen SY (2019). Removal of heavy metals from sewage sludge by electrokinetics. XXI century. *Technosphere Safety*, 4(3): 306–315.
- Chen, L., Long, C., Wang, D., Yang, J. (2020) Phytoremediation of cadmium (Cd) and uranium (U) contaminated soils by *Brassica juncea* L. enhanced with exogenous application of plant growth regulators. *Chemosphere*, 242: 125112.
- Christofolletti CA, Francisco A, Fontanetti CS (2012). Biosolid soil application: toxicity tests under laboratory conditions. *Applied and Environmental Soil Science*, 1-12.
- Dar MI, Naikoo MI, Khan FA, Green ID (2018). Assessing the Feasibility of Sewage Sludge Applications for the Cultivation of *Brassica Juncea* L.: Metal Accumulation, Growth, Biochemical and Yield Responses. *Environmental Science and Renewable Resources*, 1(1).
- Dash AK (2012). Impact of domestic wastewater on seed germination and physiological parameters of rice and wheat. *International Journal of Research and Reviews in Applied Science*, 12: 280-286.
- Debiase G, Montemurro F, Fiore A, Rotolo C, Farrag K, Miccolis A, Brunetti G (2016). Organic amendment and minimum tillage in winter wheat grown in Mediterranean conditions: Effects on yield performance, soil fertility and environmental impact. *European Journal of Agronomy*, 75:149-157.
- Delarmelina WM, Caldeira MVW, Faria JCT, Gonçalves EO, Rocha, FLF (2014) Diferentes substratos na produção de mudas de *Sesbania virgata* (Cav.) Pers. *Floresta e Ambiente*, 21(2): 224-233.
- Dal Bosco TC, Gonçalves F, Andrade FC, Junior IT, Silva SJ, Sbizzaro M. (2017) Contextualização teórica: compostagem e vermicompostagem. In: *Compostagem e vermicompostagem de resíduos sólidos: resultados de pesquisas acadêmicas* [livro eletrônico] /organização de Tatiane Cristina Dal Bosco. – São Paulo: Blucher, 2017. 266 p.
- Delarmelina WM, Caldeira MVW, Faria JCT, Gonçalves EO (2013). Uso de lodo de esgoto e resíduos orgânicos no crescimento de mudas de *Sesbania virgata* (Cav) Pers. *Revista Agroambiente*, 7: 184-192.
- Emamverdian A, Ding Y, Mokhberdoran F, Xie Y (2015). Heavy metal stress and some mechanisms of plant defense response. *Scientific World Journal*, 1-18.
- Eurostat, (2020) Sewage sludge production and disposal from urban wastewater (in dry substance (d.s)). Disponível em: <https://ec.europa.eu/eurostat/databrowser/view/ten00030/default/table?lang=en>

- Falcão HM, Medeiros CD, Silva BLR, Sampaio ELR, Almeida-Cortez JS, Santos, MG (2015). Phenotypic plasticity and ecophysiological strategies in a tropical dry forest chronosequence: A study case with *Poincianella pyramidalis*. *Forest Ecology and Management*, 340: 62-69.
- Fávaris NAB, Lopes JC, Freitas AR, Zanotti RF, Monteiro CB (2016). Qualidade fisiológica de genótipos de tomate fertilizados com lodo de esgoto. *Nucleus*, 13(2): 231-239.
- Fijalkowski KL, Kwarciak KA (2020). Phytotoxicity assay to assess sewage sludge phytoremediation rate using guaiacol peroxidase activity (GPX): A comparison of four growth substrates. *Journal of Environmental Management*, 263: 110413.
- Fuentes A, Llorens M, Sacz J, Aguilar MI, Perez-Marin AB, Ortuno JF, Meseguer VF (2006). Ecotoxicity, phytotoxicity and extractability of heavy metals from different stabilized sewage sludges. *Environmental Pollution*, 143: 355-360.
- Fytli D, Zabaniotou A (2008). Utilization of sewage sludge in EU application of old and new methods: a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 12: 116-140.
- Grant WF (1999). Higher plants assay for the detection of chromosomal aberrations and gene mutations-a brief historical background on their use for screening and monitoring environmental chemicals. *Mutation Research*, 426: 107-112.
- Guo Y, Rene ER, Wang J, Ma W (2020). Biodegradation of polyaromatic hydrocarbons and the influence of environmental factors during the co-composting of sewage sludge and green forest waste. *Bioresource Technology*, 297: 122434.
- Gworek B, Hajduk A, Koda E, Grochowalski A, Jeske A (2013). Influence of a municipal waste landfill on the spatial distribution of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans (PCDDs/Fs) in the natural environment. *Chemosphere*, 92(7): 753-759.
- Hall JL (2002). Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of experimental botany*, 53(366): 1-11.
- Han SH, Lee JC, Jang, SS, Kin PG (2004). Composted sewage sludge can improve the physiological properties of *Betula schimidtii* growing in tailings. *Journal of Plant Biology*, 47(2): 99-104.
- Jelic A, Gros M, Ginebreda A, Cespedes-Sanches R, Ventura F, Petrovic M, Barcelo D (2011). Occurrence, partition and removal of pharmaceuticals in sewage water and sludge during wastewater treatment. *Water research*, 45(3): 1165-1176.
- Joshi R, Pareek A, Singla-Pareek SL (2016). Plant metallothioneins: classification, distribution, function, and regulation. In: *Plant Metal Interaction*. Elsevier. p. 239-261.
- Joško I, Oleszczuk P (2013). The influence of ZnO and TiO₂ nanoparticles on the toxicity of sewage sludges. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 15(1): 296-306.

- Kanaya N, Gill BS, Grover IS, Murin A, Osiecka R, Sandhu SS, Andersson HC (1994). *Vicia faba* chromosomal aberration assay. *Mutation Research*. 310, 231-240.
- Khan S, Wang N, Reid BJ, Freddo A, Cai C (2013). Reduced bioaccumulation of PAHs by *Lactuca sativa* L. grown in contaminated soil amended with sewage sludge and sewage sludge derived biochar. *Environmental pollution*, 175: 64-68.
- Khassanova G, Kurishbaev A, Jatayev S, Zhubatkanov A, Zhumalin A, Turbekova A, Amantaev B, Lopato S, Schramm C, Jenkins C, Soole K, Langridge P, Shavrukov Y (2019). Intracellular vesicle trafficking genes, RabC-GTP, are highly expressed under salinity and rapid dehydration but down-regulated by drought in leaves of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Frontiers in Genetics*, 10: 40.
- Kim M, Li LY, Gorgy T, Grace JR (2017). Review of contamination of sewage sludge and amended soils by polybrominated diphenyl ethers based on meta-analysis. *Environmental Pollution*, 220(1):753-765.
- Koutroubas SD, Antoniadis V, Damalas CA, Fotiadis S (2020). Sunflower growth and yield response to sewage sludge application under contrasting water availability conditions. *Industrial Crops and Products*, 154: 112670.
- Lasat MM (2002) Phytoremediation of toxic metals: a review of biological mechanisms. *J Environ Qual* 31:109–120
- Li X, Chen L, Mei Q, Dong B, Dai X, Ding G, Zeng EY (2018). Microplastics in sewage sludge from the wastewater treatment plants in China. *Water research*, 142: 75-85.
- Liu C, Lin H, Li B, Dong Y, Yin T (2020). Responses of microbial communities and metabolic activities in the rhizosphere during phytoremediation of Cd-contaminated soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 202: 110958.
- Lopes MC, Mateus CDMDA, Alves DADS, Tavares AR, Sanches LVC, Bôas RLV (2018). Sewage sludge compost as a substrate for croton seedlings production. *Ornamental Horticulture*, 24(4): 380-386.
- Machuca MAV, Soriano JRE, González JV, Soto JLM, Equihua JLP, Navia MM (2019). Caracterización física y química de biochar de lodos residuales. *Terra Latinoamericana*, 37(3): 243-251.
- Mailler R, Gasperi J, Chebbo G, Rocher V (2014). Priority and emerging pollutants in sewage sludge and fate during sludge treatment. *Waste management*, 34(7): 1217-1226.
- Manca A, Silva MR, Guerrini IA, Fernandes DM, Bôas RLV, Silva LC, Fonseca A C, Maria CR, Cruz CV, Sivilsaca DCL, Mateus CMD, Murgia I, Eleonora G, Ganga A, Capra GF (2020). Composted sewage sludge with sugarcane bagasse as a commercial substrate for *Eucalyptus urograndis* seedling production. *Journal of Cleaner Production*, 122145.

- McLachlan MS, Hinkel M, Reissinger M, Hippelei M, Kaupp H (1994). A study of the influence of sewage sludge fertilization on the concentrations of PCDD/F and PCB in soil and milk. *Environmental Pollution*, 85(3): 337-343.
- Molina L, Diaz-Ferrero J, Coll M, Martin R, Broto-Puig F, Comellas L (2000). Study of evolution of PCDD/F in sewage sludge-amended soils for land restoration purposes. *Chemosphere*, 40(11): 1173-1178.
- Moretti SML, Bertoni EI, Junior CHA (2015). Decomposição de lodo de esgoto e composto de lodo de esgoto em nitossolo háplico. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 39(6): 1796-1805.
- Nieminen JK, Räisänen M (2013). Effects of sewage sludge addition to Norway spruce seedlings on nitrogen availability and soil fauna in clear-cut areas. *Environmental pollution*, 178: 306-311.
- Nobrega MAS, Pontes MS, Santiago EF (2017). Incorporação de lodo de esgoto na composição de substrato para produção de mudas nativas. *Acta Biomedica Brasiliensia*, 8(1): 43-55.
- Oleszczuk P, Hollert H (2011). Comparison of sewage sludge toxicity to plants and invertebrates in three different soils. *Chemosphere*, 83: 502-509.
- Oleszczuk P, Malara A, Joško I, Lesiuk A (2012). The phytotoxicity changes of sewage sludge-amended soils. *Water, Air and Soil Pollution*. 223: 4937-4948.
- Pereira JW, Melo Filho PA, Albuquerque MB, Nogueira RJMC, Santos RC (2012). Mudanças bioquímicas em genótipos de amendoim submetidos ao déficit hídrico moderado. *Revista Ciência Agroômica*, 43(4): 766-773.
- Peruzzi E, Masciandaro G, Macci C, Doni S, Ravelo SGM, Peruzzi P, Ceccanti B (2011). Heavy metal fractionation and organic matter stabilization in sewage sludge treatment wetlands. *Ecological Engineering*, 37(5): 771-778.
- Plewa MJ (1982) Specific locus assay in *Zea mays*. *Mutation Research*, 99: 317-337.
- Pontes MS, Santiago EF, Nobrega MAS, Barbosa VM, Motta IS (2014). Seed germination of *Maclura tinctoria* (L.) D. Don ex Steud (Moraceae) soaked in sewage sludge. *Cadernos de Agroecologia*. 9, 1-8.
- Pontes MS, Santiago EF, Nobrega MAS, Santos JS, Motta IS (2016). Effects of fertirrigation with compost tea of sewage sludge on growth and physiological quality in seedlings of *Sesbania virgata* (Cav) Pers. *Cadernos de Agroecologia*, 11: 1-11.
- Ramírez WA, Domene X, Alcañuz JM (2008) Phytotoxic effects of sewage sludge extracts on the germination of three plant species. *Ecotoxicology*, 17: 834-844.
- Rank J, Nielson MH (1998). Genotoxicity testing of wastewater sludge using the *Allium cepa* anaphase-telophase chromosome aberration assay. *Mutation Research*, 41: 113-119.


- Rehman RA, Rizwan M, Qayyum MF, Ali S, Zia-ur-Rehman M, Zafar-ul-Hye M, Hafeez F, Iqbal MF (2018). Efficiency of various sewage sludges and their biochars in improving selected soil properties and growth of wheat (*Triticum aestivum*). *Journal of environmental management*, 223: 607-613.
- Rodrigues AC, Santos AM, Santos FS, Pereira ACC, Sobrinho NM (2016). Mecanismos de respostas das plantas à poluição por MP: Possibilidade de uso de macrófitas para remediação de ambientes aquáticos contaminados. *Revista Virtual de Química*, 8(1): 262-276.
- Rodrigues GS (1999) Bioensaios de toxicidade genética com plantas superiores *Tradescantia* (MCN e SHM), milho e soja. Embrapa Meio Ambiente.
- Santiago EF, Larentis TC, Barbosa VM, Caires ARL, Morais GA, Suárez YR (2015) Can the Chlorophyll-*a* Fluorescence be Useful in Identifying Acclimated Young Plants from Two Populations of *Cecropia Pachystachya* Trec. (Urticaceae), Under Elevated CO₂ Concentrations? *Journal of fluorescence*, 25(1): 49-57.
- Scheer MB, Carneiro C, Bressan OA, Santos KG (2012). Compostos de lodo de esgoto para a produção de mudas de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. *Cerne*, 18 (4): 613-621.
- Scheer MB, Carneiro C, Santos KG (2010). Substratos à base de lodo de esgoto compostado na produção de mudas de *Parapiptadenia rigida* (Benth.) Brenan. *Scientia Forestalis*, 38(88):637-644.
- Sharma B, Sarkar A, Singh P, Singh RP (2017). Agricultural utilization of biosolids: A review on potential effects on soil and plant grown. *Waste Management*, 64(1):117-132.
- Silva FAM, Nunes GM, Zanon JA, Guerrini IA, Silva RB (2018). Resíduo agroindustrial e lodo de esgoto como substrato para a produção de mudas de *Eucalyptus urograndis*. *Ciência Florestal*. 28(2): 827-828.
- Silva PEM, Santiago EF, Silva EM, Suárez YR, Daloso DM (2011). Fluorescência da clorofila-*a* e variação da simetria como ferramentas de investigação de plantas sob estresse. *Idesia (Arica)*, 29(3): 45-52.
- Silva PHM, Poggiani F, Ferraz AV, Sixel RMM, Brito JO (2012). Balanço nutricional, produção de óleo essencial e madeira de *Corymbia citriodora* Hill & Johnson com aplicação de lodo de esgoto e fertilizante mineral. *Ciência Florestal*. 22(4): 835-845.
- Singh D, Kumar A (2020). Binary mixture of nanoparticles in sewage sludge: Impact on spinach growth. *Chemosphere*, 254: 126794.
- Singh B, Kukreja S, Salaria N, Thakur K, Gautam S, Taunk J, Goutam U (2019). VIGS: a flexible tool for the study of functional genomics of plants under abiotic stresses. *Journal of Crop Improvement*, 33(5): 567-604.
- Siqueira DP, Carvalho GCMW, Barroso DG, Marciano CR (2018). Lodo de esgoto tratado na composição de substrato para produção de mudas de *Lafoensia glyptocarpa*. *Floresta*, 48(2): 277-284.

- Souza EPD, Silva IF, Ferreira LE (2011). Mecanismos de tolerância a estresses por MP em plantas. *Revista Brasileira Agrociência*, 17 (2): 167-193.
- Srivastava AR, Tewari A, Chauhan LKS, Kumar D, Gupta SK (2005). Ecotoxicological evaluation of municipal sludge. *Alternatives to Laboratory Animals*, 33: 21-27.
- Tiwari S, Lata C (2018). Heavy metal stress, signaling, and tolerance due to plant-associated microbes: an overview. *Frontiers in plant science*, 9: 452.
- Trazzi PA, Caldeira MVW, Colombi R, Gonçalves EO (2012). Qualidade de mudas de *Murraya paniculata* produzidas em diferentes substratos. *Floresta*, 42(3): 621-630.
- Wong JWC, Li K, Fang DC (2001). Toxicity evaluation of sewage sludge in Hong Kong. *Environmental International*, 27: 373-380.
- Zabotto AR, Gomes LDL, Mateus CMD, Boas RLV, Kanashiro S, Tavares AR (2020). Nutrition and physiology of hybrid *Eucalyptus urograndis* in soil fertilized with sewage sludge. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 32(1): 19-24.


Efeito do fogo em plantas nativas do Cerrado: estresse ambiental *versus* resiliência

Recebido em: 29/07/2020


Aceito em: 30/07/2020

 10.46420/9786588319024cap8


Julielen Zanetti Brandani^{1,2} 

Thayne Danieli Schmidt Zolin^{1,2} 

Thaisa Yuriko Kuboyama Kubota² 

Montcharles da Silva Pontes^{1,3} 

Shaline Séfara Lopes Fernandes^{1,2*} 

Laís de Lima Luqui¹ 

Etenaldo Felipe Santiago^{1,2*} 

INTRODUÇÃO

Ainda que o fogo seja um importante fator de promoção de estresse em plantas, existem comunidades que apresentam alto grau de tolerância ao fogo, estas são encontradas no domínio dos cerrados. O Cerrado é considerado *hotspot* de biodiversidade global por abrigar mais de 4.800 espécies de plantas e vertebrados endêmicos, situado numa área que abrange três das maiores bacias hidrográficas da América do Sul (43% da água superficial do Brasil).

O termo Cerrado é utilizado para designar o conjunto de ecossistemas (savanas, matas, campos e matas de galeria), que ocorrem no Brasil Central, ocupa 21% do território nacional, sendo considerado o segundo maior bioma em extensão e está presente nos estados de Goiás, Tocantins, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Bahia, Maranhão, Piauí, Rondônia, Paraná, São Paulo e Distrito Federal (Eiten, 1977; Ribeiro et al., 1981; Klink; Machado, 2005; Strassburg et al., 2017).

A riqueza do Bioma Cerrado está evidente na diversidade de ecossistemas que apresenta, sendo representada por um mosaico vegetacional, com formações florestais (Mata Ciliar, Mata de Galeria, Mata Seca e Cerradão), savânicas (Cerrado sentido restrito, Parque de Cerrado, Palmeiral e Vereda) e campestres (Campo sujo, Campo limpo e Campo rupestre) (Brasil, 2009). A biodiversidade do Cerrado possibilita a utilização de recursos vegetais com potencial alimentício, madeireiro, medicinal, corticeiro, tintorial, frutífero, entre outros. Dessa forma, eleva sua importância não só na área ambiental, mas também social e econômica (Almeida et al., 1987; Chaves, 2001).

¹ Grupo de Estudos dos Recursos Vegetais – GERV.

² Dr(a). Docente Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul – UEMS.

³ Doutorando(a) do Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais – PGRN.

*Autor para correspondência: felipe@uems.br

A cobertura florestal nativa, representada pelos diferentes biomas, como o Cerrado, vem sendo fragmentada, ao longo dos anos, a ceder espaço para culturas agrícolas, pastagens e para a ampliação dos perímetros urbanos (Tung et al., 2010). A diminuição das áreas de Cerrado aumenta o risco de extinções locais de espécies de animais e plantas ao reduzir as populações naturais, tornando-as mais suscetíveis ao desaparecimento em função de eventos naturais ou antrópicos. Nesse contexto, há uma grande discussão com relação ao “fogo”, que muitas vezes, é considerado o inimigo dos ecossistemas, mas que para muitos pesquisadores como Durigan (2016), relata o fogo como método de manejo indispensável na preservação do Cerrado.

O Cerrado já perdeu 88 milhões de hectares (Mha) (46%) de sua cobertura vegetal nativa e apenas 19,8% permanece inalterado; um quadro já grave com um cenário futuro ainda mais preocupante dada a expansão de novas fronteiras agrícolas alavancada por afrouxamento na fiscalização e cumprimento da legislação ambiental, pela baixa proteção legal e incentivos limitados à conservação, a extinção dessa biodiversidade pode ser acelerada (Strassburg et al., 2017). Cabe ressaltar que, atualmente a produção proveniente das culturas agrícolas anuais do Cerrado corresponde a 40% da produção total nacional, e esse protagonismo do Cerrado no agronegócio nacional deve continuar aumentando nas próximas duas décadas em razão da sua vocação para produção competitiva e em bases sustentáveis de grãos, oleaginosas, carnes e florestas (Bolfé et al., 2020).

Concomitantemente, preocupações referentes aos incêndios florestais ressurgiram fortemente em 2019 pelos incêndios criminosos na Amazônia brasileira, com repercussão em nível mundial, impulsionado pelo aumento das críticas às equivocadas políticas da pasta ambiental o governo federal se viu obrigado a adotar novas medidas como por exemplo, proibir o uso do fogo em todo país por um período de 60 dias, com algumas exceções, por meio do Decreto nº 9.997, 30 de agosto de 2019 (Brasil, 2019), medida ainda insuficiente frente aos cortes orçamentários à programas e projetos de pesquisa, negligência governamentais em relação ao aquecimento global, adoção do discurso anticientífico, e outras ações organizadas ou não, mas que resultam na baixa percepção social e política da importância da ciência, destacado por Baiardi (2017) como “neo-obscurantismo”.

O desenvolvimento de estudos e pesquisas é imprescindível para entender o efeito do fogo no Cerrado, se sua ocorrência é positiva ou negativa na conservação desse mosaico vegetacional com uma biodiversidade reconhecida mundialmente. Nesse sentido, buscou-se realizar uma revisão sobre a importância do fogo para o Cerrado, desde respostas fisiológicas desencadeadas em plantas nativas do Cerrado até sua influência na regeneração natural, com o intuito de discutir a resiliência da vegetação nativa ao fogo num cenário de pressão ambiental e potencial sinergismo entre fatores de estresse (Figura 1).



Figura 1. Fogo no Cerrado (A-Foto: Santiago E.F.), no Município de Dourados/MS em 2016, riscos à diversidade e às linhas de transmissão; e efeitos do fogo no Cerrado (B- Fonte: Elaborada pelos autores).

EFEITOS DO REGIME DO FOGO NO CERRADO

O fogo está entre os principais fatores considerados responsáveis pelos padrões e processos das comunidades de savanas (Felfili et al., 2005). Diversas características do Cerrado são encontradas numa curta distância, ou seja, numa grande área coberta de Cerrado é possível encontrar pequenos mosaicos de vegetação nativa totalmente distintos, um padrão determinado principalmente pelo tipo do solo e/ou ação do fogo (Coutinho, 1990).

No Cerrado, incêndios de origem antrópica podem desencadear perturbações quando não manejado de forma adequada e controlada, pois comumente tem sido utilizado para a renovação de pastagens, preparo do solo e também podem ocorrer por natureza incendiária (pontas de cigarro, etc);

ao passo que quando ocorre de forma natural, é considerado benéfico porque a vegetação nativa do Cerrado, principalmente as formações campestres e savânicas, possuem mecanismos de defesa, expressos de maneira geral no fenótipo das espécies, mesmo sem relação filogenética direta, como por exemplo cascas espessas dos troncos, proteção adicional em regiões meristemáticas, especializações em órgãos subterrâneos, para algumas arbóreas um caule tortuoso, que após a queima, rebrota rapidamente, atraindo diversos animais herbívoros em busca de forragem nova, entre outras (Figura 1).

Pesquisadores classificaram os ecossistemas naturais do mundo em associação com o fogo em: ecossistemas independentes do fogo, sensíveis ao fogo, e dependente de fogo (Hardesty et al., 2005). Os ecossistemas independentes do fogo, dificilmente o fogo ocorre porque as condições climáticas (ambiente muito seco, muito úmido ou muito frio) não favorecem ou porque não existe biomassa suficiente para ignição e/ou manutenção do fogo; os ecossistemas sensíveis ao fogo são prejudicados pelo fogo porque o mesmo interrompe os processos ecológicos, eliminando diversos indivíduos/espécies que não evoluíram sob essa força seletiva; e os ecossistemas dependentes de fogo evoluíram na presença de incêndios periódicos, apresentando certo grau de dependência destes, para a manutenção de processos ecológicos, sendo as espécies adaptadas ao fogo, distintas em grupos com alta e baixa inflamabilidade (poáceas e lenhosas respectivamente), e de modo geral resilientes ao fogo, uma vez que os incêndios são recorrentes (Hardesty et al., 2005; Pivello, 2011, Souza e Valle, 2019).

A partir dessa classificação, fica evidente que cada bioma brasileiro tem suas peculiaridades, e que estes não devem ser manejados da mesma forma, pois para o Cerrado o fogo é um fator importante para sua manutenção, ao passo que, para ecossistemas florestais característicos do Bioma Mata Atlântica e Amazônico, por exemplo, o fogo não é em nenhuma medida benéfico, e sim provoca perturbações na dinâmica dos processos ecológicos.

As plantas de Cerrado definitivamente são adaptadas ao fogo e algumas delas dependem do fogo para manter sua reprodução e sobrevivência (Durigan, 2020), e entre as características pirofíticas das espécies de cerrado está a forte suberização do tronco e galhos das árvores, permitindo isolamento térmico dos tecidos internos vivos desses órgãos e, portanto, a sobrevivência na chama em altas temperaturas (Coutinho, 1990).

Aspectos reprodutivos das espécies também refletem adaptação ao fogo. Sano e Almeida (1998) estudaram o efeito das altas temperaturas sobre as sementes de espécies arbóreas de baru (*Diperyx alata*) e de tingui (*Magonia pubescens*), verificaram que os embriões dessas sementes não foram afetados quando submetidos a 100 °C durante 10 minutos. Mas não houve germinação quando sementes de baru ficaram submetidas a 43 °C por um período mais prolongado e no caso da semente de tingui a temperatura constante de 41 °C em um período longo foi letal. Esses resultados sugerem que um choque rápido de temperatura alta não afeta a germinação, porém, temperatura alta por períodos prolongados é prejudicial

às sementes de espécies do Cerrado. Ainda que aspectos estruturais e/ou reprodutivos reflitam a adaptação das comunidades do Cerrado ao fator fogo, variações em sua frequência de ocorrência, associada a outros fatores de estresse ambiental implicam no sinergismo de fatores de estresse.

O conceito de sinergismo de estresse deve ser entendido como a ocorrência simultânea de fatores de estresse. Mesmo que uma planta ou comunidade de plantas apresente certo grau de tolerância aos fatores isolados, quando expostas a dois ou mais fatores de estresse distintos, durante um mesmo período de tempo, a capacidade de tolerância das espécies pode ser reduzida, sendo as questões de consumo de energia elemento chave para a consequente perda de resiliência (Hanlon, 1969; Santiago; Paoli, 2013).

A fragmentação florestal (e os efeitos derivados desta, como por exemplo, a redução da diversidade em seus diferentes níveis), implica em fator que somado ao aumento na frequência de fogo de origem antrópica, representa sinergismo de estresse.

Se por um lado o fogo de ocorrência natural, atua como ferramenta determinante das comunidades do Cerrado, sua ocorrência intensiva como forma de manejo dos solos ou por mera negligência de conduta, resultam em expressiva perda de alelos nas populações, tornando-as mais vulneráveis à processos como depressão endogâmica, expressa pelo aumento de alelos homozigotos devido ao cruzamento entre parentes (Costa; Scariot, 2003; Gonzáles et al 2019), suscetibilidade ao desenvolvimento de doenças, menor resistência às pressões de predação, contaminantes químicos dispersos a partir das áreas agricultáveis, entre outros.

Culturalmente, o regime do fogo no Cerrado tem feito parte da vivência de povos indígenas, que utilizavam o fogo para limpeza de caminhos, abrir áreas para cultivo, estimular o crescimento, floração, frutificação de algumas plantas, etc. (Pivello, 2011). Quando as queimadas são realizadas na forma de manejo de pastagens, geralmente são realizadas por habitantes locais da região e no final da tarde para reduzir os riscos de propagação e descontrole da ação (Coutinho, 1990). Durigan (2020) menciona que os avanços políticos e científicos relativos à importância do fogo no Cerrado, estão em xeque, dada a repercussão em nível mundial dos incêndios criminais na Amazônia em 2019, cabendo o entendimento não só à própria comunidade científica, mas também entre técnicos, formuladores de políticas e a sociedade como um todo que existe diferença entre incêndio natural e criminoso, pois o fogo é um fator natural para o Cerrado, e uma ameaça para as florestas tropicais, e que o uso sábio do fogo depende da compreensão dessa diferença.

O fogo pode e deve ser usado em ecossistemas que são adaptados, para assim, assegurar a ocorrência de processos ecológicos e sua biodiversidade, desde que, adotados regimes adequados de fogo ou abordagens tradicionais sustentáveis, ou seja, execução de programas de gerenciamento de

incêndio em áreas protegidas do Bioma Cerrado, baseando-se no conhecimento científico e no conhecimento empírico de povos tradicionais (Pivello, 2011).

Pesquisadores mencionam que estudos interdisciplinares e pesquisas prioritárias focadas na investigação dos processos mais sensíveis e resistentes ao fogo (Tabela 1), e nos que causam grandes impactos nos serviços ecossistêmicos, podem fornecer subsídios para compreensão da ecologia do fogo, e posteriormente no estabelecimento de políticas públicas em relação ao uso adequado do fogo no Cerrado para reduzir perdas e maximizar ganhos ecológicos, culturais e econômicos (Gomes et al., 2018).

Tabela 1. Estudos sobre o uso do fogo na adaptação de espécies do Bioma Cerrado. Fonte: Elaborado pelos autores.

Adaptação ao fogo no Cerrado	Referência
Acelera a transferência de nutrientes minerais da biomassa para o solo	Coutinho (1990)
O fogo queima o meristema apical da planta e ativa os meristemas secundários iniciando um crescimento em outra direção	Dias (1992)
O fogo pode estimular a floração de espécies plantas (não é regra)	Oliveira et al. (1996)
A frequência da queima é importante na dinâmica populacional das comunidades	Sarmiento et al. (1996)
Aumento do número de espécies de insetos após a passagem do fogo	Diniz (1997)
Populações indígenas manipulam o fogo no Cerrado para plantio	Leonel (2000)
Abertura de frutos após a passagem do fogo	Stokes et al. (2004)
Sem o manejo do fogo, a vegetação se adensa, as copas das árvores sombreiam o solo e as espécies vegetais rasteiras desaparecem	Durigan et al. (2016)
Estudo de queima em frutíferas na comunidade indígena Xerente. Período de queima: Abril/Maio. Espécies: pequi (<i>Caryocar brasiliense</i>), mangaba (<i>Hancornia speciosa</i>), buriti (<i>Mauritia Flexuosa</i>), araticum (<i>Annona crassiflora</i>), oiti (<i>Licania tomentosa</i>) e puçá (<i>Mouriri pusa Gardner</i>)	Falleiro et al. (2016)

Dessa forma, o Cerrado não é resultado da degradação de ecossistemas florestais, e sim um ecossistema complexo, com dinâmica sucessional própria, e que abriga uma riqueza inestimável em seus recursos genéticos. Por um lado, a completa supressão dos incêndios implicaria em consequências negativas para o Cerrado, por outro, a realidade de aumento na frequência do fogo coloca em xeque a diversidade biológica nestes sistemas, bem como os serviços ambientais que dependem da estrutura e dinâmica da cobertura vegetal nativa (Durigan, 2020).

RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE PLANTAS NATIVAS DO CERRADO SOB EFEITO DO FOGO

O fogo pode ser um condicionante para o estabelecimento das espécies nativas do Bioma Cerrado, mais precisamente em formações savânicas e campestres, estas apresentam não só certo grau de tolerância como são beneficiadas por este fator. A germinação das sementes pode ser facilitada pelo fogo, pois com o aumento da temperatura, fissuras na casca de sementes podem ser formadas, promovendo assim a germinação; além disso, o fogo acelera a ciclagem de nutrientes sem causar a destruição dos tecidos vivos (Santana et al., 2019).

Apesar de pouco estudado em comparação aos demais fatores ambientais, o efeito de altas temperaturas na germinação de sementes apresenta comportamentos contrastantes, dependendo da espécie avaliada e da dinâmica de exposição. Por exemplo, em plantas do tipo C4 com rápidas exposições em temperaturas elevadas até 110 °C, o processo de germinação não é afetado em *Andropogon lateralis* e *Sbizzachyrium microstachium*, por outro lado, temperaturas a partir de 70 °C foram suficientes para afetar a germinação de *Elionurus muticus* e *Leptochorybium lanatum* (Overbeck et al., 2006; Scott et al., 2010). Neste sentido, vale destacar que as gramíneas, em termos quantitativos, constituem o maior componente do banco de sementes dos solos do Cerrado (Fontenele et al., 2020). Resultados similares foram observados em espécies do estrato herbáceo-arbóreo (Schmidt et al., 2005; Fichino et al., 2012); no entanto, em ambos os casos o tempo e intensidade de exposição são fatores determinantes para o estabelecimento das plântulas. No estrato arbóreo, algumas características concernentes às espécies tendem a ter um papel crucial na tolerância das sementes ao fogo. Dentre as quais, podem ser destacadas o tamanho, a forma e outras características dimensionais das sementes, caracteres estruturais ou funcionais como presença ou ausência de dormência tegumentar e/ou fisiológica, de natureza química como o tipo, quantidade/disponibilidade de reservas e teor de umidade, de natureza genotípica como a variabilidade genética das espécies, além de outros aspectos como o local de armazenamento das sementes que podem permanecer na planta matriz ainda presente nos frutos, ou serem dispersas e dispostas nos bancos de sementes (Cirne; Miranda, 2008; Andrade; Miranda, 2014; Bouchardet et al., 2015; Sato et al., 2018). Cirne e Miranda (2008) destacam que o fogo não afeta a germinação de sementes de *Kilmeyera coriacea*, além de favorecer a abertura dos frutos (Figura 2).

De acordo com Gashaw e Michelsen (2002), em sementes o fogo pode atuar por duas vias distintas: *i*) facilitar a quebra do tegumento, consequentemente induzindo a embebição e posterior germinação das sementes, ou *ii*) induzir a morte do embrião em sementes menos tolerantes ou em áreas com maior frequência de queimadas. O fogo é considerado o maior fator nos processos de sucessão do Cerrado, determinante para a dinâmica e composição florística do Bioma. O impacto do fogo em

ambiente de Cerrado, também foi observado na fenologia reprodutiva em plantas de *Anacardium humile* (Souza; Cunha, 2018), sugerindo alterações metabólicas nos teores de substâncias catalíticas de natureza hormonal, tais como os fitohormônios auxinas, giberelinas e citocininas. Vale ressaltar que, a fumaça proveniente das queimadas pode liberar etileno e amônia que aumentam a permeabilidade do tegumento, podendo facilitar o processo germinativo (Steuter; McPherson, 1995).

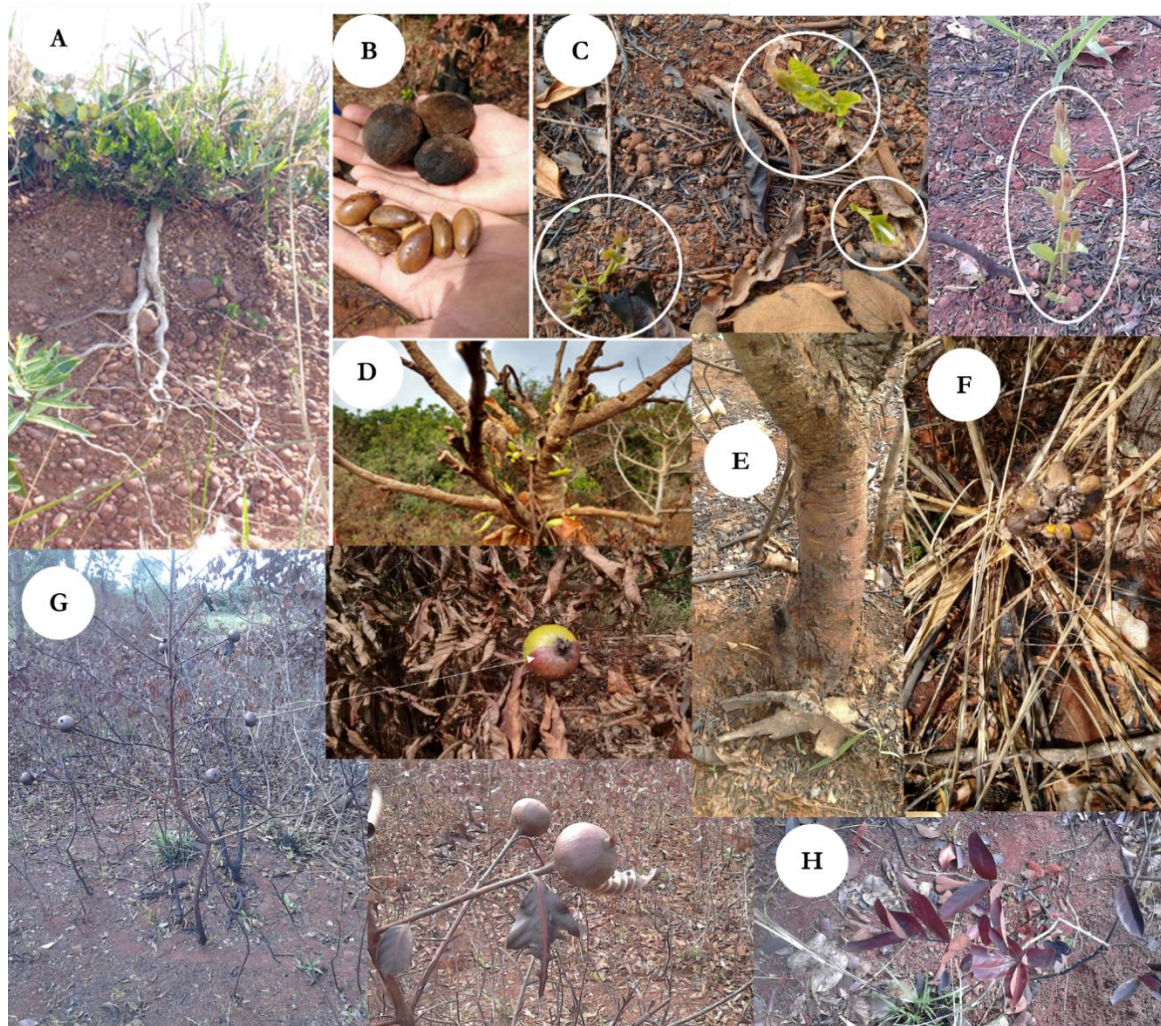


Figura 2. Características da vegetação do Cerrado após rápida passagem do fogo num trecho cerrado sensu stricto no município de Dourados/MS em 2017: sistema radicular profundo em herbácea lenhosa (A); frutos e sementes de abiu do cerrado [*Pouteria torta* (Mart.) Radlk] (B); rebrota de lianas Malpighiaceae sp.(C); rebrota de meristemas em araticum (*Annona coriacea* Mart.) (D); caule de barbatimão(*Stryphnodendron* sp.) (E); caraguatá (*Bromelia balansae* Mez) (F); plantas e frutos de marmelo (*Alibertia edulis* (Rich.) A.Rich) (G); e guavira [*Campomanesia adamantium* (Cambess.) O.Berg] (H). Fotos: Santiago E.F e Brandani J. Z.

Os brotos apicais adormecidos de algumas árvores escapam à ação destrutiva do fogo por meio do efeito protetor de catafilos densos e peludos, como verificado em *Aspidosperma tomentosum*. No entanto, existem muitas espécies nas quais os botões apicais dormentes são muito expostos e frequentemente morrem devido às altas temperaturas das chamas de fogo. Neste caso, brotos

adventícios podem rebrotar posteriormente, resultando em crescimento simpático das hastes conferindo a arquitetura típica do cerrado *s.s.*, isto é, a tortuosidade dos troncos e galhos de árvores e arvoretas (Coutinho, 1990).

Em plantas já estabelecidas, um fator fisiológico atuante e importante na tolerância aos estressores regulares do ambiente e durante a ocorrência de queimadas, é a capacidade de absorção e redistribuição de água pelos tecidos vegetais. A transpiração foliar por meio dos estômatos, é o principal processo responsável pela manutenção do gradiente hídrico ao longo de todo o sistema solo-planta-atmosfera (Knapp, 1985; Heringer; Jacques, 2001). O dinâmica de abertura e fechamento estomático é fortemente influenciada pela elevação da temperatura (Heldt; Heldt, 2005). A restrição da abertura estomática é comum em períodos de seca, podendo ocorrer durante os períodos de queimadas, atuando como uma resposta plástica ao ambiente, que aliada à um conjunto de caracteres foliares que conferem impermeabilidade às folhas, auxiliam na manutenção da água nos órgãos aéreos das plantas (Figura 2).

As raízes distribuídas em grandes profundidades, características de diversas espécies de Cerrado, também contribuem significativamente para a manutenção do balanço hídrico vegetal nos períodos pós-fogo. Nos estratos arbóreos, a capacidade de manutenção do tecido cambial do caule e da raiz, são traços encontrados em espécies que apresentam resistência aos períodos de queimadas (Heringer; Jacques, 2001), caules densos e retorcidos são características comum em diversas espécies do cerrado (Figura 2). Dependendo da espécie, respostas fisiológicas contrastantes também podem ser observadas. As altas taxas de CO₂, produzidos pelas queimadas, podem levar à uma re-fixação de CO₂ por plantas tolerantes, expressando-se em uma maior acumulação de biomassa (Cernusak et al., 2006). Em um estudo recente, com plantas de *Hymenaea stigonocarpa* submetidas à elevação atmosférica de CO₂, Maia et al. (2019) observaram a otimização da taxa de transporte fotossintético de elétrons em plantas jovens expostas ao CO₂. No entanto, elevadas temperaturas durante as queimadas podem induzir danos permanentes no aparato fotossintético, sobretudo no complexo de evolução de oxigênio (CEO) responsável pela fotólise da água, e pela doação de elétrons para a cadeia de transporte de elétrons da fotossíntese (Strasser, 1997).

O desempenho observado em diversas espécies de Cerrado frente ao fogo, está diretamente relacionado a sua plasticidade fisiológica, envolvendo todo o conjunto de adaptações morfofisiológicas do organismo vegetal, permitindo sua tolerância e sobrevivência (Steuter e McPherson, 1995). De um modo geral, são descritas otimizações nos processos fisiológicos, bioquímicos e metabólicos (Figura 3), tais como; uma maior eficiência fotossintética, boa manutenção hídrica via trocas gasosas, alta atividade enzimática, e alterações no potencial osmótico visando balancear a eficiência no uso da água, associados é claro, aos traços morfológicos e estruturais das espécies (Knapp, 1985; Heringer; Jacques, 2001).

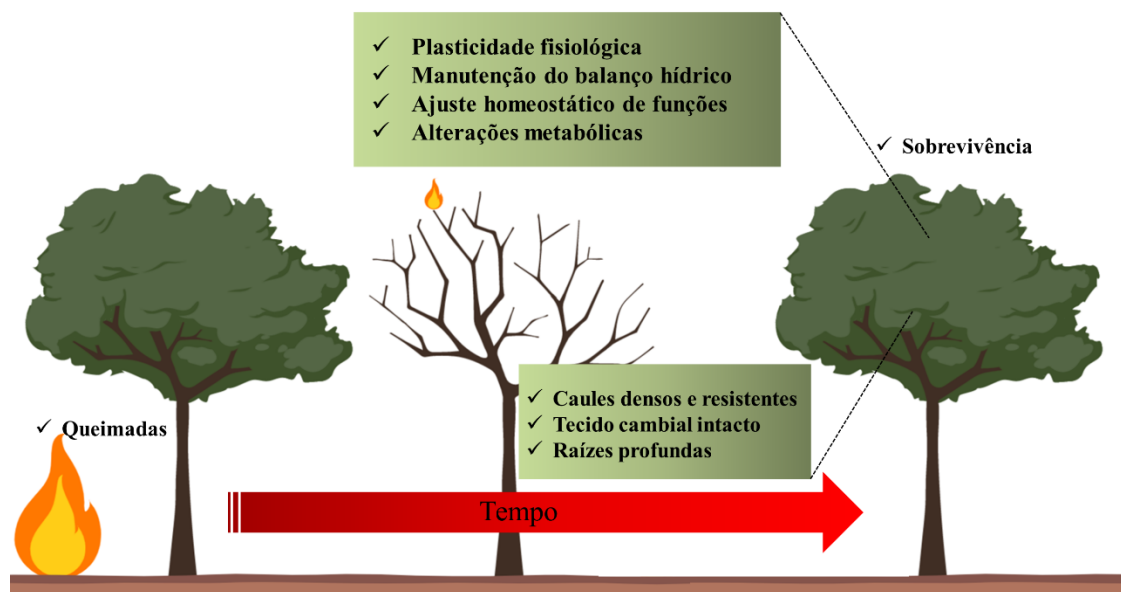


Figura 3. Principais características e alterações morfofisiológicas observadas em espécies arbóreas de Cerrado tolerantes ao fogo. Fonte: Elaborada pelos autores.

REGENERAÇÃO NATURAL NO CERRADO PÓS-FOGO: MAPEAMENTO NDVI

O fogo tem sido considerado o fator mais importante na manutenção do equilíbrio biológico da vegetação do Cerrado, apesar da variação dos fatores ambientais, como a disponibilidade de nutrientes do solo e água influenciarem a estrutura da vegetação deste Bioma (Coutinho, 1990; Durigan; Ratter, 2016). Alterações no regime do fogo podem ter influência no Cerrado, uma vez que podem homogeneizar o mosaico vegetacional e intensificar a criação de paisagens dominadas por gramíneas (Setterfield et al., 2010). Por outro lado, a supressão do fogo resulta em mudanças no Bioma e modificações na biodiversidade, com vegetação característica sendo substituída por espécies de sistemas vizinhos, aumentando o número de espécies sensíveis ao fogo (Coutinho, 1990; Scott et al., 2012; Durigan; Ratter, 2016).

Embora existam divergências entre autores quanto aos efeitos do fogo na vegetação (Conceição; Orr, 2012; Ribeiro et al., 2012; Santana et al., 2013). Estudos têm reportado que muitas espécies vegetais do Cerrado são adaptadas ao fogo e à dinâmica deste ecossistema, possuindo alta resistência e resiliência após a passagem de fogo (Simon et al., 2009; Alves; Silva, 2011; Gorgone-Barbosa et al., 2016; Kolb et al., 2016).

Em geral, o que tem sido observado nas mais diversas comunidades vegetais é que a floração se distribui ao longo do ano, entretanto quando se trata de espécies de Cerrado, a maioria das plantas floresce na estação seca ou no início da estação chuvosa (Antunes; Ribeiro, 1999; Mendes et al., 2011), quando os eventos de fogo acontecem com maior frequência (Miranda; Sato, 2005). O fogo é responsável por remover a biomassa seca dessas áreas e estimular uma rápida recuperação das espécies

vegetais após as primeiras chuvas (Camargos et al., 2010), porém estes efeitos da queima na reprodução podem ser divergentes e complexos.

Um estudo realizado em área de Cerrado no Nordeste do Brasil mostrou que uma das espécies estudadas (*Byrsonima rotunda* Griseb.) apresentou floração logo após a ocorrência de fogo, quando há pouca ou nenhuma outra planta florida, sendo presumido pelos autores que esta espécie apresenta floração estimulada pela ocorrência de fogo (Mendes et al., 2011). Por outro lado, Neves e Damasceno-Junior (2011) estudando a fenologia em vegetação de campo sujo pós-fogo em Mato Grosso do Sul, verificaram que o fogo pode ter interferido negativamente na fenologia de espécies vegetais da área, pois espécies zoocóricas não apresentaram frutificação nos meses seguintes ao evento e as gramíneas não apresentaram floração e frutificação durante todo o período de estudo (um ano). Os autores salientam que os padrões fenológicos em comunidades de plantas trazem contribuições importantes para o entendimento de períodos de floração e frutificação.

Além de parâmetros fenológicos, o que se verifica em fitofisionomias não adaptadas ao fogo, após a ocorrência deste evento, é um restabelecimento lento da vegetação, por outro lado as formações encontradas no Cerrado são altamente resilientes ao fogo (Camargos et al., 2010). Por isso, se espera que o restabelecimento no Cerrado aconteça de maneira rápida devido, principalmente, à rebrota de indivíduos vegetais, sendo considerado mecanismo de regeneração verificado em espécies arbustivo-arbóreas, após o fogo. Em sistemas adaptados ao fogo, ainda que o banco de sementes possa ser reduzido pelas altas temperaturas na superfície do solo, a rebrota pode passar a ser a principal forma de restauração da vegetação (Camargos et al., 2010).

Num cenário pós-fogo, a combustão da biomassa vegetal gera uma camada carbonizada sobre a superfície do solo com material mineralizado, neste cenário a rápida rebrota implica em vantagem adaptativa na absorção de nutrientes, também não se pode descartar que a rápida floração implica em vantagem competitiva pelos polinizadores/dispersores. Nos pós-fogo do Cerrado, chama a atenção o contraste criado entre o verde da rebrota, o colorido das flores e o fundo escuro dos solos (Figura 2).

O registro ou monitoramento da dinâmica da cobertura dos solos no pós-fogo pode ser efetuado por meio de sensores remotos. Estudos utilizando imagens de satélite ou obtidas por meio de sensores RGB ou multiespectrais embarcados em Aeronaves Remotamente Pilotadas (ARPs) permitem verificar o processo de regeneração natural a partir da passagem do fogo, além de proporcionar maior entendimento da dinâmica destes sistemas (Kolb et al., 2016). A partir do uso dessas imagens ou os produtos de seu processamento, é possível analisar e monitorar o comportamento vegetativo por meio de índices de vegetação, os quais permitem diferenciar o adensamento vegetal dos demais elementos da superfície terrestre (Távora et al., 2011), bem como a avaliação do vigor da vegetação.

O índice mais empregado nos estudos de avaliação do vigor na vegetação é o NDVI, que, ao realçar o contraste da radiação refletida nos intervalos espectrais do vermelho e infravermelho, os quais correspondem proporcionalmente à atividade fotossintética, permitindo inferências sobre a saúde vegetal, além de favorecer a identificação das distintas fitofisionomias, ainda, auxilia no monitoramento da regeneração natural, nas mudanças sazonais e interanuais bem como os impactos relacionados à atividade antrópica e à eventos naturais (Mascarenhas et al., 2009).

O Índice de Vegetação por Diferença Normalizada foi proposto por Rouse et al. (1974). Implica na relação entre medidas espectrais (refletância - ρ) de duas bandas, a do infravermelho próximo-IV (700-1300 nm) e a do vermelho-V (600-700 nm). Os valores do índice variam de -1 a 1, sendo que quanto mais próximo de 1, mais densa é a vegetação e o valor zero se refere aos pixels não vegetados (Abdalla et al., 2015). Os valores de NDVI podem ser obtidos a partir da equação (1) (Rouse et al., 1974):

$$\text{NDVI} = \frac{\rho \text{ NIR} - \rho \text{ red}}{\rho \text{ NIR} + \rho \text{ red}} \quad (1)$$

Onde:

ρ NIR: banda do infravermelho próximo

ρ red: banda do vermelho

Para exemplificar como este índice pode ser eficiente para análises de regeneração natural da vegetação pós-fogo, a Figura 4 mostra o NDVI de uma área de cerrado *stricto sensu* que foi atingida pelo fogo no ano de 2017. Entretanto, para observar a evolução da área, as análises foram feitas desde o ano de 2016 até o ano de 2020. Fica evidente que o índice de vegetação anterior ao incêndio é superior ao NDVI dos anos seguintes, mostrando que a regeneração de uma área de cerrado ocorre de forma lenta e gradual.

O padrão comum esperado às fitofisionomias de floresta tropical, que apresentam flutuação de cobertura de solo, não foi verificado para este fragmento, mostrando que não ocorreu aumento ou/e regressão da vegetação durante o período de estudo. O Cerrado s.s. estudado se mostrou estável quanto às variações na dinâmica de cobertura.

Almeida et al. (2014) estudando a mudança florística de uma área de cerrado ao longo de 27 anos, verificaram que apesar de ocorrer alteração na composição com o tempo, poucas mudanças ocorrem no intervalo de três anos, o que também pode ser extrapolado para este fragmento.

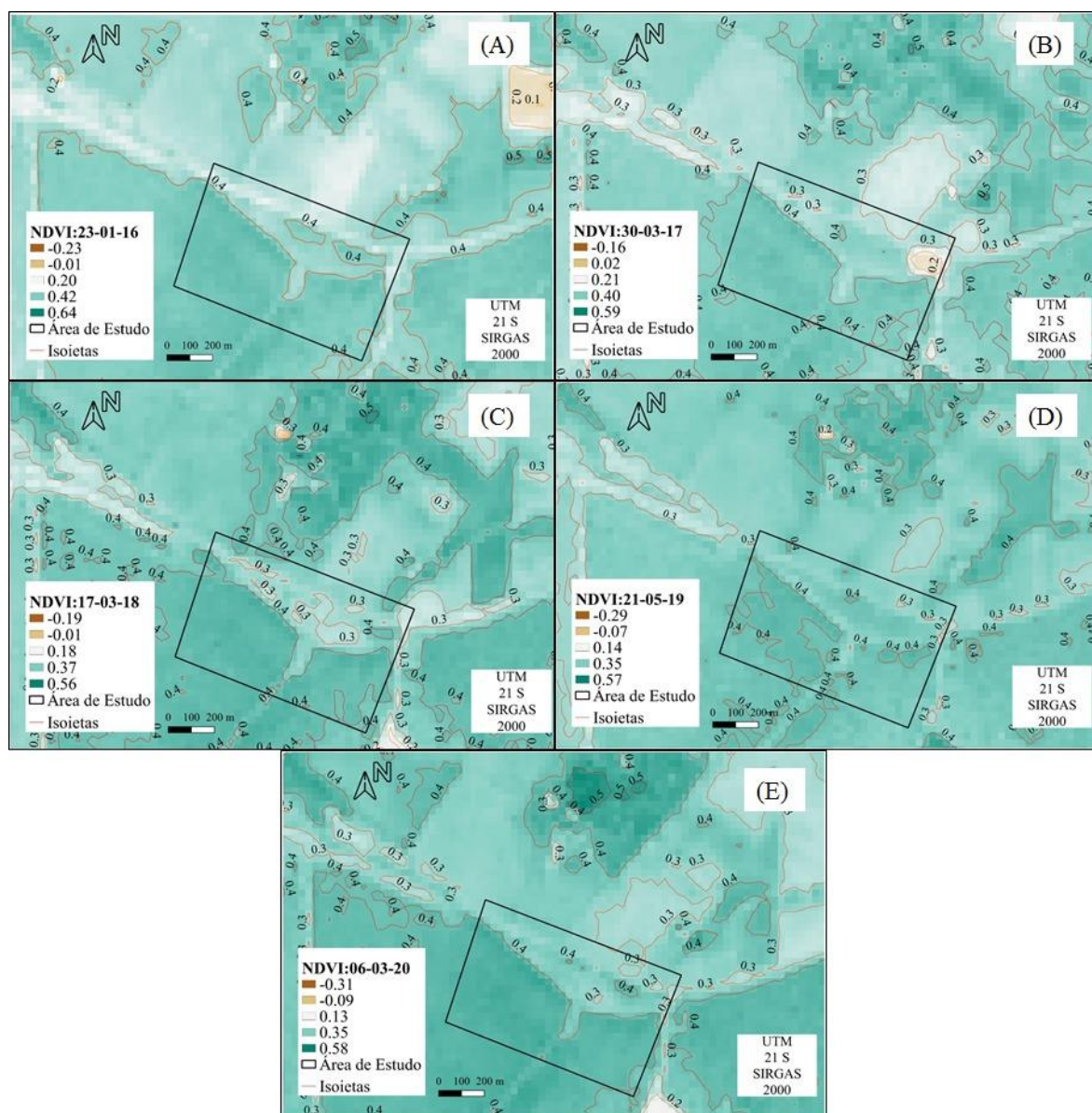


Figura 4. NDVI para uma área de cerrado *stricto sensu* acometida pelo fogo no ano de 2017. As figuras mostram a evolução da regeneração natural da mesma no decorrer dos anos: A-2016, B-2017; C- 2018, D-2019, E-2020. Fonte: Elaborada pelos autores.

Segundo Brito et al. (2018), a pressão sobre a região do Cerrado, em termos de queimadas e incêndios florestais, vem crescendo ao longo dos últimos anos. Como ações norteadoras de políticas públicas neste tema, foram criados o Plano Nacional de Mudanças Climáticas e o Plano de Ação para Prevenção e Controle de Desmatamento e das Queimadas no Cerrado (PPCerrado), que preveem a redução de 40% do desmatamento do Bioma Cerrado em relação à média entre os anos de 1999 a 2008 até 2020. Esse projeto, publicado no site do Ministério do Meio Ambiente, propõe o desenvolvimento de metodologias de detecção e de quantificação das áreas queimadas no Bioma Cerrado e o estabelecimento do nível de referência de emissões de gases de efeito estufa por desflorestamento e

degradação. As metodologias baseiam-se na obtenção de imagens de satélites interpretadas e inseridas em um Banco de Dados, para auxiliar ações de planejamento e estratégias de conservação do Bioma.

Numa escala que permite a identificação pontual com alto grau de nitidez e resolução espacial as imagens obtidas por meio de ARPs propiciam a realização de levantamentos fotogramétricos com detalhes geoespaciais não alcançados pelos satélites, constituindo, portanto, uma importante ferramenta complementar nos estudos de uso e ocupação dos solos.

A partir de imagens obtidas a 50-100 metros de altitude é possível acompanhar a evolução da dinâmica de cobertura com grandes detalhes nas unidades amostrais (parcelas), sendo possível, estimar variáveis como: quantidade de material combustível, evolução na cobertura do solo, variações espectrais e de cobertura da copa, NDVI, entre outros, utilizando processamento das imagens a partir de softwares específicos (Figura 5).



Figura 5. Imagens remotas capturadas por ARP (aeronave remotamente pilotada), em trechos cerrado *sensu stricto* no município de Dourados/MS em 2016. (A) imagem obtida no período da seca em agosto de 2017, notar a cobertura seca de gramíneas; (B) trecho em restauração com espécies nativas do cerrado, pós-queimada, imagem obtida em março de 2017. Foto: Santiago E.F.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A estreita relação entre o fogo como fator determinante na dinâmica estrutural e funcional do Cerrado, os impactos ambientais advindos de sua utilização excessiva como forma de manejo, bem como atitudes negligentes de governos e tomadores de decisão quanto ao cumprimento das legislações vigentes, tornam este tema atualíssimo, justificando os estudos geradores de dados e maior senso crítico no âmbito das políticas públicas.

O Cerrado apresenta diferentes fisionomias e relações ecológicas complexas. As formações florestais, savânicas e campestres, além dos subtipos que estão presentes também no Cerrado dependem do fogo, como elemento regulador de sua dinâmica. A ausência do fogo neste sistema proporciona o desenvolvimento da vegetação dos estratos superiores, como as arbóreas, o que implica em efeitos sobre

a densidade e cobertura da copa da vegetação, ao passo que a maior frequência do fogo favorece a evolução do estrato herbáceo, como as espécies de gramíneas e arbustos. Assim, a menor ou maior frequência do fogo interfere na dinâmica sucessional no sentido da progressão para o domínio florestal ou para o domínio campestre.

Ainda que seja um elemento imprescindível ao sistema, a frequência de ocorrência natural do fogo no Cerrado obedece a ciclos distribuídos em intervalo de tempo superior a cinco anos, desta forma, o fogo de natureza antrópica, associados a outros fatores de estresse como a fragmentação florestal, mal uso do solo nas áreas agricultáveis ou de pastagem que constituem a matriz nas quais os fragmentos de vegetação nativa estão imersos, a compactação do solo pelo pisoteio do gado, as atividades extrativistas, entre outros fatores, constituem em elementos cujo sinergismo pode suplantar a capacidade de tolerância das espécies nativas, com resultados significativos sobre a diversidade em seus diferentes níveis.

O bioma Cerrado abrange uma extensa área territorial nacional, com grande potencial ambiental, social e econômico, cuja diversidade representada por seu patrimônio genético consiste em importante fonte de recursos a serem explorados com vistas ao bem comum. A razoabilidade no uso dos recursos genéticos do Cerrado decorre da observância aos princípios da sustentabilidade. Desta forma, são imprescindíveis a participação dos diferentes atores sociais envolvidos: produtores rurais, poder público constituído, universidades e instituições de pesquisa, bem como a sociedade de modo geral, no sentido de identificar as potencialidades, mas também as fragilidades deste sistema.

Ressalta-se, por fim, a importância da pesquisa como elemento ampliador de conhecimento no bioma, em especial quanto aos processos dinâmicos do Cerrado e das interações entre as espécies e os fatores geradores de estresse, elemento fundamental tanto ao uso sustentável de seus recursos quanto para a adoção de práticas conservacionistas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdalla NI, Gaiballa AK, Kättsch C, Sulieman M, Mariod A (2015). Using MODIS- Derived NDVI and SAVI to distinguish between different rangeland sites according to soil types in semi-arid areas of Sudan (North Kordofan State). *International Journal of Life Science and Engineering*, 1(4): 150-164.
- Almeida RF, Fagg CW, Oliveira MC, Munhoz CBR, Lima AS, Oliveira LSB (2014). Mudanças florísticas e estruturais no cerrado sensu stricto ao longo de 27 anos (1985-2012) na Fazenda Água Limpa, Brasília, DF. *Rodriguésia*, 65(1): 1-19.
- Almeida SP, Silva JA, Ribeiro JF (1987). Aproveitamento alimentar de espécies nativas dos Cerrados: araticum, baru, cagaita e jatobá. Planaltina. EMBRAPA-CPAC. 83p.

- Alves RJV, Silva NG (2011). O Fogo é sempre um vilão nos Campos Rupestres? *Biodiversidade Brasileira*, 2: 120-127.
- Andrade LAZ, Miranda HS (2014). The dynamics of the soil seed bank after a fire event in a woody savanna in central Brazil. *Plant Ecology*, 215: 1199-1209.
- Antunes NB, Ribeiro JF (1999). Aspectos fenológicos de seis espécies vegetais em matas de galeria do Distrito Federal. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 34 (9): 1517-1527.
- Baiardi A (2017). A pseudociência e o neo-obscurantismo contemporâneo. *Jornal da Ciência. SBPC*. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1083058/1/PEDROSOJornaldaCiencia2017.pdf>>. Acesso em: 20 jul. 2020.
- Bolfe EL, Sano EE, Campos SK (2020). Dinâmica agrícola no cerrado: análises e projeções. Brasília, DF: Embrapa. 312p.
- Bouchardet DA, Ribeiro IM, Sousa NA, Aires SS, Miranda HS (2015). Efeitos de altas temperaturas na germinação de sementes de *Plathymenia reticulata* Benth. e *Dalbergia miscolobium* Benth. *Revista Árvore*. 39(4): 697-705.
- Brasil. Decreto nº 9.997, de 30 de agosto de 2019. Altera o Decreto nº 9.992, de 28 de agosto de 2019, que determina a suspensão da permissão do emprego do fogo de que trata o Decreto nº 2.661, de 8 de julho de 1998, no território nacional pelo prazo de sessenta dias. *Diário Oficial da União*, edição extra, 30 de agosto de 2019.
- Brasil. Ministério do Meio Ambiente – MMA (2009). *Plano de Ação para Prevenção e Controle do Desmatamento e das Queimadas no Cerrado-PP Cerrado*. Brasília, Ministério do Meio Ambiente.
- Brito A, Valeriano DM, Ferri C, Scolastici A, Sestini M. Metodologia da detecção do desmatamento no Bioma cerrado: Mapeamento de Áreas Antropizadas com Imagens de Média Resolução Espacial, Fundação de Ciência, Aplicações e Tecnologias Espaciais, FUNCATE, São José dos Campos, 2018. Disponível em: http://cerrado.obt.inpe.br/wp-content/uploads/2019/08/report_funcate_metodologia_mapeamento_Bioma_cerrado.pdf. Acesso em: 16 jul. 2020.
- Camargos VL, Martins SV, Ribeiro GA, Carmo FMS, Silva AF (2010). Avaliação do impacto do fogo no estrato de regeneração em um trecho de floresta estacional semidecidual em Viçosa, MG. *Revista Árvore*, 34(6): 1055 -1063.
- Cernusak LA, Hutley LB, Beringer J, Tapper NJ (2006). Stem and leaf gas exchange and their responses to fire in a north Australian tropical savanna. *Plant, Cell and Environment*, 29(4): 632-646.
- Chaves JBP (2001). Métodos de diferença em avaliação sensorial de alimentos e bebidas. Viçosa: Editora UFV. 91p.

- Cirne P, Miranda HS (2008). Effects of prescribed fires on the survival and release of seeds of *Kielmeyera coriacea* (Spr.) Mart. (Clusiaceae) in savannas of Central Brazil. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 20(3): 197-204.
- Conceição AA, Orr BJ (2012). Post-fire flowering and fruiting in *Vellozia sincorana*, a caulescent rosette plant endemic to Northeast Brazil. *Acta Botanica Brasílica*, 26: 94-100.
- Costa, R., Scariot, A. (2003). A fragmentação Florestal e os Recursos Genéticos. In: Fragmentação Florestal e Alternativas de Desenvolvimento Rural na Região Centro-Oeste. Reginaldo Brito da Costa (Org). Campo Grande: UCBD, 2003.
- Coutinho LM (1990). Fire in the ecology of the Brazilian cerrado. In: *Fire in the tropical biota*. Springer, Berlin, Heidelberg, 82-105p.
- Dias BF (org.) (1992). Alternativas de desenvolvimento dos cerrados: manejo e conservação dos recursos naturais renováveis. Ed. FUNATURA, Brasília, DF, 34-38p.
- Diniz IR (1997). Variação na abundância de insetos no Cerrado: efeito das mudanças climáticas e do fogo. Dissertação de Mestrado- Departamento de Ecologia, Universidade de Brasília- UnB, Brasília- DF. 274p.
- Durigan G (2020). Zero-fire: not possible nor desirable in the Cerrado of Brazil. *Flora*, 151612
- Durigan G, Ratter JA (2016) The need for a consistent fire policy for Cerrado conservation. *Journal of Applied Ecology*, 53: 11-15.
- Eiten G (1977). Delimitação do conceito de Cerrado. *Arquivos do Jardim Botânico, Rio de Janeiro*, 21: 125-134.
- Falleiro RM, Santana MT, Berni CR (2016). *As Contribuições do Manejo Integrado do Fogo para o Controle dos Incêndios Florestais nas Terras Indígenas do Brasil*. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. 2: 94-96p.
- Felfili JM, Sousa-Silva JC, Scariot A (2005). Biodiversidade, ecologia e conservação do Cerrado: avanços no conhecimento. In: Scariot A, Sousa-Silva JC, Felfili JM (Org.). *Cerrado: Ecologia, Biodiversidade e Conservação*. Brasília: Ministério do Meio Ambiente. 439p.
- Fichino B, Fidelis A, Schmidt I, Pivello V (2012). Efeitos de altas temperaturas na germinação de sementes de capim-dourado (*Syngonanthus nitens*) (Bong.) Ruhland (Eriocaulaceae): implicações para o manejo. *Acta Botanica Brasílica*, 26(2): 512-515.
- Fontenele HGV, Figueiroa RNA, Pereira CM, Nascimento VT, Musso C, Miranda HS (2020). Protected from fire, but not from harm: seedling emergence of savanna grasses is constrained by burial depth. *Plant Ecology and Diversity*, 13(2): 189-198.

- Gashaw M, Michelsen A (2002). Influence of heat shock on seed germination of plants from regularly burnt savanna and grassland in Ethiopia. *Plant Ecology*, 159: 83-93.
- Gomes L, Miranda HS, Cunha Bustamante MM (2018). How can we advance the knowledge on the behavior and effects of fire in the Cerrado biome? *Forest Ecology and Management*. 417: 281-290.
- González, A.V, Gómez-Silva, V., Ramírez, M.J., Fontúrbel, F.E. (2019) Meta-analysis of the differential effects of habitat fragmentation and degradation on plant genetic diversity. *Conservation Biology*, 34 (3): 711–720.
- Gorgone-Barbosa E, Pivello VR, Baeza MJ, Fidelis A (2016). Disturbance as a factor in breaking dormancy and enhancing invasiveness of African grasses in a Neotropical Savanna. *Acta Botanica Brasílica*, 30: 131-137.
- Hanlon J (1969). An ecologic view of public health. *American Journal of Public Health* 59: 4-11.
- Hardesty J, Myers R, Fulks W (2005). Fire, ecosystems, and people: a preliminary assessment of fire as a global conservation issue. *The George Wright Forum*. 22: 78-87.
- Heldt H-W, Heldt F (2005). *Plant Biochemistry*. 3 ed. Editora Elsevier, Amsterdam. 656p.
- Heringer I, Jacques AVA (2001). Adaptações de plantas ao fogo: enfoque na transição floresta-campo. *Ciência Rural*. 31(6): 1085-1090.
- Klink CA, Machado RB (2005). A conservação do Cerrado brasileiro. *Megadiversidade*, 1(1): 147-155.
- Knapp AK (1985). Effects of fire and drought on the ecophysiology of *Andropogon gerardii* and *Panicum virgatum* in a tallgrass prairie. *Ecology*. 66(4): 1309-1320.
- Kolb RM, Pilon NAL, Durigan G (2016). Factors influencing seed germination in Cerrado grasses. *Acta Botanica Brasílica*, 30: 87-92.
- Leonel M (2000). O uso do fogo: o manejo indígena e a piromania da monocultura. *Estudos Avançados*, 14(40): 231-250.
- Maia RA, Fernandes GW, Silva AIS, Souza JP (2019). Improvement in light utilization and shoot growth in *Hymenaea stigonocarpa* under high CO₂ concentration attenuates simulated leaf herbivory effects. *Acta Botanica Brasílica*. 33(3): 558-571.
- Mascarenhas LMA, Ferreira ME, Ferreira LG (2009) Sensoriamento remoto como instrumento de controle e proteção ambiental: análise da cobertura vegetal remanescente na Bacia do Rio Araguaia. *Sociedade & Natureza*, 21(1): 5-18.
- Mendes FN, Rêgo MMC, Albuquerque PMC (2011) Fenologia e biologia reprodutiva de duas espécies de *Byrsonima* Rich. (Malpighiaceae) em área de Cerrado no Nordeste do Brasil. *Biota Neotropica*, 11(4): 103-115.


- Miranda HS, Sato MN (2005). Efeitos do fogo na vegetação lenhosa do Cerrado. In: Scariot A, Sousa-Silva JC, Felfili JM. (Orgs.). *Cerrado: ecologia, biodiversidade e conservação*. Brasília, Ministério do Meio Ambiente.
- Neves DRM, Damasceno-Junior GA (2011). Post-fire phenology in a campo sujo vegetation in the Urucum plateau, Mato Grosso do Sul, Brazil. *Brazilian Journal Biology*, 71(4): 881-888.
- Oliveira RS, Batista JAN, Proença CEB, Bianchetti L (1996). Influência do fogo na floração de espécies de orchidaceae em cerrado. In: Miranda HS, Saito CH, Dias BF (orgs.). *Impactos de queimadas em áreas de cerrado e restinga*. Universidade de Brasília, Brasília, DF. 61-67p.
- Overbeck GE, Muller SC, Pillar VD, Pfadenhauer J (2006). No heat-stimulated germination found in herbaceous species from burned subtropical grassland. *Plant Ecology*. 184: 237-243.
- Pivello VR (2011). The use of fire in the Cerrado and Amazonian rainforests of Brazil: past and present. *Fire ecology*, 7(1): 24-39.
- Ribeiro JF, Sano SM, Silva JA (1981). Chave preliminar de identificação dos tipos fisionômicos da vegetação do Cerrado. p.124-133 In: Anais do XXXII Congresso Nacional de Botânica. Sociedade Botânica do Brasil, Teresina, Brasil.
- Ribeiro MN, Sanchez M, Pedroni F, Peixoto KS (2012) Fogo e dinâmica da comunidade lenhosa em cerrado sentido restrito, Barra do Garças, MT. *Acta Botanica Brasilica*, 26: 203-217.
- Rouse JW, Haas RH, Schell JA, Deering DW (1974) Monitoring vegetation systems in the Great Plains with ERTS, Proceedings, Third Earth Resources Technology Satellite. In: 1 Symposium, Greenbelt: NASA.
- Sano SM, Almeida SP (1998) *Cerrado: ambiente e flora*. 1.ed. Ed. Embrapa, Planaltina. 212- 213p.
- Santana TF, Fernandes HE, Giongo M, Moura WS, Cabral KP, Souza PB (2019). Influência do fogo na germinação de três espécies do bioma cerrado. *Biodiversidade*, 18(1): 18-27.
- Santana VM, Baeza MJ, Blanes MC (2013) Clarifying the role of fire heat and daily temperature fluctuations as germination cues for Mediterranean Basin obligate seeders. *Annals of Botany*, 111: 127-134.
- Santiago EF, Paoli AAS (2003) O aumento em superfície em *Adelia membranifolia* (Müll. Arg.) Pax & K. Hoffm. e *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub., em resposta ao estresse por deficiência nutricional e alagamento do substrato. *Revista Brasileira de Botânica*, 26(4): 503-513.
- Sarmiento, G, Cabido, M. 1996. Biodiversidad y Funcionamiento de Pastizales y Sabanas en América Latina. Ediciones Cytel y Cielat. 231-243p.
- Sato M, Musso C, Miranda HS (2018). Fire-induced damage to *Qualea multiflora* Mart. seeds depends on fruit protection and the position in tree crown. *Plant Biology*. 20(6): 1036-1041.

- Schmidt IB, Sampaio AB, Borghetti F (2005). Efeitos de época de queima sobre a reprodução sexuada e estrutura populacional de *Heteropterys pteropetada* (Adr. Juss.), Malpighiaceae, em áreas de cerrado *sensu strictu* submetidas a queimas bienais. *Acta Botanica Brasílica*. 19: 929-936.
- Scott K, Setterfield S, Douglas M, Andersen A (2010). Soil seedbanks confer resilience to savanna grass-layer plants during seasonal disturbance. *Acta Oecologica*. 36: 202-210.
- Scott K, Setterfield SA, Douglas MM, Parr CL, Schatz J, Andersen AN (2012) Does long-term fire exclusion in an Australian tropical savanna result in a biome shift? A test using the reintroduction of fire. *Austral Ecology*, 37: 693–711.
- Setterfield SA, Rossiter-Rachor NA, Hutley LB, Douglas MM, Williams RJ (2010). Turning up the heat: the impacts of *Andropogon gayanus* (gamba grass) invasion on fire behaviour in northern Australian savannas. *Diversity and Distributions*, 16: 854-861.
- Simon MF, Grether R, Queiroz LP, Skema C, Pennington RT, Hughes CE (2009) Recent assembly of the Cerrado, a neotropical plant diversity hotspot, by in situ evolution of adaptations to fire. *Proceedings of the National Academy of Science*, 108: 20359-20364.
- Sousa DG, Cunha HF (2018). Effect of fire on flowering and fruiting of *Anacardium humile* (Anacardiaceae) in Cerrado *stricto sensu*. *Revista Árvore*. 42(6): e420605.
- Souza MA, Vale AT (2019). Levantamento de plantas de baixa inflamabilidade em áreas queimadas de Cerrado no Distrito Federal e análise das suas propriedades físicas. *Ciência Florestal*, 29(1): 181-192.
- Steuter AA, McPherson GR (1995). Fire as a physical stress. In: Bedunah DJ, Sosebee RE (Eds.) *Wildland plant as physiological ecology and developmental morphology*. Denver: Society for Range Management, 550-579p.
- Stokes KE, Allchin AE, Bullock JM, Watkinson AR (2004). Population responses of *Ulex shrubs* to fire in a lowland heath community. *Journal of Vegetation Science*, 15: 505-514.
- Strassburg BB, Brooks T, Feltran-Barbieri R, Iribarrem A, Crouzeilles R, Loyola R, Soares-Filho B (2017). Moment of truth for the Cerrado hotspot. *Nature Ecology & Evolution*, 1(4): 1-3.
- Strasser BJ (1997). Donor side capacity of Photosystem II probed by chlorophyll *a* fluorescence transients. *Photosynthesis Research*, 52: 147-155.
- Távora BE, Egert R, Beltrão L (2011). Aplicação do Índice de Vegetação por Diferenças Normalizadas na avaliação da recuperação de danos em áreas degradadas. *Boletim Científico ESMPU*, 10(35): 85-95.
- Tung ESC, Freitas MLM, Florsheim SMB, Lima IL, Longui EL, Wergles Santos FW, Moraes MLT, Sebbenn AM (2010). Variação genética para caracteres silviculturais em três espécies arbóreas da região do bolsão Sul-Mato-Grossense. *Scientia Forestalis*, 38(87): 499-508.

Modelo de desarrollo y tolerancia a la salinidad de mutantes de trigo cultivadas en condiciones Salinas

Recebido em: 30/07/2020

Aceito em: 03/08/2020

 10.46420/9786588319024cap9

Leandris Argentel-Martínez^{1*} 

Gladys A. Velázquez-Lugo¹

Lizandra Romero-Antomarchi²

María Hermelinda Herrera Andrade¹

José Aurelio Leyva Ponce¹

Jorge González Aguilera³ 

Hebert Hernán Soto Gonzáles⁴ 

INTRODUCCIÓN

La salinidad de los suelos es, en la actualidad, uno de los factores de mayor impacto negativo sobre el desarrollo y productividad de plantas de interés económico (Sadak, 2019). Una considerable superficie de suelo destinado a la agricultura (43%) se encuentra afectada por niveles de salinidad que en la mayoría de los casos superan la tolerancia de los cultivos (Liu et al., 2019).

En Cuba, la superficie de suelo afectada por la salinidad ha incrementado a más de un millón de hectáreas, donde 1.5 millones ya presentan problemas potenciales de salinización. Este problema se presenta aún más en las provincias orientales, donde el 55% de los suelos cultivables son catalogados como salinizados (Argentel et al., 2016a). Esta situación demanda la necesidad de conocer la respuesta de los cultivos agrícolas bajo este tipo de estrés de forma precisa y consistente a lo largo de su ciclo biológico (Argentel et al., 2016b), lo cual conducirá a la generación de alternativas enfocadas a incrementar o mantener la productividad en estos cultivos bajo las condiciones de salinidad de los suelos actuales y futuras, contribuyendo a la seguridad alimentaria nacional.

¹ Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico del Valle del Yaqui. Calle 600, Block 611, Bácum, San Ignacio Río Muerto, Sonora, México. C. P. 85275.

² Ministerio de la Agricultura, Laboratorio Provincial de Suelos, Bayamo, Granma, Cuba.

³ Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) - Campus Chapadão do Sul (CPCS), MS, Brasil

⁴ Universidad Nacional de Moquegua (UNAM) – Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental (EPIAM), Ilo Moquegua, Perú. C.P. 18601.

* Autor de correspondencia: oleinismora@gmail.com

Se ha estudiado que diversas especies vegetales presentan susceptibilidad a la salinidad en diferentes estadios del desarrollo (Azcón-Bieto; Talón, 2008), siendo algunos de contribución altamente significativa para la tolerancia y al rendimiento (Ashraf et al., 2018).

Cultivos como el trigo (*Triticum estivum* L.), que constituyen la base de la alimentación mundial han sido estudiados en cuanto a su tolerancia a la salinidad en ecosistemas frágiles y degradados en Cuba (Argente; González, 2008), donde se han desarrollado experimentos sobre la respuesta de este cereal a condiciones de estrés salino, observando la existencia de considerable variabilidad interespecífica en su grado de tolerancia. Por ello, el monitoreo de la respuesta fisiológica y agronómica, por su carácter poligénico permitirá la validación de variedades que presenten tolerancia estable a este tipo de estrés. Estos estudios permitirán la identificación de posibles parentales para futuros programas de mejora genética (Gholizadeh et al., 2018).

Como parte de las alternativas empleadas en Cuba para mitigar los efectos del estrés abiótico en el cultivo del trigo se ha empleado la radioinducción de mutaciones y fueron obtenidos siete radiomutantes a partir del primer cultivar de trigo harinero cubano C-C-204 (Cueto, 1996). Así, en el presente manuscrito se muestran resultados de los estudios de la tolerancia parcial y final del cultivo de trigo, a través de indicadores morfológicos y agronómicos usando como modelo experimental tres variedades obtenidas en Cuba, y establecidas en la región oriental donde los problemas de salinidad de los suelos son más fuertes y limitantes del desarrollo y productividad de las plantas, siendo la investigación un aporte práctico importante con la finalidad de potenciar la rentabilidad de las producciones en los suelos salinos, incrementar la biodiversidad de especies en ecosistemas frágiles y degradados y una contribución a la seguridad alimentaria nacional.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se desarrolló en un área experimental del Laboratorio provincial de Suelos, ubicada en el municipio de Jiguaní, Granma, Cuba. Fueron empleadas tres variedades de trigo obtenidas en Cuba (Tabla 1), de las cuales se tomaron semillas al azar y fueron sembradas en recipientes de cemento con capacidad de 1m² en condiciones semicontroladas en un diseño experimental completamente aleatorizado, con cuatro repeticiones. Los experimentos fueron repetidos cuatro veces y realizados en dos años consecutivos (2016-17 y 2017-18).

Tabla 1. Variedades de trigo estudiadas, procedencia, especie y ciclo biológico. Fuente: Datos de la investigación.

Variedad	Procedencia	Especie	Ciclo biológico (días)
C-C-204	Cuba	<i>T. aestivum</i>	90
INIFAT RM -30	Cuba	<i>T. aestivum</i>	90
INIFAT RM -26	Cuba	<i>T. aestivum</i>	90

La variedad C-C-204 fue obtenida por selección a partir de la variedad brasileña de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) BH-1146 (Cueto, 1996); de la cual años más tarde y a través de la inducción de mutaciones se han obtenido 7 mutantes, dentro de ellos INIFAT RM-30 y INIFAT RM-26 (González et al., 2005).

Condiciones experimentales

Los tratamientos estudiados fueron establecidos en suelo vertisol crómico (Hernández, 1999). Se evaluaron dos tratamientos, uno salino con una conductividad eléctrica inicial de 4.96 dS m⁻¹ y uno control con una conductividad eléctrica inicial de 0.14 dS m⁻¹. La conductividad eléctrica de los suelos fue evaluada por el método de pasta saturada (Richards, 1969). Antes de la siembra se aplicó un riego hasta la capacidad de campo controlando la humedad del suelo por el método gravimétrico. El agua de riego presentó una conductividad eléctrica de 0.12 dS m⁻¹. Las siembras se realizaron a chorrillos, logrando una distancia entre hileras de 0.25 metros y una norma de siembra de 90 kg ha⁻¹ (Plana et al., 2016).

Variables evaluadas

El porcentaje de germinación se evaluó en cada tratamiento en función del total de semillas establecidas y se expresó en valor relativo al control mediante la fórmula propuesta por Fernández (1993). La respuesta fenológica se estudió utilizando una escala decimal de comparación (Zadooks et al., 1974), evaluando el tiempo transcurrido para cada fase fenológica expresado en días, considerando la fenofase cuando más del 50% de las plantas dentro de un mismo tratamiento mostraban las características afines. Las variables fenológicas fueron: días al inicio del ahijamiento, días a la aparición del primer nudo, días a la aparición del segundo nudo, días al cambio de primordio, días al espigamiento, días a la floración, días al llenado de los granos y días a la madurez fisiológica.

La respuesta agronómica se evaluó en base a 1 m² de parcela experimental en función de las siguientes variables: altura de las plantas (AP) (cm), longitud de la espiga (LE) (cm), masa de la espiga (PE) (g), granos llenos por Espiga (GLLE) (unidad), granos vanos por espiga (GVE) (unidad), peso de 1000 granos (PMG) (g), y rendimiento (t ha⁻¹). A partir de los datos obtenidos de cada variable evaluada

en los dos tratamientos establecidos, para cada variedad se calcularon los índices de tolerancia al estrés por salinidad (ITS), siguiendo la fórmula propuesta por Fernández (1993). A partir de las variables obtenidas fueron calculados los siguientes índices: IG: índice de germinación; IAP: índice de altura de la planta; ILR: índice de longitud de la raíz; IMS: Índice de materia seca; IA: índice de ahijamiento; IAPN: índice de emisión del primer nudo; IASN: índice de emisión del segundo hijo; IAP: índice de altura de la planta durante el embuche; ICP: índice de cambio de primordio; IE: índice de espigamiento; IF: índice de floración; ILLF: índice de llenado de los granos; IMF: índice de maduración de los granos; ILLP: índice de longitud de la espiga; IGLLP- IGCP: índice de granos llenos y vanos por espiga respectivamente; IPP: índice de peso de la espiga; IPMG: índice de peso de mil granos; IR: índice de rendimiento agrícola.

Análisis estadísticos

Utilizando un tamaño de muestra de 30 plantas por recipiente, se determinó la media, su desviación estándar y el error estándar de estimación, estableciendo las diferencias entre el tratamiento control y el estresado para cada variedad mediante la prueba de *t* de *Student* (Gosset, 1917). Además, se realizó un análisis de varianza de clasificación simple entre las variedades, basado en un modelo lineal de efectos fijos, empleando la prueba de comparación múltiple de medias de MDS, para un nivel de significación del 1% (Fischer, 1935). Para todos los índices obtenidos se estableció una curva de respuesta mediante un modelo bifásico de tolerancia durante todo el ciclo biológico (Munns, 1996).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Germinación de las semillas

Los porcentajes de germinación de las semillas en el suelo control (SNS) no mostraron diferencias significativas entre las tres variedades estudiadas, presentando altos valores como consecuencia de la tasa normal de germinación de éstas. Sin embargo, las semillas que fueron germinadas en el suelo bajo estrés salino (SS) presentaron valores altos, existiendo diferencias significativas ($p < 0,01$) (Tabla 2).

El análisis del coeficiente de determinación permitió concluir que las variaciones encontradas, tanto en el suelo salino como en el no salino fue función de las variedades evaluadas, aunque en todos los casos los valores de porcentajes de germinación fueron altos. Al comparar de manera independiente cada variedad se observó que el mayor valor promedio lo presentó la variedad radiomutante INIFAT RM-26 (Tabla 2).

La germinación de las semillas es un evento fisiológico que ocurre tras el proceso de absorción de agua, conduciendo mayormente a procesos físico-químicos, pero una vez saturada la semilla si la

conductividad eléctrica del agua es muy alta se evidencian efectos nutricionales y la subsiguiente toxicidad iónica (Leidis; Prado, 2008). Así, la actividad enzimática durante la germinación es muy alta, y los iones de sodio y cloro fundamentalmente disminuyen la actividad de múltiples enzimas fundamentales en la germinación (Aflaki et al., 2017).

Tabla 2. Medias de los valores de germinación (%) de las tres variedades estudiadas en condiciones de suelo salino (SS), no salino (SNS) y el índice de tolerancia relativa (ITR).

Variedad	SS	SNS	ITR
INIFAT RM-26	99.97±0.21 a	100.00 a ^{ns}	99.17
INIFAT RM -30	98.78±0.11 b	100.00 a ^{**}	98.46
C-C- 204	98.83±0.07 b	99.98±0.05 a ^{**}	97.83
CV	0.24	0.03	2.54
R ²	0.99	0.99	0.96

Medias seguidas por la misma letra en la columna no difieren significativamente por la prueba de MDS para el 1%. Medias seguidas por *, ** y ^{NS} en una misma fila muestran diferencias por t-student al 5%, 1% y no significativo, respectivamente. CV: coeficiente de variación, R²: coeficiente de determinación sin ajustar. Fuente: Datos de la investigación.

Modelación de las fenofases de las variedades

En la Figura 1 se muestra las respuestas al modelo bifásico de desarrollo y tolerancia de las variedades estudiadas según descrito por Munns (1996). En las tres variedades estudiadas se observó respuesta tolerante a la salinidad desde la germinación hasta la aparición del segundo nudo (fenofase de encañe), donde se evaluó nuevamente la altura de las plantas, evidenciándose que hasta esta fenofase no existió efecto adverso de la salinidad (Figura 1).

A partir del cambio de primordio (final del encañe e inicio del embuche y espigamiento) se observó un punto de inflexión de la curva de respuesta a la salinidad, mostrándose susceptibilidad en dos variedades (INIFAT RM- 30 y C-C-204), hasta la fenofase de llenado de la espiga. En esta fase se produjo el segundo punto de inflexión en el modelo bifásico, existiendo otra fase de susceptibilidad hasta el final del ciclo biológico de estas dos variedades. El índice de la masa de la panícula, que no presentó diferencias entre las variedades, fue el indicador que propició un segundo momento cuadrático en el modelo de desarrollo, sin embargo, la no existencia de diferencias y la obtención de un alto índice es indicativo de la existencia de considerable estabilidad genética para la tolerancia a la salinidad. Solamente la variedad INIFAT RM-26 mantuvo su respuesta tolerante en las etapas vegetativa y reproductiva, sin afectaciones significativas en el rendimiento agrícola.

Las variables del rendimiento longitud y masa de la espiga se afectaron entre 2 y 4.3 % y 1 y 21 %, respectivamente. Tal resultado evidencia que el tamaño de la espiga no fue afectado por la salinidad en ninguna de las variedades estudiadas, aspecto que se contrapone con el carácter poligénico de esta

variable (Renault et. al., 2012) no siendo así su masa, que es función directa de la cantidad de carbohidratos que llegan a cada grano, propiciando variabilidad en la masa de la espiga como se observa en el Tabla 3 (Bilkis et al., 2016).

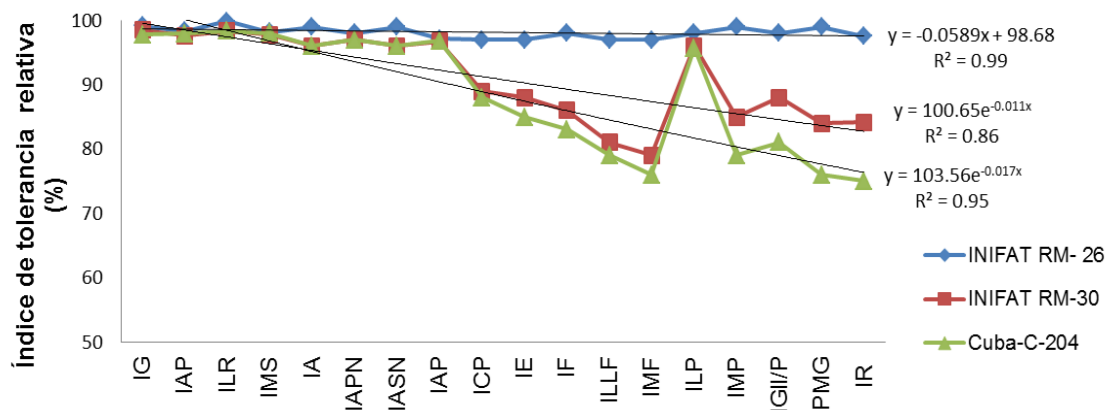


Figura 1. Modelo bifásico de crecimiento de Munns (1996). Índices de tolerancia en cada fenofase de tres variedades de trigo. Ecuaciones y líneas de tendencia seguidas por el conjunto de índices evaluados. R²: bondad de ajuste de los datos a la línea de tendencia. Las siglas dos diferentes índices fueron descritos en material y métodos. Fuente: Datos de la investigación.

Tabla 3. Índices de afectación en los componentes del rendimiento.

Variedad	Componentes del rendimiento (%)				
	ILP ¹	IMP	IGLLP	IPMG	IR
INIFAT RM- 26	2a	1a	2a	1a	2.5a
INIFAT RM-30	4b	15b	12b	16b	15.83b
C-C-204	4.3b	17c	21c	18c	25c
CV	5.17	8.41	11.32	12.34	12.52
R ²	0.96	0.98	0.99	0.98	0.98

¹ ILP: índice de longitud de la espiga, IMP: índice de masa de la panícula, IGLLP: índice de granos llenos por espiga, IPMG: índice de peso de mil granos, IR: índice de rendimiento agrícola. Medias con letras diferentes en la columna difieren significativamente por MDS para un 1%. CV: Coeficiente de variación. R²: coeficiente de determinación sin ajustar. Fuente: Datos de la investigación

Esta disminución significativa en la masa de la espiga pudo ser efecto tanto por un incremento del porcentaje de polen no viable como por el resultado de diferentes desajustes que se producen en el desarrollo floral o por obstrucción del floema en las espiguillas distales (Shirdelmoghanloo et al., 2016).

El número de granos llenos por espiga tuvo gran incidencia en el rendimiento obtenido. Se ha señalado que los mayores efectos del estrés salino en el rendimiento en grano en trigo usualmente están asociados a una reducción en el número de granos efectivos (Kumar et al., 2018). Por su parte la masa de los granos también varió significativamente con afectaciones de 16% y 18% en las variedades

INIFAT RM-30 y C-C-204. En todas las variables evaluadas el coeficiente de determinación (R^2), superior al 95% permitió verificar que las variaciones encontradas fueron atribuidas únicamente al efecto de las variedades, demostrando la existencia de variabilidad genética para el carácter tolerancia a la salinidad basada en los componentes del rendimiento.

Las afectaciones en el rendimiento, en el presente estudio, oscilaron entre 2% y 25% como resultado de los daños ocurridos en sus componentes, resultando la variedad de trigo harinero INIFAT RM-26 la de mejor respuesta a la salinidad, mientras que INIFAT RM-29 y C-C-204 fueron las de mayor grado de susceptibilidad. El resultado obtenido demuestra que por efecto de la técnica biotecnológica de radioinducción de mutaciones es posible mejorar la respuesta adaptativa y productiva de especies de interés económico (Hombre et al., 2012).

El mayor grado de tolerancia por parte de los radiomutantes obtenidos a partir de C-C-204 responde probablemente a la técnica empleada para su obtención dado que se conoce que la inducción de mutaciones ha sido una vía importante para elevar el grado de tolerancia en diversas especies de interés económico (El-Mouhamady y Ibrahim, 2020; Bado et al., 2016).

CONCLUSIONES

Los radiomutantes de trigo evaluados presentaron mayores índices de tolerancia relativa a la salinidad durante la germinación.

El modelo bifásico permitió concluir que las variedades no presentaron afectaciones durante los primeros estadios del desarrollo hasta la fenofase de encañe (alargamiento del segundo nudo), y que por efecto de la radioinducción, los radiomutantes fueron más tolerantes que el progenitor.

La radioinducción disminuyó las afectaciones por efectos del estrés salino, denotando la utilidad práctica que pudiera tener la técnica para programas de mejoramiento asistido para tolerancia al estrés por salinidad en regiones donde la mejora genética por cruzamiento no es práctica debido a los costos y al tiempo de realización.

BIBLIOGRAFÍA

- Aflaki F, Sedghi M, Pazuki A, Pessarakli M (2017). Investigation of seed germination indices for early selection of salinity tolerant genotypes: A case study in wheat. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 222-226.
- Argentel L, González. LM (2008). Efecto de la salinidad sobre la fenología y los componentes del rendimiento y su relación con la tolerancia a la salinidad en trigo (*Triticum aestivum* Y *T. durum*). *Cultivos Tropicales*, 29(3): 53-57.

- Argentel-Martínez L, Garatuza-Payán J, Yépez-González EA, de los Santos S (2016a). Evaluación de la tolerancia de variedades mexicanas de trigo a la salinidad, a través de indicadores fisiológicos, bioquímicos y agronómicos, cultivadas en Cuba en condiciones de campo. *Cultivos Tropicales*, 37(1): 91-101.
- Argentel L, Payán JG, González EY, Aguilera JG (2016b). Inclusión y acumulación de Na⁺ en diferentes órganos de la variedad de trigo Cuba-C-204 como respuesta al estrés salino. *Revista Brasileira De Agropecuária Sustentável*, 6(2): 33-42.
- Ashraf M, Shahzad SM, Imtiaz M, Rizwan MS (2018). Salinity effects on nitrogen metabolism in plants—focusing on the activities of nitrogen metabolizing enzymes: A review. *Journal of Plant Nutrition*, 41(8): 1065-1081.
- Azcón-Bieto J, Talón M. (2008). Fundamentos de fisiología Vegetal. *Publicaciones y ediciones de la Universitat de Bracelona*. España.
- Bado S, Forster BP, Ghanim A, Jankowicz-Cieslak J, Berthold G, Luxiang L (2016). *Protocols for pre-field screening of mutants for salt tolerance in rice, wheat and barley*. Springer Nature.
- Bilkis A, Islam MR, Hafiz MHR, Hasan MA (2016). Effect of NaCl induced salinity on some physiological and agronomic traits of wheat. *Pak. J. Bot*, 48(2): 455-460.
- Cueto C (1996). Apuntes sobre el cultivo del trigo en Cuba. La Habana: INIFAT. 15p.
- El-Mouhamady ABA, Ibrahim HF (2020). Elicitation of salt stress-tolerant mutants in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) by using gamma radiation. *Bulletin of the National Research Centre*, 44(1): 1-18.
- FAO (2016). Partial report on the agriculture. Cereals production along the world. Needs and expectatives. Plant production and protection paper. *World soils resours reports. No.12/1 II*. Rome.
- Fernández GCJ (1993). Effective selection criteria for assessing plant tolerance. Proc: On Adaptation of Food Crops to temperature and Water Stress (Kuo, c. G. Ed.) Taiwan, 13-18 Agust 1992. *Asian Vegetable Research and Development Center*, Publ., No. 93-410: 257-270.
- Fisher RA (1935). *The design of experiments*. Londres. Oliver & Boyd.
- Gholizadeh A, Dehghani H, Amini A, Akbarpour O (2018). Investigation of the Genetic Diversity of Iranian Bread Wheat Germplasm for Tolerance to Saline Stress. *Journal of Crop Breeding*, 10(26): 173-184.
- González LM, Argentel L, Estrada A, Saldivar N, Ramírez R (2005). Evaluación de la tolerancia a la sequía en genotipos de trigo (*Triticum aestivum* L.) obtenidos en Cuba por inducción de mutaciones. *Cultivos Tropicales*, 26(3): 65-69.
- Gosset E (1917). An other differences calculus based on standar desviation and confidence interval. *Statistical References*. 26: 66-72.

- Hernández A (1999). Nueva versión de la clasificación genética de los suelos de Cuba. La Habana: Instituto de Suelos MINAGRI, AGRINFOR. 42p.
- Homble F, Krammer EM, Prevost M (2012). Plant VDAC: Facts and speculations. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr*, 1818 (6): 1486–1501.
- Kumar DB, Kakralya BL, Bagdi DL, Sharma MK, Pinki D, Budaniya S (2018). Investigate the effect of salt stress on yield and yield attributes of wheat. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(4): 2094-2096.
- Leidis O, Prado JM (2008). Salinity effects on cultivated pants. What, new?. *Indian Journal of Plant Physiology*, 23: 215-224.
- Liu Y, Zhang F, Wang C, Wu S, Liu J, Xu A, ... , Pan X (2019). Estimating the soil salinity over partially vegetated surfaces from multispectral remote sensing image using non-negative matrix factorization. *Geoderma*, 354: 113887.
- Munns R (1996). Biphasic model for salinity tolerance. *Australian Journal of plant fisiology*, 12: 124-129
- Plana-Llerena RR, González-Cañizares PJ, Soto-Carreño F, Dell'Amico-González JM, Ramírez-Pedroso JF, Moreno-Moreno I, ... , Ochoa M (2016). INCA TH-4. Nuevo cultivar cubano de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.). *Cultivos Tropicales*, 37(4): 126-126.
- Renault H, El Amrani A, Berger A, Mouille G, Soubigou-Taconnat L, Ouchereau A, Deleu C (2012). γ -Aminobutyric acid transaminase deficiency impairs central carbon metabolism and leads to cell wall defects during salt stress in Arabidopsis roots. *Plant, Cell Environ.*, 36(5): 1009–1018.
- Richards LA (1969). *Diagnosis and improvement of saline and alkaline soils*. United States Salinity Laboratory Staff, Department for Agriculture. Washington, USA. 159p.
- Sadak MS (2019). Physiological role of trehalose on enhancing salinity tolerance of wheat plant. *Bulletin of the National Research Centre*, 43(1): 53.
- Shirdelmoghanloo H, Cozzolino D, Lohraseb I, Collins NC (2016). Truncation of grain filling in wheat (*Triticum aestivum*) triggered by brief heat stress during early grain filling: association with senescence responses and reductions in stem reserves. *Functional Plant Biology*, 43(10): 919-930.
- Zadoks JC, Chang T^T, Konzak CF (1974). A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research*, 14(6): 415-421.

ÍNDICE REMISSIVO

- A**
- adaptação, 122, 124
ajuste, 99, 100, 144
aluminum tolerance, 77
análise multivariada, 35, 38
- B**
- biossólido, 95, 101, 102, 109, 110, 111
- C**
- Cucumis sativus* L., 80, 81, 85, 88, 90, 91
- E**
- estresse salino, 5, 26, 27, 29, 30, 31, 32, 33, 34,
35, 36, 37, 38
estresse vegetal, 100
- G**
- Glycine max*, 7, 11, 24, 25, 26, 28, 33, 35, 52
- I**
- índice de tolerância de estresse, 31, 32, 34
- J**
- Jatropha curcas* L., 68, 69, 71, 73, 74, 75, 76, 77,
78
- O**
- osmotic stress, 86
- R**
- resíduos sólidos, 96, 113
root growth, 40, 41, 45, 68, 69, 72, 74, 76
- S**
- salinity*, 38, 39, 51, 80, 81, 83, 84, 86, 87, 89, 91,
92, 93, 94, 115, 145, 146, 147
seed germination, 39, 41, 52, 81, 83, 84, 86, 87,
92, 113, 136, 145
seed priming, 38, 93
solos salinos, 26, 38
substrato, 66, 97, 101, 103, 105, 109, 110, 111,
116, 117, 137
sucessão, 126
- T**
- tolerância ao fogo, 119
- V**
- vermicompostagem, 102, 109, 113

Fábio Steiner



Doutor em Agronomia - Agricultura (UNESP - Botucatu). Mestre em Agronomia (Produção Vegetal) e Graduado em Agronomia (UNIOESTE - Marechal Cândido Rondon). Professor, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul em Cassilândia.

Contato: steiner@uems.br

ISBN 978-658831902-4



Pantanal Editora

Rua Abaete, 83, Sala B, Centro. CEP: 78690-000
Nova Xavantina – Mato Grosso – Brasil
Telefone (66) 99682-4165 (Whatsapp)
<https://www.editorapantanal.com.br>
contato@editorapantanal.com.br