



ANA JÚLIA RIBEIRO DOS SANTOS

**RESPOSTAS DO CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO DE MILHO
E RABANETE SOB DIFERENTES FREQUÊNCIAS DE ONDAS
MECÂNICAS**

**SETE LAGOAS
2016**

ANA JÚLIA RIBEIRO DOS SANTOS

**RESPOSTAS DO CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO DE MILHO
E RABANETE SOB DIFERENTES FREQUÊNCIAS DE ONDAS
MECÂNICAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal de São João Del Rei, Campus Sete Lagoas, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias, na área de concentração Produção Vegetal

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Lucas Carnevalli
Dias

Coorientador: Prof. Dr. Anderson Oliveira Latini

**SETE LAGOAS
2016**

Ficha catalográfica elaborada pela Divisão de Biblioteca (DIBIB)
e Núcleo de Tecnologia da Informação (NTINF) da UFSJ,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

237r Santos, Ana Júlia Ribeiro dos.
Respostas do crescimento e desenvolvimento de
milho e rabanete sob diferentes frequências de ondas
mecânicas / Ana Júlia Ribeiro dos Santos ;
orientador Leonardo Lucas Carnevalli Dias;
coorientador Anderson Oliveira Latini. -- Sete
Lagoas, 2016.
60 p.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em
Ciências Agrárias) -- Universidade Federal de São
João del-Rei, 2016.

1. ondas sonoras. 2. neurobiologia vegetal. 3.
crescimento vegetal. 4. produção vegetal. I. Dias,
Leonardo Lucas Carnevalli , orient. II. Latini,
Anderson Oliveira , co-orient. III. Título.

ANA JÚLIA RIBEIRO DOS SANTOS

**RESPOSTAS DO CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO DE MILHO
E RABANETE SOB DIFERENTES FREQUÊNCIAS DE ONDAS
MECÂNICAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal de São João Del Rei, Campus Sete Lagoas, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias, na área de concentração Produção Vegetal

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Lucas Carnevalli
Dias

Coorientador: Prof. Dr. Anderson Oliveira Latini

Sete Lagoas, 05 de agosto de 2016.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Kassilio Jose Guedes - UFSJ

Dr. Paulo César Magalhães - Embrapa

Prof. Dr. Leonardo Lucas Carnevalli Dias
Orientador

Dedicatória

Dedico este trabalho aos meus pais, irmãos, amigos, ao meu namorado e companheiro e a todas as pessoas que estiveram ao meu lado durante esta caminhada que agora conclui mais uma de suas etapas.

Agradecimento

Agradeço primeiramente e acima de tudo aos meus pais, José Mário dos Santos e Rosa da Costa Ribeiro dos Santos, por todo carinho e ensinamentos que contribuíram para fazer de mim a pessoa que sou e que continuo buscando me tornar.

Agradeço aos meus irmãos Thiago Ribeiro dos Santos e Daniel Ribeiro dos Santos, que sempre estiveram ao meu lado me apoiando em todos os momentos difíceis e me acompanharam nos bons momentos. Sempre com sua imensa alegria e ótimos conselhos.

Agradeço ao meu namorado e companheiro, Diogo Felipe da Silva Inácio, que me apoia não só em minha vida pessoal, como também em minha vida profissional, e foi de crucial importância para a realização de mais este projeto em minha vida.

Agradeço ao meu orientador, prof. dr. Leonardo Lucas Carnevalli Dias, e ao meu coorientador, prof. dr. Anderson Oliveira Latini, que comigo compartilharam conhecimentos e lições que levarei para o resto da vida.

Agradeço à Universidade Federal de São João del-Rei pela possibilidade da realização do trabalho, pela estrutura e pela bolsa de estudos concedida.

Agradeço também à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) pelo apoio e fornecimento de material.

Por fim, agradeço a todos os colaboradores e principalmente aos vigilantes da Universidade Federal de São João del-Rei, *campus* Sete Lagoas, pois, sem eles, seria impossível a realização e a condução do presente trabalho.

Epígrafe

“Existem várias verdades que dependem da situação para se tornar reais. Nem a afirmação de que não existe verdade absoluta é uma verdade absoluta. Se lhe convier naquele momento e a verdade que você escolher se tornar real, esta será sua verdade absoluta”

(Ana Júlia Ribeiro dos Santos)

SUMÁRIO

RESUMO.....	I
ABSTRACT	II
INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS.....	11
ARTIGO 1- RESPOSTAS DE PLÂNTULAS DE MILHO (<i>Zea mays</i> L.) SUBMETIDAS A DIFERENTES FREQUÊNCIAS DE ONDAS MECÂNICAS DURANTE O ESTÁGIO PRÉ GERMINATIVO	15
Resumo.....	15
Abstract	15
Introdução	16
Material e Métodos.....	17
Resultados	19
Discussão.....	27
Conclusão.....	29
Referências.....	31
ARTIGO 2 - RESPOSTAS DE PLANTAS DE MILHO (<i>Zea mays</i> L.) SUBMETIDAS Á ONDAS MECÂNICAS SOB DÉFICT HÍDRICO E DURANTE O ESTÁGIO PRÉ-GERMINATIVO.....	33
Resumo.....	33
Abstract	34
Introdução.....	35
Material e Métodos.....	36
Resultados	38
Discussão.....	42
Conclusão.....	43
Referências	45
ARTIGO 3 - RESPOSTAS DE PLANTAS DE RABANETE (<i>Raphanus sativus</i> L.) A DIFERENTES FREQUÊNCIAS DE ONDAS MECÂNICAS	47
Resumo.....	47
Abstract	47
Introdução.....	48
Material e Métodos.....	49

Resultados	50
Discussão.....	54
Conclusão.....	55
Referências	56
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	58

INTRODUÇÃO GERAL

Uma das grandes diferenças entre o desenvolvimento de animais e plantas refere-se ao seu tipo. O animal apresenta o desenvolvimento do tipo fechado, sendo que ao nascer já apresenta todos os órgãos formados, com posterior amadurecimento deles. Por outro lado, os vegetais apresentam desenvolvimento de tipo aberto, nos quais os órgãos vão surgindo ao longo do desenvolvimento.

O desenvolvimento aberto é fundamental aos vegetais, uma vez que, devido à sua natureza sésstil, eles devem ser capazes de responder, de maneira efetiva, às modificações ambientais. Tendo-se em mente que o ambiente é dinâmico e apresenta alterações ao longo do tempo, as plantas precisam do maior número de informações possível do ambiente que as circunda. Essas informações são obtidas por meio de interações físico-químicas diretas entre a raiz e o solo, por meio de alterações na concentração de voláteis entre a folha e a atmosfera, por meio de diferenças no espectro luminoso intermediadas pelos fotorreceptores (CHAMOVITZ, 2012).

Segundo Brenner et al. (2006), neurobiologia vegetal é a área de pesquisa que procura entender como os vegetais percebem as alterações no meio e respondem a estes estímulos de forma integrada, levando em conta a combinação de componentes moleculares, químicos e elétricos na sinalização celular. O estudo da neurobiologia vegetal pode ser dividido em linhas de pesquisa: eletrofisiologia, inteligência vegetal, e neurotransmissores.

A eletrofisiologia estuda a excitabilidade elétrica e a sinalização, frequentemente associada com respostas rápidas aos estímulos ambientais. Esse é um fenômeno bem conhecido em algumas algas e plantas superiores (FROMM e LAUTNER, 2007), sendo possível obter predições a respeito do *status* da vida vegetal de acordo com as amplitudes e as frequências dos sinais elétricos observados em plantas (KAI et al., 2011).

Para se falar sobre inteligência vegetal, inicialmente deve-se ressaltar que, evidentemente, a atribuição de inteligência aos diferentes sistemas depende do conceito do que se entende por inteligência. Um conceito amplo utilizado em diferentes áreas, inclusive na psicologia, é o de que inteligência compreende as habilidades mentais necessárias para a adaptação ao ambiente, bem como a seleção e a modelagem de qualquer contexto ambiental (STERNBERG, 1997). Ainda segundo o autor, de acordo com essa definição, o comportamento rotulado como inteligente pode diferir de acordo com contexto ambiental (STERNBERG, 1997). Porém, para Brenner et al. (2006), a inteligência vegetal pode ser

definida como a habilidade intrínseca de processar informações de estímulos bióticos e abióticos que permite a tomada de decisões sobre atividades futuras num dado ambiente. Segundo Trewavas (2005), o número de ambientes possíveis de acordo com a percepção das plantas e com os sinais bióticos e abióticos seria muito expressivo, tornando improvável que essas respostas sejam em virtude de uma pré-programação genética.

Já foram identificadas em plantas substâncias que em animais geralmente apresentam a função neurotransmissora, entre eles catecolaminas, acetilcolina e GABA (ácido gama-aminobutírico) (ŚWIĘDRYCH et al., 2004; TRETYN e KENDRICK, 1991; BOUCHÉ e FROMM, 2004). A acetilcolina já foi identificada em diversas formas de vida desprovidas de sistema nervoso, uni e pluricelulares, dentre elas fungos, bactérias, algas e plantas (HORIUCHI et al., 2003; KAWASHIMA et al., 2007; WESSLER et al., 2001). Além disso, o mesmo neurotransmissor, segundo Horiuchi et al. (2003) também foi detectado em células não neuronais de mamíferos.

Baluska et al. (2008) sugerem que as plantas conseguem estabelecer meios de troca de informações semelhantes às sinapses nervosas animais relacionando o transporte polar da auxina com a promoção de comunicação célula a célula. Uma vez que o transporte é sensível aos parâmetros físicos do ambiente, especialmente luz e gravidade, a forma como ocorre pode transmitir informações essenciais à plasticidade de organismos vegetais em resposta a fatores ambientais. Já Khurana et al. (1987), trabalhando com lentilha, concluíram que, se catecolaminas são fornecidas para as plantas antes do início do regime de dias curtos, eles não só induzem mais primórdios florais, mas, também, melhoram significativamente o desenvolvimento da flor, porém, o papel exato dessas substâncias é ainda, em grande parte, desconhecido em organismos vegetais. Booz & Pescador (2007), trabalhando com goiabeira-serrana (*Acca sellowiana*) mostraram viabilidade do uso de suplementação de GABA (ácido γ -aminobutírico) no meio de cultura para indução da embriogênese somática dessa espécie. Bown e Shelp (1997) afirmam que o GABA pode estar envolvido tanto no desenvolvimento vegetal, como sinalizador de processos fisiológicos, quanto na defesa e em outras respostas ao estresse.

Inicialmente, pode-se dividir o campo da neurobiologia vegetal de acordo com as três áreas citadas acima, porém, existem poucos trabalhos publicados que incluem o estudo de estímulos mecânicos em plantas como uma área de estudo da neurobiologia vegetal.

As frequências mecânicas, dentre elas as frequências sonoras, também correspondem a componentes ambientais, contudo, têm sido ignoradas com relação a seu impacto específico sobre o desenvolvimento vegetal.

Ondas mecânicas

Segundo Tipler e Mosca (2009), uma onda mecânica é causada por uma perturbação em um meio. Ainda segundo os autores, as ondas sonoras são exemplos de ondas mecânicas longitudinais com frequência variando entre 20 e 20.000 Hertz (CAI et al., 2014).

Apesar do termo “ondas mecânicas” demonstrar a possibilidade de organismos reagirem a qualquer frequência de onda, a maioria dos trabalhos encontrados na literatura foi realizada com a aplicação de frequências dentro da faixa audível pelo ser humano, ou seja, a maioria dos pesquisadores trabalha com ondas sonoras, provavelmente por elas possuírem frequência e intensidade mais fáceis de monitorar e controlar.

As ondas sonoras possuem propriedades utilizadas para descrevê-las. Dentre essas características se encontram a frequência, o comprimento de onda e a intensidade sonora. Segundo Eliopoulos (2006), a frequência da vibração de som é o número de ciclos de mudanças de pressão em consideração ao tempo e é expressa em ciclos por segundo ou hertz no Sistema Internacional. Ainda segundo o autor, o comprimento de onda é a distância percorrida por um ciclo de oscilação e depende da velocidade da perturbação do meio e, conseqüentemente, da densidade do meio. Já a intensidade sonora se relaciona com a amplitude de pressão da onda no meio em que se desloca e representa a energia mecânica contida na vibração.

De forma resumida, a frequência do som determina a altura (tom grave ou agudo), ao passo que a intensidade do som é definida como uma grandeza sem dimensões medida em decibéis (dB) (JIANG et al., 2014)

O som é produzido quando se cria algum tipo de mecanismo que altera a pressão do ar. Para a produção do som, é mais importante a velocidade com que a pressão varia (o gradiente da pressão) do que o seu valor absoluto. É por isso que um balão cheio de ar não faz praticamente nenhum barulho ao deixarmos o ar sair de dentro dele naturalmente, mas, por outro lado, se o balão estourar, fazendo com que o ar saia todo de uma vez, existe uma rápida variação da pressão e um ruído alto é produzido. Podemos então dizer que o som é produzido ao colocarmos uma quantidade (massa) de ar em movimento. É a variação da pressão sobre a massa de ar que causa os diferentes sons e podemos percebê-los porque as ondas no ar,

causadas pela variação de pressão, chegam aos nossos ouvidos e fazem o tímpano vibrar. As vibrações são transformadas em impulsos nervosos, levadas até o cérebro e lá codificadas (INPE, 2009).

Muitos fenômenos físicos, como terremotos, chuva, fogo e vento, produzem sons únicos, além, é claro, dos animais.

Alguns estudos mostram a coevolução entre plantas carnívoras e morcegos, demonstrando uma relação mutualística intermediada por uma resposta bioacústica das plantas em relação ao morcego (SCHONER et al. 2015). De forma mais simples, as plantas carnívoras e os morcegos são selecionadas evolutivamente pela variação no formato do jarro delas, o que ocasiona diferentes ângulos de incidência para o som emitido pelos morcegos e ecoado pelas plantas.

De forma generalizada, a mensagem sonora na natureza é constituída por uma mistura da frequência fundamental e de seus harmônicos. Seres vivos não emitem tons puros. Logo, não encontramos na natureza sons formados por apenas uma frequência. O som emitido por grilos é o que mais se aproxima de um tom puro (GREENFIELD, 2002).

Gagliano (2012) propôs que organismos vegetais podem ter sido selecionados de acordo com a sensibilidade ao som durante sua evolução. O autor também afirma que essa sensibilidade é um modo de perceber o ambiente que os rodeia e que essa característica pode ter sido evolutivamente fixada no grupo.

Demonstrando que a sensibilidade ao som não é característica exclusiva de animais, Matsushashi et al. (1998) observaram que a eficiência na formação de colônias de bactérias *Bacillus carboniphilus* aumentou quando elas foram expostas a sons em intervalos de frequência entre 6-10, 18-22 e 28-38 kHz.

Mecanossensibilidade

Os mecanismos sensoriais específicos disponíveis nas plantas para a detecção de som ainda não são claros, porém, desconfia-se de fenômenos de mecanossensibilidade, a capacidade intrínseca de perceber e responder a perturbações mecânicas, que todos os organismos exibem, a fim de crescer e se desenvolver (GAGLIANO, 2012). Todos os organismos, de bactérias a animais multicelulares e plantas, devem sentir e responder à força mecânica no seu meio externo (por exemplo, à força de cisalhamento, à gravidade, ao toque) e no seu meio interno (incluindo a pressão osmótica e a deformação da membrana) para o bom crescimento e desenvolvimento (GILLESPIE e WALKER, 2001; HAMILL e MARTINAC,

2001; SUKHAREV e COREY, 2004; KUNG, 2005; VOGEL E SHEETZ, 2006; SACHS, 2010).

Embora exista uma diversidade estrutural ampla, e esta pareça ter evoluído para acomodar a necessidade fisiológica de detectar forças de diferentes magnitudes (SUKHAREV e ANISHKIN, 2004), canais de mecanossensibilidade em diferentes organismos podem servir, no entanto, para funções semelhantes (GAGLIANO, 2012). Arnadóttir e Chalfie (2010) observaram que em animais, por exemplo, alguns canais de mecanossensibilidade estão implicados na percepção de estímulos mecânicos, tais como toque e sons indicativos do ambiente onde esses animais estão inseridos, como, por exemplo, vozes, sons provocados por movimentos de árvores e cursos d'água e sensibilidade ao toque por insetos ectoparasitas e demais hematófagos. Existem evidências que sugerem que os canais de mecanossensibilidade ligados a mudanças nos fluxos de íons (principalmente em Ca^{2+} citossólico) podem desempenhar uma função semelhante em plantas (HASWELL et al., 2008) e, portanto, esse pode ser um ponto de partida fértil para investigar as vias de respostas desencadeadas por estímulos acústicos (GAGLIANO, 2012).

Gagliano (2012) propõe o modelo de um mecanismo subjacente à produção de som em plantas o qual procura explicar como plantas produzem sons e os utilizam para transmitir informações à organismos vizinhos.

De acordo com o modelo proposto pelo autor, células vegetais vibram como resultado do movimento ativo de organelas dentro da célula (ou seja, a fluidez citoplasmática). A fluidez citoplasmática é causada pela atividade de proteínas motoras, miosinas, que deslizam ao longo de filamentos de actina, usando a energia da hidrólise da adenosina trifosfato. Como o movimento do nanomecanismo gerado dentro de uma célula reflete o *status* metabólico único da célula, esta informação está contida na onda vibracional emitida. Vibrações de células individuais se propagam através do meio como ondas sonoras e atingem células vizinhas e, se as células de recebimento são receptivas a essa frequência em particular, elas também vão começar a vibrar proporcionalmente à intensidade do sinal recebido e, quando todas as células estão "em sintonia", o sinal é amplificado. O sinal se estende para fora da folha ou raiz da planta e transmite informações sobre aquela planta para plantas vizinhas ou outro organismo.

Alterações promovidas por ondas mecânicas em organismos vegetais

Vários trabalhos encontrados na literatura demonstram os efeitos da submissão de organismos vegetais às frequências de ondas mecânicas. A seguir são descritos os efeitos já observados de ondas mecânicas em diversas fases e processos presentes em organismos vegetais.

Alterações na germinação e desenvolvimento inicial

Bochu et al. (2003), avaliando a germinação de arroz, verificaram que o som com 106 dB e 400 Hz ou 1000 Hz, aplicado em dois intervalos de 30 minutos diários, afetou o tamanho do hipocótilo e epicótilo e a matéria fresca das plântulas, enquanto que sob outras combinações de intensidades e frequências de som não foram obtidas respostas significativas.

Foi verificado por CAI et al. (2014) que o tratamento com frequência de 2.000 Hz, sob intensidade de 90 dB, provocou aumento significativo no crescimento, além de reduzir o período de germinação do feijão chinês. Foi concluído pelos mesmos autores que o tratamento com som audível pode promover o crescimento do feijão chinês de forma diferente para frequências e intensidades distintas.

Bochu et al. (2004), testando o efeito de simulação sonora em calos maduros de crisântemo, observaram que a frequência de 1.400 hertz, sob intensidade sonora de 95 dB por 30 minutos diários e duas vezes ao dia, aumentou significativamente o teor de ácido indolacético (AIA) e reduziu os teores de ácido abscísico (ABA) em relação ao controle. Os autores ainda concluem que essa alta relação AIA/ABA contribuiu para o crescimento e diferenciação de calos maduros.

Toth (2012), testando a influência da exposição ao ultrassom na capacidade germinativa de *Lotus corniculatus*, constatou que houve diferença na capacidade germinativa de acordo com o diâmetro da semente e a intensidade de ultrassom utilizada.

Alterações em atividades metabólicas

Yi et al. (2003), trabalhando com crisântemo (*Gerbera jamesonii*), concluíram que a atividade de raízes e conteúdo de proteínas solúveis aumentou sob estimulação sonora durante 60 minutos por dia a 100 dB de intensidade e frequência de 1.000 hertz por três, seis, nove, 12 e 15 dias, sendo que o aumento mais expressivo foi obtido pelo tratamento durante nove dias. Ainda sobre crisântemo, no trabalho de Yi et al. (2003), foi verificado que o mesmo tratamento acelerou o crescimento das raízes, bem como elevou significativamente o

conteúdo de açúcares solúveis, proteínas e atividade de amilase. Isso os levou a concluir que esses resultados indicam que a estimulação sonora pode melhorar o metabolismo das raízes e crescimento desta planta.

QIN et al. (2003), estudando os efeitos de ondas mecânicas em couve-chinesa e pepino, observaram que ambos apresentaram aumento no nível de poliaminas e captação de oxigênio sob exposição sonora de 20.000 hertz.

Li et al. (2007), testando os efeitos de estresse sonoro em atividade enzimática e peroxidação lipídica em orquídea, constataram que a atividade de enzimas em todos os órgãos da planta foi aumentada geralmente atingindo o valor máximo ao nono dia de tratamento e o conteúdo de malondialdeído se elevou rapidamente até o terceiro dia de tratamento, reduzindo-se logo após para alcançar o menor valor ao nono dia de tratamento.

Xiaocheng, Bochu e Chuanren (2003), testando os efeitos de simulação sonora no metabolismo energético de calos de kiwi concluíram que intensidade de som de cerca de 100 dB e frequência de cerca de 1.000 Hz são tensões externas ideais para o metabolismo energético, provocando diferenças significativas no conteúdo de ATP.

Alterações na expressão gênica

Já existem evidências de que a estimulação sonora apresenta efeito óbvio no crescimento e desenvolvimento de plantas. Mas, o mecanismo de como o som afeta o crescimento das plantas ainda não é claro. Em vista disto, Xiujuan et al. (2003) estudaram o efeito do som no ácido nucleico e da proteína solúvel para explorar o mecanismo do efeito biológico do som. Os autores verificaram que a onda sonora não teve nenhuma influência evidente no conteúdo de DNA, mas acelerou a síntese de RNA e de proteína solúvel. Por meio do ensaio de relação, o teor de proteína solúvel apresentou uma relação muito próxima com a do RNA. Esse resultado indicou que alguns genes induzidos por estresse podem ser ligados sob estimulação sonora. Além disso, foi observado também o aumento no nível de transcrição.

Jeong et al. (2007), testando a resposta de genes de arroz a sinais sonoros, verificaram que a expressão de Ald RNAm aumentou significativamente com o tratamento a 125 e 250 Hz, enquanto que os níveis diminuíram significativamente com o tratamento em 50 Hz, indicando uma resposta específica para diferentes frequências.

Hongbo et al. (2008) avaliaram as diferenças na expressão de gene de crisântemo sob estresse sonoro e concluíram que o rendimento de RNA das amostras submetidas à estimulação sonora foi maior do que o das amostras controle.

Já Kim et al. (2015) verificaram que ondas sonoras com frequência de 1.000 Hz à intensidade de 100 dB durante seis horas retardaram o amadurecimento de frutos de tomate por alterar a expressão de importantes genes na biossíntese e vias de sinalização de etileno.

Outras alterações

Appel e Cocroft (2014) testaram o efeito de vibrações causadas pela alimentação de insetos na elicitação química de defesas a estresse biótico em *Arabidopsis thaliana* e observaram que as rosetas pré-tratadas com vibrações da alimentação de lagartas apresentaram maiores concentrações de glicosinolatos e antocianinas. Além disso, as plantas foram capazes de discriminar as vibrações causadas pela alimentação daquelas ocasionadas pela comunicação entre os insetos.

Meng et al. (2012), testando respostas na fotossíntese e fluorescência da clorofila de plantas de morango sob ondas sonoras, observaram que os conteúdos de flores, frutos e clorofila aumentaram em tratamentos com estimulação sonora.

Xiujuan et al. (2003) observaram mudanças no ciclo celular de crisântemo em plantas estressadas por estimulação sonora sob frequência de 1.000 Hz e intensidade de 100 dB por nove dias com duração de 60 minutos por dia.

Espécies avaliadas

Milho (*Zea mays* L.)

O milho representa, entre os cereais, o de maior expressividade no Brasil, considerando-se a área plantada estimada em aproximadamente 15,4 milhões de hectares. A estimativa de produtividade para a safra 2015/2016 no Brasil é de 5,4 t/hectare e a produção nacional é estimada em 83,5 mil toneladas, sendo que a Região Sul detém a maior parte dessa produção, somando 12,6 mil toneladas. O Rio Grande do Sul é o Estado que apresentará maior produção segundo estimativas (6,2 mil t), seguido por Minas Gerais (5,1 mil t) e Paraná (3,5 mil t) (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, CONAB, 2016).

A temperatura ideal para o desenvolvimento do milho, da emergência à floração, está compreendida entre 24 e 30 °C. Em uma comparação entre temperaturas médias diurnas de

25, 21 e 18 °C verificou-se que o milho obteve maior produção de matéria seca e maior rendimento de grãos na temperatura de 21°C (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, EMBRAPA, 2006)

O milho é bastante exigente em água, podendo, entretanto, ser cultivado em regiões onde as precipitações vão desde 250 até 5.000 mm anuais, sendo que a quantidade de água consumida pela planta, durante todo o ciclo, corresponde a 600 mm em média. Nos estágios iniciais de crescimento, num clima quente e seco, o consumo de água raramente excede 2,5 mm/dia. Durante o período compreendido entre o espigamento e a maturação, o consumo pode se elevar para 5 a 7,5 mm diários. Porém, se a temperatura estiver muito elevada e a umidade do ar muito baixa, o consumo poderá chegar até 10 mm/dia (EMBRAPA, 2006).

Segundo Miranda et al. (2007), as plantas de milho não toleram luz difusa típica de tempo chuvoso ou nublado ou causada por grandes populações de plantas. Essa situação afeta diretamente a produção, pois afeta o sincronismo entre emissão de pendão e espiga, bem como o tamanho desta e a massa dos grãos. A duração da luz é importante apenas para latitudes maiores, portanto, em Minas Gerais, o milho não é afetado pelo fotoperíodo.

Rabanete (*Raphanus sativus* L.)

O rabanete pertence à família *Brassicaceae* e tem origem asiática e europeia. É uma planta de pequeno porte e sua raiz pode ter coloração avermelhada ou branca, sendo que pode ter formato globular ou cilíndrico. Sua produção está concentrada em pequenas propriedades nos arredores de grandes cidades, sendo as regiões do Triângulo Mineiro e metropolitana de Belo Horizonte as principais produtoras. O rabanete se desenvolve melhor em regiões de clima ameno, com temperaturas entre 13 e 20 °C. Temperaturas muito elevadas afetam o crescimento, provocando o florescimento. O rabanete é ótima opção para a rotação de culturas, principalmente com olerícolas de ciclo mais longo (VIDGAL e PEDROSA, 2007).

Alguns trabalhos sobre a submissão de plantas de rabanete às ondas sonoras já são encontrados, porém, esses trabalhos raramente procuram demonstrar efeitos de interesse agrônomico direto como produção e crescimento. Levando em conta a afirmação anterior e a importância da produção de rabanete para a qualidade da alimentação humana e para o Estado de Minas Gerais, observa-se a necessidade do desenvolvimento de novas tecnologias para o cultivo dessa espécie.

Objetivos

Os objetivos deste trabalho foram avaliar a resposta germinativa de sementes de milho submetidas ao tratamento com ondas mecânicas, avaliar o comportamento de plantas de milho submetidas a tratamentos com ondas mecânicas quanto ao desenvolvimento e resposta ao déficit hídrico, avaliar o comportamento de plantas de milho submetidas às ondas mecânicas durante estágio pré-germinativo e avaliar o comportamento de plantas de rabanete submetidas às frequências de ondas mecânicas.

REFERÊNCIAS

- ARNADARNADÓTTIR, J.; CHALFIE, M. Eukaryotic mechanosensitive channels. **Annual Review of Biophysics**, v. 39, p. 111–137, 2010.
- APPEL, H.M., COCROFT, R.B. Plants respond to leaf vibrations caused by insect herbivore chewing. **Oecologia**, v. 175, n. 4, p. 1257-1266, 2014.
- BALUSKA, F.; SCHLICHT, M.; VOLKMANN, D.; MANCUSO, S. Vesicular secretion of auxin: Evidences and implications. **Plant Signaling & Behavior**, v. 3, n. 4, p. 254–256, 2008.
- BOCHU, W.; XIN, C.; ZHEN, W.; QIZHONG, F.; HAO, Z.; LIANG, R. Biological effect of sound field stimulation on paddy rice seeds. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 32, n. 1, p. 29–34, 2003.
- BOCHU, W.; JIPING, S.; BIAO, L.; JIE, L.; CHUANREN, D. Soundwave stimulation triggers the content change of the endogenous hormone of the Chrysanthemum mature callus. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 37, n. 3-4, p. 107–112, 2004.
- BOOZ, M. R.; PESCADOR, R. Efeito do Ácido γ -aminobutírico (Gaba) na embriogênese somática de *Acca sellowiana*. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, p. 198–200, 2007.
- BOUCHÉ, N.; FROMM, H. GABA in plants: Just a metabolite? **Trends in Plant Science**, v. 9, n. 3, p. 110–115, 2004.
- BOWN, A. W.; SHELP, B. J. The Metabolism and Functions of γ -Aminobutyric Acid. **Plant Physiology**, v. 1, n. 115, p. 1–5, 1997.
- BRENNER, E. D.; STAHLBERG, R.; MANCUSO, S.; VIVANCO, J.; BALUŠKA, F.; VOLKENBURGH, V. E. Plant neurobiology: an integrated view of plant signaling. **Trends in Plant Science**, v. 11, n. 8, p. 413–419, 2006.
- CAI, W.; HE, H.; ZHU, S.; WANG, N. Biological effect of audible sound control on Mung Bean (*Vigna radiate*) Sprout. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 1–6, 2014.
- CHAMOVITZ, D. **What a plant knows: a field guide to the senses**. New York, NY: Scientific American, Staus & Giroux. 2012. 256 p.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Acompanhamento da Safra Brasileira: Grãos**. Brasília, 2016. 135p.
- ELIOPOULOS, E. Sound and techniques in sound analysis. In: DROSOPOULOS, S.; CLARIDGE, M. F. **Insect sounds and communication**. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2006. p. 11-32.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). Manejo da cultura do Milho. **Circular Técnica 87**. Sete Lagoas: EMBRAPA, 12p. 2006.

FROMM, J.; LAUTNER, S. Electrical signals and their physiological significance in plants. **Plant, Cell and Environment**, v. 30, n. 3, p. 249–257, 200.

GAGLIANO, M. Green symphonies: A call for studies on acoustic communication in plants. **Behavioral Ecology**, v. 24, n. 4, p. 789–796, 2012.

GILLESPIE, P. G.; WALKER, R. G. Molecular basis of mechanosensory transduction. **Nature**, v. 413, n. 6852, p. 194–202, 2001.

GREENFIELD, M.D. **Signalers and Receivers: mechanisms and evolution of Arthropod communication**. New York: Oxford University Press, 2002. 432 p.

HAMILL, O. P.; MARTINAC, B. Molecular basis of mechanotransduction in living cells. **Physiological Reviews**, v. 81, n. 2, p. 685–740, 2001.

HASWELL, E. S.; PEYRONNET, R.; BRYGOO, H. B.; MEYEROWITZ, E. M.; FRACHISSE, J. M. Two MscS Homologs Provide Mechanosensitive Channel Activities in the Arabidopsis Root. **Current Biology**, v. 18, n. 10, p. 730–734, 2008.

HONGBO, S.; BIAO, L.; BOCHU, W.; KUN, T.; YILONG, L. A study on differentially expressed gene screening of Chrysanthemum plants under sound stress. **Comptes Rendus - Biologies**, v. 331, n. 5, p. 329–333, 2008.

HORIUCHI, Y.; KIMURA, R.; KATO, N.; FUJII, T.; SEKI, M.; ENDO, T.; KATO, T. Evolutional study on acetylcholine expression. **Life Sciences**, v. 72, n. 15, p. 1745–1756, 2003.

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS (INPE). **Produção do som**. 2009. Disponível em: < http://www.das.inpe.br/~alex/FisicadaMusica/fismus_producao.htm > . Acesso em: 29 de março de 2016.

JEONG, M. J.; SHIM, C. K.; LEE, J. O.; KWON, H. B.; KIM, Y. H. LEE, S. K.; BYUN, M. O.; PARK, S. C. Plant gene responses to frequency-specific sound signals. **Molecular Breeding**, v. 21, n. 2, p. 217–226, 2007.

JIANG, M.; YANG, Z.; FENG, B.; YOU, M.; WANG, H. The effect of sound intensity on velopharyngeal function in normal individuals. **Journal of Voice, Chengdu**, v. 29, n. 1, p. 44-52, 2014

KAI, L.; GANG, X.; LIN, F. L.; LI, M. X.; XIANG, G.; QING, L. The changes of electrical signals in Corn at different temperatures. **Procedia Environmental Sciences**, v. 10, n. Esiat, p. 39–44, 2011.

KAWASHIMA, K.; MISAWA, H.; MORIWAKI, Y.; FUJII, Y. X.; FUJII, T.; HORIUCHI, Y.; YAMADA, TO.; IMANAKA, T.; KAMEKURA, M. Ubiquitous expression of acetylcholine and its biological functions in life forms without nervous systems. **Life Sciences**, v. 80, n. 24-25, p. 2206–2209, 2007.

KHURANA, J. P.; TAMOT, B K.; MAHESHWARI, N.; MAHESHWARI, S C. Role of catecholamines in promotion of flowering in a short-day Duckweed, *Lemna paucicostata* 6746. **Plant physiology**, v. 85, n. 1, p. 10–12, 1987.

KIM, J. Y.; LEE, J. S.; KWON, T. R. LEE, S. I. KIM, J. A.; LEE, G. M.; PARK, S. C.; JEONG, M. J. Sound waves delay tomato fruit ripening by negatively regulating ethylene biosynthesis and signaling genes. **Postharvest Biology and Technology**, v. 110, p. 43–50, 2015.

KUNG, C. A possible unifying principle for mechanosensation. **Nature**, v. 436, n. 7051, p. 647–654, 2005.

LI, B.; JINMIN, W.; XIAOLAN, W.; KUN, T.; YILONG, L.; KUNXIAN, S.; BOCHU, W. Effect of sound wave stress on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation of *Dendrobium candidum*. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 63, n. 2, p. 269–275, 2008.

MATSUHASHI, M.; PANKRUSHINA, A. N. L.; TAKEUCHI, S.; OHSHIMA, H.; MIYOI, H.; ENDOH, K.; MURAYAMA, K.; WATANABE, H.; ENDO, S.; TOBI, M.; MANO, Y.; HYODO, M.; KOBAYASHI, T.; KANEKO, T.; OTANI, S.; YOSHIMURA, S.; HARATA, A.; SAWADA, T. Production of sound waves by bacterial cells and the response of bacterial cells to sound. **The Journal of General and Applied Microbiology**, v. 44, n. 1, p. 49–55, 1998.

MENG, Q.; ZHOU, Q.; ZHENG, S.; GAO, Y. Responses on Photosynthesis and variable chlorophyll fluorescence of *Fragaria ananassa* under sound wave. **Energy Procedia**, v. 16, p. 346–352, 2012.

MIRANDA, G. V.; SANTOS, I. C.; GALVÃO, J. C. C.; PAULA JUNIOR, T. J. Milho (*Zea mays* L.). In: PAULA JUNIOR, T. J.; VENZON, M. **101 Culturas: Manual de Tecnologias Agrícolas**. Belo Horizonte. EPAMIG, 2007. p. 537 - 552

QIN, Y. C.; LEE, W. C.; CHOI, Y. C.; KIM, T. W. Biochemical and physiological changes in plants as a result of different sonic exposures. **Ultrasonics**, v. 41, n. 5, p. 407–411, 2003.

SACHS, F. Stretch-Activated Ion Channels: What Are They? **Physiology (Bethesda)**, v. 25, n. 1, p. 50–56, 2010.

SACHS, F. Stretch-Activated Ion Channels: What Are They? **Physiology (Bethesda)**, v. 25, n. 1, p. 50–56, 2010.

SCHONER, M.G.; SCHÖNER, C. R.; SIMON, R.; GRAFE, T. U.; PUECHMAILLE, S. J.; JI, L. L.; KERTH, G. Bats are acoustically attracted to mutualistic carnivorous plants. **Current Biology**, v. 25, n. 14, p.1-6, 2015.

STERNBERG, R. J. The concept of intelligence and its role in lifelong learning and success. **American Psychologist**, v. 52, n. 10, p. 1030–1037, 1997.

SUKHAREV, S.; ANISHKIN, A. Mechanosensitive channels: What can we learn from “simple” model systems? **Trends in Neurosciences**, v. 27, n. 6, p. 345–351, 2004.

SUKHAREV, S.; COREY, D. P. Mechanosensitive channels: multiplicity of families and gating paradigms. **Science's STKE : Signal Transduction Knowledge Environment**, n. 219, p. 1 – 16, 2004.

ŚWIĘDRYCH, A.; KUKUŁA, K. L.; SKIRYCZ, A.; SZOPA, J. The catecholamine biosynthesis route in potato is affected by stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 42, n. 7-8, p. 593–600, 2004.

TIPLER, P. A.; MOSCA, G. **Física para Cientistas e Engenheiros**. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2008. 788p

TOTH, I. The effects of ultrasound exposure on the germination capacity of birdsfoot trefoil (*Lotus coarculatus* L.) seeds. **Romanian Journal of Biophysic**, v. 22, n. 1, p. 13-20, 2012

TRETYN, A.; KENDRICK, R. E. Acetylcholine in plants: Presence, metabolism and mechanism of action. **The Botanical Review**, v. 57, n. 1, p. 33–73, 1991.

TREWAVAS, A. Green plants as intelligent organisms. **Trends in Plant Science**, v. 10, n. 9, p. 413–419, 2005.

VIDGAL, S. M.; PEDROSA, M. W. Rabanete (*Raphanus sativus* L.). In: PAULA JUNIOR, T. J.; VENZON, M. **101 Culturas: Manual de Tecnologias Agrícolas**. Belo Horizonte. EPAMIG, 2007. p. 661 -664.

VOGEL, V.; SHEETZ, M. Local force and geometry sensing regulate cell functions. **Nature Reviews. Molecular Cell Biology**, v. 7, n. 4, p. 265–275, 2006.

WESSLER, I.; KILBINGER, H.; BITTINGER, F.; KIRKPATRICK, C J. The biological role of non-neuronal acetylcholine in plants and humans. **Japanese Journal of Pharmacology**, v. 85, n. 1, p. 2–10, 2001.

XIAOCHENG, Y.; BOCHU, W.; CHUANREN, D. Effects of sound stimulation on energy metabolism of *Actinidia chinensis* callus. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 30, n. 1-2, p. 67–72, 2003.

XIUJUAN, W. et al. Effect of sound wave on the synthesis of nucleic acid and protein in *Chrysanthemum*. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 29, n. 2-3, p. 99–102, 2003.

YANG, X. C.; BOCHU, W.; YI, J.; CHUANREN, D. SAKANISHI, A. Biological effects of *Actinidia chinensis* callus on mechanical vibration. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 25, n. 3, p. 197–203, 2002.

YI, J.; BOCHU, W.; XIUJUAN, W.; CHUANREN, D.; XIAOCHENG, Y. Effect of sound stimulation on roots growth and plasmalemma H⁺ -ATPase activity of *Chrysanthemum (Gerbera jamesonii)*. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 27, p. 65–69, 2003.

ARTIGO 1

RESPOSTAS DE PLÂNTULAS DE MILHO (*Zea mays* L.) SUBMETIDAS A DIFERENTES FREQUÊNCIAS DE ONDAS MECÂNICAS DURANTE O ESTÁGIO PRÉ-GERMINATIVO

RESUMO – O som, assim como diversos fatores ambientais, é um estímulo para organismos vegetais. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o padrão germinativo e o desenvolvimento inicial de um genótipo de milho, submetido a diferentes frequências de ondas mecânicas. Para isso, foram realizados testes em sementes avaliando-se a germinação e o desenvolvimento inicial. Foi observado que sementes sem embebição prévia e tratadas sob frequências de 200 Hz apresentaram incremento nos parâmetros referentes ao índice de velocidade de germinação (IVG), porcentagem de plântulas normais, comprimento da maior raiz, comprimento de parte aérea e massa fresca e massa seca de raízes e parte aérea sob maiores períodos de exposição (12 e 24 horas). Conclui-se que a frequência de 200 Hz alterou padrões germinativos de sementes de milho, acelerando a germinação e proporcionando plântulas mais vigorosas.

Palavras-chave: ondas sonoras; crescimento vegetal; neurobiologia vegetal; produção vegetal.

CORN SEEDLING RESPONSES (*Zea mays* L.) SUBMITTED TO DIFFERENT MECHANICAL WAVES FREQUENCY DURING PRE GERMINATION STAGE

ABSTRACT – Sound, as well as various environmental factors, is a stimulus to plant organisms. The objective of this study was to evaluate the standard germination and early development of a corn genotype under different frequencies of mechanical waves. Tests were performed on seeds by evaluating germination and early development. It was observed that seeds without imbibition and treated under frequency of 200 Hz showed greater Germination Speed Index (GSI), percentage of normal seedlings, the largest root length, shoot length, fresh and dry mass of roots and shoots under longer periods of exposure (12 and 24 hours). It is concluded that the frequency of 200 Hz altered patterns germination of corn seeds accelerating germination and providing more vigorous seedlings.

Keywords: sound waves, plant development, plant neurobiology, plant production

Introdução

A maior parte das plantas conhecidas, devido principalmente à sua imobilidade, está exposta às tensões impostas pelo ambiente, sejam essas tensões naturais ou provocadas pelo ser humano. Além dos fatores ecológicos presentes naturalmente no ambiente, tais como luminosidade, temperatura, umidade e elementos minerais, os efeitos de ondas mecânicas em diversos estágios de crescimento de plantas têm sido recentemente relatados por diversos autores que perceberam alterações na germinação, desenvolvimento inicial, expressão gênica e atividades metabólicas (BOCHU et al., 2003; BOCHU et al., 2004; JEONG et al., 2007; LI et al., 2008).

Segundo Cai et al. (2014), ondas sonoras são ondas mecânicas na faixa audível pelo ser humano, situadas entre 20 e 20.000 Hz e, embora já sejam encontradas em trabalhos científicos evidências da resposta de plantas a essas ondas, ainda não se sabe ao certo como essas respostas são desencadeadas.

Para a detecção das ondas desconfia-se de um fenômeno denominado mecanossensibilidade, a capacidade intrínseca de perceber e responder a perturbações mecânicas, que todos os organismos exibem a fim de crescer e se desenvolver (GAGLIANO, 2012). Todos os organismos, de bactérias a animais multicelulares e plantas, devem sentir e responder à força mecânica no seu meio externo (por exemplo, à força de cisalhamento, à gravidade, ao toque) e no seu meio interno (incluindo a pressão osmótica e a deformação da membrana) para o bom crescimento e desenvolvimento. (GILLESPIE e WALKER, 2001; HAMILL e MARTINAC, 2001; SUKHAREV e COREY, 2004; KUNG, 2005; VOGEL e SHEETZ, 2006; SACHS, 2010). Embora exista uma diversidade estrutural ampla, e esta pareça ter evoluído para acomodar a necessidade fisiológica de detectar forças de diferentes magnitudes (SUKHAREV e ANISHKIN, 2004), canais de mecanossensibilidade em diferentes organismos podem servir, no entanto, para funções semelhantes (GAGLIANO, 2012). Arnadóttir e Chalfie (2010) observaram que em animais, por exemplo, alguns canais de mecanossensibilidade estão implicados na percepção de estímulos mecânicos, tais como toque e sons indicativos do ambiente onde esses animais estão inseridos, como, por exemplo, vozes, sons provocados por movimentos de árvores e cursos d'água e sensibilidade ao toque por insetos ectoparasitas e demais hematófagos. Existem evidências que sugerem que os canais de mecanossensibilidade ligados a mudanças nos fluxos de íons (principalmente em Ca^{2+} citossólico) pode desempenhar uma função semelhante em plantas (HASWELL et al.,

2008) e, portanto, esse pode ser um ponto de partida fértil para investigar as vias de resposta desencadeada por estímulos acústicos (GAGLIANO, 2012).

Quando aplicadas em estágio germinativo, ondas sonoras têm mostrado desencadear respostas específicas em plantas, tais como maior comprimento de epicótilo e hipocótilo, aumento de matéria fresca, promoção de crescimento e redução do período de germinação (BOCHU et al., 2003; CAI et al., 2014).

Observando a carência de trabalhos que abordam respostas do milho à aplicação de ondas sonoras e tendo em vista também a grande importância dessa cultura no Brasil e no mundo, o objetivo deste trabalho foi avaliar a resposta germinativa de sementes de milho submetidas ao tratamento com ondas mecânicas.

Material e métodos

O experimento foi conduzido na Universidade Federal de São João del-Rei (UFSJ) no *campus* Sete Lagoas e o material genético foi fornecido pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), Centro Nacional de Pesquisa Milho e Sorgo (CNPMS). Foram utilizadas sementes de milho do genótipo BRS1055.

O experimento ocorreu entre os dias 29 de fevereiro e 8 de março de 2016. Os tratamentos consistiram em submeter as sementes às frequências de 0 (controle) e 200 Hz e intensidade de 60 dB durante períodos de 12 e 24 horas, sendo que a frequência de 200 Hz foi selecionada baseando-se em respostas de testes preliminares. As sementes ainda foram divididas em dois grupos, sendo que metade delas foi pré-embebida em algodão umedecido com água destilada por uma hora antes de ser submetidas às frequências. Dessa forma, o teste consistiu na aplicação de duas diferentes frequências de onda, dois diferentes grupos de umidade de semente e dois tempos de exposição às ondas mecânicas. Foram dispostas 60 sementes por bandeja (uma bandeja para cada tratamento totalizando oito bandejas) e estas foram colocadas dentro de uma caixa de isopor com emissor de onda Victor VC2002[®] (figura 1A) ligado ao gerador acoplado à parte superior desta caixa (figura 1B). A distância das sementes ao gerador foi de aproximadamente 50 cm. A caixa foi fechada e o emissor de onda foi ligado. As sementes foram retiradas das caixas de acordo com o tempo de exposição referente ao tratamento.

Após o tratamento as sementes foram dispostas em rolos feitos com papel próprio para testes de germinação. Cada rolo continha 20 sementes e estes foram posteriormente

umedecidos e dispostos em bandejas (figura 1C) que foram mantidas em incubadora do tipo BOD (demanda bioquímica de oxigênio) Solab SI200 por um período de sete dias sob temperatura de 25 °C (BRASIL, 2009) . Não houve necessidade de fornecimento de luz para as sementes.

Passado o tempo de incubação de sete dias como sugerido por Brasil (2009), as plântulas foram avaliadas quanto à porcentagem de germinação (proporção do número de sementes que apresenta a protrusão da radícula) e à porcentagem de plântulas normais, aquelas que, após o período de sete dias, são capazes de gerar plantas saudáveis, apresentando parte aérea e raízes bem desenvolvidas, sendo admitida atrofia da raiz principal desde que as raízes secundárias se apresentem bem desenvolvidas (BRASIL, 2009). Também foram obtidos os dados de massa fresca e massa seca particionada de raízes e parte aérea de dez plântulas por rolo, além dos dados de índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da maior raiz, comprimento de parte aérea e relação comprimento raiz/parte aérea. A massa seca foi obtida após secagem do material fresco em sacos de papel até obtenção de massa constante e foi utilizada em conjunto com a massa fresca para a obtenção de dados de teor de água de raízes e parte aérea.



Figura 1A - Emissor de onda Victor - VC2002



Figura 1B - Montagem do experimento nas caixas de isopor



Figura 1C - Disposição dos rolos nas bandejas

Os tratamentos foram realizados com três repetições (três rolos por tratamento) seguindo esquema de delineamento inteiramente casualizado e os dados obtidos ao fim dos testes foram submetidos à análise de variância (ANOVA) para verificar a existência de diferenças em porcentagem de germinação, IVG e porcentagem de plântulas normais em função dos fatores testados (frequência e umidade de semente) e em função da interação deles. Verificada a existência ou não de diferenças, as médias dos resultados dos tratamentos foram analisadas por meio do teste intervalo de confiança de 95%.

Resultados

A porcentagem de germinação não variou em função das frequências testadas ($F_{(1, 16)} = 0,000$, $p = 1,000$), em função dos diferentes tempos de exposição ($F_{(1, 16)} = 0,333$, $p = 0,572$), em função da interação da umidade de semente ($F_{(1, 16)} = 3,000$, $p = 0,103$). Também não houve variação na porcentagem de germinação em função das interações duplas frequência x tempo ($F_{(1, 16)} = 1,333$), $p = 0,265$), frequência x umidade de semente ($F_{(1, 16)} = 1,333$, $p = 0,265$) e tempo x umidade de semente ($F_{(1, 16)} = 0,333$, $p = 0,572$) e em função da interação tripla frequência x tempo x umidade de semente ($F_{(1, 16)} = 1,333$, $p = 0,265$).

A porcentagem de plântulas normais variou em função das frequências testadas ($F_{(1, 16)} = 450,670$, $p < 0,001$), não variou em função dos diferentes tempos de exposição ($F_{(1, 16)} = 0,000$, $p = 1,000$) e variou em função da umidade de semente ($F_{(1, 16)} = 10,667$, $p = 0,005$). Não foi verificada variação na porcentagem de plântulas normais em função das interações duplas frequência x tempo ($F_{(3, 16)} = 0,000$, $p = 1,000$), frequência x umidade da semente ($F_{(1, 16)} = 2,667$, $p = 0,122$) e tempo x umidade de semente ($F_{(1, 16)} = 2,667$, $p = 0,122$) e em função da interação tripla frequência x tempo x umidade de semente ($F_{(3, 16)} = 0,667$, $p = 0,424$). Na figura 2 pode ser observada variação da porcentagem de plântulas normais em função das frequências aplicadas (figura 2A) e em função da umidade da semente no momento do tratamento (figura 2B).

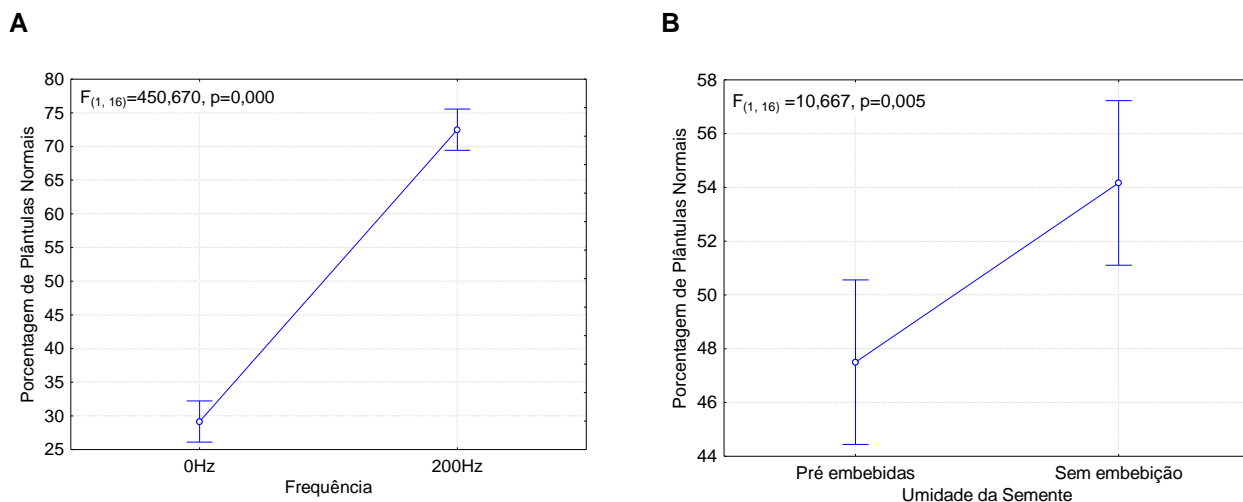


Figura 2 – Efeito da frequência na porcentagem de plântulas normais (A) e efeito da umidade da semente na porcentagem de plântulas normais (B). As medidas de dispersão representam intervalo de confiança de 95%. A sobreposição do intervalo de confiança de um tratamento sobre a média de outro tratamento indica igualdade estatística. Frequência 0 Hz = controle.

Foi observada maior porcentagem de plântulas normais para o grupo de sementes tratadas com frequência de 200 Hz diferindo do grupo controle pelo teste de intervalo de confiança de 95%. No que diz respeito à umidade da semente, os grupos que não receberam embebição prévia geraram maior porcentagem de plântulas normais.

O IVG variou em função das frequências testadas ($F_{(1, 16)} = 235,290, p < 0,001$), em função do tempo de exposição ($F_{(1, 16)} = 11,117, p = 0,004$) e em função da umidade de semente ($F_{(1, 16)} = 316,350, p < 0,001$). Não foi observada variação de IVG em função da interação dupla frequência x tempo ($F_{(1, 16)} = 1,433, p = 0,249$), porém, a interação dupla frequência x umidade de semente ocasionou variações de IVG entre os tratamentos ($F_{(1, 16)} = 31,713, p < 0,001$). Não houve variação de IVG em função da interação dupla tempo x umidade de semente ($F_{(1, 16)} = 3,596, p = 0,076$) e em função da interação tripla frequência x tempo x umidade de semente ($F_{(1, 16)} = 2,389, p = 0,142$). A seguir são apresentados os gráficos para a variação do IVG em função das frequências (figura 3A), em função do tempo (figura 3B), em função da umidade de semente (figura 3C) e para os efeitos da interação dupla frequência x umidade de semente na variação do IVG (figura 3D).

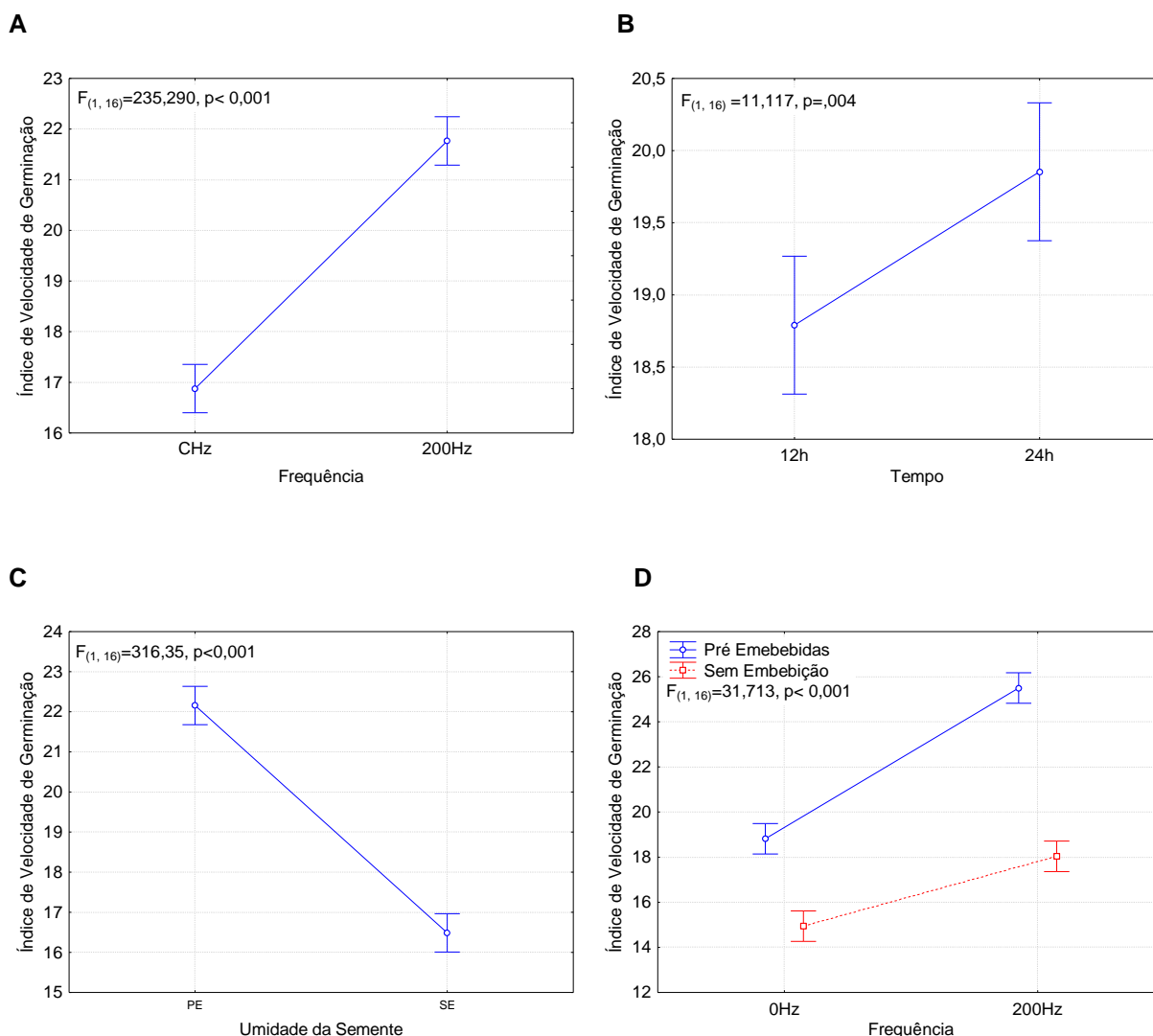


Figura 3 – Efeito da frequência (A), tempo (B), umidade de semente (C) e da interação dupla frequência x umidade de semente (D) no índice de velocidade de germinação. As medidas de dispersão representam intervalo de confiança de 95%. A sobreposição do intervalo de confiança de um tratamento sobre a média de outro tratamento indica igualdade estatística. Frequência 0 Hz = controle. PE = pré-embebidas, SE = sem embebição.

Na figura 3 podemos observar que o tratamento com frequência de 200 Hz proporcionou maior velocidade de germinação para o genótipo de milho testado, visto que este grupo apresentou resultados de IVG estatisticamente superiores ao grupo controle. Nota-se também que sementes tratadas por 24 horas apresentaram IVG superiores estatisticamente em relação àquelas tratadas por 12 horas. Além disso, as sementes do grupo submetido à embebição prévia apresentaram maiores velocidades de germinação, apresentando também resultados de IVG estatisticamente superiores ao grupo sem embebição. Ao observar a figura 3D pode-se notar que as sementes pré-embebidas tratadas com frequência de 200 Hz apresentaram os maiores IVGs em contrapartida às sementes do grupo controle sem embebição prévia, que apresentaram IVGs estatisticamente inferiores a esses.

O comprimento da maior raiz variou em função da frequência testada ($F_{(1,232)} = 8961,000$, $p < 0,001$), em função do tempo de exposição ($F_{(3,232)} = 351,630$, $p < 0,001$) e em função da umidade de semente ($F_{(1,232)} = 1.411,900$, $p < 0,001$). Não houve variação do comprimento da maior raiz em função das interações duplas frequência x tempo de exposição ($F_{(1,232)} = 1,044$, $p = 0,308$), frequência x umidade de semente ($F_{(1,232)} = 0,163$, $p = 0,687$), porém, foi observada variação em função da interação tempo de exposição x umidade de semente ($F_{(1,232)} = 687,200$, $p < 0,001$). Não houve variação em função da interação tripla frequência x tempo de exposição x umidade de semente ($F_{(1,232)} = 3,177$, $p = 0,076$).

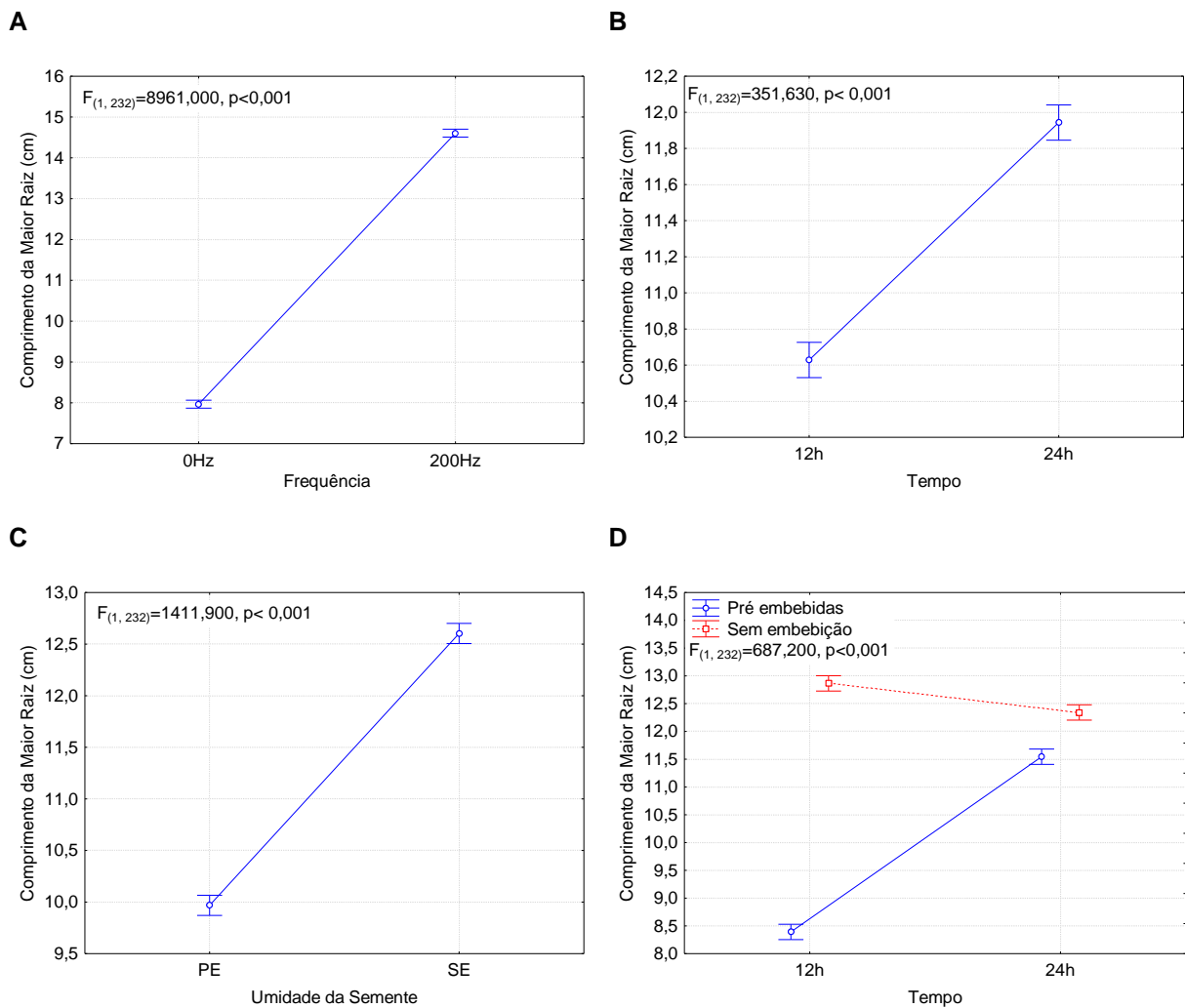


Figura 4 – Efeito de frequência (A), tempo (B), umidade de semente (C) e interação dupla tempo de exposição x umidade de semente (D) no comprimento da maior raiz. As medidas de dispersão representam intervalo de confiança de 95%. A sobreposição do intervalo de confiança de um tratamento sobre a média de outro tratamento indica igualdade estatística. Frequência 0 Hz = controle. PE = pré-embebedas, SE = sem embebição.

Pode ser observado na figura 4 que o tratamento com frequência de 200 Hz proporcionou plântulas com comprimento de raiz estatisticamente superior ao grupo controle. Observa-se também que o tempo de exposição de 24 horas também proporcionou maiores

comprimentos de raiz em relação ao tempo de exposição de 24 horas. Além disso, as sementes sem embebição prévia geraram plântulas com maiores comprimentos de raiz. Para a interação tempo de exposição x umidade de semente percebe-se que sementes sem embebição expostas às frequências por 24 horas apresentaram maiores comprimentos de raiz.

O comprimento de parte aérea variou em função da frequência testada ($F_{(1,232)} = 4.091,800$, $p < 0,001$), em função do tempo de exposição ($F_{(1,232)} = 11,741$, $p < 0,001$) e em função da umidade de semente ($F_{(1,232)} = 74,299$, $p < 0,001$). Também houve variação do comprimento de parte aérea em função das interações duplas frequência x tempo de exposição ($F_{(1,232)} = 9,301$, $p = 0,003$), frequência x umidade de semente ($F_{(1,232)} = 285,160$, $p < 0,001$) e tempo de exposição x umidade de semente ($F_{(1,232)} = 285,160$, $p < 0,001$) e em função da interação tripla frequência x tempo de exposição x umidade de semente ($F_{(1,232)} = 163,290$, $p < 0,001$). Como a interação frequência x tempo de exposição x umidade de semente foi significativa, a explicação para avaliar o comprimento da parte aérea foi feita por meio dessa interação.

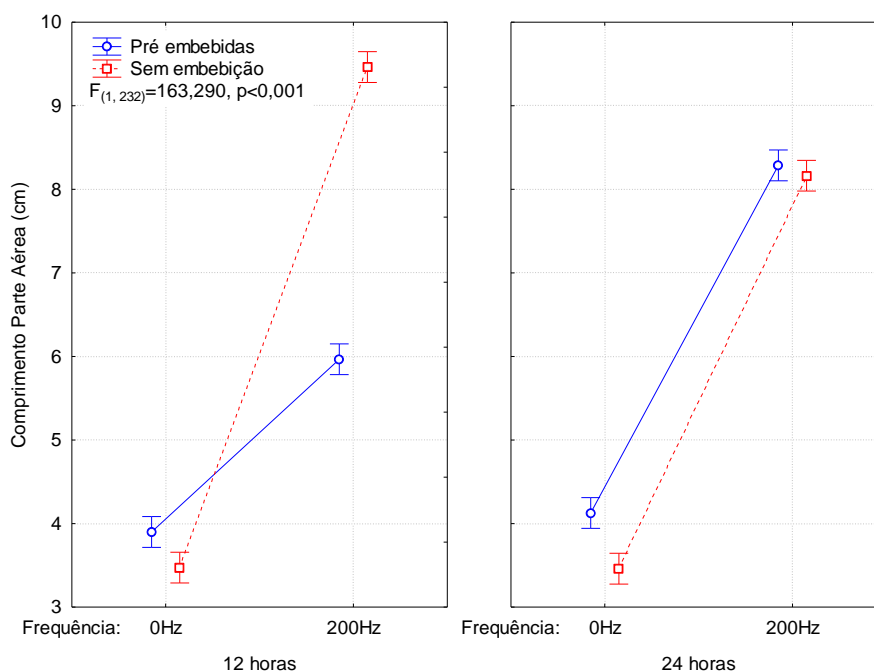


Figura 5 – Efeito da interação tripla frequência x tempo de exposição x umidade de semente no comprimento de parte aérea. As medidas de dispersão representam intervalo de confiança de 95%. A sobreposição do intervalo de confiança de um tratamento sobre a média de outro tratamento indica igualdade estatística. Frequência 0 Hz = controle.

Observa-se na figura 5 que os maiores comprimentos de parte aérea foram apresentados pelas plantas originadas de sementes sem embebição tratadas com frequência de 200 Hz por 12 horas e os menores comprimentos de parte aérea foram obtidos de plântulas

oriundas de sementes sem embebição dos grupos de frequência controle, deixados em isolamento por 12 e 24 horas, sendo que para os dois tempos de exposição não houve diferença estatística pelo teste de intervalo de confiança de 95%. O tempo de exposição de 24 horas resultou em plântulas com o segundo maior comprimento de parte aérea, porém, para este tempo, não houve diferença estatística significativa entre os comprimentos de parte aérea dos grupos pré-embebidos e sem embebição pelo teste de intervalo de confiança de 95%.

A relação comprimento raiz/parte aérea variou em função da frequência ($F_{(1,232)} = 79,872$, $p < 0,001$), em função do tempo de exposição ($F_{(1,232)} = 20,306$, $p < 0,001$) e em função da umidade de semente ($F_{(1,232)} = 161,080$, $p < 0,001$). Também houve variação da relação comprimento raiz/parte aérea em função das interações duplas frequência x tempo de exposição ($F_{(1,232)} = 16,764$, $p < 0,001$), frequência x umidade de semente ($F_{(1,232)} = 203,390$, $p < 0,001$) e tempo de exposição x umidade de semente ($F_{(1,232)} = 5,176$, $p = 0,023$) e em função da interação tripla frequência x tempo de exposição x umidade de semente ($F_{(1,232)} = 45,614$, $p < 0,001$). Como a interação frequência x tempo x umidade de semente foi significativa, a explicação para a relação comprimento raiz/parte aérea foi feita por meio desta interação. Logo, este foi o resultado explorado.

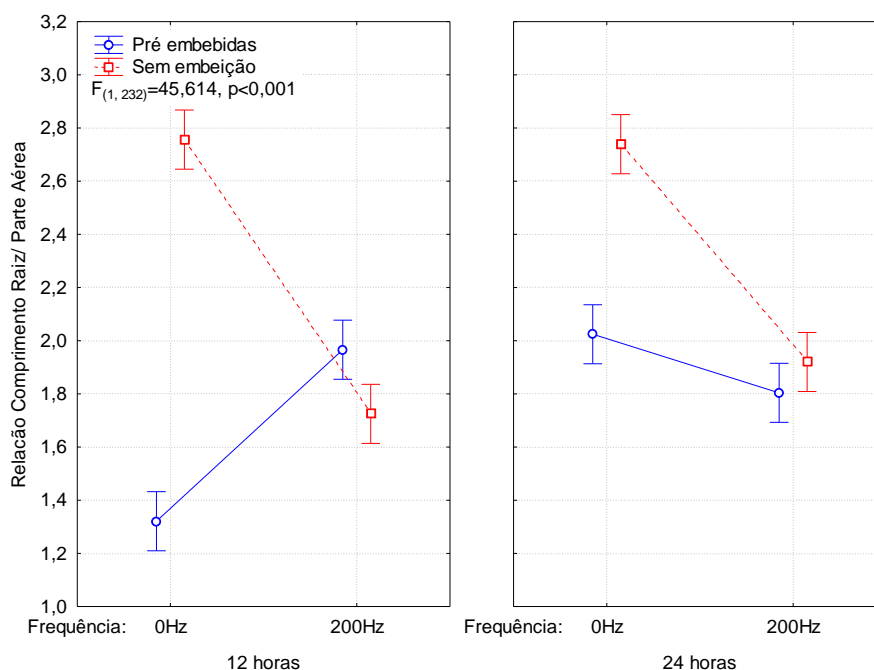


Figura 6 – Efeito da interação tripla frequência x tempo de exposição x umidade de semente na relação comprimento raiz/parte aérea. As medidas de dispersão representam intervalo de confiança de 95%. A sobreposição do intervalo de confiança de um tratamento sobre a média de outro tratamento indica igualdade estatística. Frequência 0 Hz = controle.

Pode ser observado na figura 6 que os maiores valores de relação comprimento raiz/parte aérea foram obtidos das plântulas oriundas de sementes sem embebição deixadas em isolamento (grupo controle), sendo que esses valores não diferiram estatisticamente para os diferentes tempos de exposição pelo teste de intervalo de confiança de 95%. O menor valor de relação comprimento raiz/parte aérea foi obtido de plântulas originadas de sementes pré-embebidas do grupo de frequência controle deixadas em isolamento por 12 horas.

O teor de água de raízes variou em função da frequência testada ($F_{(1, 16)} = 705,050$, $p < 0,001$), em função do tempo de exposição ($F_{(1, 16)} = 19,740$, $p < 0,001$). Não foi observada variação no teor de água de raízes em função da umidade de semente ($F_{(1, 16)} = 0,380$, $p = 0,546$). Também houve variação do teor de água de raízes em função das interações duplas frequência x tempo de exposição ($F_{(1, 16)} = 178,950$, $p < 0,001$), frequência x umidade de semente ($F_{(1, 16)} = 379,990$, $p = 0,006$) e tempo de exposição x umidade de semente ($F_{(1, 16)} = 10,113$, $p < 0,001$) e em função da interação tripla frequência x tempo de tratamento x umidade de semente ($F_{(1, 16)} = 13,525$, $p = 0,002$). Como a interação frequência x tempo x umidade de semente foi significativa, a explicação adequada para avaliar o teor de água de raízes foi feita por meio desta interação.

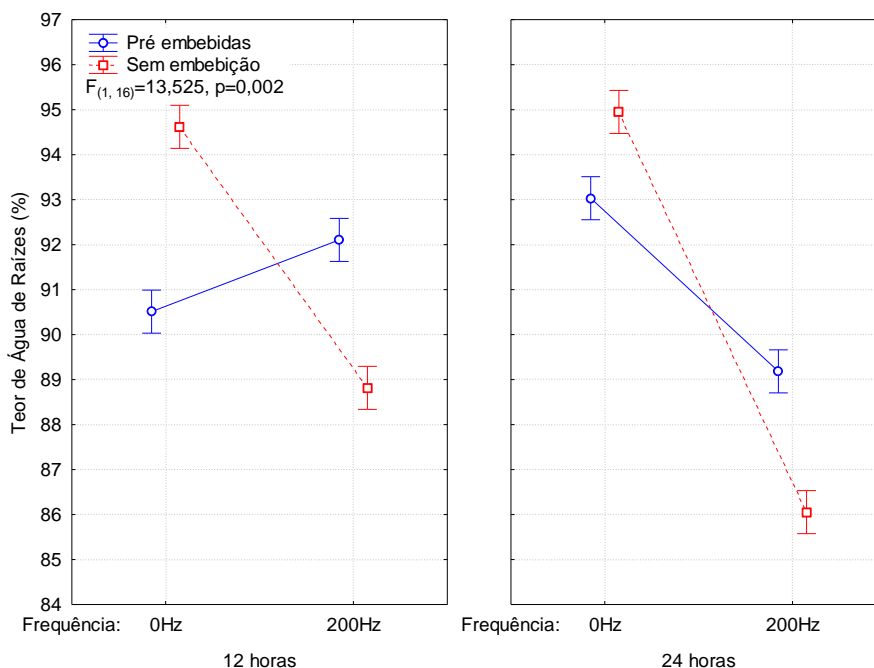


Figura 7 – Efeito da interação tripla frequência x tempo de exposição x umidade de semente no teor de água de raízes. As medidas de dispersão representam intervalo de confiança de 95%. A sobreposição do intervalo de confiança de um tratamento sobre a média de outro tratamento indica igualdade estatística. Frequência 0 Hz = controle.

Como pode ser visto na figura 7, as sementes sem embebição deixadas em isolamento (controle) por 12 e 24 horas originaram plântulas com maiores valores de teor de água de parte aérea e as sementes sem embebição tratadas com frequência de 200 Hz por 24 horas originaram plântulas com os menores teores de água de parte aérea. Observa-se ainda uma inversão no padrão do comportamento entre os tempos de exposição de 12 e 24 para as sementes pré-embebidas.

O teor de água de parte aérea variou em função da frequência testada ($F_{(1, 32)} = 499,250$, $p < 0,001$), em função do tempo de exposição ($F_{(3, 32)} = 71,579$, $p < 0,001$) e em função da umidade de semente ($F_{(1, 32)} = 90,505$, $p < 0,001$). Também houve variação da massa seca de parte aérea em função das interações duplas frequência x tempo de exposição ($F_{(3, 32)} = 99,522$, $p < 0,001$), frequência x umidade de semente ($F_{(1, 32)} = 60,307$, $p < 0,001$) e tempo de exposição x umidade de semente ($F_{(3, 32)} = 138,46$, $p < 0,001$) e em função da interação tripla frequência x tempo de exposição x umidade de semente ($F_{(3, 32)} = 71,244$, $p < 0,001$). Como a interação frequência x tempo x umidade de semente foi significativa, a explicação adequada para avaliar o teor de água de parte aérea precisa ser feita por meio dessa interação. Logo, esse será o resultado explorado.

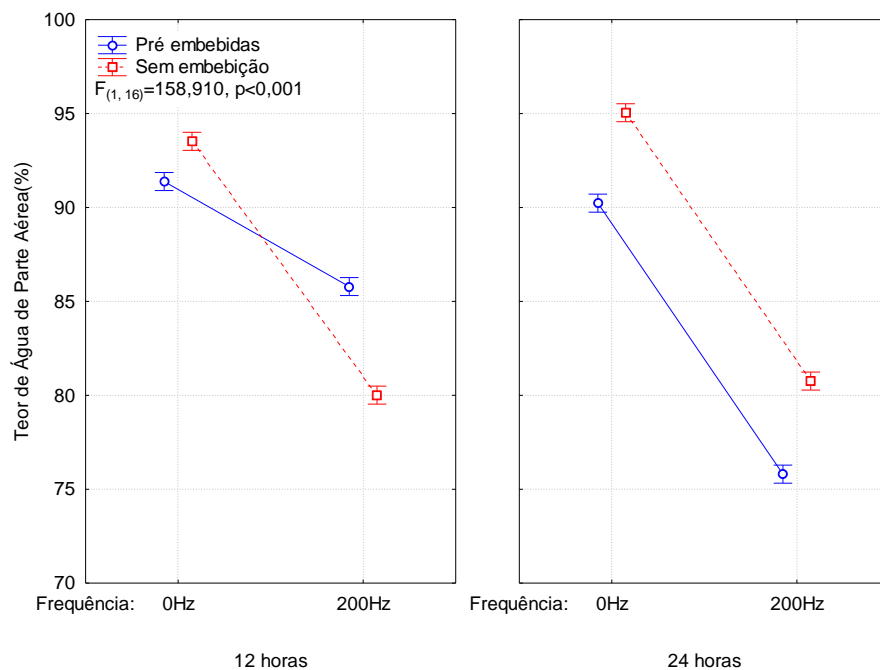


Figura 8 – Efeito da interação tripla frequência x tempo de exposição x umidade de semente no teor de água de parte aérea. As medidas de dispersão representam intervalo de confiança de 95%. A sobreposição do intervalo de confiança de um tratamento sobre a média de outro tratamento indica igualdade estatística. Frequência 0 Hz = controle.

Pode ser visto na figura 8 que o grupo controle de sementes sem embebição tratadas por 24 horas gerou plântulas que apresentaram os maiores valores de teor de água de parte aérea observados. Para ambos os tempos de exposição, as plântulas apresentaram padrão de comportamento semelhante aos menores valores de teor de água de parte aérea apresentados por plântulas originadas de sementes tratadas com frequência de 200 Hz. O menor valor de teor de água de parte aérea foi observado em plântulas oriundas de sementes pré-embebidas tratadas com 200 Hz por 24 horas.

Discussão

Ao observar os gráficos que ilustram a variação da porcentagem de plântulas normais em função dos fatores testados (figura 2), percebemos que a submissão das sementes à frequência de 200 Hz proporcionou a geração de maior porcentagem de plântulas normais. Além disso, sementes que não passaram por embebição prévia geraram maior porcentagem de plântulas normais.

Em contrapartida, podemos notar nas figuras 3C e 3D que as sementes que foram submetidas à embebição prévia apresentaram maiores valores de IVG, ou seja, apresentaram maior velocidade de germinação.

Teoriza-se que a presença de água possa ter alterado a frequência de ressonância (frequência natural) das sementes (CAO et al., 2015), o que pode ter reduzido os efeitos benéficos da aplicação de ondas mecânicas se considerarmos a afirmação de Bochu et al. (2003), que inferem que, quando a frequência mecânica aplicada coincide com a frequência biológica de células, a estimulação mecânica apresenta resultados benéficos para a planta.

Os resultados de IVG permitem afirmar que, neste experimento, maiores velocidades de germinação não resultaram em maior número de plântulas normais. É importante observar que o tratamento com frequência de 200 Hz resultou em maior velocidade de germinação para ambas as condições de umidade de sementes (figura 3D).

Comparando os resultados de IVG (figura 3) com os dados de comprimento da maior raiz (figura 4), podemos reforçar a afirmação de que maior velocidade de germinação (observada no grupo de sementes pré-embebidas) não necessariamente resulta em plântulas mais bem desenvolvidas, visto que sementes sem embebição prévia geraram plântulas com os maiores valores de comprimento de raiz.

Pode-se pensar que a velocidade de germinação é aumentada pela maior quantidade de água na semente no momento da preparação dos rolos para germinação, porém, a maior quantidade de água nas sementes nos momentos iniciais parece afetar negativamente o desenvolvimento inicial. Sabe-se que o maior potencial de turgor celular ocasionado pela pré-embebição das sementes pode ter se refletido na maior velocidade de emissão de radícula (BRADFORD, 1986), porém, a redução desse potencial de turgor celular causada posteriormente pelo fornecimento igual de água para todas as sementes pode ter desacelerado o processo de desenvolvimento da raiz primária e da parte aérea. Já para o grupo de sementes sem embebição, o fornecimento de água foi contínuo, o que pode ter ocasionado o desenvolvimento favorecido e uniforme ao longo do tempo de incubação.

Os maiores comprimentos de raízes foram observados em plântulas geradas por sementes tratadas com frequência de 200 Hz. Observa-se ainda que os maiores tempos exposição, seja à frequência de 200 Hz, seja em isolamento (grupo controle), originaram em geral plântulas com maior comprimento de raízes.

Sementes expostas à frequência de 200 Hz originaram plântulas com maior comprimento de parte aérea em ambos os tempos de exposição e umidade de semente.

Na literatura não foram encontrados trabalhos que avaliavam as respostas do milho a frequências de ondas mecânicas, porém, Bochu et al. (2003), trabalhando com arroz, também observaram maiores comprimentos, tanto de raízes quanto de partes aéreas, sob frequência de 200 Hz ao testar efeitos de tratamento com ondas mecânicas em germinação e desenvolvimento inicial. Os mesmos autores ainda afirmam que a frequência adequada atua de forma a melhorar a fluidez de membrana celular, a construção secundária de proteínas de membrana e como resultado o crescimento é estimulado. Essas descobertas e afirmações permitem entender os maiores comprimentos de raiz e parte aérea observados nos grupos tratados à frequência de 200 Hz.

Reforçando essa afirmação, Yang et al. (2002), testando o efeito de vibrações mecânicas em calos de kiwi, inferiram que determinado intervalo de frequência ocasiona vibrações mecânicas que reduzem a temperatura de transição, que é a temperatura na qual o lipídio é convertido do estado líquido normal para um gel cristalino no qual o movimento da cadeia de ácidos graxos dos fosfolípidos fica restrita (KARP, 2005). Desse modo, reduzindo-se a temperatura em que a membrana se tornaria mais rígida, é possível obter melhorias na fluidez da membrana plasmática e conseqüentemente a aceleração da divisão e crescimento celular. Karp (2005) afirma que essa aceleração está relacionada ao fato de que a fluidez

permite o aumento da permeabilidade celular, influenciando diretamente processos básicos tais como crescimento e divisão celular, formação de junções intercelulares, secreção e endocitose, processos esses que dependem do movimento dos componentes de membrana e que provavelmente se tornam mais dificultosos em uma estrutura rígida.

Adicionalmente, Yang et al. (2002) afirmam que o potencial elétrico da membrana pode ser alterado devido à exposição às vibrações mecânicas e a abertura ou fechamento de alguns canais de íons pode causar mudanças de concentração entre os dois lados da membrana celular, alterando o potencial elétrico dela, o que vai induzir a secreção de auxina e outras substâncias do interior da célula que podem afetar o crescimento.

Os menores valores para relação comprimento raiz/parte aérea observados em plântulas originadas de sementes pré-embebidas deixadas em isolamento (frequência controle) por 12 horas pode ser indício de algum mecanismo que propicia maior desenvolvimento de parte aérea em relação ao sistema radicular. É interessante ressaltar que, com exceção das sementes pré-embebidas expostas por 12 horas, as sementes tratadas com 200 Hz também apresentaram, de modo geral, plântulas com menores valores de relação comprimento raiz/parte aérea para ambos os tempos de exposição.

As sementes sem embebição expostas à frequência de 200 Hz por 24 horas originaram plântulas com o menor teor de água de raízes (figura 7). Isso indica que tal interação de fatores pode ter estimulado a quebra e translocação de reservas da semente, visto que, para essas plântulas, houve maior participação de matéria seca na massa fresca de raízes.

Observam-se menores teores de água de parte aérea em plântulas originadas de sementes tratadas com frequência de 200 Hz (figura 8). Isso permite teorizar que o tratamento a 200 Hz ocasiona maior quantidade de matéria seca na massa fresca da parte aérea quando comparado aos grupos controle.

Conclusão

Sementes tratadas com frequência de 200 Hz por 24 horas apresentaram os melhores resultados para velocidade de germinação, sendo que para as sementes pré-embebidas a germinação foi em média 1,4 vezes mais rápida em comparação ao tratamento com frequência de 200 Hz do que para o grupo controle. A porcentagem de plântulas normais do grupo de sementes sem pré-embebição tratadas por 24 horas a 200 Hz foi em média 60% maior quando

comparada ao grupo controle também de sementes pré-embebidas deixado isolado por 24 horas.

O comprimento de raízes e de parte aérea de plântulas originadas de sementes tratadas por 12 horas a 200 Hz também se apresentou maior em relação ao grupo controle, sendo 40% e 30% maiores respectivamente para raiz e parte aérea.

Existem ainda poucos trabalhos que procuram avaliar a influência de ondas mecânicas na germinação de plantas e, para o milho, esses trabalhos são praticamente inexistentes. Logo a discussão dos resultados no presente artigo precisou ser, em sua maior parte, dedutiva e pouco comparativa.

Finalmente, é importante ressaltar que são necessários novos trabalhos na área para que se chegue a conclusões concretas, evidenciando os mecanismos celulares e moleculares para a recepção e a transdução de sinais mecânicos, tais como sons.

REFERÊNCIAS

- ARNADARNADÓTTIR, J.; CHALFIE, M. Eukaryotic mechanosensitive channels. **Annual Review of Biophysics**, v. 39, p. 111–137, 2010.
- BOCHU, W.; XIN, C.; ZHEN, W.; QIZHONG, F.; HAO, Z.; LIANG, R. Biological effect of sound field stimulation on paddy Rice seeds. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 32, n. 1, p. 29–34, 2003.
- BOCHU, W.; JIPING, S.; BIAO, L.; JIE, L.; CHUANREN, D. Soundwave stimulation triggers the content change of the endogenous hormone of the Chrysanthemum mature callus. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 37, n. 3-4, p. 107–112, 2004.
- BRADFORD, K.J. Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditions. **HorScience**, v.21, n.5, p.1105-1112, 1986.
- BRASIL. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), 2009. 399 p.
- CAI, W.; HE, H.; ZHU, S.; WANG, N. Biological effect of audible sound control on Mung Bean (*Vigna radiate*) Sprout. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 1–6, 2014.
- CAO, H. HUANG, W. J.; QIAO, J. T.; WANG, Y. P.; ZHAO, H. J. Research on Vibration Mechanism of Plant Cell Membrane with Ultrasonic Irradiation. **Chinese Physics Letters**. v. 32, n. 3, p. 1–3, 2015.
- CYSNE, L. F. **A bíblia do som**. Rio de Janeiro: Música & Tecnologia, 2006. 1280 p.
- GAGLIANO, M. Green symphonies: A call for studies on acoustic communication in plants. **Behavioral Ecology**, v. 24, n. 4, p. 789–796, 2012.
- GILLESPIE, P. G.; WALKER, R. G. Molecular basis of mechanosensory transduction. **Nature**, v. 413, n. 6852, p. 194–202, 2001.
- HAMILL, O. P.; MARTINAC, B. Molecular basis of mechanotransduction in living cells. **Physiological Reviews**, v. 81, n. 2, p. 685–740, 2001.
- HASWELL, E. S.; PEYRONNET, R.; BRYGOO, H. B.; MEYEROWITZ, E. M.; FRACHISSE, J. M. Two mscS homologs provide mechanosensitive channel activities in the Arabidopsis root. **Current Biology**, v. 18, n. 10, p. 730–734, 2008.
- JEONG, M. J.; SHIM, C. K. L.; JIN, O.; KWON, H. B.; KIM, YANG, H. L.; SEONG, K. B. MYEONG, O.; PARK, S. ChulPlant gene responses to frequency-specific sound signals. **Molecular Breeding**, v. 21, n. 2, p. 217–226, 2007.
- KARP, G. **Biologia celular e molecular: Conceitos e Experimentos**. 3ª ed. São Paulo: Manole, 2005. 786 p.
- KUNG, C. A possible unifying principle for mechanosensation. **Nature**, v. 436, n. 7051, p. 647–654, 2005.

SACHS, F. Stretch-Activated Ion Channels: What Are They? **Physiology (Bethesda)**, v. 25, n. 1, p. 50–56, 2010

SUKHAREV, S.; ANISHKIN, A. Mechanosensitive channels: What can we learn from “simple” model systems? **Trends in Neurosciences**, v. 27, n. 6, p. 345–351, 2004.

VOGEL, V.; SHEETZ, M. Local force and geometry sensing regulate cell functions. **Nature Reviews. Molecular Cell Biology**, v. 7, n. 4, p. 265–275, 2006.

YANG, X. C.; BOCHU, W.; YI, J.; CHUANREN, D. SAKANISHI, A. Biological effects of *Actinidia chinensis* callus on mechanical vibration. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 25, n. 3, p. 197–203, 2002.

ARTIGO 2

RESPOSTAS DE PLANTAS DE MILHO (*Zea mays* L.) SUBMETIDAS A ONDAS MECÂNICAS SOB DÉFICIT HÍDRICO E DURANTE O ESTÁGIO PRÉ-GERMINATIVO

RESUMO – Os efeitos de ondas mecânicas em diversos estágios de crescimento de plantas têm sido recentemente relatados por diversos autores. Observando a carência de trabalhos que abordam respostas do milho à aplicação de ondas sonoras e tendo em vista também a grande importância dessa cultura no Brasil e no mundo, o objetivo deste estudo foi avaliar a resposta de plantas de milho submetidas à ondas mecânicas sob déficit hídrico e durante o estágio pré-germinativo. Para tanto, dois grupos de plantas de milho conduzidos em diferentes níveis de umidade no solo (deficiência hídrica moderada e umidade de capacidade de campo) foram submetidos a diferentes frequências de onda (0, 300 e 1.000 Hz) sob intensidade de 60 dB durante uma hora no estágio V5 e avaliados quanto a altura e quantidade de clorofila. Em um segundo teste, sementes de milho de dois grupos (pré-embebido e sem embebição) foram submetidas a frequências de onda de 0, 300 e 1.000 Hz sob intensidade de 60 dB durante 24 horas e posteriormente semeadas e conduzidas por cinco semanas, sendo coletados dados de altura de plantas e diâmetro de caule. Os resultados mostram que plantas tratadas com frequência de 300 Hz apresentaram maior altura para o grupo mantido em solo sob capacidade de campo. Também foram registradas maiores alturas para aquelas mantidas sob deficiência hídrica moderada quando tratadas com frequência de 300 Hz em comparação ao grupo controle e o grupo tratado a 1.000 Hz, para ambas as condições de umidade de solo. As plantas oriundas de sementes sem embebição tratadas com frequência de 300 Hz apresentaram maior altura a partir da quarta semana e também maior diâmetro de caule. Conclui-se que, em ambos os testes, a aplicação de frequência de 300 Hz proporcionou maiores alturas de plantas. Sugere-se o desenvolvimento de mecanismos de tolerância a condições desfavoráveis de solo e/ou mecanismos para melhorar a absorção de nutrientes quando estes se encontram em formas indisponíveis no solo. Além disso, também se conclui que a aplicação da frequência de onda adequada pode ter induzido *stress* moderado melhorando a assimilação de tecidos ou células, a atividade fisiológica e acelerando o crescimento das plantas.

Palavras-chave: ondas sonoras; crescimento vegetal; neurobiologia vegetal; produção vegetal.

RESPONSES OF MAIZE PLANTS (*Zea mays* L.) SUBJECTED TO MECHANICAL WAVES UNDER WATER DEFICIT AND DURING THE PRE-GERMINATION STAGE

ABSTRACT - The effects of mechanical waves at different stages of plant growth have recently been reported by several authors. Noting the lack of studies addressing corn response to the application of sound waves and also in view of the great importance of this crop in Brazil and to the world, the objective of this study was to evaluate the response of maize plants subjected to treatment with sound waves under water deficit and during the pre-germinal stage. Therefore, two groups of maize plants were conducted with different moisture levels in the soil (moderate water stress and moisture at field capacity). They were submitted to different wave frequencies (0 Hz, 300 Hz and 1000 Hz) with an intensity of 60 dB for one hour at V5 stage, and the height and amount of chlorophyll were evaluated. In a second test, maize seeds were divided into two groups (pre-soaked and without soaking) which underwent wave frequencies of 0, 300 Hz and 1000 Hz on intensity of 60 dB for 24 hours and then seeded and conducted for five weeks, when data on plant height and diameter were collected. The results show that plants treated with a frequency of 300 Hz had greater height for the group kept in soil under field capacity and greatest heights were also recorded for those maintained under moderate water stress when treated with a frequency of 300 Hz compared to the control group and the group treated at 1000 Hz for both moisture soil conditions. The plants from seeds without soaking treated with frequency of 300 Hz showed greater height from the fourth week on, and also increased stem diameter. It was concluded that, for both tests, the application of frequency of 300 Hz provided greater heights of plants. The development of tolerance mechanisms is suggested for unfavorable soil conditions and/or mechanisms to improve the absorption of nutrients when they are unavailable in the soil forms. Moreover, it is also concluded that the application of the appropriate wave frequency may have induced mild stress, improving the assimilation of tissues or cells, the physiological activity, and accelerating the growth of plants.

Keywords: sound waves, plant development, plant neurobiology, plant production

Introdução

Os efeitos de ondas mecânicas em diversos estágios de crescimento de plantas têm sido recentemente relatados por diversos autores que perceberam alterações na germinação, desenvolvimento inicial, expressão gênica e atividades metabólicas (BOCHU et al., 2003; BOCHU et al., 2004; JEONG et al., 2007; LI et al., 2008).

A maior parte das plantas conhecidas, devido principalmente à sua imobilidade, está exposta às tensões impostas pelo ambiente, sejam essas tensões naturais ou provocadas pelo ser humano. Além dos fatores ecológicos presentes naturalmente no ambiente, tais como luminosidade, temperatura, umidade e elementos minerais, os fatores ocasionados pelo homem tais como vibrações mecânicas e estimulação sonora inevitavelmente também afetam o crescimento e reprodução de plantas.

Segundo Cai et al. (2014), ondas sonoras são ondas mecânicas na faixa audível pelo ser humano, situadas entre 20 e 20.000 Hz e, embora já sejam encontradas em trabalhos científicos evidências da resposta de plantas a essas ondas, ainda não se sabe ao certo como essas respostas são desencadeadas.

Propõe-se para a detecção de ondas mecânicas pelas plantas um fenômeno denominado mecanossensibilidade, a capacidade intrínseca de perceber e responder a perturbações mecânicas, que todos os organismos exibem, a fim de crescer e se desenvolver (GAGLIANO, 2012). Todos os organismos, de bactérias a animais multicelulares e plantas, devem sentir e responder à força mecânica no seu meio externo (por exemplo, à força de cisalhamento, à gravidade, ao toque) e no seu meio interno (incluindo a pressão osmótica e a deformação da membrana) para o bom crescimento e desenvolvimento. (GILLESPIE e WALKER, 2001; HAMILL e MARTINAC, 2001; SUKHAREV e COREY, 2004; KUNG, 2005; VOGEL e SHEETZ, 2006; SACHS, 2010). Embora exista uma diversidade estrutural ampla, e esta pareça ter evoluído para acomodar a necessidade fisiológica de detectar forças de diferentes magnitudes (SUKHAREV e ANISHKIN, 2004), canais de mecanossensibilidade em diferentes organismos podem servir, no entanto, para funções semelhantes (GAGLIANO, 2012). Arnadóttir e Chalfie (2010) observaram que em animais, por exemplo, alguns canais de mecanossensibilidade estão implicados na percepção de estímulos mecânicos, tais como toque e sons indicativos do ambiente onde esses animais estão inseridos, como, por exemplo, vozes, sons provocados por movimentos de árvores e cursos d'água e sensibilidade ao toque por insetos ectoparasitas e demais hematófagos. Existem evidências que sugerem que os canais de mecanossensibilidade ligados a mudanças

nos fluxos de íons (principalmente em Ca^{2+} citossólico) podem desempenhar uma função semelhante em plantas (HASWELL et al., 2008) e, portanto, esse pode ser um ponto de partida fértil para investigar as vias de resposta desencadeada por estímulos acústicos (GAGLIANO, 2012).

Observando a carência de trabalhos que abordam respostas do milho à aplicação de ondas sonoras e tendo em vista também a grande importância dessa cultura no Brasil e no mundo, o objetivo deste trabalho foi avaliar a resposta germinativa de sementes de milho submetidas ao tratamento com ondas mecânicas.

Material e métodos

Foram realizados, no ano de 2016, dois experimentos com plantas de milho. O primeiro experimento se iniciou no dia 15 de janeiro de 2016, quando foram semeadas três sementes de milho por vaso (vasos de 12 l) à profundidade de 3 cm em solo (latossolo vermelho distrófico típico) retirado do terreno da UFSJ. Após o desenvolvimento inicial das plântulas foi feito o raleio, sendo o experimento conduzido mantendo-se uma planta por vaso.

Quando as plantas atingiram o estágio V4 (dia 3/2) foi realizada a primeira adubação de cobertura, adicionando-se 12 g de formulação NPK 20:05:20 por vaso. Outras três adubações foram realizadas nos dias 12 e 17 de fevereiro e no dia 10 de março, adicionando-se 24 g de formulação NPK 10:10:10 por vaso. As adubações foram feitas com base na 5ª aproximação (RIBEIRO et al., 1999).

Perto de atingir o estágio V5, que corresponde à quinta folha completamente desenvolvida e é um estágio determinante para a produtividade, visto que nele são formados o pendão e a espiga, as plantas foram divididas em dois grupos, um mantido em solo na capacidade de campo e outro submetido a deficiência hídrica moderada (75% da capacidade de campo). Para isso os vasos foram pesados todos os dias a fim de monitorar sua quantidade de água. Após o tratamento, todos os vasos foram mantidos com solo em sua umidade de capacidade de campo. A capacidade de campo do solo foi determinada de acordo com o descrito por Souza et al. (2000).

A temperatura máxima na casa de vegetação variou entre 27,1 e 45,7 °C. A temperatura máxima, não considerada adequada à cultura de milho, ocorreu em decorrência de problemas no sistema de ventilação. Entretanto, é importante ressaltar que a ocorrência

dessas temperaturas mais elevadas foi anterior ao tratamento com as frequências mecânicas. A temperatura mínima variou entre 17,8 e 21,5°C.

Ao 28º dia após sementeio, as plantas no estágio V5 foram submetidas às ondas mecânicas por um período de uma hora às frequências de 1.000 (adaptando-se o sugerido por JEONG et al. 2015) e 300 Hz (escolhida de acordo com os resultados obtidos pelos testes em sementes), sob intensidade de 60 dB. Os tratamentos foram realizados em seis repetições.

As plantas foram distribuídas de forma aleatória nos tratamentos (exposição às ondas) imediatamente antes da aplicação das ondas sonoras no momento em que foi feita a medição do índice SPAD com o medidor Minolta SPAD 502, que permite inferir o conteúdo de clorofila nas folhas. Nesse momento também foram coletadas amostras de folhas com auxílio de um perfurador de papel para obter o teor relativo de água de acordo com o descrito por Smart e Bingham (1974), de modo a caracterizar as plantas quanto ao déficit hídrico imposto no solo.

As plantas foram acomodadas embaixo de mesas com os emissores de onda acoplados à parte superior (figura 1). Esses emissores estavam ligados aos geradores de onda VICTOR VC2002[®]. Após o fim dos tratamentos também foram feitas medições do índice SPAD. Em ambos os momentos, antes e após a exposição às ondas, a medição do índice SPAD foi feita nas porções adaxial e abaxial, coletando-se leituras na porção basal e na porção apical das folhas.

A altura das plantas foi medida a cada semana desde o sementeio até 46º dia após o sementeio, quando foi realizado o desmonte do experimento.



Figura 1 – Disposição das plantas para os tratamentos.

As homogeneidades de altura das plantas e do índice SPAD foram verificadas por meio de ANOVA e testadas com intervalo de confiança de 95%.

O segundo experimento se iniciou no dia 31 de maio de 2016, quando sementes de milho foram submetidas às frequências de 0, 300 e 1.000 Hz sob intensidade de 60 dB durante 24 horas. Para tanto, metade das sementes foi previamente umedecida em algodão embebido com água destilada por uma hora (grupo pré-embebido) e a outra metade foi deixada em espera durante esse período de tempo (grupo sem embebição). Foram dispostas 60 sementes por bandeja e elas foram colocadas dentro de caixas de isopor com geradores acoplados em sua parte superior. Os geradores estavam ligados a emissores de onda Victor VC2002[®]. A distância das sementes aos geradores foi de aproximadamente 50 cm.

Após o fim dos tratamentos, as sementes que passaram por exposição às ondas foram semeadas em vasos de 12 l à profundidade de 3 cm (três sementes por vaso). A cada semana após o plantio, a altura das plantas foi medida e foram realizadas irrigações duas vezes por semana. Cinco semanas após o semeio (aproximadamente no estágio V5) foi feita a última medição de altura. Também foi feita, nessa ocasião, a medição dos diâmetros dos caules das plantas. Nenhuma adubação foi feita até a quinta semana após o semeio. A temperatura mínima na casa de vegetação variou de 13,5 a 17,8 °C e a temperatura máxima variou de 27,7 a 30,8 °C. A umidade relativa na casa de vegetação permaneceu em torno de 80%.

Posteriormente, as homogeneidades de altura das plantas e diâmetro de caule foram verificadas por meio de ANOVA e testadas com intervalo de confiança de 95%.

Resultados

Experimento 1

A altura de plantas variou em função das frequências testadas ($F_{(2, 18)} = 38,531$, $p < 0,001$), em função do tempo ($F_{(5, 90)} = 1263,300$, $p < 0,001$) e não variou em função da umidade do solo ($F_{(1, 18)} = 3,377$, $p = 0,083$). A altura das plantas ainda variou em função das interações duplas frequência x umidade do solo ($F_{(2, 18)} = 5,4793$, $p = 0,013$), frequência x tempo ($F_{(10, 90)} = 81,941$, $p < 0,001$), umidade de solo x tempo ($F_{(5, 90)} = 5,368$, $p < 0,001$) e em função da interação tripla frequência x umidade do solo x tempo ($F_{(10, 90)} = 7,871$, $p < 0,001$). Como a interação tripla frequência x umidade do solo x tempo foi significativa, a explicação adequada para avaliar a altura das plantas foi feita por meio dessa interação. Logo, esse foi o resultado explorado.

Como pode ser visto na figura 2, até o registro de altura de plantas feito 26 dias após o semeio (último antes dos tratamentos) as plantas apresentavam pouca ou nenhuma variação de

altura em função da umidade de solo. A partir do 32º dia após o semeio e quatro dias após os tratamentos começa a ser notada uma diferenciação na altura das plantas do grupo tratado a 300 Hz e mantido na capacidade de campo antes do tratamento. No dia da última coleta de dados (46 dias após o semeio) foram observados maiores valores de altura de plantas para os grupos tratados a 300 Hz, sendo que, desses, o grupo mantido em solo sob capacidade de campo antes dos tratamentos apresentou os maiores valores de altura registrados.

Além disso, é percebido que o tratamento com 300 Hz nos solos mantidos na condição de deficiência hídrica moderada também originou plantas de maior altura que os tratamentos controle e à frequência de 1.000 Hz.

A quantidade de clorofila não variou em função da frequência testada ($F_{(2, 276)} = 0,241$, $p = 0,786$) e em função do momento (antes e após o tratamento) ($F_{(1, 276)} = 0,244$, $p = 0,621$), em função das interações duplas frequência x momento ($F_{(2, 276)} = 0,549$, $p = 0,578$), frequência x umidade de solo ($F_{(2, 276)} = 1,751$, $p = 0,175$), momento x umidade de solo ($F_{(1, 276)} = 3,833$, $p = 0,061$) e em função da interação tripla frequência x momento x umidade do solo ($F_{(2, 276)} = 1,641$, $p = 0,195$). Houve, porém, variação estatisticamente significativa da quantidade de clorofila em função da umidade do solo ($F_{(1, 276)} = 5,940$, $p = 0,015$), sendo que foram verificados maiores valores de quantidade de clorofila em plantas mantidas em solo na capacidade de campo.

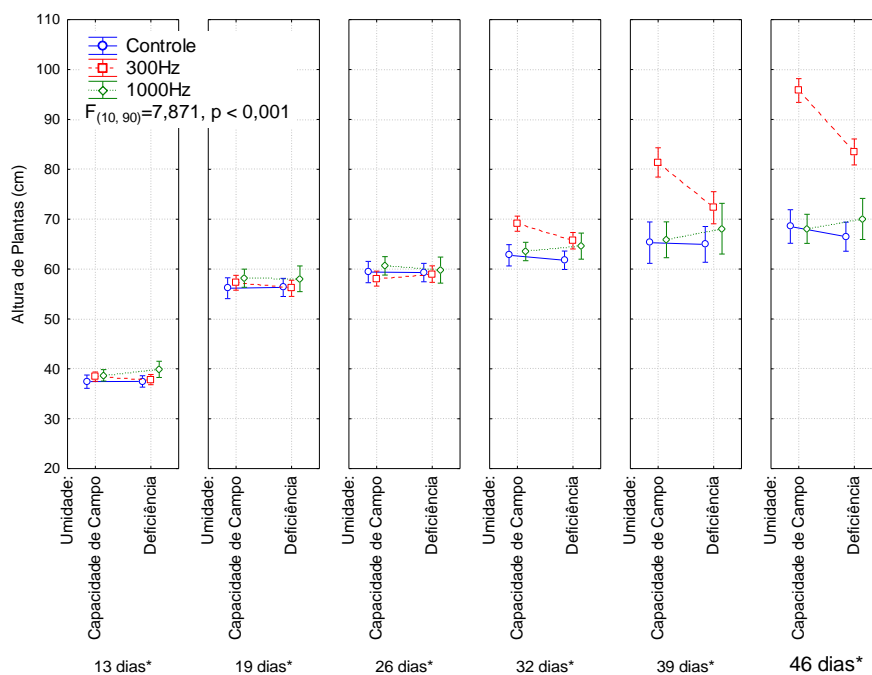


Figura 2 – Efeito da interação tripla frequência x umidade do solo x tempo na altura das plantas. As medidas de dispersão representam intervalo de confiança de 95%. A sobreposição do intervalo de confiança de um tratamento sobre a média de outro tratamento indica igualdade estatística. Frequência 0 Hz = controle. *Dias após o semeio.

Os valores de teor relativo de água registrados foram de 98,776% para as plantas mantidas em solo na umidade de capacidade de campo e de 82,857% para as plantas mantidas sob deficiência hídrica moderada.

Experimento 2

A altura de plantas variou em função das frequências testadas ($F_{(2, 30)} = 135,2$, $p < 0,001$), em função do tempo ($F_{(4, 120)} = 1535,0$, $p < 0,001$) e em função da umidade da semente no momento do tratamento ($F_{(1, 30)} = 39,514$, $p < 0,001$). A altura das plantas ainda variou em função das interações duplas frequência x umidade da semente no momento do tratamento ($F_{(2, 30)} = 62,173$, $p < 0,001$), frequência x tempo ($F_{(8, 120)} = 106,64$, $p < 0,001$), umidade da semente x tempo ($F_{(4, 120)} = 47,341$, $p < 0,001$) e em função da interação tripla frequência x umidade da semente x tempo ($F_{(8, 120)} = 61,396$, $p < 0,001$). Como a interação tripla frequência x umidade da semente x tempo foi significativa, a explicação adequada para avaliar a massa seca de parte aérea foi feita por meio dessa interação. Logo, esse foi o resultado explorado.

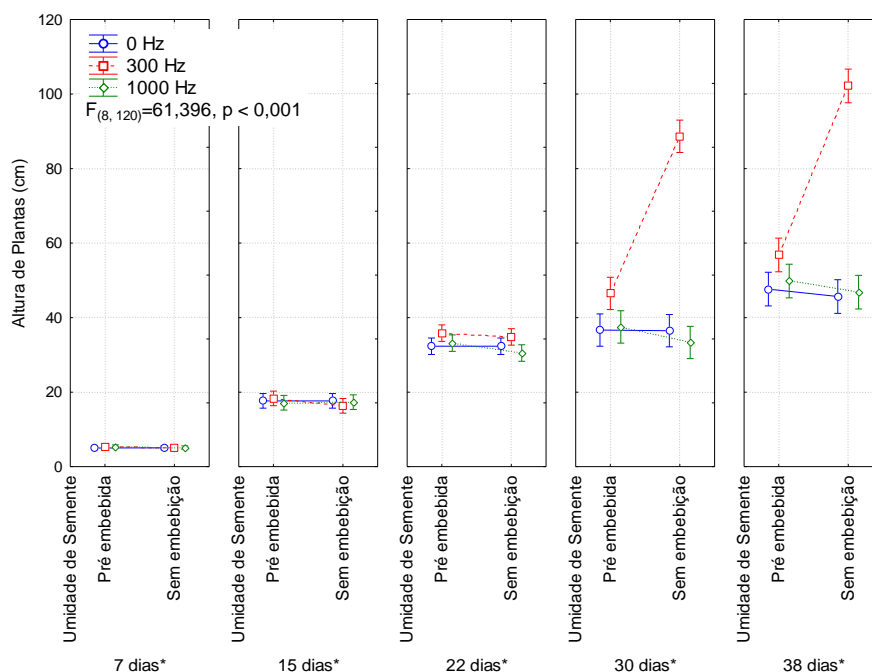


Figura 3 – Efeito da interação tripla frequência x umidade da semente x tempo na altura das plantas. As medidas de dispersão representam Intervalo de Confiança de 95%. A sobreposição do intervalo de confiança de um tratamento sobre a média de outro tratamento indica igualdade estatística. Frequência 0 Hz = controle. *Dias após o semeio.

Aos 38 dias após semeio foi observado que todas as plantas dos grupos controle, dos grupos tratados com frequência de 1.000 Hz e do grupo que recebeu embebedida prévia tratado com frequência de 300 Hz apresentavam sintomas visuais de deficiência de minerais, porém,

o grupo sem embebição tratado a 300 Hz não apresentava sinais visíveis de deficiências, além de apresentar plantas em média 50% maiores que os demais grupos.

Na figura 3 podemos observar que a partir da quarta semana as plantas do grupo oriundo de sementes sem embebição tratadas com frequência de 300 Hz começaram a se destacar em altura das demais plantas. Os demais grupos não diferem estatisticamente entre si em altura nas medições realizadas.

O diâmetro do caule variou em função das frequências testadas ($F_{(2, 30)} = 93,186$, $p < 0,001$), em função da umidade da semente no momento do tratamento ($F_{(1, 30)} = 95,327$, $p = 0,001$) e em função da interação dupla frequência x umidade de semente ($F_{(2, 30)} = 89,207$, $p < 0,001$). Como a interação dupla frequência x umidade da semente foi significativa, a explicação adequada para avaliar a massa seca da parte aérea foi feita por meio dessa interação. Logo, esse foi o resultado explorado.

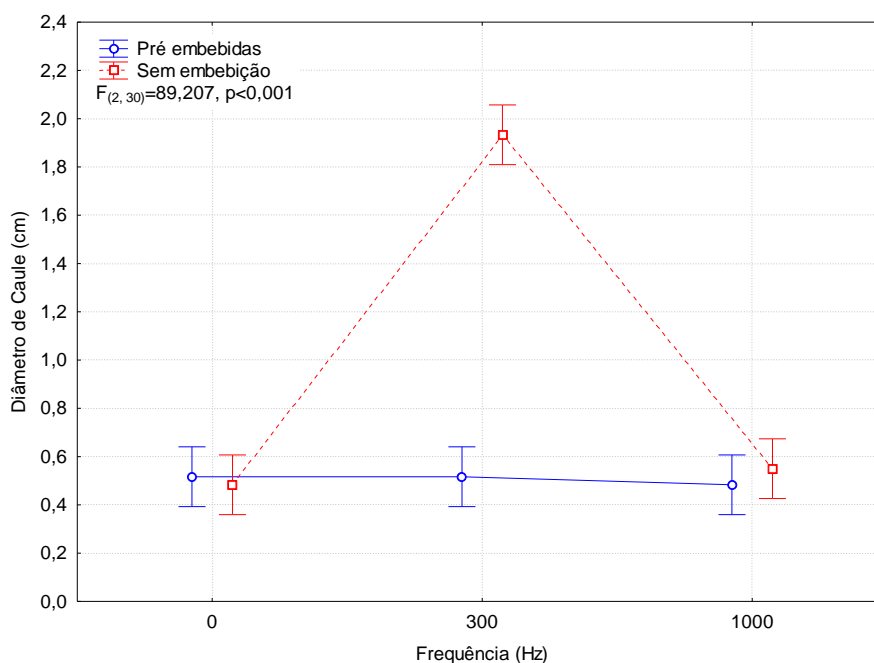


Figura 4 – Efeito da interação dupla frequência x umidade da semente no diâmetro do caule. As medidas de dispersão representam intervalo de confiança de 95%. A sobreposição do intervalo de confiança de um tratamento sobre a média de outro tratamento indica igualdade estatística. Frequência 0 Hz = controle.

Como visto na figura 4, o grupo de plantas oriundas de sementes sem embebição tratadas com frequência de 300 Hz apresentou maiores diâmetros de caule e, para os demais grupos, o diâmetro do caule não apresentou variação significativa.

Discussão

Os resultados encontrados nos dois experimentos evidenciam que o tratamento a 300 Hz afetou positivamente o desenvolvimento das plantas de milho. Uma das possíveis razões para esse incremento no desenvolvimento pode ser a ativação de algum mecanismo que permitiu melhor resposta às adubações e/ou resistência das plantas a alguma condição inadequada de solo (BOCHU et al., 2003).

Além disso, é percebido que o tratamento com 300 Hz nos solos mantidos à condição de deficiência hídrica moderada também originou plantas de maior altura que os tratamentos controle e à frequência de 1.000 Hz. Isso permite inferir que o tratamento a 300 Hz proporciona um efeito de remediação nos efeitos que a deficiência hídrica moderada pode causar no crescimento de plantas de milho.

Já se sabe que plantas enfrentando a seca formam bolhas de ar em seu xilema (pelo processo de cavitação) que produzem emissões acústicas quando estouram (ZWEIFEL e ZEUGIN, 2008). Há uma visão de que as plantas podem utilizar acústica induzida pela seca como sinais para se comunicar com os vizinhos próximos para prepará-los para a escassez de água iminente (GAGLIANO, 2012).

Jeong et al. (2007), trabalhando com plantas de arroz tratadas com ondas sonoras em frequências sobrepondo a frequência emitida durante a cavitação (50-250 Hz e 65-70 dB) encontraram um conjunto de genes com expressão alterada. Isso foi ainda corroborado por um estudo mostrando que o tratamento com ondas sonoras induziu plantas de arroz a responderem à seca (JEONG et al., 2014). Os autores verificaram que aplicação prévia de ondas sonoras resultou em melhoras no teor relativo de água, condutância estomática e rendimento quântico de PSII (razão fluorescência variável/fluorescência máxima) em plantas afetadas pela seca.

Bochu et al. (2003) descobriram que estimulação sonora apropriada é vantajosa para reduzir a penetrabilidade da membrana da célula em arroz (planta da mesma família que o milho) e isto pode melhorar a capacidade de proteção das plantas em ambientes desfavoráveis, a absorção de nutrição e a transformação de energia, de modo a acelerar o crescimento das plantas. Um dos prováveis responsáveis por esses efeitos é o cálcio (Ca^{2+}), que desempenha importante papel como segundo mensageiro no desenvolvimento e crescimento de plantas e também na resposta e adaptação ao estresse ambiental. Teoriza-se que ele talvez transfira o estímulo do estresse mecânico para outras moléculas sinalizadoras

pela chamada amplificação de cascata, causando uma série de alterações fisiológicas e bioquímicas (LIU et al., 2001).

Geralmente, as tensões exteriores têm grandes efeitos no crescimento, na sobrevivência e na propagação de plantas, e a estimulação de estresse moderado pode melhorar a assimilação de tecidos ou células, melhorar a sua atividade fisiológica e acelerar o crescimento das plantas (YANG et al., 2002).

Levando em conta as afirmações dos supracitados, pode-se pensar que as plantas do experimento 2 começaram a diferir em altura apenas a partir da quarta semana, pois as plantas tratadas com frequência de 300 Hz sem embebição prévia talvez tenham desenvolvido algum mecanismo de resistência à carência de nutrientes no solo ou maior capacidade de absorção se definirmos que, a partir desse ponto do experimento, as reservas de nutrientes minerais do solo começaram a se esgotar ou ficar indisponíveis para as plantas. Uma possível explicação para o fato de o tratamento de sementes influenciar respostas das plantas geradas a partir dessas sementes, mesmo vários dias após o tratamento, é a ocorrência de um fenômeno epigenético após a aplicação das frequências, evento este que possibilita a adaptação estrutural das regiões cromossômicas, de modo a registrar, sinalizar ou perpetuar estados de atividade alterados, sendo que essas alterações podem ser perpetuadas através de múltiplas gerações de células (BIRD, 2007). Desse modo, as alterações causadas pela aplicação das frequências nas células das sementes podem ter sido replicadas, sendo observadas posteriormente nos demais estágios de desenvolvimento.

Os resultados de teor relativo de água para o primeiro experimento com plantas mostram que, de fato, a deficiência hídrica moderada aplicada no solo representou deficiência para as plantas, fato este constatado pelo menor teor relativo de água nas plantas mantidas em deficiência hídrica moderada.

Conclusão

Plantas tratadas com frequência de 300 Hz apresentaram maior altura e tolerância à deficiência hídrica moderada aplicada antes dos tratamentos. Isso demonstra um possível efeito de remediação dos efeitos causados pela deficiência hídrica no crescimento.

Plantas oriundas de sementes sem embebição tratadas com frequência de 300 Hz apresentaram maior altura e diâmetro de caule.

Para ambos os experimentos, percebe-se que a aplicação de frequência de 300 Hz proporciona incremento no desenvolvimento adiante de condições desfavoráveis de solo possivelmente pela ativação de mecanismos para melhorar a absorção de nutrientes quando estes se encontram em formas indisponíveis no solo.

Estudos futuros são essenciais para que se possam ter conclusões concretas a respeito da influência da aplicação de ondas mecânicas na produtividade do milho, bem como para a indicação com aplicação comercial.

REFERÊNCIAS

- ARNADARNADÓTTIR, J.; CHALFIE, M. Eukaryotic mechanosensitive channels. **Annual Review of Biophysics**, v. 39, p. 111–137, 2010.
- BIRD, A. Perceptions of epigenetics. **Nature**, v. 447, p. 396–398, 2007
- BOCHU, W.; XIN, C.; ZHEN, W.; QIZHONG, F.; HAO, Z.; LIANG, R.. Biological effect of sound field stimulation on paddy Rice seeds. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 32, n. 1, p. 29–34, 2003.
- BOCHU, W.; JIPING, S.; BIAO, L.; JIE, L.; CHUANREN, D. Soundwave stimulation triggers the content change of the endogenous hormone of the Chrysanthemum mature callus. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 37, n. 3-4, p. 107–112, 2004.
- RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ V., V. H.. **Recomendação para uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª Aproximação**. Viçosa: Comissão de fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, 1999. 360 p.
- CAI, W.; HE, H.; ZHU, S.; WANG, N. Biological effect of audible sound control on Mung Bean (*Vigna radiate*) Sprout. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 1–6, 2014.
- GAGLIANO, M. Green symphonies: A call for studies on acoustic communication in plants. **Behavioral Ecology**, v. 24, n. 4, p. 789–796, 2012.
- GILLESPIE, P. G.; WALKER, R. G. Molecular basis of mechanosensory transduction. **Nature**, v. 413, n. 6852, p. 194–202, 2001.
- HAMILL, O. P.; MARTINAC, B. Molecular basis of mechanotransduction in living cells. **Physiological Reviews**, v. 81, n. 2, p. 685–740, 2001.
- HASWELL, E. S.; PEYRONNET, R.; BRYGOO, H. B.; MEYEROWITZ, E. M.; FRACHISSE, J. M. Two mscS homologs provide Mechanosensitive channel activities in the Arabidopsis root. **Current Biology**, v. 18, n. 10, p. 730–734, 2008.
- JEONG, M. J.; CHO, J.I.; PARK, S.H.; KIM, K.H.; LEE, S.K.; KWON, T.R.; PARK, S.C.; SIDDIQUI, Z.S. Sound frequencies induce drought tolerance in rice plant. **Pakistan Journal of Botany**. v.46, n. 6, p. 2015–2020, 2014
- JEONG, M. J.; JIN, O.; KWON, H. B.; KIM, YANG, H. L. Inventores; Rural Dev Administration (RURA-C), Cessionário. Method of enhancing salt stress tolerance of plant eg, oil plant using sound wave, involves processing sound wave in plant, and performing sonication process using sound wave of predetermined frequency with specific loudness. Coreia. Patente KR2015000537-A, 05 Jan 2015.
- JEONG, M. J.; SHIM, C. K. L.; JIN, O.; KWON, H. B.; KIM, YANG, H. L.; SEONG, K. B. MYEONG, O.; PARK, S. C. Plant gene responses to frequency-specific sound signals. **Molecular Breeding**, v. 21, n. 2, p. 217–226, 2007.

KUNG, C. A possible unifying principle for mechanosensation. **Nature**, v. 436, n. 7051, p. 647–654, 2005.

LI, B.; WEI, J.; WEI, X.; TANG, K.; LIANG, Y.; SHU, K.; BOCHU, W. Effect of sound wave stress on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation of *Dendrobium candidum*. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 63, n. 2, p. 269–275, 2008.

LIU, Y. Y.; WANG, B. C.; ZHAO, H. C.; DUAN, C. R.; CHEN, X. Alternative stress effects on Ca²⁺ localization in Chrysanthemum callus cells. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces** v. 22, p. 245–249, 2001.

SACHS, F. Stretch-activated ion channels: What are they? **Physiology (Bethesda)**, v. 25, n. 1, p. 50–56, 2010

SUKHAREV, S.; ANISHKIN, A. Mechanosensitive channels: What can we learn from “simple” model systems? **Trends in Neurosciences**, v. 27, n. 6, p. 345–351, 2004.

SUKHAREV, S.; COREY, D. P. Mechanosensitive channels: multiplicity of families and gating paradigms. **Science’s STKE : Signal Transduction knowledge Environment**, n. 219, p. 1 – 16, 2004.

SOUZA, C. C.; Oliveira, F. A.; Silva, I. F.; Amorim, M. S. Avaliação de métodos de determinação de água disponível e manejo da irrigação em terra roxa sob cultivo de Algodoeiro herbáceo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 4, n. 3, p. 338–342, 2000.

VOGEL, V.; SHEETZ, M. Local force and geometry sensing regulate cell functions. **Nature Reviews. Molecular Cell Biology**, v. 7, n. 4, p. 265–275, 2006.

YANG, X. C.; WANG, B. C.; LIU, Y. Y.; DUAN, C. R.; DAI, C. Y. Biological effects of *Actinidia chinensis* callus on mechanical vibration. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 25, n. 3, p. 197–203, 2002.

ZWEIFEL, R.; ZEUGIN, F. Ultrasonic acoustic emissions in droughtstressed trees--more than signals from cavitation? **New Phytologist**. v. 179, n. 4, p. 1070–1079, 2008

ARTIGO 3

RESPOSTAS DE PLANTAS DE RABANETE (*Raphanus sativus* L.) A DIFERENTES FREQUÊNCIAS DE ONDAS MECÂNICAS

RESUMO – Os efeitos de ondas mecânicas em diversos estágios de crescimento de plantas têm sido recentemente relatados por diferentes autores, porém, existe ainda uma grande escassez de trabalhos que avaliam essas respostas em plantas de rabanete. Diante disso objetivou-se avaliar as respostas dessas plantas diante da exposição às ondas mecânicas a fim de obter dados de crescimento e produtividade. Para tanto, plantas de rabanete foram submetidas a diferentes frequências de ondas mecânicas (0, 300 e 1.000 Hz) sob intensidade de 60 dB durante uma hora. Ao fim do ciclo as plantas foram avaliadas quanto a sua massa fresca de raízes e parte aérea, diâmetros longitudinal e transversal da raiz axial e teor de água da parte aérea. Foi observado que plantas tratadas com frequência de 300 Hz apresentaram maiores massas fresca de parte aérea e raízes, bem como maiores diâmetros longitudinal e transversal da raiz axial. Plantas tratadas com frequências de 300 e 1.000 Hz apresentaram maior teor de água na parte aérea. Conclui-se que a aplicação de frequência de 300 Hz resultou em plantas de maior interesse comercial.

Palavras-chaves: ondas sonoras; desenvolvimento vegetal; neurobiologia vegetal; produção vegetal.

RADISH PLANT RESPONSES (*Raphanus sativus*) TO DIFFERENT FREQUENCY MECHANICAL WAVES

ABSTRACT - The effects of mechanical waves in various stages of growth of plants have recently been reported by several authors. However, there is still a great shortage of data which evaluate these responses in radish plants. Then the objective of this article was to evaluate the responses of these plants to mechanical waves in order to achieve growth and productivity data. To this end, radish plants were submitted to different mechanical wave frequencies (0 Hz, 300 Hz and 1000 Hz) under 60 dB of intensity during one hour. At the end of the cycle the plants were evaluated as their fresh mass of roots and shoots, longitudinal and transverse diameters of taproot and water content of the shoot. It was observed that plants treated with frequency of 300 Hz showed greater masses of shoot and roots, as well as bigger longitudinal and transverse diameters of taproot. Plants treated with frequencies of 300 Hz and 1000 Hz had higher water content in aerial part which did not statistically differ among themselves. It is concluded that the application of frequency of 300 Hz resulted in increased commercial interest.

Keywords: sound waves, plant development, plant neurobiology, plant production.

Introdução

Os efeitos de ondas mecânicas em diversos estágios de crescimento de plantas têm sido recentemente relatados por diversos autores, que perceberam alterações na germinação, desenvolvimento inicial, expressão gênica e atividades metabólicas (BOCHU et al., 2003; BOCHU et al., 2004; JEONG et al., 2007; LI et al., 2008). A maioria desses trabalhos relata a avaliação de respostas de plantas mediante a aplicação de frequências de ondas mecânicas audíveis pelo ser humano, denominadas ondas sonoras e com frequências que variam de 20 a 20.000 Hz (CAI et al., 2014). Embora já sejam encontradas em trabalhos científicos evidências da resposta de plantas a essas ondas, ainda não se sabe ao certo como essas respostas são desencadeadas.

O rabanete é uma hortaliça cultivada no Brasil principalmente por pequenos produtores do Estado de Minas Gerais (VIDGAL e PEDROSA, 2007). Pouco se sabe sobre os efeitos de aplicação de ondas sonoras no crescimento e desenvolvimento do rabanete, bem como demais características agrônômicas de interesse, tais como diâmetro e comprimento de raízes.

As causas dos efeitos decorrentes de fatores ambientais tais como luz, umidade e temperatura em plantas são relativamente bem conhecidos e descritos, porém, pouco se sabe a respeito dos mecanismos de detecção e ação das ondas mecânicas.

Para a detecção das ondas desconfia-se de um fenômeno denominado mecanossensibilidade, a capacidade intrínseca de perceber e responder a perturbações mecânicas, que todos os organismos exibem a fim de crescer e se desenvolver (GAGLIANO, 2012). Todos os organismos, de bactérias a animais multicelulares e plantas, devem sentir e responder à força mecânica no seu meio externo (por exemplo, à força de cisalhamento, à gravidade, ao toque) e no seu meio interno (incluindo a pressão osmótica e a deformação da membrana) para o bom crescimento e desenvolvimento (GILLESPIE e WALKER, 2001; HAMILL e MARTINAC, 2001; SUKHAREV e COREY, 2004; KUNG, 2005; VOGEL e SHEETZ, 2006; SACHS, 2010). Embora exista uma diversidade estrutural ampla, e esta pareça ter evoluído para acomodar a necessidade fisiológica de detectar forças de diferentes magnitudes (SUKHAREV e ANISHKIN, 2004), canais de mecanossensibilidade em diferentes organismos podem servir, no entanto, para funções semelhantes (GAGLIANO, 2012). Arnadóttir e Chalfie (2010) observaram que em animais, por exemplo, alguns canais de mecanossensibilidade estão implicados na percepção de estímulos mecânicos, tais como

toque e sons indicativos do ambiente onde esses animais estão inseridos, como, por exemplo, vozes, sons provocados por movimentos de árvores e cursos d'água e sensibilidade ao toque por insetos ectoparasitas e demais hematófagos. Existem evidências que sugerem que os canais de mecanossensibilidade ligados a mudanças nos fluxos de íons (principalmente em Ca^{2+} citossólico) podem desempenhar uma função semelhante em plantas (HASWELL et al., 2008) e, portanto, este pode ser um ponto de partida fértil para investigar as vias de resposta desencadeada por estímulos acústicos (GAGLIANO, 2012).

Devido à grande carência de trabalhos que avaliam o comportamento de plantas de rabanete diante da exposição a ondas mecânicas, este trabalho objetivou avaliar as respostas de plantas de rabanete a essa exposição de ondas a fim de obter dados a respeito da possível influência no crescimento e produtividade.

Material e métodos

Foram semeadas no dia 23/3/2016 três sementes de rabanete cultivar Sparkler por vaso contendo uma mistura 1:1 de solo latossolo vermelho distrófico típico (retirado do terreno na UFSJ *campus* Sete Lagoas) e substrato comercial Terra Vegetal VitaPlam[®]. Os vasos foram mantidos em casa de vegetação com temperatura e umidade controladas até o desmonte do experimento e foram realizadas irrigações em dias alternados, mantendo-se o substrato úmido. A umidade relativa do ar dentro da estufa foi mantida em torno de 80%, tendo a temperatura mínima variado de 13,7 a 16,8 °C e a temperatura máxima de 23,7 a 27,9 °C.

Aproximadamente um mês após emergência (dia 28/4/2016) e com quatro folhas completamente formadas, as plantas foram submetidas aos tratamentos com ondas sonoras sendo divididas aleatoriamente em três grupos de seis vasos (18 vasos no total). O tratamento 1 consistiu na aplicação de frequência de 1.000 Hz à intensidade sonora de 50 dB durante uma hora. O tratamento 2 consistiu na aplicação de frequência de 300 Hz à intensidade sonora de 50 dB durante uma hora. O tratamento 3 foi aplicado ao grupo controle e consistiu no isolamento das plantas durante uma hora. Todos os tratamentos tiveram início às 12 horas e término às 13 horas.

Após os tratamentos as plantas retornaram à casa de vegetação e foram mantidas sob as mesmas condições descritas anteriormente até o desmonte do experimento, no dia 25/5/2016.

Na ocasião do desmonte foram medidos os diâmetros transversal e longitudinal de raízes e massa fresca de raízes e parte aérea. As partes aéreas foram deixadas secando em sacos de papel até atingirem peso constante e então foram obtidos os dados de massa seca da parte aérea. De posse dos dados de massa seca e fresca da parte aérea foi calculado o teor de água da parte aérea e os dados de diâmetro foram utilizados para cálculo da relação diâmetro transversal/diâmetro longitudinal.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) para verificar a existência de homogeneidade de massa fresca de raízes e parte aérea, massa seca da parte aérea, diâmetros transversal e longitudinal, teor de água da parte aérea e relação diâmetro transversal/longitudinal em função da variável frequência. Verificada a existência ou não de homogeneidade, as médias dos resultados dos tratamentos foram analisadas pelo teste intervalo de confiança de 95%.

Resultados

A massa fresca de raízes variou em função das frequências testadas ($F_{(2, 15)} = 64,094$, $p < 0,001$). O tratamento com frequência de 300 Hz resultou em plantas com maior média de massa fresca de raízes (21 g). As plantas tratadas com frequência de 1.000 Hz também obtiveram média de massa fresca de raízes (15 g) maior do que as plantas do grupo controle (figura 1).

Tal como o observado para a massa fresca de raiz, a massa fresca da parte aérea também variou em função das frequências testadas ($F_{(2, 15)} = 147,370$, $p < 0,001$). Como pode ser observado na figura 2, o tratamento com frequência de 300 Hz resultou em plantas com maior massa fresca da parte aérea, seguido pelo tratamento com frequência de 1.000 Hz, e a menor média de massa fresca da parte aérea foi observada naquelas plantas deixadas em isolamento (grupo controle).

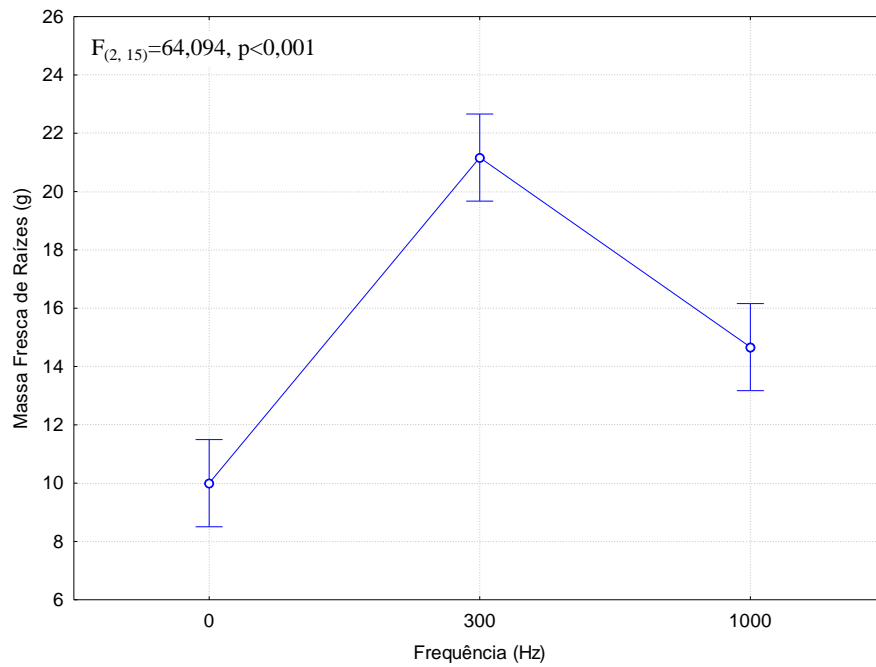


Figura 1 – Efeito da frequência mecânica na massa fresca de raízes. As medidas de dispersão representam intervalo de confiança de 95%. A sobreposição do intervalo de confiança de um tratamento sobre a média de outro tratamento indica igualdade estatística. Frequência 0 Hz = controle.

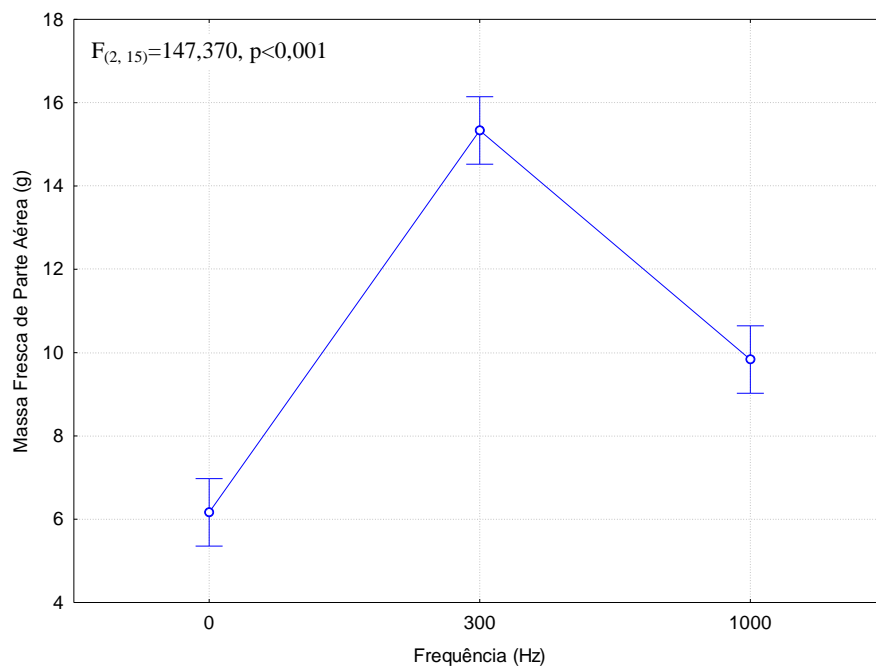


Figura 2 – Efeito da frequência mecânica na massa fresca da parte aérea. As medidas de dispersão representam intervalo de confiança de 95%. A sobreposição do intervalo de confiança de um tratamento sobre a média de outro tratamento indica igualdade estatística. Frequência 0 Hz = controle.

Comportamento semelhante ao observado para as massas frescas foi observado para o parâmetro de diâmetro transversal da raiz axial, tendo ele variado em função da frequência

testada ($F_{(2, 14)} = 61,159, p < 0,001$). Como pode ser visto na figura 3, novamente o tratamento com frequência de 300 Hz resultou em plantas com maior diâmetro transversal (média de 3,75 cm), seguido pelo tratamento com plantas tratadas com frequência de 1.000 Hz. O tratamento com plantas deixadas em isolamento (grupo controle) resultou nos menores valores de diâmetro transversal da raiz obtidos.

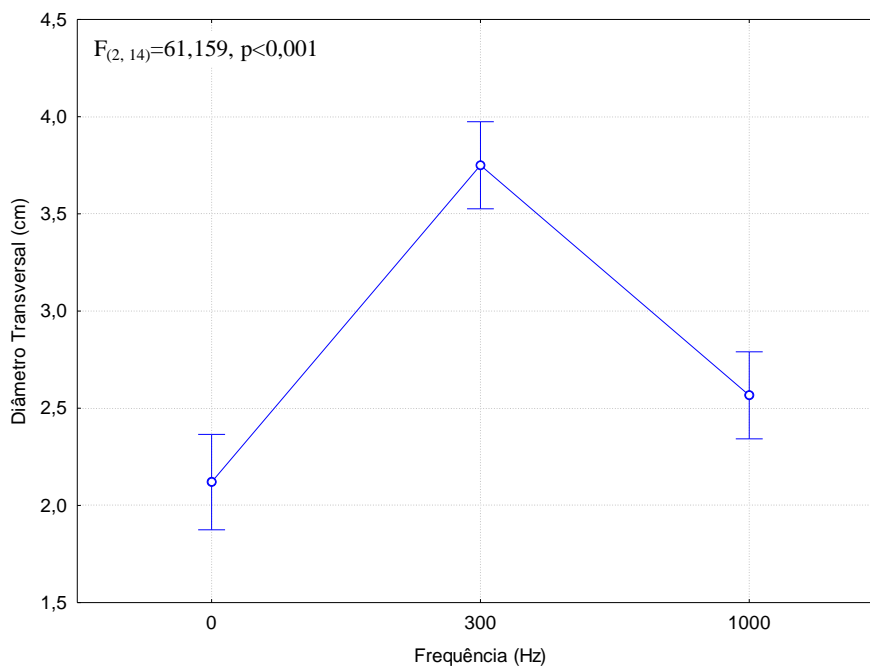


Figura 3 – Efeito da frequência mecânica no diâmetro transversal da raiz axial. As medidas de dispersão representam intervalo de confiança de 95%. A sobreposição do intervalo de confiança de um tratamento sobre a média de outro tratamento indica igualdade estatística. Frequência 0 Hz = controle.

O diâmetro longitudinal da raiz axial variou em função da frequência testada ($F_{(2, 14)} = 40,018, p < 0,001$). Como pode ser visto na figura 4, o tratamento com frequência de 300 Hz resultou em plantas com maior diâmetro longitudinal (média de 3 cm). As plantas tratadas com frequência de 1.000 Hz obtiveram média de diâmetro longitudinal (aproximadamente 1,9 cm) estatisticamente semelhante à média obtida pelas plantas deixadas em isolamento (grupo controle).

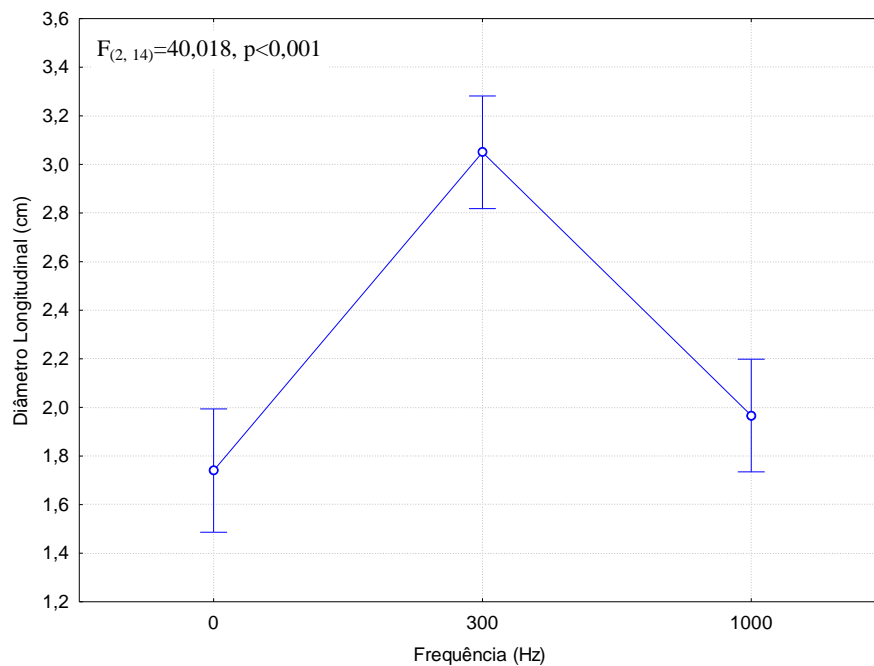


Figura 4 – Efeito da frequência mecânica no diâmetro longitudinal da raiz axial. As medidas de dispersão representam intervalo de confiança de 95%. A sobreposição do intervalo de confiança de um tratamento sobre a média de outro tratamento indica igualdade estatística. Frequência 0 Hz = controle.

O teor de água da parte aérea também variou em função da frequência testada ($F_{(2, 15)} = 22,077$, $p < 0,001$). Como pode ser visto na figura 5, os tratamentos com frequências de 300 e 1.000 Hz resultaram em plantas com maior teor de água da parte aérea sendo que esses dois grupos apresentaram resultados estatisticamente semelhantes. As plantas tratadas com essas frequências obtiveram média de teor de água da parte aérea variando de 94,5% a 95% enquanto que no grupo controle essa média foi de 93%.

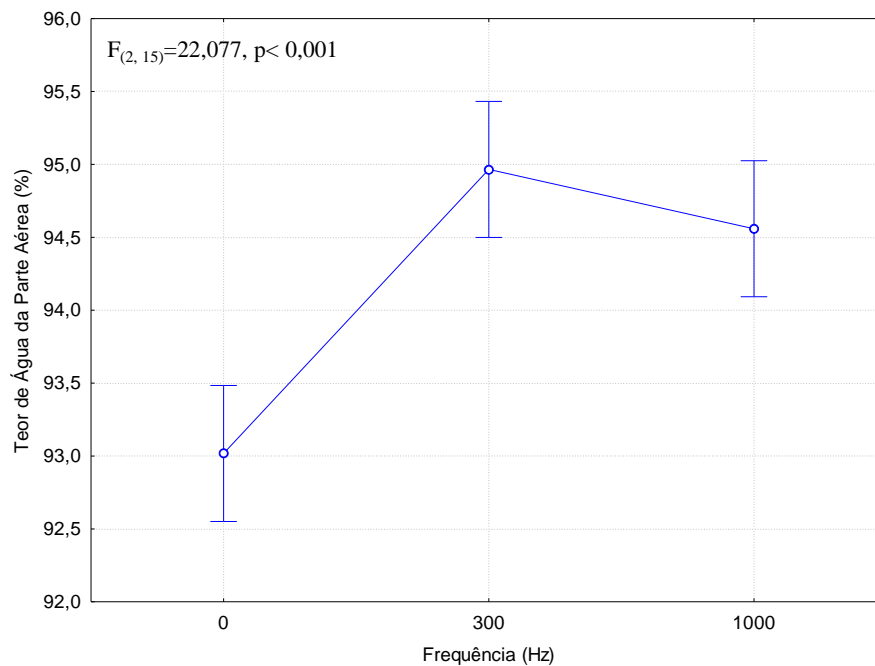


Figura 5 – Efeito da frequência mecânica no teor de água da parte aérea. As medidas de dispersão representam intervalo de confiança de 95%. A sobreposição do intervalo de confiança de um tratamento sobre a média de outro tratamento indica igualdade estatística. Frequência 0 Hz = controle.

Discussão

Observou-se que o tratamento com frequência de 300 Hz proporcionou plantas de maior massa tanto em parte aérea quanto em seu órgão de interesse, a raiz. Os maiores diâmetros transversal e longitudinal de raiz axial apresentados pelas plantas tratadas com frequência de 300 Hz demonstram que esta frequência proporcionou raízes maiores. É observado também que a aplicação de frequências, tanto a de 300 Hz quanto a de 1.000 Hz, proporcionou maior acúmulo de água na parte aérea, o que indica que essas frequências representaram para as plantas algum estímulo ambiental que pode ter ocasionado uma maior absorção de água.

Yang et al. (2002), testando o efeito da aplicação de ondas mecânicas em calos de kiwi, deduziram que determinado intervalo de frequência ocasiona vibrações mecânicas que reduzem a temperatura de transição, que é a temperatura na qual o lipídio é convertido do estado líquido normal para um gel cristalino em que o movimento da cadeia de ácidos graxos dos fosfolípidos fica restrita (KARP, 2005). Desse modo, reduzindo-se a temperatura em que a membrana se tornaria mais rígida, é possível obter melhorias na fluidez da membrana plasmática e, conseqüentemente, aceleração da divisão e crescimento celular. Essa aceleração está relacionada à alteração da fluidez da membrana celular, que permite a melhoria das

interações e processos básicos dentro dessa, tais como crescimento e divisão celular, formação de junções intercelulares, secreção e endocitose. Esses processos dependem do movimento dos componentes de membrana e provavelmente seriam impossíveis em uma estrutura rígida (KARP, 2005).

Adicionalmente, Yang et al. (2002) afirmam que o potencial elétrico da membrana pode ser alterado devido à exposição às vibrações mecânicas e a abertura ou fechamento de alguns canais de íons pode causar mudanças de concentração entre os dois lados da membrana celular e também pode mudar o potencial elétrico da membrana, o que vai induzir à secreção de auxina e outras substâncias do interior da célula que podem afetar o crescimento.

Yamana et al. (2015) relatam a variação do peso fresco de rebentos de rabanete tratados com ultrassom (40 kHz) com variação de pressão sonora (0, 33,4, 78,9 e 136,4 kPa) sendo observado que o aumento da pressão sonora ocasionou a redução do acúmulo de massa fresca. Esses resultados corroboram os apresentados em nosso trabalho, demonstrando a capacidade de plantas de rabanete de responder a aplicação de ondas mecânicas.

Yoshino et al., (2012), testando os efeitos da aplicação de baixas frequências de som em brotos de rabanete, sugeriram que a exposição ao som de baixa frequência com 50 Hz poderia precipitar a germinação e incrementar o crescimento e as composições nutricionais em brotos de rabanete. Essas afirmações reforçam a capacidade de plantas de rabanete em responder à aplicação de frequências mecânicas principalmente no tocante ao crescimento e desenvolvimento.

Conclusão

A aplicação de ondas mecânicas sob a frequência de 300 Hz nas plantas de rabanete proporcionou um incremento em massa fresca de raiz e parte aérea de aproximadamente 52% e 60%, respectivamente, além de maiores diâmetros de raiz, resultando em plantas de maior interesse comercial.

Artigos que relatam resultados da aplicação de ondas mecânicas, sejam elas sonoras ou não, em plantas de rabanete são ainda praticamente inexistentes na literatura atual, sendo muito difícil comprar os resultados encontrados no presente artigo.

Outros artigos existentes que abordam outras espécies vegetais raramente avaliam os mesmos parâmetros avaliados no presente trabalho (crescimento e produtividade), sendo ainda mais difícil a comparação dos resultados deste trabalho.

REFERÊNCIAS

- ARNADARNADÓTTIR, J.; CHALFIE, M. Eukaryotic mechanosensitive channels. **Annual Review of biophysics**, v. 39, p. 111–137, 2010.
- BOCHU, W.; XIN, C.; ZHEN, W.; QIZHONG, F.; HAO, Z.; LIANG, R.. Biological effect of sound field stimulation on paddy rice seeds. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 32, n. 1, p. 29–34, 2003.
- BOCHU, W.; JIPING, S.; BIAO, L.; JIE, L.; CHUANREN, D. Soundwave stimulation triggers the content change of the endogenous hormone of the Chrysanthemum mature callus. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 37, n. 3-4, p. 107–112, 2004.
- CAI, W.; HE, H.; ZHU, S.; WANG, N. Biological effect of audible sound control on Mung Bean (*Vigna radiate*) Sprout. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 1–6, 2014.
- GAGLIANO, M. Green symphonies: A call for studies on acoustic communication in plants. **Behavioral Ecology**, v. 24, n. 4, p. 789–796, 2012.
- GILLESPIE, P. G.; WALKER, R. G. Molecular basis of mechanosensory transduction. **Nature**, v. 413, n. 6852, p. 194–202, 2001.
- HAMILL, O. P.; MARTINAC, B. Molecular basis of mechanotransduction in living cells. **Physiological Reviews**, v. 81, n. 2, p. 685–740, 2001.
- HASWELL, E. S.; PEYRONNET, R.; BRYGOO, H. B.; MEYEROWITZ, E. M.; FRACHISSE, J. M. Two mscS homologs provide mechanosensitive channel activities in the Arabidopsis Root. **Current Biology**, v. 18, n. 10, p. 730–734, 2008.
- JEONG, M. J.; SHIM, C . K. L.; JIN, O.; KWON, H. B.; KIM, YANG, H. L.; SEONG, K. B. MYEONG, O.; PARK, S. ChulPlant gene responses to frequency-specific sound signals. **Molecular Breeding**, v. 21, n. 2, p. 217–226, 2007.
- KUNG, C. A possible unifying principle for mechanosensation. **Nature**, v. 436, n. 7051, p. 647–654, 2005.
- LI, B.; WEI, J.; WEI, X.; TANG, K.; LIANG, Y.; SHU, K.; BOCHU, W. Effect of sound wave stress on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation of *Dendrobium candidum*. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 63, n. 2, p. 269–275, 2008.
- SACHS, F. Stretch-Activated Ion Channels: What Are They? **Physiology (Bethesda)**, v. 25, n. 1, p. 50–56, 2010
- SUKHAREV, S.; ANISHKIN, A. Mechanosensitive channels: What can we learn from “simple” model systems? **Trends in Neurosciences**, v. 27, n. 6, p. 345–351, 2004.
- SUKHAREV, S.; COREY, D. P. Mechanosensitive channels: multiplicity of families and gating paradigms. **Science’s STKE : Signal Transduction Knowledge Environment**, n. 219, p. 1 – 16, 2004

VIDGAL, S. M.; PEDROSA, M. W. Rabanete (*Raphanus sativus* L.). In: PAULA JUNIOR, T. J.; VENZON, M. **101 Culturas: Manual de Tecnologias Agrícolas**. Belo Horizonte. EPAMIG, 2007. p. 661 -664.

VOGEL, V.; SHEETZ, M. Local force and geometry sensing regulate cell functions. **Nature Reviews. Molecular Cell Biology**, v. 7, n. 4, p. 265–275, 2006.

YAMANA, M.; ABE, T.; BABA, T.; TSUBAKIHARA, K.; KURIYAMA, A.; OHUCHI, M. Effects of ultrasonic pressure on growth and antioxidant activity of *Raphanus sativus* L. sprouts (Japanese Radish sprouts). **Journal of Society of High Technology in Agriculture (J.SHITA)**, v 27, n. 2, p. 91 – 96, 2015.

YANG, X. C.; WANG, B. C.; LIU, Y. Y.; DUAN, C. R.; DAI, C. Y. Biological effects of *Actinidia chinensis* callus on mechanical vibration. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 25, n. 3, p. 197–203, 2002.

YOSHINO, K.; KAWAMURA, K.; GOH, T.; SENGA, J.; NAKATOGAWA, T.; FOKUDA, K. Effects of low frequency sound on growth of *Raphanus sativus* L.var. *longipinnatus* L. H. Bailey. **Memoirs of Numazu College of Technology**. v. 46, p. 321–324. 2012.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Sabendo-se que as melhores frequências para crescimento de plantas e para padrões germinativos em sementes foram próximas (200 e 300 Hz), conclui-se que talvez exista uma frequência ótima que proporcione estímulo do desenvolvimento do milho em todos os seus estágios e que as frequências que ocasionam respostas em plantas podem ser parecidas mesmo em plantas de famílias distintas.

Um fato interessante a ser salientado é que, nos trabalhos já apresentados na literatura, os resultados são obtidos sob altas intensidades sonoras (em média 100 dB), porém, neste estudo foram obtidos resultados sob frequências mais baixas (60 dB) e mais próximas do que é de fato encontrado em condições naturais.

Os resultados encontrados para o milho permitem inferir a respeito do possível aumento de produtividade para as plantas quando estas são tratadas sob as frequências adequadas no estágio V5 e em estágio pré-germinativo, porém, ainda são necessários estudos acompanhando as plantas até o fim do ciclo para que se possa ter certeza a respeito do incremento da produtividade.

Para todos os artigos apresentados deve-se ainda acrescentar que é necessária a continuidade e aprofundamento dos trabalhos para que se chegue a conclusões concretas a respeito do tema abordado, descobrindo-se os mecanismos citológicos e moleculares envolvidos.