



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

BEATRIZ LARISSA DE SOUSA

**EFEITO DO PRIMING COM DOADORES DE ÓXIDO
NÍTRICO NANOENCAPSULADOS SOBRE A
GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL DE TRIGO
SUBMETIDO À DEFICIÊNCIA HÍDRICA**

Londrina - PR
2023

BEATRIZ LARISSA DE SOUSA

**EFEITO DO PRIMING COM DOADORES DE ÓXIDO
NÍTRICO NANOENCAPSULADOS SOBRE A
GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL DE TRIGO
SUBMETIDO À DEFICIÊNCIA HÍDRICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito à obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Halley Caixeta de Oliveira
Co-orientador: Prof. Dr. Claudemir Zucareli

Londrina - PR
2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Souza, Beatriz Larissa de.

Efeito do priming com doadores de óxido nítrico nanoencapsulados sobre a germinação e crescimento inicial de trigo submetido à deficiência hídrica / Beatriz Larissa de Souza. - Londrina, 2023.
84 f. : il.

Orientador: Halley Caixeta de Oliveira.

Coorientador: Claudemir Zucareli.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2023.

Inclui bibliografia.

1. Seca - Tese. 2. Reguladores de crescimento vegetal - Tese. 3. Germinação de sementes - Tese. 4. Nanotecnologia - Tese. I. Oliveira, Halley Caixeta de . II. Zucareli, Claudemir. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

CDU 63

BEATRIZ LARISSA DE SOUSA

**EFEITO DO PRIMING COM DOADORES DE ÓXIDO NÍTRICO
NANOENCAPSULADOS SOBRE A GERMINAÇÃO E
CRESCIMENTO INICIAL DE TRIGO SUBMETIDO À DEFICIÊNCIA
HÍDRICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito à obtenção do título de Mestre em Agronomia.

BANCA EXAMINADORA

• Orientador: Prof. Dr. Halley Caixeta de Oliveira
Universidade Estadual de Londrina - UEL

• Prof. Dr. André Sampaio Ferreira
Universidade Estadual de Londrina – UEL

• Profa. Dr. Carolina Maria Gaspar de Oliveira
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 28 de julho de 2023.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente e acima de tudo agradeço a Deus por me dar discernimento, confiança e todo suporte para enfrentar todos os desafios.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Halley Caixeta de Oliveira, e ao meu Co-Orientador, Prof. Dr. Claudemir Zucareli, pela orientação e principalmente por todo apoio ao longo destes anos.

A Prof^a. Dr^a Amedea Barozzi Seabra, do Centro de Ciências Naturais e Humanas da Universidade Federal do ABC – Campus Santo André, por fornecer a nanoformulção objeto de estudo desse trabalho.

À minha família, sem o apoio dos meus irmãos Guilherme Vinicius de Souza e Leonardo Henrique de Souza eu não conseguiria finalizar meus projetos, e um agradecimento especial ao meu pai Elias Barros de Souza e minha mãe Alvina Rodrigues de Souza pelo amor incondicional que me permite correr atrás de todos os meus sonhos.

Ao Prof. Dr. José Antonio Pimenta docente da Universidade Estadual de Londrina e a Prof^a. Dr^a. Juliana Sawada Buratto do Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná.

Ao estagiário, mestrando, doutorando, pós-doutorandos e docentes do laboratório de Fisiologia vegetal que sempre estiveram dispostos a auxiliar nos experimentos e análises contidos nesta dissertação.

À Universidade Estadual de Londrina, ao Programa de Pós-graduação em Agronomia, e a todos os docentes que contribuíram com a minha formação e meu trabalho.

Aos membros que aceitaram compor a banca de defesa Prof.Dr André Sampaio Ferreira e a Prof^a. Dr^a. Carolina Maria Gaspar de Oliveira, pela presença, contribuição e aceite de participar deste momento especial para mim.

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

E a todos que passaram por minha vida durante meu período de formação e de algum modo contribuíram com meu trabalho, espero que se sintam contemplados, meu muito obrigado.

“Um dos grandes pecados da escola é
desconsiderar tudo com que a criança
chega a ela. A escola decreta que
antes dela não há nada”.
(Paulo Freire)

SOUSA, B. L. **Efeito do priming com doadores de óxido nítrico nanoencapsulados sobre a germinação e crescimento inicial de trigo submetido à deficiência hídrica**. 2023. 84f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2023.

RESUMO

O óxido nítrico (NO) é uma molécula sinalizadora que auxilia as plantas na tolerância ao déficit hídrico, através de interação com hormônios vegetais. Porém, o NO é um gás relativamente instável e de difícil manuseio. A nanotecnologia é uma estratégia que permite desenvolver carreadores poliméricos para doadores de NO, protegendo-os contra a degradação prematura e garantindo a liberação sustentada de NO. O objetivo foi identificar o efeito do priming de sementes com nanopartículas liberadoras de NO no processo germinativo e crescimento inicial de plantas de trigo sob condições de déficit hídrico em ambiente de laboratório e casa de vegetação, comparando-se com o doador de NO não-nanoencapsulado. Os experimentos *in vitro* foram realizados em delineamento causalizado com 4 repetições, e os em casa de vegetação em delineamento em blocos com 4 repetições. O primeiro ensaio foi uma curva de nanopartículas de quitosana contendo o doador de NO ácido S-nitroso-mercaptossuccínico (NP-MSNO) ou S-nitrosoglutationa (NP-GSNO), nas doses: 0; 62,5; 125; 250, 500 e 1000 μM . Já o segundo e terceiro experimento *in vitro*, compararam os efeitos do priming com água, NP-GSNO, NP-MSNO, ácido S-nitroso-mercaptossuccínico livre (MSNO), S-nitrosoglutationa livre (GSNO) e nanopartículas de quitosana sem doador de NO (NP), bem como sem o priming (SP) sem e com déficit hídrico respectivamente. O quarto e o quinto experimento foram realizados em casa de vegetação, com os mesmos tratamentos do segundo, dividido em condições sem e com déficit hídrico respectivamente. Os parâmetros avaliados foram: germinação (G), primeira contagem de germinação (PC), comprimento de parte aérea (CPA) e raiz (CR) e massa seca de parte aérea (MSPA) e raiz (MSR), área foliar (AF), conteúdo relativo de água (CRA), análise de pelos e arquitetura de raiz, teores de clorofilas, nitrosotóis (RSNO), peroxidação lipídica (MDA) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Os dados foram submetidos à análise de variância seguida pelo teste de Scott-Knott quando necessário ($P < 0,05$). Já os dados da curva de dose-resposta foram submetidos a uma análise de regressão. A dose de 500 μM demonstrou as melhores respostas para CPA, CR, MSPA e MSR para os tratamentos NP-GSNO e NP-MSNO. Quando aplicado deficiência hídrica em teste de laboratório todos os primings levaram a incrementos no comprimento de plântula em relação ao controle, nessas condições os tratamentos NP-MSNO e NP-GSNO proporcionaram elevações na PC, G, RSNO, teores de clorofila totais, incidência de pelos absorventes e redução nos teores de peróxido de hidrogênio comparada a todos os demais tratamentos. Quando testado os tratamentos em casa de vegetação sem déficit hídrico o tratamento NP-GSNO elevou a quantidade média de pelos absorventes e RSNO em parte aérea comparado a todos os tratamentos. Os doadores nanoencapsulados sob deficiência hídrica proporcionaram ganhos em comprimento de raiz, CRA e RSNO em parte aérea e raiz. O NP-GSNO também aumentou a incidência e quantidade média de pelos absorventes na raiz, além da condutância estomática em condições de estresse. De modo geral, o priming com os doadores de NO nanoencapsulados proporcionou benefícios para germinação e vigor de plântulas de trigo sob déficit hídrico. Em especial, a GSNO nanoencapsulada promoveu melhores respostas, que se mantiveram no ambiente de casa de vegetação por períodos superior a 30 dias de tratamento.

Palavras-chave: Seca. Reguladores do crescimento vegetal. Germinação de sementes. Nanotecnologia. *Triticum aestivum* L.

SOUSA, B. L. **Effect of priming with nanoencapsulated nitric oxide donors on the germination and initial growth of wheat submitted to water deficit.** 2023. 84f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2023.

ABSTRACT

Nitric oxide (NO) is a signaling molecule that helps plants tolerate water deficit through interaction with plant hormones. However, NO is a relatively unstable gas and difficult to handle. Nanotechnology is a strategy that allows the development of polymeric carriers for NO donors, protecting them against premature degradation and ensuring the sustained release of NO. The objective was to identify the effect of seed priming with NO-releasing nanoparticles on the germination process and initial growth of wheat plants under water deficit conditions in a laboratory and greenhouse environment, comparing it with the non-nanoencapsulated NO donor. The in vitro experiments were carried out in a randomized design with 4 replications, and those in a greenhouse in a block design with 4 replications. The first test was a curve of chitosan nanoparticles containing the NO donor S-nitroso-mercaptosuccinic acid (NP-MSNO) or S-nitrosoglutathione (NP-GSNO), at doses: 0; 62.5; 125; 250, 500 and 1000 μM . The second and third in vitro experiments compared the effects of priming with water, NP-GSNO, NP-MSNO, free S-nitroso-mercaptosuccinic acid (MSNO), free S-nitrosoglutathione (GSNO) and chitosan nanoparticles without NO (NP), as well as without priming (SP) with and without water deficit respectively. The fourth and fifth experiments were carried out in a greenhouse, with the same treatments as the second, divided into conditions without and with water deficit respectively. The evaluated parameters were: germination (G), first germination count (PC), length of shoot (CPA) and root (CR) and dry mass of shoot (MSPA) and root (MSR), leaf area (AF), relative water content (WRC), analysis of hairs and root architecture, chlorophyll, nitrosothiols (RSNO), lipid peroxidation (MDA) and hydrogen peroxide (H_2O_2) contents. Data were subjected to analysis of variance followed by the Scott-Knott test when necessary ($P < 0.05$). The data from the dose-response curve were submitted to a regression analysis. The 500 μM dose demonstrated the best responses for CPA, CR, MSPA and MSR for NP-GSNO and NP-MSNO treatments. When water deficit was applied in a laboratory test, all primings led to increases in seedling length in relation to the control, under these conditions the NP-MSNO and NP-GSNO treatments provided increases in PC, G, RSNO, total chlorophyll content, incidence of absorbent hairs and reduction in hydrogen peroxide levels detected in all other treatments. When the water treatment was tested in a greenhouse without water deficit, the NP-GSNO treatment increased the average amount of absorbent hairs and RSNO in shoots compared to all treatments. Nanoencapsulated donors under water deficit provide gains in root length, WHC and RSNO in shoot and root. NP-GSNO also increased the incidence and average amount of absorptive hairs on the root, in addition to stomatal conductance under stress conditions. In general, priming with nanoencapsulated NO donors brought benefits to germination and seedling vigor of wheat under water deficit. In particular, a nanoencapsulated GSNO promoted better responses, which were maintained in the greenhouse environment for periods greater than 30 days of treatment.

Keywords: Drought. Plant growth regulators. Seed germination. Nanotechnology. *Triticum aestivum* L.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** - (A) Precipitação média do mês de novembro (mm), (B) temperatura média (°C) do mês de novembro, (C) precipitação média do mês de dezembro (mm) e (D) temperatura média (°C) do mês de dezembro. Os dados são referentes ao período de experimento em casa de vegetação (novembro e dezembro de 2022).41
- Figura 2** - Efeito do priming com diferentes doses de nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptosuccínico (NP-MSNO) sobre (A) primeira contagem de germinação, (B) porcentagem de germinação, (C) comprimento da parte aérea, (D) comprimento da raiz, (E) massa seca da parte aérea e (F) massa seca da raiz de plântulas de trigo da cultivar BRO 303. Os dados representam médias (n = 4)..46
- Figura 3** - Efeito do priming com diferentes doses de nanopartículas de quitosana contendo S-nitrosoglutationa (NP-GSNO) sobre (A) primeira contagem de germinação, (B) porcentagem de germinação, (C) comprimento da parte aérea, (D) comprimento da raiz, (E) massa seca da parte aérea e (F) massa seca da raiz (F) de plântulas de trigo da cultivar BRO 303. Os dados representam médias (n = 4).....47
- Figura 4** - (A) Conteúdo de peróxido de hidrogênio, (B) peroxidação lipídica, (C) nitrosotióis e (D) conteúdo relativo de água de plântulas de trigo da cultivar RBO 303 em função dos primings com nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptosuccínico (NP-MSNO) ou S-nitrosoglutationa (NP-GSNO), doadores livres ácido S-nitroso-mercaptosuccínico (MSNO) e S-nitrosoglutationa (GSNO), nanopartículas de quitosana vazias (NP) e água (ÁGUA), além do controle sem priming (SP) com déficit hídrico. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem de acordo com o teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Os dados são médias \pm erro padrão (n = 4)..... 52
- Figura 5** - Plântulas provenientes dos tratamentos com diferentes primings de sementes de trigo. (A) Água, (B) Controle sem priming, (C) Nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptosuccinico, (D) Nanopartículas de quitosana contendo S-nitrosoglutationa, (E) Ácido S-nitroso-mercaptosuccínico livre, (F) S-nitrosoglutationa livre e (G)

Nanopartícula de quitosana sem doador de NO.53

Figura 6 - (A) Condutância estomática, (B) área foliar, (C) índice SPAD e (D) conteúdo relativo de água de plântulas de trigo da cultivar RBO 303 em função dos primings com nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptopuccínico (NP-MSNO) ou S-nitrosoglutationa (NP-GSNO), doadores livres ácido S-nitroso-mercaptopuccínico (MSNO) e S-nitrosoglutationa (GSNO), nanopartículas de quitosana vazias (NP) e água (ÁGUA), além do controle sem priming (SP), em casa de vegetação sem déficit hídrico. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem de acordo com o teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Os dados são médias \pm erro padrão ($n = 4$).56

Figura 7 - (A) Conteúdo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em parte aérea, (B) conteúdo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) na raiz, (C) nitrosotióis (RSNO) em parte aérea, (D) nitrosotióis (RSNO) na raiz, (E) peroxidação lipídica (MDA) em parte aérea e (F) peroxidação lipídica (MDA) na raiz de plântulas de trigo da cultivar RBO 303 em função dos primings com nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptopuccínico (NP-MSNO) ou S-nitrosoglutationa (NP-GSNO), doadores livres ácido S-nitroso-mercaptopuccínico (MSNO) e S-nitrosoglutationa (GSNO), nanopartículas de quitosana vazias (NP) e água (ÁGUA), além do controle sem priming (SP), em casa de vegetação sem déficit hídrico. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem de acordo com o teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Os dados são médias \pm erro padrão ($n = 4$).57

Figura 8 - Vasos do experimento em casa de vegetação sem déficit hídrico, provenientes dos diferentes tratamentos das sementes: (A) Água, (B) Controle sem priming, (C) Nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptopuccínico, (D) Nanopartículas de quitosana contendo S-nitrosoglutationa, (E) Ácido S-nitroso-mercaptopuccínico livre, (F) S-nitrosoglutationa livre e (G) Nanopartícula de quitosana sem doador de NO.58

Figura 9 - Plantas do experimento em casa de vegetação sem déficit hídrico, provenientes dos diferentes tratamentos das sementes: (A) Água, (B) Controle sem priming, (C) Nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptopuccínico, (D) Nanopartículas de quitosana contendo S-

nitrosoglutationa, (E) Ácido S-nitroso-mercaptosuccínico livre, (F) S-nitrosoglutationa livre e (G) Nanopartícula de quitosana sem doador de NO.....59

Figura 10 - (A) Condutância estomática, (B) área foliar, (C) índice SPAD e (D) conteúdo relativo de água de plântulas de trigo da cultivar RBO 303 em função dos primings com nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptosuccínico (NP-MSNO) ou S-nitrosoglutationa (NP-GSNO), doadores livres ácido S-nitroso-mercaptosuccínico (MSNO) e S-nitrosoglutationa (GSNO), nanopartículas de quitosana vazias (NP) e água (ÁGUA), além do controle sem priming (SP), em casa de vegetação com déficit hídrico. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem de acordo com o teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Os dados são médias \pm erro padrão ($n = 4$).....62

Figura 11 - (A) Conteúdo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em parte aérea, (B) conteúdo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) na raiz, (C) nitrosotióis (RSNO) em parte aérea, (D) nitrosotióis (RSNO) na raiz, (E) peroxidação lipídica (MDA) em parte aérea e (F) peroxidação lipídica (MDA) na raiz de plântulas de trigo da cultivar RBO 303 em função dos primings com nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptosuccínico (NP-MSNO) ou S-nitrosoglutationa (NP-GSNO), doadores livres ácido S-nitroso-mercaptosuccínico (MSNO) e S-nitrosoglutationa (GSNO), nanopartículas de quitosana vazias (NP) e água (ÁGUA), além do controle sem priming (SP), em casa de vegetação com déficit hídrico. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem de acordo com o teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Os dados são médias \pm erro padrão ($n = 4$).....63

Figura 12 - Vasos do experimento em casa de vegetação com déficit hídrico, provenientes dos diferentes tratamentos das sementes: (A) Água, (B) Controle sem priming, (C) Nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptosuccínico, (D) Nanopartículas de quitosana contendo S-nitrosoglutationa, (E) Ácido S-nitroso-mercaptosuccínico livre, (F) S-nitrosoglutationa livre e (G) Nanopartícula de quitosana sem doador de NO.....65

Figura 13 - Plantas do experimento em casa de vegetação com déficit hídrico, provenientes dos diferentes tratamentos das sementes: (A) Água, (B)

Controle sem priming, (C) Nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptosuccinico, (D) Nanopartículas de quitosana contendo S-nitrosoglutationa, (E) Ácido S-nitroso-mercaptosuccínico livre, (F) S-nitrosoglutationa livre e (G) Nanopartícula de quitosana sem doador de NO.....66

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Atributos químicos e físicos do solo utilizado como substrato.....36
- Tabela 2** - Porcentagem de germinação total, primeira contagem de germinação, comprimento da parte aérea e da raiz e massa seca da parte aérea e da raiz de trigo da cultivar RBO 303 em função da dose de doadores de óxido nítrico nanoencapsulados.45
- Tabela 3** - Primeira contagem de germinação (PC), porcentagem de germinação total (G), comprimento de parte aérea (CPA) e da raiz (CR) ,massa seca de parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR) de plântulas de trigo da cultivar RBO 303 em função dos primings com nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptopuccínico (NP-MSNO) ou S-nitrosoglutationa (NP-GSNO), doadores livres ácido S-nitroso-mercaptopuccínico (MSNO) e S-nitrosoglutationa (GSNO), nanopartículas de quitosana vazias (NP) e água (ÁGUA), além do controle sem priming (SP) sem déficit hídrico.....48
- Tabela 4** - Primeira contagem de germinação (PC), porcentagem de germinação de sementes (G), comprimento de parte aérea (CPA) e da raiz (CR) ,massa seca de parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR) e Teor de clorofila totais (Clor Total) de plântulas de trigo da cultivar RBO 303 em função dos primings com nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptopuccínico (NP-MSNO) ou S-nitrosoglutationa (NP-GSNO), doadores livres ácido S-nitroso-mercaptopuccínico (MSNO) e S-nitrosoglutationa (GSNO), nanopartículas de quitosana vazias (NP) e água (ÁGUA), além do controle sem priming (SP) com déficit hídrico50
- Tabela 5** - Número de raízes (NR), incidência de pelos absorventes das raízes (IC), diâmetro médio de raízes (DM), comprimento (CP) e quantidade média de pelos absorventes (QMP) de plântulas de trigo da cultivar RBO 303 em função dos primings com nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptopuccínico (NP-MSNO) ou S-nitrosoglutationa (NP-GSNO), doadores livres ácido S-nitroso-mercaptopuccínico (MSNO) e S-nitrosoglutationa (GSNO), nanopartículas de quitosana vazias (NP) e água (ÁGUA), além do controle sem priming (SP) com déficit hídrico.....51

- Tabela 6** - Massa seca de parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR), comprimento de parte aérea (CPA) e raiz (CR) de plântulas de trigo da cultivar RBO 303 em função dos primings com nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptosuccínico (NP-MSNO) ou S-nitrosoglutationa (NP-GSNO), doadores livres ácido S-nitroso-mercaptosuccínico (MSNO) e S-nitrosoglutationa (GSNO), nanopartículas de quitosana vazias (NP) e água (ÁGUA), além do controle sem priming (SP), em casa de vegetação sem déficit hídrico.54
- Tabela 7** - Número (NR) de raízes, incidência de pelos absorventes das raízes (IC), diâmetro médio de raízes (DM), comprimento (CP) e quantidade média de pelos absorventes (QMP) de plântulas de trigo da cultivar RBO 303 em função dos primings com nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptosuccínico (NP-MSNO) ou S-nitrosoglutationa (NP-GSNO), doadores livres ácido S-nitroso-mercaptosuccínico (MSNO) e S-nitrosoglutationa (GSNO), nanopartículas de quitosana vazias (NP) e água (ÁGUA), além do controle sem priming (SP), em casa de vegetação sem déficit hídrico..55
- Tabela 8** - Massa seca de parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR), comprimento de parte aérea (CPA) e raiz (CR) de plântulas de trigo da cultivar RBO 303 em função dos primings com nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptosuccínico (NP-MSNO) ou S-nitrosoglutationa (NP-GSNO), doadores livres ácido S-nitroso-mercaptosuccínico (MSNO) e S-nitrosoglutationa (GSNO), nanopartículas de quitosana vazias (NP) e água (ÁGUA), além do controle sem priming (SP), em casa de vegetação com déficit hídrico.60
- Tabela 9** - Número (NR) de raízes, incidência de pelos absorventes das raízes (IC), diâmetro médio de raízes (DM), comprimento (CP) e quantidade média de pelos absorventes (QMP) de plântulas de trigo da cultivar RBO 303 em função dos primings com nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptosuccínico (NP-MSNO) ou S-nitrosoglutationa (NP-GSNO), doadores livres ácido S-nitroso-mercaptosuccínico (MSNO) e S-nitrosoglutationa (GSNO), nanopartículas de quitosana vazias (NP) e água (ÁGUA), além do controle sem priming (SP), em casa de vegetação com déficit hídrico.....61

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ψ_{os}	Potencial osmótico
%	Porcentagem
μg	Micrograma
μM	Micromolar
μm	Micrômetro
AF	Área foliar
ÁGUA	Priming com água
APX	Ascorbato peroxidase
C	concentração do agente osmótico
CAT	Catalase
Cloro totais	Teor de clorofila totais
CP	Comprimento de pelos absorventes
CPA	Comprimento de parte aérea
CR	Comprimento de raiz
CRA	Conteúdo relativo de água nas folhas
Cu^{2+}	Íons de cobre
CV	Coeficiente de variação
DIC	Delineamento inteiramente casualizado
DM	Diâmetro médio de raízes
ERNs	Espécies reativas de nitrogênio
EROs	Espécies reativas de oxigênio
FAA	Reagente solução de fixação Formaldeído-Ácido Acético Álcool
g	Gramas
G	Porcentagem de germinação de sementes
g_s	Condutância estomática
GSH	Glutationa reduzida
GSNO	S-nitrosoglutationa livre
GSNOR	S-nitrosoglutationa redutase
GSSG	Glutationa oxidada
h	Horas
H_2O_2	Peróxido de hidrogênio
IC	Incidência de pelos absorventes das raízes

índice SPAD Soil Plant Analysis Development
M Molar
MSA Ácido mercaptosuccínico
Máx Ponto máximo da curva
MDA Malondialdeído
mL Mililitro
mm² Milímetro quadrado
MPa Mega Pascal
MSNO Ácido S-nitroso-mercaptosuccínico
MSPA Massa seca de parte aérea
MSR Massa seca de raiz
NADH Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Reduzida
NaNO₂ Nitrito de sódio
NDR Número de raízes
NEM N-etilmaleimida
nM Nanomolar
NO Óxido nítrico
NP Nanopartículas de quitosana sem doador de NO
NP-GSNO Nanopartículas de quitosana contendo S-nitrosoglutationa
NP-MSNO Nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptosuccínico
NR Nitrato redutase
°C Graus celsius
PC Primeira contagem de germinação
PEG-6000 Polietileno glicol
POD Peroxidases
QMP Quantidade média de pelos absorventes
R² R-quadrado
RSNO S-nitrosotióis
-SH Sulfidrila
SNAP S-nitroso-N-acetilpenicilamina
RSNO S-nitrosotióis
SNP Nitroprussiato de sódio
SOD Superóxido dismutase

SP Sem priming

TiO₂ NP Nanopartículas de dióxido de titânio

TiO₂ Dióxido de titânio

TPP Tripolifosfato de sódio

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
2	REVISÃO DE LITERATURA	22
2.1	ASPECTOS GERAIS Da CULTURA DO TRIGO	22
2.2	DÉFICIT HÍDRICO	23
2.2.1	Déficit Hídrico no Trigo	24
2.3	PRIMING DE SEMENTE	26
2.4	ÓXIDO NÍTRICO	28
2.5	NANOTECNOLOGIA NA AGRICULTURA	31
2.5.1	Nanopartículas Doadoras de NO	32
3	MATERIAL E MÉTODOS	35
3.1	Caracterização Do Solo	35
3.2	FORMULAÇÕES	36
3.3	MATERIAL BIOLÓGICO E TRATAMENTOS	36
3.4	CURVA DE DOSE RESPOSTA DOS DOADORES DE NO NANOENCAPSULADOS	37
3.5	PRIMING COM DOADORES DE ÓXIDO NÍTRICO NA GERMINAÇÃO DO TRIGO SEM DÉFICIT HÍDRICO EM LABORATÓRIO...	38
3.6	PRIMING COM DOADORES DE ÓXIDO NÍTRICO NA GERMINAÇÃO DO TRIGO COM DÉFICIT HÍDRICO EM LABORATÓRIO.....	39
3.7	PRIMING COM DOADORES DE ÓXIDO NÍTRICO NA EMERGÊNCIA DE PLÂNTULAS DE TRIGO COM E SEM DÉFICIT HÍDRICO EM CASA DE VEGETAÇÃO	40
3.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA	43
4	RESULTADOS	44
4.1	CURVA DE DOSE RESPOSTA DOS DOADORES DE NO NANOENCAPSULADOS ...	44
4.2	EFEITO DO PRIMING NA GERMINAÇÃO DO TRIGO EM LABORATÓRIO SEM DÉFICIT HÍDRICO...	47
4.3	EFEITO DO PRIMING NA GERMINAÇÃO DO TRIGO EM LABORATÓRIO COM DÉFICIT HÍDRICO...	49
4.4	EFEITO DO PRIMING EM PLANTAS DE TRIGO EM CASA DE VEGETAÇÃO SEM DÉFICIT HÍDRICO	54
4.5	EFEITO DO PRIMING EM PLANTAS DE TRIGO EM CASA DE VEGETAÇÃO COM	

	DÉFICIT HÍDRICO	60
5	DISCUSSÃO.....	67
6	CONCLUSÕES.....	71
	REFERÊNCIAS	72

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o mundo vem sofrendo mudanças climáticas alcançando os picos mais altos de temperatura e chuvas inconstantes. Em paralelo, a situação é agravada por comportamentos humanos inadequados, como o aumento de queimadas e desmatamento, gastos excessivos de água e descartes incorretos, que levam a prejuízos na saúde, higiene, alimentação, contaminação de recursos hídricos e problemas agrícolas.

As alterações nos índices pluviométricos impactam a agricultura diretamente. Segundo a Organização Meteorológica Mundial, nos últimos quatro meses de 2022, boa parte do território do Uruguai recebeu menos da metade da quantidade média de chuvas, levando a perdas generalizadas de safra. Na Argentina, também foram registadas perdas no período de novembro a janeiro 2022/23 devido aos picos de temperatura elevada. O Brasil foi outro país afetado onde no mês de janeiro de 2023, as secas classificadas como moderada a severa atingiram Estados como Acre, norte do Mato Grosso, sul do Amazonas e do Pará, oeste de Tocantins, Rondônia e principalmente Rio Grande do Sul, o qual apresentou 80% de suas áreas agrícolas impactadas pela seca, somando um total de 445 municípios afetados (CEMADEN, 2023).

As plantas estão expostas a esses fatores ambientais adversos durante o seu crescimento e desenvolvimento, o que pode levar a perdas significativas na produção das culturas. Entre os estresses abióticos, o déficit hídrico é um dos que mais limita a produtividade agrícola, por ter impactos em atividades morfológicas, bioquímicas e fisiológicas de plantas.

A restrição hídrica pode reduzir drasticamente o rendimento das plantações, limitando a qualidade das sementes, a taxa de germinação e o vigor de plantas, bem como pode limitar as épocas de cultivo e os locais de produção. No caso do trigo (*Triticum aestivum* L.) a seca restringe até mesmo os locais de sua produção a poucas regiões no Brasil, devido às condições hídricas e climáticas de que a cultura necessita.

Uma região de cultivo favorável permite um bom estabelecimento e desempenho inicial de plantas de trigo, sendo de extrema importância para elevação dos índices de produtividade da cultura. O período entre a emergência e a emissão da sétima folha é caracterizado como crítico (emborrachamento) para enfrentar os fatores que limitam a sua produtividade. Nesse contexto, prezar por uma alta qualidade nas sementes é de suma importância para a implantação das lavouras

e obtenção de alta capacidade produtiva, população uniforme, plantas vigorosas e saudáveis.

Pensando na implantação de lavouras, a nanotecnologia fornece diversas alternativas para mitigar os efeitos dos estresses bióticos e abióticos nas plantas, enquanto mantém a sustentabilidade ambiental. O termo nanotecnologia se refere à manipulação de materiais em escala nanométrica, com características únicas que os diferem do mesmo material em outras escalas de tamanho.

Dentre as possibilidades existentes, a nanoencapsulação é uma opção que permite a inclusão de substâncias bioativas no interior de nanopartículas, aumentando a sua estabilidade e atividade biológica. Essas moléculas nanoencapsuladas podem ser empregadas em diferentes etapas da cultura, como no priming de sementes.

O priming de sementes é uma técnica eficaz na promoção de tolerância a estresses abióticos. Esse método causa a indução de um estado fisiológico particular em plantas, através do tratamento das sementes com métodos químicos ou físicos. Dentre as moléculas que podem ser utilizadas no priming está o óxido nítrico (NO), o qual é capaz de potencializar a resposta das plantas a condições ambientais adversas, como calor, salinidade, seca e toxidez por metais pesados. Essa molécula sinalizadora também atua na germinação de sementes, por induzir a atividade da α -amilase e de enzimas antioxidantes nas sementes.

Embora muitos estudos tenham evidenciado o papel importante do NO em plantas, a sua aplicação de forma exógena na agricultura é limitada, por ser uma molécula de natureza gasosa e reativa. Além disso, seus doadores são compostos relativamente instáveis, sujeitos a degradação por luz e temperatura elevadas, o que pode acarretar em uma liberação acelerada do NO e gerar efeitos tóxicos para as plantas.

Diante disso, a nanoencapsulação de doadores de NO surgiu como uma opção de proteção contra a degradação acelerada, permitindo uma liberação gradual e estendendo seu período de ação. Dentre as estratégias utilizadas, estão as nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptosuccínico ou S-nitrosoglutationa (S-nitrosotióis, que atuam como doadores de NO).

Na literatura, existem estudos que comprovam a efetividade dessas nanoformulações em proteger plantas contra estresses abióticos. Contudo, ainda não foi avaliado se o tratamento de sementes com o doador nanoencapsulado seria eficaz em proteger plântulas contra o déficit hídrico, bem como se os efeitos observados na germinação das sementes persistiriam durante o desenvolvimento das plantas em casa de vegetação.

Neste contexto, este trabalho teve como objetivo identificar o efeito do priming de sementes com nanopartículas liberadoras de NO no processo germinativo e crescimento inicial de plantas de trigo sob condições de déficit hídrico em ambiente de laboratório e casa de vegetação, comparando-se com o doador de NO não-nanoencapsulado.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ASPECTOS GERAIS DA CULTURA DO TRIGO

O trigo (*Triticum aestivum* L.) tem sua origem na Ásia, mais especificamente entre o Rio Tigre e Eufrátes, sendo uma planta hexaploide ($2n=42$) formado de uma hibridização entre um tetraploide (*Triticum turgidum*; $2n=28$) e uma gramínea selvagem (*Aegilops squarrosa*; $2n=14$). Ele é pertencente à família Poaceae, sendo uma planta monocotiledônea, herbácea e com metabolismo C3 (CONAB, 2017).

Seus estádios fenológicos são divididos em ordem cronológica: germinação, plântula, afilhamento, alongamento, emborrachamento, espigamento, florescimento, grão em estado leitoso, grão em massa, grão em maturação fisiológica e grão maduro. Essa divisão também é representada através de duas escalas amplamente utilizadas para determinação do estágio de desenvolvimento da cultura: a de Feekes (1940), modificada por Large (1954), e a de Zadoks, Chang e Konzac (1974). A última se trata de uma tabela mais detalhada, dividida em 10 etapas e 10 subetapas, sendo utilizada em experimentações de doenças e estresses ambientais (MORI, 2015).

A cultura é uma opção de cultivo no inverno do Brasil, apresenta grande importância na dieta alimentar, utilização em adubação verde, alimentação animal e produção de bebidas e derivados. Também é uma fonte de energia, fibras e proteínas, podendo ser matéria-prima de uma diversidade de produtos fermentados. Seu uso na alimentação humana é amplo, na forma de farinhas, grão laminado em produtos forneados, fabricação de massas, agente espessante e na composição de cereais matinais (REQUE, 2018).

O trigo enquadra-se como o segundo cereal mais produzido no mundo, com uma produção da safra 2021/22 de 778,8 milhões de toneladas (aumento de 0,38% em relação à safra 2020/21), e uma área cultivada de 222,1 milhões de hectares (incremento de 0,13% com relação à safra anterior). É o cereal de inverno mais produzido no Brasil com uma produção de 7,7 milhões de toneladas e 2,8 milhões de hectares cultivados na safra 21/22 (CONAB, 2022).

No Brasil, 90% da produção de trigo concentra-se na região Sul, principalmente nos Estados do Paraná e Rio Grande do Sul que somados produzem mais de 6 milhões de toneladas (CONAB, 2022). Isso se deve aos fatores culturais e climáticos que, por muitos anos, restringiram o cultivo desse grão em outras regiões (ETENE, 2021). Na região do Cerrado, é comum a ocorrência de deficiência hídrica no início do estabelecimento da cultura, gerando influência direta no estande final de plantas e conseqüentemente no rendimento de grãos, assim como na fase mais sensível (florescimento e formação de grãos), principalmente quando se têm semeaduras

realizadas tardiamente (SANTOS et al., 2012). A falta de água nos estádios iniciais afeta a disponibilidade de CO₂ nas folhas, diminuindo a taxa fotossintética, a translocação de fotoassimilados nas plantas, e o acúmulo de massa seca (SOUSA et al., 2019).

2.2 DÉFICIT HÍDRICO

A água é o constituinte mais abundante do tecido vegetal, representando cerca de 90% da massa fresca de plantas herbáceas. Ela desempenha um papel importante no metabolismo vegetal, turgescência celular, movimento estomático, transporte de solutos e crescimento do sistema de raízes, estando dentre os recursos mais importantes para o crescimento e funcionamento da planta (PIMENTA, 2019). A água também tem um papel especial no processo de germinação de sementes, reativando o metabolismo do embrião e participando das reações que levam à mobilização das reservas (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

Nessa perspectiva a seca é definida pelos meteorologistas como uma escassez prolongada de água com precipitação inferior à média (GIAUQUE et al., 2019). Já a seca agrícola ocorre quando há uma ausência de chuva significativa que limita a água disponibilizada para o crescimento e desenvolvimento da planta, alterando o seu funcionamento normal (ZIA et al., 2021).

Uma das respostas à deficiência hídrica no solo é a diminuição da turgescência celular (MORAIS et al., 2003), seguida pelo decréscimo da condutância estomática, transpiração e da disponibilidade de CO₂ na folha, o que resulta na queda da taxa fotossintética e no crescimento das plantas (AZEVEDO et al., 2011; SCALON et al., 2011). Para a maioria das culturas, as maiores perdas ocorrem nos estádios de florescimento e início da formação de grãos (LAMBERS, CHAPIN, PON, 2008). Outra consequência decorrente da restrição hídrica é o aumento da geração de ânion superóxido, peróxido de hidrogênio, oxigênio singleto e outras espécies reativas de oxigênio (EROs), que podem danificar proteínas, lipídios e ácidos nucleicos (SEABRA; OLIVEIRA, 2016).

Como resposta a esse estresse, as plantas têm inúmeros mecanismos de defesa, incluindo ativação de resposta antioxidante, ajuste osmótico, produção de hormônios e alterações morfológicas (ANJUM et al., 2016).

Um mecanismo adaptativo das plantas é o fechamento dos estômatos, o que reduz a condutância estomática diminuindo assim a perda de água. A abertura ou fechamento estomático é governado pelas mudanças de turgor nas células guarda: abertura quando estas células se tornam mais túrgidas e fechamento quando estão flácidas, isso graças a variações no potencial osmótico no seu interior. Em situação de

déficit hídrico as plantas podem produzir hormônios, como o ácido abscísico (ABA), que altera o fluxo de íons pela membrana plasmática (ZIA et al., 2021).

Já o ajustamento osmótico é uma estratégia na qual há o acúmulo de solutos nas células permitindo a manutenção do gradiente de potencial hídrico entre o solo e a planta e a abertura estomática. Essas táticas não impedem a redução da taxa fotossintética, mas essa manutenção permite que a fotossíntese e outras importantes atividades fisiológicas sejam mantidas, possibilitando a redistribuição de carbono e nitrogênio (ALABDALLAH et al., 2021).

Dentre as enzimas antioxidantes, se destaca a superóxido dismutase (SOD), que catalisa a formação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a partir de ânion superóxido (OLMOS et al., 2003). A catalase (CAT) age convertendo o H_2O_2 em água e oxigênio molecular, enquanto a ascorbato peroxidase (APX) utiliza ascorbato como doador de elétrons para reduzir o peróxido em água (SHIGEOKA et al., 2002). Já as peroxidases (POD) utilizam H_2O_2 como oxidante e os compostos fenólicos como doadores de elétrons, assim contribui para remoção do H_2O_2 formado a partir da ação da superóxido dismutase (HEGEDÜS; ERDEI; HORVÁTH, 2001). As plantas também podem utilizar mecanismos antioxidantes não-enzimáticos, como o α -tocoferol (vitamina E), β -caroteno, ascorbato (vitamina C), glutatona reduzida (GSH) e compostos fenólicos. Essas substâncias produzidas contam com alto poder redutor e reagem com as EROs, evitando as lesões celulares por ele causadas (KHATUN et al., 2008).

As adaptações morfológicas também são estratégias para sobrevivência decorrentes da situação de déficit hídrico. A principal adaptação morfológica da planta é a expansão das raízes, elas através de uma série de reações metabólicas aumentam a densidade e comprimento de raiz. Esse processo de investimento radicular se dá até o início da floração, e possibilita o aumento do volume de solo explorado, o contato íntimo entre a superfície das raízes e o solo, aumento na absorção efetiva de água e nutrientes (OLIVEIRA et al., 2017).

2.2.1 Déficit Hídrico No Trigo

A produção de grãos de trigo é influenciada por vários fatores abióticos como: salinidade, temperatura e, principalmente, o déficit hídrico (BOSCHINI et al., 2011). A escassez hídrica leva à redução de rendimento das lavouras, limita os locais onde espécies comerciais podem ser produzidas, diminui a germinação de sementes e dificulta o estabelecimento do estande de plântulas (NOGUEIRA et al., 2001).

A falta de água afeta de maneira distinta a cultura do trigo em cada estágio de desenvolvimento (SARTO et al., 2017). Quando incide na fase inicial, a falta

de água pode afetar a taxa de germinação, densidade de plantas e crescimento de plântulas. No processo de germinação de sementes, a água age na embebição, reativa o metabolismo e desencadeia uma sequência de processos fisiológicos, estando presente direta ou indiretamente em todas as etapas da germinação. De modo geral, a baixa disponibilidade hídrica na embebição atrasa ou impede a germinação, pois ela não atinge um nível mínimo de hidratação exigida pela semente (BARBERO et al., 2011).

Farias et al. (2003) avaliaram a germinação de sementes de trigo e milho submetidas a potenciais osmóticos de -0,4; -0,6; -0,8 e -1 MPa obtidos a partir da incubação com manitol, cloreto de potássio, sacarose, cloreto de sódio e polietileno glicol 8000. Eles observaram que, em todos os potenciais e substâncias, houve redução superior a 60% na porcentagem de germinação, quando comparada ao controle.

O efeito da restrição hídrica também foi visto por Eskandari e Alizadeh-Amraie (2017). Esses autores relataram reduções significativas na porcentagem de germinação, massa seca de plântula e massa de mil sementes em plantas de trigo com irrigação reduzida apenas na zona da raiz, quando comparada com a irrigação de forma convencional. Abati et al. (2014) também comprovaram o efeito do déficit hídrico na germinação e crescimento inicial do trigo, relatando a diminuição na velocidade desses parâmetros nas plântulas de trigo conforme o potencial osmótico diminuiu.

Já na fase reprodutiva da cultura, o déficit hídrico é responsável por afetar a taxa fotossintética e a translocação de carboidratos, acarretando em redução no tamanho e rendimento de grãos (HUSSAIN et al., 2004). Shamsi et al. (2010) relataram redução de 31% no rendimento do trigo quando submetido ao déficit hídrico entre a fase de enchimento de grão e maturação. Eskandari e Kazemi (2010) e Majid, Asghar e Murataza (2007) obtiveram resultados parecidos, com uma redução de até 38% no rendimento da cultura quando submetida a estresse pós antese.

Zaina e Gai (2020) avaliaram a resposta do trigo à restrição hídrica de 30, 35 e 40 dias a partir do perfilhamento. Foi relatada redução no comprimento de raiz, massa fresca, massa seca e diâmetro do caule, quando comparadas ao controle. Os efeitos do déficit hídrico também podem ser vistos no trabalho de Abati et al. (2014) que mostraram a redução na velocidade de germinação e crescimento de plântulas com o aumento da intensidade do estresse. No estudo de Eskandari e Alizadeh-Amraie (2017) verificaram-se reduções significativas na porcentagem de germinação, massa seca de plântula e massa de mil sementes em plantas de trigo submetidas a redução no sistema de irrigação.

Os efeitos da deficiência hídrica são acentuados no trigo quando associado à alta temperatura, levando a perdas ainda maiores para o cereal. A faixa ideal

de temperatura está entre 20 e 25 °C para desenvolvimento de folhas e de 15 a 20 °C para o perfilhamento. Além disso, um período de vernalização (acúmulo de horas de frio) é importante para germinação e formação de talos, sendo que a germinação não ocorre em temperaturas superiores a 34 °C. No período de espigamento e floração, as plantas são mais sensíveis a temperaturas extremas, de forma que temperaturas diurnas de 21 para 27 °C e noturnas de 13 para 21 °C podem ocasionar esterilidade, má formação de grãos, redução no comprimento de folhas e redução da biomassa, que podem ser acentuadas na presença de déficit hídrico. A escassez de água e a sensibilidade a temperaturas são fatores limitantes de produção e podem variar conforme a cultivar, influenciando na adaptação da cultura em determinadas regiões (MANFRON; LAZZAROTTO; MEDEIROS, 1993; RIBEIRO et al., 2012).

2.3 PRIMING DE SEMENTES

Cada vez mais tecnologias focam em melhorar o desempenho das sementes sob diferentes condições ambientais, com o intuito de atingir o vigor e desempenho máximo no processo germinativo, submetendo-as a técnicas físicas, químicas e biológicas (BLUNK et al., 2019).

Dentre as principais estratégias para mitigar os efeitos do déficit hídrico nas plantas está a indução de tolerância, ou atenuação de estresse abiótico, através do uso de substâncias exógenas (HASANUZZAMAN et al., 2020). Dentre essas substâncias estão os osmoprotetores, que são moléculas solúveis, orgânicas e capazes de atuar a osmorregulação celular (ZULFIQAR et al., 2020), e os bioestimulantes que são uma classe de potencializadores metabólicos, utilizados para aumentar a tolerância das culturas a diversos estresses (LEITE et al., 2019).

Historicamente, uma gama de métodos de imersão tem sido relatada com potencial de afetar a taxa de germinação, como os que envolvem a mistura de água com mel, estrume ou osmo-priming. Ao processo utilizado para iniciar a germinação através do fornecimento em quantidade limitada de solução ou processo físico se dá o nome de “priming” (IBRAHIM, 2016). Essa técnica é utilizada na agricultura para otimizar a germinação de sementes e o estabelecimento de plântulas. Ela se baseia no tratamento de sementes pré-semeadura, convencionalmente usando-se água no procedimento (hidro-priming), onde a absorção da água deve ocorrer em níveis adequados de modo a desencadear a pré-germinação (fases I e II) sem promover a emergência de radícula (DELIAN et al., 2017). Assim, como uma alternativa a metodologias usuais para a aplicação de osmoprotetores e bioestimulantes, as plantas podem ser pré-tratadas por meio de priming de sementes (LEITE et al., 2019).

Existem diversos pré-tratamentos que podem desencadear os processos fisiológicos em uma semente e levar a sua germinação, estes vão desde o hidro-priming (água), osmo-priming (solução de baixo potencial hídrico), halo-priming (soluções contendo sais), hormo-priming (reguladores de crescimento), bio-priming (microrganismos) e nano-priming (materiais em escala nanométrica) (PEREIRA et al., 2021).

O priming convencional é dividido em duas etapas: a primeira trata da hidratação de sementes em água (hidrocondicionamento) ou solutos em uma matriz sólida como a vermiculita ou no próprio solo (priming de matriz). A segunda etapa consiste na desidratação. Durante esse processo, uma série de reações e estímulos ocorrem na semente, o que desencadeia mobilização de reservas e reparação de DNA, RNA, membrana celular e organelas (PEREZA-VILLARREAL et al., 2018). Ele também afeta o metabolismo da semente em nível molecular, podendo afrouxar a parede celular, aumentar a síntese proteica, modificar a pós-tradução, melhorar a emergência da radícula e o vigor das plântulas e induzir a resposta antioxidante, o que eleva o potencial de tolerância a fatores de estresse (MOSAVIKIA et al., 2020; SEN; PUTHUR, 2020).

Os diversos benefícios proporcionados pelo priming de sementes o tornam um método eficaz em induzir a tolerância a estresses para plantas. A preparação de sementes, através do tratamento com compostos naturais ou sintéticos antes da germinação, gera a indução de um estado fisiológico particular chamado "estado preparado da planta", em que ela tem a capacidade de ativar de forma mais rápida e efetiva as suas defesas contra fatores bióticos e abióticos (JISHA et al., 2013). O resultado do pré-tratamento é mais expressivo quando a germinação ocorre sob condições desfavoráveis do que condições favoráveis (DEMIR; MAVI, 2004; ASHRAF; FOOLAD, 2005; CHEN; ARORA, 2011), promovendo melhoria na taxa de germinação e no rendimento em condições de estresse em diversas culturas (CARRILLO-RECHE; VALLEJO-MARÍN; QUILLIAM, 2018).

Com o avanço do priming e da nanotecnologia, emergiu-se o nano-priming, uma tecnologia que utiliza nanomateriais (em especial nanopartículas) para o tratamento de sementes. Diferentemente do priming convencional, o nano-priming faz uso de nanoformulações. As nanopartículas podem ou não ser absorvidas pelas sementes, acarretando na melhoria de funções metabólicas e do crescimento de planta (PEREIRA et al., 2021).

Esse processo promove desenvolvimento radicular e de plântulas de forma mais rápida, através da mudança na expressão de genes que controlam processos metabólicos como a produção de hormônios vegetais (PEREIRA et al., 2021). O nano-

priming induz o sistema de defesa antioxidante, tornando as plantas mais tolerantes a pragas e a adversidades ambientais (MANJUNATHA et al., 2008).

2.4 ÓXIDO NÍTRICO

Uma opção para indução de tolerância a estresses abióticos é o uso de doadores de óxido nítrico (NO) (PIRES et al., 2016; NEILL; DESIKAN; HANCOCK, 2003; KAUR; KAUR, 2018). Durante as últimas décadas, o NO tem sido estudado como um novo regulador de crescimento vegetal com funções importantes no desenvolvimento da planta (LIRA-RUAN; MENDIVIL; DUBROVSKY, 2013). Essa molécula apresenta propriedades hidrofóbicas, caracterizando-se por ser uma molécula diatômica pequena, de alta difusividade ($4.8 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ em água), o que lhe permite se difundir facilmente por regiões hidrofílicas da célula e na fase lipídica das biomembranas (ARASIMOWICZ; FLORYSZAK-WIECZOREK, 2007; KOLBERT et al., 2019).

Devido às suas características, o NO age como uma molécula sinalizadora importante em uma variedade de processos bioquímicos e fisiológicos da planta, incluindo germinação de sementes, resposta antioxidante, funcionalidade mitocondrial, morte celular, crescimento e desenvolvimento de raiz, movimento estomático, fotossíntese, floração, amadurecimento de frutos e respostas a estresses abióticos e bióticos (SHARMA et al., 2021; CORPAS et al., 2022; GUPTA et al., 2022).

A capacidade desempenhada pelas plantas em superar condições ambientais desafiadoras está ligada à atividade sinalizadora do NO. Ele modula a expressão gênica e a atividade protéica, interagindo com EROs e controlando ações hormonais. Esses efeitos são induzidos pela baixa concentração da molécula de sinalização (nano para micromolar), enquanto as concentrações milimolares de NO podem exercer toxicidade, com indução de estresse nitro-oxidativo e morte celular. Isso deixa claro o efeito dual que o NO possui, já que as mesmas propriedades que o tornam benéfico também o fazem letal, dependendo da dose (SEABRA; OLIVEIRA, 2016; SANTISREE et al., 2015).

A síntese de NO em plantas se dá através de vias oxidativas e redutivas (SUN; YU; HU, 2017), podendo-se citar os mecanismos relacionados à L-arginina e às poliaminas, a conversão não enzimática de nitrito (NO_2^-) em NO no apoplasto ou por carotenoides e a formação de NO dependente da nitrato redutase (NR) e da cadeia respiratória mitocondrial (ASTIER; GROSS; DURNER, 2018; BESSON-BARD; PUGIN; WENDEHENNE, 2008).

O NO é um importante agente no crescimento de raízes laterais e adventícias em várias culturas, como milho (*Zea mays*), *Arabidopsis thaliana*, arroz

(*Oryza sativa*) e tomate (*Solanum lycopersicum*) (IVANCHENKO; MUDAY; DUBROVSKY, 2008; KOLBERT, ORTEGA, ERDEI, 2010; CHEN; KAO, 2012; MENG et al., 2012; CORREA-ARAGUNDE; FORESI; LAMATTINA, 2015). Lombardo e Lamattina (2012) observaram a ação do NO no crescimento de pelos absorventes em *A. thaliana*, utilizando o mutante *nia1 nia2*, que apresentou menor comprimento e densidades quando comparados a um tipo selvagem, o que foi associado à baixa concentração de NO. Quando esses mutantes foram suplementados com 200 μ M de S-nitroso-N-acetilpenicilamina (SNAP, um doador de NO), o desenvolvimento radicular foi semelhante ao genótipo selvagem, com raízes maiores e com mais pelos.

Resultado parecido foi observado no trabalho de Moro et al. (2017), que reportaram que a aplicação de auxina ou doador de NO induz a formação de pelos em mutantes glabros, o que pode ser explicado pela ação da auxina através do NO na ativação de proteína cinase ativadas por mitógenos (MAPK). Além disso, a S-nitrosação do receptor TIR1 está relacionada à potencialização da sinalização da auxina (TERRILE et al., 2012).

O NO também induz a tolerância da planta a estresses ambientais, através de interação com hormônios, outras moléculas sinalizadoras e proteínas (FANCY; BAHLMANN; LOAKE, 2017). Ele pode modificar a expressão gênica, regular níveis hormonais e interagir com EROs (SIMONTACCHI et al., 2015). Por exemplo, o NO age na regulação da tolerância ao congelamento, através do estímulo à produção de metabólitos osmoprotetores e reguladores (como açúcares e poliaminas), hormônios relacionados ao estresse (como ABA e jasmonatos) e antioxidantes (como flavonoides). Consequentemente, as plantas com deficiência de NO são constitutivamente menos tolerantes ao congelamento do que as plantas do tipo selvagem (COSTA-BROSETA et al., 2018; ZHAO et al., 2009).

O principal alvo do NO e espécies reativas de nitrogênio (ERNs) são resíduos de cisteína e tirosina em proteínas. Estudos mostram que o NO pode sofrer S-nitrosação por proteínas que apresentam sulfidrilas livres (-SH), formando interações covalentes pós-traducionais relativamente estáveis. Esta reação resulta em derivados do NO conhecidos como S-nitrosotióis (RSNOs) (ZHANG et al., 2005). Os RSNOs são considerados elementos chave da interação entre ERNs e EROs, tanto sob condições fisiológicas quanto de estresse, podendo levar a cenários de estresse oxidativo e nitrosativo quando em níveis elevados (CORPAS; ALCHE; BARROSO, 2013).

Entre os doadores de NO naturalmente presentes nas plantas, a S-nitrosoglutaciona (GSNO) é o mais abundante. Ela é um S-nitrosotiol de baixo peso molecular, proveniente da ligação do NO com a glutaciona (GSH), podendo ser

considerado um reservatório intracelular de NO (CORPAS et al., 2013). Sua produção é dependente de condições aeróbicas e da disponibilidade de NO e GSH (BRONIOWSKA; DIERS; HOGG, 2013). Sua degradação é decorrente de processos não-enzimáticos (como tratamento com luz UV, alta temperatura e condições alcalinas) ou enzimáticos, pela ação da S-nitrosoglutationa redutase (GSNOR) (SAKAMOTO; UEDA; MORIKAWA, 2002; ACHKOR et al., 2003). Essa enzima catalisa a redução irreversível e dependente de NADH da GSNO, formando glutatona oxidada (GSSG) e NH₃ (BARROSO et al., 2006; CORPAS et al., 2008; LETERRIER et al., 2011). Dessa forma, a GSNOR consegue controlar o nível de NO e ERNs nas células, regulando o processo de S-nitrosilação (FRUNGILLO et al., 2014).

Habibi et al. (2016) ao estudarem os efeitos do nitroprussiato de sódio (SNP) aplicado em plantas de arroz sob estresse salino, mostraram aumento da atividade de enzimas catalase, superóxido dismutase e peroxidase em plantas sobre estresse, e plantas suplementadas com doadores de óxido nítrico em sementes melhoraram o acúmulo de massa, rendimento de grãos e levou a diminuição de MDA e H₂O₂. Efeitos similares no crescimento e aumento de biomassa foram observados em plantas de milho tratadas em pré-semeadura com SNP (KAYA et al., 2017).

Também foi constatado por Alexieva et al. (2001) que o pré-tratamento com SNP em mudas de tomate cultivadas sob condição de déficit hídrico promoveu um aumento das atividades APX, CAT e guaiacol peroxidase, reduzindo o conteúdo de H₂O₂. Em sementes de *Sesamum indicum* L. (gergelim), o tratamento com SNP aumentou a atividade das enzimas antioxidantes (SOD, CAT, POD e APX), resultando em um sistema eficiente na remoção de EROs formadas durante o déficit hídrico. Isso permitiu maior tolerância ao estresse, propiciando uma melhora na germinação de sementes (PIRES et al., 2016).

Silveira et al. (2021) em seu trabalho com doadores nanoencapsulados em plantas de cana-de-açúcar com aplicação foliar mostrou que o doador S-nitroso- N-acetilcisteína (SNAC) trouxe efeito atenuante ao déficit hídrico mantendo eficiência no uso da água, promoveu crescimento de plântulas e taxa fotossintética. Os efeitos das nanopartículas de NO também foram vistos no trabalho de Carmo et al. (2021) onde o doador de óxido nítrico nanoencapsulados s-nitros-mercaptosuccinico quando aplicado em mudas de *Heliocarpus. popayanensis* submetidas a deficiência hídrica levou a melhorias no sistema radicular.

Silveira et al. (2019) também demonstrou que tanto a forma livre como nanoencapsulada de GSNO atenuaram os efeitos do déficit hídrico em plantas de cana-de-açúcar, porém quando aplicado na forma nanoencapsulada o efeito sobre a

fotossíntese e razão parte aérea/raiz foi maior comparado ao efeito do doador livre.

Muthukrishnan et al. (2019) comprovaram em seu trabalho com sementes de grão-de-bico que o tratamento com nanopartículas de quitosana carregadas com tiamina proporcionou melhor germinação e crescimento comparados com a tiamina não nanoencapsulada.

Oliveira et al. (2016) mostraram em seu trabalho que as nanopartículas de quitosana contendo o doador de NO ácido S-nitroso-mercaptopuccínico (S-nitroso-MSA) foram mais eficientes em relação ao NO livre na proteção de plantas de milho contra o estresse salino, levando ao aumento da atividade fotossintética, conteúdo de clorofila e do crescimento. Comprovando as benezes da molécula.

2.5 NANOTECNOLOGIA NA AGRICULTURA

A nanociência é uma ciência cujo objeto de estudo são as propriedades dos materiais em nanoescala (SATHIYABAMA et al., 2020). O conceito de nanotecnologia ainda é muito discutido, na maioria dos casos caracterizados pelo tamanho, mas também por suas propriedades únicas (JOUDEH; LINKE, 2022).

A nanotecnologia permite reestruturar a matéria proporcionando novos usos para a mesma, de acordo com a lei da União Europeia, a definição mais aceita de “nanomaterial” são: “materiais constituídos por partículas no estado sólido, presentes isoladamente ou ligadas como partes constituintes de agregados ou aglomerados, onde 50 % das partículas com dimensões externas esteja em escala entre 1 nm e 100 nm” (EUROPEAN COMMISSION, 2022).

A nanotecnologia está relacionada à manipulação da matéria em escala nanométrica, possibilitando novas aplicações para o mesmo material (LEOPOLDO; VECHIO, 2020). Essa tecnologia tem sido aplicada com frequência para inovações no campo da saúde, agricultura, proteção ambiental, biomedicina, entre outros (ALABDALLAH et al., 2021).

O tamanho reduzido dos nanomateriais, a grande superfície de contato e propriedades ópticas únicas permitem aos materiais em escala nanométrica serem aplicados a projetos e novas técnicas, por exemplo visando à obtenção de uma agricultura mais sustentável, de forma a ajudar a suprir a elevada demanda por alimentos e a otimização de práticas agrícolas (LI et al., 2019). Na agricultura, a nanotecnologia é usada principalmente na produção de nanopesticidas e nanofertilizantes para alcance do aumento produtivo, nanozeólitos e hidrogéis para a melhora da qualidade do solo, nanosensores no monitoramento a campo e nanomateriais capazes de promover o crescimento de plantas (FRACETO et al., 2016).

As nanopartículas poliméricas têm sido utilizadas na agricultura devido à

sua capacidade de incorporar ingredientes ativos no seu interior ou matriz. Elas podem agir como um sistema carreador, permitindo maior estabilidade físico-química e a liberação controlada de ingredientes ativos e fornecendo-os no momento e local correto, o que acarretaria na redução das doses aplicadas, diminuição dos riscos de contaminação ambiental e minimização dos impactos negativos aos ecossistemas e a saúde humana (SILVA; TOMA, 2018).

2.5.1 Nanopartículas Doadoras De NO

A importância do NO para fisiologia da planta já é comprovada, porém o uso de NO exógeno na agricultura ainda é muito limitado (SEABRA; DURÁN, 2014). O NO tem uma importante ação em plantas contra a deficiência hídrica (SEABRA; OLIVEIRA, 2016). Entretanto, a natureza gasosa da molécula torna difícil sua aplicação (VITOR et al., 2013). Além da difícil aplicação de NO diretamente na planta, seus doadores são compostos de decomposição acelerada quando submetido a fatores ambientais como luz e temperaturas altas, podendo acarretar um efeito tóxico às plantas (SEABRA; RAI; DURÁN, 2014).

A incorporação de doadores de NO em nanopartículas surgiu como uma oportunidade de proteger essas moléculas da rápida decomposição, permitindo uma liberação gradual do NO e prolongando seus efeitos quando aplicado (SEABRA et al., 2022). Essa liberação controlada é uma importante ferramenta para garantir o efeito protetor do NO nos vegetais, sem ocasionar toxicidade decorrente dos seus altos níveis (SEABRA et al., 2022).

A liberação controlada de NO proporcionou efeitos positivos no estudo pioneiro de Oliveira et al. (2016). Nanopartículas de quitosana contendo o doador de NO ácido S-nitroso-mercaptosuccínico (S-nitroso-MSA) se mostraram mais eficientes do que o doador de NO livre em proteger plantas de milho contra o estresse salino, promovendo melhoria da atividade fotossintética, do conteúdo de clorofila e do crescimento. Nanopartículas de quitosana com GSNO (ácido *s-nitosoglutationa*) foram demonstradas por Ma et al. (2019) como sendo um eficiente sistema de liberação controlada de NO para a preservação da qualidade e aumento da capacidade antioxidante de cerejas durante o armazenamento sob refrigeração.

Silveira et al. (2019) também testaram o efeito do GSNO nanoencapsulada em plantas de cana-de-açúcar sob déficit hídrico. Seus dados comprovaram que ambas as formas de GSNO (livre e nanoencapsulada) atenuaram os efeitos do déficit hídrico nas plantas de cana-de-açúcar, porém as nanopartículas de quitosana contendo o doador tiveram maiores efeitos no aumento da taxa fotossintética

sob déficit hídrico e da razão raiz / parte aérea quando comparado ao doador livre, indicando que a liberação de NO de maneira controlada foi mais eficiente em melhorar a tolerância à seca das plantas de cana-de-açúcar.

Os efeitos das nanopartículas liberadoras de NO também foram vistos no trabalho de Do Carmo et al. (2021), em que avaliaram os efeitos de nanopartículas de quitosana (CS NPs) contendo ácido S-nitroso-mercaptossuccínico (S-nitroso-MSA) em mudas de *Heliocarpus popayanensis*, nesse cenário a nanoencapsulação retardou a liberação de NO do S-nitroso-MSA, além de melhorar o efeito protetor do S-nitroso-MSA em condições de déficit hídrico.

Silveira et al. (2021) também testou os doadores de NO encapsulado ácido S -nitroso-mercaptossuccínico, S -nitrosoglutationa, S -nitroso- N-acetilcisteína, nitroprussiato de sódio e água pulverizados em plantas de cana-de-açúcar com e sem déficit hídrico. Os tratamentos com doadores de óxido nítrico nanoencapsulados atenuaram os efeitos do déficit hídrico na taxa fotossintética, manteve a eficiência do uso da água semelhante às plantas controle e promoveu o crescimento sob condições estressantes. Além disso, a pulverização de GSNO encapsulados melhorou a fotossíntese da cana-de-açúcar durante o período de recuperação.

A quitosana, um hetero-amino-polissacarídeo, é um dos biomateriais mais utilizados na nanotecnologia em decorrência de suas propriedades biológicas (KUMARASWAMY et al., 2018). É um polissacarídeo natural produzido pela desacetilação química em condições alcalinas da quitina, que é o componente principal da casca de crustáceos, como caranguejo, camarão e lagosta (BEHBOUDI et al., 2019). Por ser um composto não tóxico, biodegradável e biocompatível, oferece propriedades de aumentar o transporte de compostos polares ativos, através das superfícies epiteliais em diversas aplicações biológicas. Além disso, apresenta atividades antifúngica, antimicrobiana, antiviral, anti-inflamatória, de bioadesão e de promoção de crescimento de plantas (DUTTA; DUTTA; TRIPATHI, 2004; MALUIN; HUSSEIN, 2020).

A propriedade de bioadesão e mucoadesividade facilita o transporte de compostos ativos através da membrana celular, garantindo seu potencial de uso na indústria química, além de ser um excelente polímero para produção em micro e nanopartículas (SUNDAR; KUNDU; KUNDU, 2010). O revestimento de quitosana em fertilizantes aumenta a eficiência de absorção de nutrientes e ajuda no crescimento vegetal, proteção contra doenças e germinação de sementes, além de aumentar o teor de clorofila e a fixação de nitrogênio (AHMED et al., 2020). As nanopartículas de quitosana podem ser preparadas por diversos métodos, sendo a gelificação iônica usando tripolifosfato de sódio (TPP) a mais prática, por ter baixo custo e não fazer uso

de solventes orgânicos (AGNIHOTRI; MALLIKARJUNA; AMINABHAVI, 2004; FAN; YAN; XU, 2012).

As nanopartículas (NPs) de quitosana mostraram efeitos benéficos no trigo sobre deficiência hídrica, quando adicionadas através do solo e em aplicação foliar nas fases de perfilhamento, alongamento do caule e espigamento. As NP proporcionaram aumento de área foliar, conteúdo relativo de água, conteúdo de clorofila, taxa de fotossíntese, atividades da CAT e da SOD, biomassa e produtividade quando comparada ao controle (BEHBOUDI et al., 2019). Dessa forma, as NP quitosana, por si só, podem mitigar os efeitos adversos da seca no trigo. Sathiyabama, Indhumathi e Muthukumar (2020) também demonstraram os benefícios das NP de quitosana carregadas com tiamina como estimulador de crescimento e ativador de defesa no grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) contaminado com *Fusarium* spp.

A degradação e poluição ambientais têm tido cada vez mais impactos na natureza e na saúde humana. A cada ano que passa, desafios são impostos para a garantia da produção de alimentos aliada à conservação de recursos naturais. As nanopartículas têm grande potencial de aplicação agrícola, mas ainda faltam estudos com relação aos impactos ambientais a longo prazo e a aceitação mercadológica dessa tecnologia.

O custo de produção das nanopartículas também é importante para o seu desenvolvimento e aplicação no meio agrícola. Porém, a quitosana é um polímero natural que pode ser obtido a um custo baixo, apresentando baixo impacto ambiental (PÉREZ-DE-LUQUE, 2017; KAH, 2015). Dessa forma, a associação de doadores de NO às NP de quitosana para o priming de sementes tem grande potencial de ser uma alternativa sustentável para a produção de plantas de trigo mais tolerantes ao déficit hídrico.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 CARACTERIZAÇÃO DO SOLO

O experimento foi realizado em dois locais: o Laboratório de Fitotecnia, no Centro de Ciências Agrárias, e na casa de vegetação do Centro de Ciências Biológicas, ambos na Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil.

O substrato utilizado para os experimentos em casa de vegetação foi o solo coletado na camada 10-20 cm, na Fazenda Escola da UEL, Estado do Paraná, em área de pousio. Após a coleta, o solo foi seco ao ar, em seguida homogeneizado e peneirado na malha de 2 mm. Ele é classificado como Latossolo Vermelho Escuro (EMBRAPA, 2013). Na tabela 1, são apresentados os atributos químicos e físicos do solo utilizado como substrato.

Tabela 1 - Atributos químicos e físicos do solo utilizado como substrato.

pH (CaCl ₂)	P (Mehlich) mg dm ⁻³	MO	C	NT	K	Ca	Mg	H+Al	Al	V	CTC (pH 7,0) %	CTC (Efetiva)
		----- g dm ⁻³ -----				----- Cmolc dm ⁻³ -----						
5,36	6,15	7,02	4,08	0,35	0,12	2,76	0,86	4,44	0	45,68	8,17	3,73
		Cu		Fe		Mn		Zn				
		----- mg dm ⁻³ -----										
		11,07		72,85		29,58		1,35				
% Areia (Total)		%Silte (Total)			%Argila (Total)			Classe Textural				
10,87		16,31			72,82			Muito Argilosa				

Legenda. Mo= Matéria orgânica; C= Carbono; NT= Nitrogênio total; (H+Al) = Acidez potencial; V= Saturação por bases; CTC= Capacidade de troca catiônica. **Fonte:** O próprio autor (2022).

3.2 FORMULAÇÕES

As suspensões de nanopartículas foram obtidas junto à Prof. Amedea Barozzi Seavra, do Centro de Ciências Naturais e Humanas pertencente à Universidade Federal do ABC. As nanopartículas foram preparadas pelo método de gelificação ionotrópica (ELGADIR et al., 2015; TRIPATHY et al., 2012). A quitosana ($2,6 \text{ mg mL}^{-1}$) e o ácido mercaptosuccínico (MSA) ($2,7 \text{ mM}$) foram misturados por agitação magnética a uma solução aquosa de ácido acético ($0,175 \text{ M}$) durante 90 min.

Com a suspensão CS/MSA pronta, adicionou-se gota a gota a solução aquosa de tripolifosfato de sódio (TPP) na proporção volumétrica de 3 CS/MSA: 1 TPP. Essa mistura foi agitada por 45 min em temperatura ambiente, obtendo-se uma suspensão de nanopartículas (NPs) contendo MSA na concentração final de 20 mM . Para a produção das NP contendo glutathiona reduzida (GSH) a 20 mM , seguiu-se o mesmo procedimento, trocando-se o MSA pela GSH.

Pouco antes dos tratamentos, o MSA livre e as NP contendo MSA ou GSH foram nitrosados pela adição de NaNO_2 (20 mM) para formar o ácido S-nitroso-mercaptosuccínico livre (MSNO), NP de quitosana contendo o ácido S-nitroso-mercaptosuccínico (NP-MSNO) e NP de quitosana contendo S-nitrosoglutationa (NP-GSNO), que permanecem 1 hora no escuro dentro da geladeira antes de serem utilizados. Nanopartículas de quitosana sem NO (NP) foram sintetizadas seguindo o mesmo procedimento descrito sem a adição do tiol.

A GSNO livre foi sintetizada conforme descrito por Silveira et al. (2016). A GSH foi dissolvida em ácido clorídrico (1 M) até atingir a concentração de $1,2 \text{ M}$. Posteriormente, uma quantidade equimolar de nitrito de sódio (NaNO_2) foi adicionada à solução sob banho de gelo para nitrosar a GSH, seguido de agitação por 10 min. A GSNO foi então precipitada pela adição de acetona, filtrada e lavada com água fria e o sólido obtido foi liofilizado por 24 h. Antes de ser utilizada, a GSNO permaneceu guardada a -20°C , sendo diluída em água pouco antes de sua utilização.

3.3 MATERIAL BIOLÓGICO E TRATAMENTOS

Para o experimento foram utilizadas sementes de trigo (*Triticum aestivum* L.) utilizadas foram a cultivar RBO 303, disponibilizadas pela empresa Tamona. O lote apresentava peso médio de 100 sementes de 4 g.

Foi realizada a verificação do teor de umidade (11%), com a retirada de uma amostra de 50 g, de acordo com o método da estufa a $105 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$, descrito nas Regras para Análises de Sementes (BRASIL, 2009). As sementes remanescentes foram mantidas em câmara fria ($10 \text{ }^\circ\text{C}$ e 40% de umidade relativa) e retiradas conforme a

necessidade.

Os tratamentos de sementes foram: nanopartículas de quitosana contendo S-nitroso-mercaptossuccínico (NP-MSNO), nanopartículas de quitosana contendo S-nitrosoglutationa (NP-GSNO), ácido S-nitroso-mercaptossuccínico livre (MSNO), S-nitrosoglutationa livre (GSNO), nanopartículas de quitosana sem doador de NO (NP), a água destilada (ÁGUA) e um controle sem priming (SP).

Em todos os experimentos, as sementes passaram por pré-tratamento (priming) com as formulações citadas anteriormente (exceto o controle SP). Elas foram tratadas por embebição calculada, utilizando um volume da formulação suficiente para que a umidade das sementes aumentasse para 25% (2,2 mL de formulação por tratamento de 200 sementes). As sementes foram acondicionadas em potes plásticos herméticos de 50 mL, sob agitação contínua durante 6 h a 200 rpm em um agitador circular horizontal TS-2000A (Benchmark, Edison, NJ, EUA).

A umidade após a embebição foi aferida com medidor de umidade de sementes portátil G650i, garantindo que a umidade de 25% foi atingida. Posterior a absorção das formulações, as sementes foram secas à temperatura ambiente por 12h.

3.4 CURVA DE DOSE RESPOSTA DOS DOADORES DE NO NANOENCAPSULADOS

No ensaio de curva de dose resposta de doador de NO encapsulado, se utilizou um delineamento inteiramente casualizado (DIC) com quatro repetições para cada doador naencapsulado. As doses de NP-MSNO e NP-GSNO foram: 0; 62,5; 125; 250, 500 e 1000 μM e a deficiência hídrica foi proporcionada por um potencial osmótico de -0,4 MPa (escolhido com base na literatura visando um estresse moderado no trigo), obtido através da solução contendo o polietileno glicol (PEG-6000).

O preparo da solução de PEG 6000 foi determinada de acordo com a equação proposta por Michel e Kaufmann (1973), bem como pelos procedimentos empregados por Braccini et al. (1996), Teixeira et al. (2008), Vieira et al. (2013) e Machado (2014), de acordo com a fórmula a seguir:

$$\psi_{os} = - (1,18 \times 10^{-2}) C - (1,18 \times 10^{-4}) C^2 + (2,67 \times 10^{-4}) CT + (8,39 \times 10^{-7}) C^2 T$$

Onde:

ψ_{os} = potencial osmótico (bar);

C = concentração do agente osmótico (gramas de PEG 6000 L⁻¹ de água);

T = temperatura (° C)

O teste de germinação foi realizado com substratos do tipo papel Germitest[®], no qual foram dispostas 50 sementes em cada repetição. Esse papel foi

umedecido na proporção de 2,5 vezes a massa do papel seco com a solução de PEG-6000. Os rolos de papel foram acondicionados em sacos plásticos, mantidos em câmara BOD, na posição horizontal, a 20 °C e fotoperíodo de 12 h.

A avaliação de germinação se deu no oitavo dia após os tratamentos, com a contabilização das plântulas normais para obtenção da porcentagem de germinação (total de sementes utilizadas dividida pela quantia de plântulas normais vezes 100). Em conjunto com o teste de germinação, no quarto dia, houve a primeira contagem de germinação (vigor de plântulas) e os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais (BRASIL, 2009).

De acordo com as Regras para Análises de Sementes (BRASIL, 2009), são consideradas normais as plântulas intactas, com pequenos defeitos ou infecções secundárias. As plântulas anormais serão aquelas que se apresentarem danificadas, deformadas, deterioradas ou com outro defeito em parte aérea e raiz. As sementes que não apresentarem nenhum sinal de germinação até o final do teste foram consideradas mortas.

O comprimento e massas das plântulas foram obtidos no oitavo dia após os tratamentos. Com auxílio de uma régua milimetrada, as plântulas normais foram avaliadas quanto a comprimento de raiz e parte aérea, expressos em cm. Após as medições, as mesmas foram pesadas para obtenção de massa fresca, e colocadas em estufa a 65 °C, por 72 h. Após esse período, foram pesadas em balança semianalítica para determinação da massa seca. Para essas determinações, se utilizaram 20 sementes com quatro repetições por tratamento, que seguiu a montagem e avaliação da mesma forma que o teste de germinação.

3.5 PRIMING COM DOADORES DE ÓXIDO NÍTRICO NA GERMINAÇÃO DO TRIGO SEM DÉFICIT HÍDRICO EM LABORATÓRIO

Com base nos resultados de curva de dose resposta, as formulações de NP-MSNO, NP-GSNO, MSNO, GSNO e NP foram diluídas em água destilada para obter a concentração de 500 µM do doador (que apresentou os melhores resultados no processo de germinação). O experimento se deu em DIC, com quatro repetições. Os tratamentos foram: NP-MSNO, NP-GSNO, MSNO, GSNO, NP e Água, além do controle SP. A montagem e avaliações de primeira contagem de germinação, porcentagem de germinação total, comprimento e massa se deram da mesma forma que no item 3.4, porém os papeis germitest foram umedecido somente com água.

3.6 PRIMING COM DOADORES DE ÓXIDO NÍTRICO NA GERMINAÇÃO DO TRIGO COM DÉFICIT HÍDRICO EM LABORATÓRIO

O experimento com déficit hídrico se deu do mesmo modo que o do item 3.5, porém com o emprego do déficit hídrico de -0,4 MPa proporcionado pelo PEG-6000, já as análises de primeira contagem de germinação, porcentagem de germinação total, comprimento e massa seca foram feitas como no item 3.4.

Após a desmontagem foram coletadas amostras de 0,05 g de plântulas (mix de 50% parte aérea e 50% raiz) para determinação de teores de S-nitrosotióis (RSNO), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e peroxidação lipídica (MDA), além de amostras de parte aérea (100 mg) para dosagem de clorofilas totais. Em ambas as coletas, as amostras foram imediatamente imersas em nitrogênio líquido e armazenadas a -80 °C até a extração para avaliações bioquímicas.

Também foram coletadas raízes para a realização de avaliações morfológicas, sendo: número médios de raízes, diâmetro de raiz, incidência, comprimento e quantidade média de pelos absorventes.

Para determinação dos níveis de S-nitrosotióis nas folhas e raízes, foram obtidos extratos conforme o método proposto por Silveira et al. (2016). Cada amostra (50 mg) foi homogeneizada em 1 mL de tampão fosfato (0,1 M, pH 7.4) na presença de N-etilmaleimida (NEM, 98%) e, posteriormente, levada a um processador ultrassônico por 10 minutos. Uma alíquota desse extrato foi adicionada a uma solução de cobre (II) (Cu^{2+}) (0.1M) para permitir a quantificação de NO liberado devido a decomposição do RSNO. As medições foram realizadas com auxílio de um sensor específico de óxido nítrico ISO-NOP 2 mm acoplado ao equipamento WPI TBR4100/1025, os dados foram comparados com uma curva padrão obtida para GSNO.

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e a peroxidação lipídica foram analisados como indicadores de estresse oxidativo. Para isso, foi utilizado 0,05 g do material coletado (folha e raiz), que foram pulverizados com nitrogênio líquido e homogeneizados com 1,4 mL de ácido tricloroacético (TCA; 0,2%) diluído em metanol, seguido de centrifugação a 13.700 x g, a 4°C por 5 min. O sobrenadante obtido foi utilizado para dosar H_2O_2 com base na reação KI em tampão fosfato (ALEXIEVA et al., 2001), enquanto o conteúdo de malonaldeído (MDA, produto da peroxidação lipídica) foi medido com base na determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (CAMEJO, WALLIN e ENOJÄRVI, 1998).

Todos os valores foram expressos com base na massa seca; portanto, foi realizada a correção através do peso seco equivalente ao peso fresco utilizado a seguinte fórmula:

$$\text{Peso seco equivalente} = \frac{(\text{Massa fresca utilizada na análise} \times \text{Massa seca})}{\text{Massa fresca da planta}}$$

Os pigmentos fotossintéticos foram realizados com a coleta de 100 mg de parte aérea, os quais foram macerados em nitrogênio líquido e armazenados em tubos Falcon contendo 10 mL de solução de acetona 80% (v/v) em tampão fosfato de sódio 2,5 mM (pH 7,8), posteriormente esses tubos foram recobertos por papel alumínio, centrifugados a 1800 xg por 5 minutos. O sobrenadante foi separado e se realizaram as leituras das absorbâncias nos comprimentos de onda 663,2 e 646,8 nm no espectrômetro Genesys 10S UV-Vis (Thermo Scientific, Waltham, EUA). As concentrações de clorofila a, b e carotenóides foram calculadas de acordo com as fórmulas de Lichtenthaler e Buschmann (2001). Para o cálculo do teor de clorofilas totais foi somado as clorofilas a e b.

Com as raízes coletadas foi aferido, o número médio de raízes, utilizando 2 plantas por repetição (4 repetições por tratamento). A contagem foi realizada manualmente e os valores foram obtidos pela média das plantas avaliadas no experimento (REMANS et al., 2012). Já para obtenção dos dados de microscopia de raiz, foram coletadas 5 raízes finas de cada repetição, que foram fixadas em FAA (formaldeído: ácido acético: álcool etílico 70%, 5:5:90, v:v:v) com base na metodologia de Zhang et al.(2005). Todas as análises foram feitas posicionando as raízes em uma lâmina contendo intersecções e observadas em fotomicroscópio (Carl Zeiss EL e Einsatze Zeiss Primo Star), com aumento de 100x. Para mensuração de incidência de pelos radiculares, foi utilizado o método de linha de grade, no qual registou sua presença ou ausência em 100 cruzamentos de raízes.

Por fim o diâmetro de raízes e comprimento de pelos absorventes, foram avaliados três pontos diferentes de 20 segmentos de raízes por amostra, as medidas foram realizadas no fotomicroscópio contendo uma régua graduada. Por fim, a quantidade de pelos por milímetro quadrado foi mensurada através da contabilização do número de pelos absorventes presentes nessa área, avaliando 25 pontos por repetição (ZHANG et al., 2005).

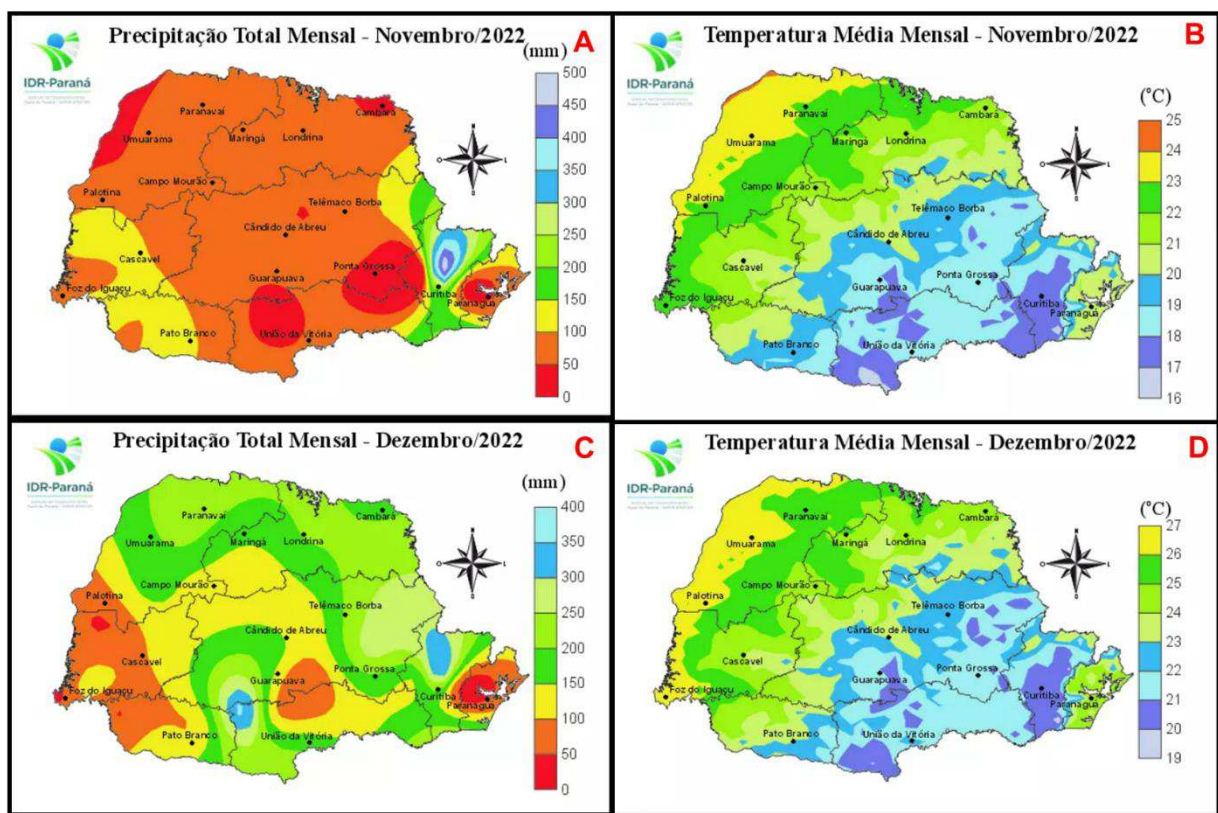
3.7 PRIMING COM DOADORES DE ÓXIDO NÍTRICO NA EMERGÊNCIA DE PLÂNTULAS DE TRIGO COM E SEM DÉFICIT HÍDRICO EM CASA DE VEGETAÇÃO

Foram realizados dois experimentos em casa de vegetação, sendo um com submissão das plantas à deficiência hídrica e outro em capacidade de campo.

Ambos seguiram o delineamento em blocos inteiramente casualizado (DBC) com quatro repetições e quatro plantas cada vaso, seguindo os mesmos tratamentos do item 3.5.

Durante todo o experimento, as plantas foram mantidas sob sombreamento parcial (50%) e condições naturais de temperatura. A semeadura foi realizada no dia 12 de novembro, a primeira desmontagem no dia 26 de novembro (sem déficit hídrico), e a segunda desmontagem no dia 19 de dezembro de 2022 (com déficit hídrico). Durante esse período, a média de temperatura e precipitação foram de 24 °C (Figura 1).

Figura 1 - (A) Precipitação média do mês de novembro (mm), (B) temperatura média (°C) do mês de novembro, (C) precipitação média do mês de dezembro (mm) e (D) temperatura média (°C) do mês de dezembro. Os dados são referentes ao período de experimento em casa de vegetação (novembro e dezembro de 2022).



Fonte: IDR (2023).

Em ambos os experimentos, foram semeadas oito sementes de trigo em cada copo de isopor (15,2 cm de altura x 12,2 cm de diâmetro) preenchido com 900 g de solo. O raleio foi feito após a emergência, deixando o vaso com quatro plântulas de trigo como unidade experimental (4 repetições). Quando as plântulas atingiram o estágio de crescimento com 3 folhas abertas (estágio vegetativo), foram realizadas as análises de condutância estomática e índice SPAD (Soil Plant Analysis Development) e sequencialmente desmontados (condição sem déficit hídrico).

No experimento com déficit hídrico, ao atingirem 3 folhas totalmente expandidas (estágio vegetativo), o solo foi irrigado de forma a atingir a capacidade de campo e na sequência o suprimento de água foi cessado. A suspensão da rega se manteve até o completo enrolamento das folhas e estabelecimento da murcha permanente, que se deu com 23 dias de déficit hídrico (30 dias após a emergência) e sequencialmente foi feita a desmontagem. O avanço do estresse foi acompanhado diariamente através de parâmetros visuais de murcha e pesagem de vasos. Os vasos foram pesados diariamente e a transpiração estimada pela variação de massa do vaso com planta subtraída da redução de massa em vasos sem plantas (evaporação).

No 27 após a emergência foram realizadas as análises de condutância estomática e índice SPAD (Soil Plant Analysis Development). A condutância estomática foi mensurada com auxílio do porômetro SC – 1, utilizando 2 plantas por vaso e 4 vasos por tratamento. A medida foi feita na face abaxial da segunda folha de cima para baixo na distância de 10 cm da base.

Para o índice SPAD (que se relaciona com o teor de clorofilas) foi avaliado com o medidor portátil SPAD-502, utilizando duas folhas de cada vaso (segunda totalmente expandida de baixo para cima). Após a desmontagem dos vasos, as raízes foram lavadas em água corrente. Utilizaram-se 2 plantas por vaso para as seguintes medições: comprimento de parte aérea, comprimento de raiz, massa seca de parte aérea, massa seca de raiz, área foliar e microscopia. Outras 2 plantas foram destinadas para a coleta de amostras de folhas para análises de conteúdo relativo de água, peroxidação lipídica e conteúdo de H₂O₂.

Após a demontagem dos vasos foram mensuradas área foliar, comprimento e massa seca de parte aérea e raiz, utilizando 2 plantas por vaso e quatro repetições por tratamento. A parte aérea das plantas de trigo também foram utilizadas para o cálculo de área foliar (AF), a qual foi mensurada utilizando um medidor de área foliar portátil LI-3000C (LI-COR© Biosciences, Lincoln, EUA). Folhas de duas plantas de cada vaso do experimento foram destacadas e mensuradas para obtenção da média expressa em cm². Por fim, as plantas utilizadas para avaliação dos comprimentos tiveram suas partes separadas, levadas à estufa a 60 °C por 72 h e pesadas com auxílio de balança semianalítica para obtenção da massa seca.

Também foram coletadas parte aérea para o conteúdo relativo de água na folha (CRA), que se deu pela coleta de 0,1 g de folha ao final do experimento. Posteriormente essa massa foliar foi imersa por 24 h em água destilada e pesada para determinação da massa túrgida. Por fim, a massa seca se deu após secagem das folhas a 60 °C por 72 h. O CRA foi calculado pela equação de diferença de massas (DO CARMO

et al., 2021).

O cálculo do CRA (%) foi feito da seguinte forma:

$$\text{Após a CRA(\%)} = \frac{\text{Massa fresca} - \text{massa seca}}{\text{Massa túrgida} - \text{massa seca}} \times 100$$

desmontagem dos experimentos em casa de vegetação foram

Durante a desmagem também foi realizada a coleta coletadas amostras de 0,05 g de parte aérea e de raiz para determinação de teores de S-nitrosotióis (RSNO), peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e peroxidação lipídica (MDA) de parte aérea e de raiz. Em ambas as coletas, as amostras foram imediatamente imersas em nitrogênio líquido e armazenadas a -80 °C até a extração para avaliações bioquímicas as quais se deram da mesma forma que no item 3.6.

Também foram coletadas raízes para a realização de avaliações morfológicas, sendo: número médios de raízes, diâmetro de raiz, incidência, comprimento e quantidade média de pelos absorventes igualmente descrito no item 3.6.

3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A normalidade e a homogeneidade das variâncias dos dados foram verificadas usando os testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente, utilizando-se o programa SISVAR. Os dados percentuais foram previamente transformados em $\arcsen \sqrt{x / 100}$. Os dados foram submetidos a uma ANOVA (análise de variância). Para a análise das curvas de dose resposta, foi realizada uma regressão polinomial. Os demais dados foram submetidos a comparação de médias pelo teste de Scott Knott quando necessário ($P < 0,05$).

4 RESULTADOS

4.1 CURVA DOSE RESPOSTA DOS DOADORES NO NANOENCAPSULADOS

Os resultados da curva de dose-resposta para os parâmetros primeira contagem de germinação estão presentes na Tabela 2, porcentagem de germinação, comprimento e massa seca de parte aérea e raiz, nas concentrações 0; 62,5; 125; 250, 500 e 1000 μM de NP-MSNO e NP-GSNO.

Para o tratamento com NP-MSNO, os dados aumentaram em 24,5%; 16,25%; 1 cm e 2,6 cm para primeira contagem de germinação, porcentagem de germinação, comprimento de parte aérea e comprimento de raiz, respectivamente. Já com NP-GSNO, os valores foram elevados em 15,5%; 8,5%; 1,2 cm e 2 cm para os mesmos parâmetros.

Também pode-se observar na Tabela 2 os valores do ponto máximo da curva, o qual representa a melhor dose a ser aplicada. Esses valores ficaram em torno de 500 μM para ambas as formulações testadas.

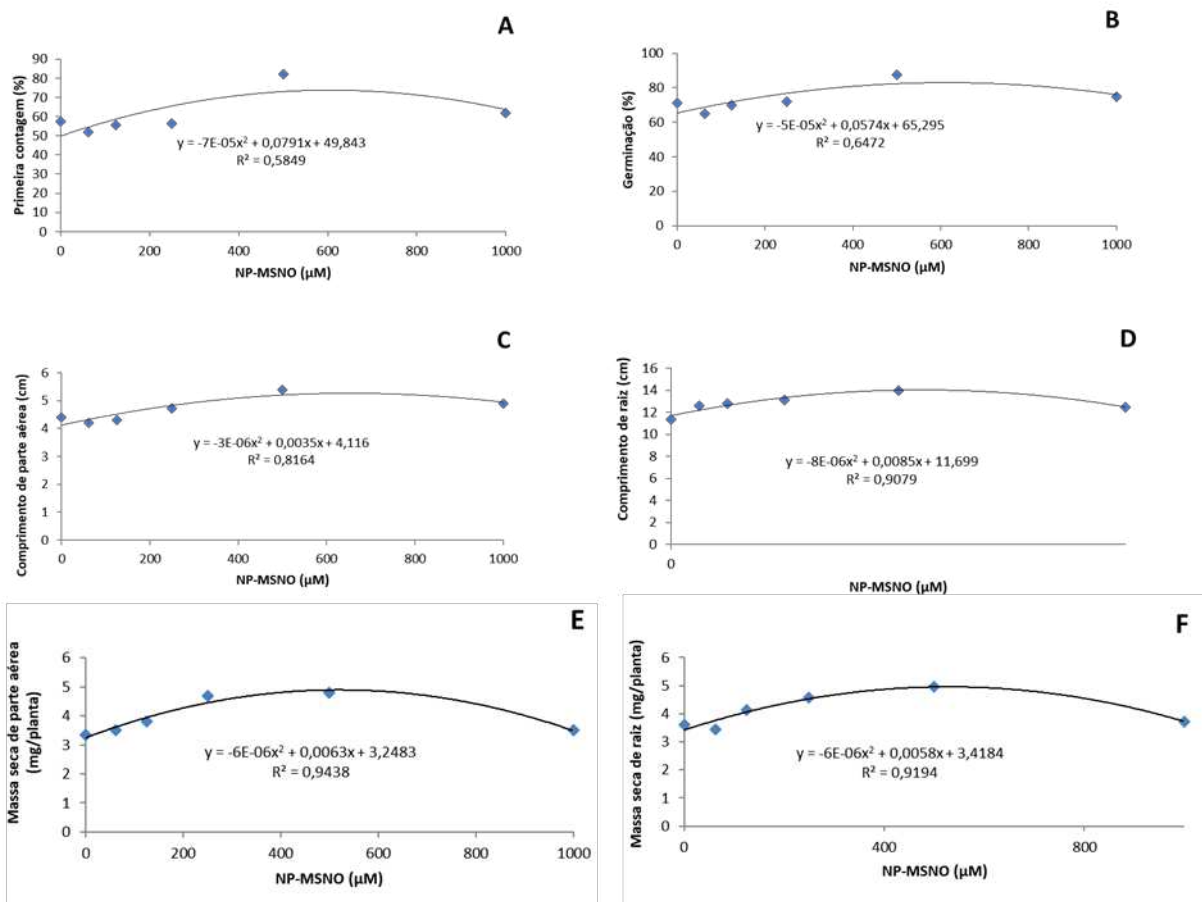
Tabela 2 – Porcentagem de germinação total, primeira contagem de germinação, comprimento da parte aérea e da raiz e massa seca da parte aérea e da raiz de trigo da cultivar RBO 303 em função da dose de doadores de óxido nítrico nanoencapsulados.

Doadores	μM						Equações de Regressão	R^2	Máx	CV%
	0	62,5	125	250	500	1000				
Primeira contagem de germinação (%)										
NP-MSNO	57,5	52	55,5	56,25	82	62	$y = -7\text{E-}05x^2 + 0,0791x + 49,843$	58%	565	3,89
NP-GSNO	57	53,75	59,5	68	72,5	60	$y = -6\text{E-}05x^2 + 0,0675x + 53,498$	88%	562	6,65
Germinação (%)										
NP-MSNO	71,25	65	70	72	87,5	75	$y = -5\text{E-}05x^2 + 0,0574x + 65,295$	64%	574	3,93
NP-GSNO	71,5	71,75	73,5	75,25	80	71	$y = -3\text{E-}05x^2 + 0,0327x + 70,33$	91%	545	5,96
Comprimento de parte aérea (cm)										
NP-MSNO	4,39	4,21	4,29	4,73	5,39	4,9	$y = -3\text{E-}06x^2 + 0,0035x + 4,116$	81%	583	9,57
NP-GSNO	4,4	5,28	5,2	5,43	5,67	5	$y = -4\text{E-}06x^2 + 0,0039x + 4,7083$	77%	487	5,48
Comprimento de raiz (cm)										
NP-MSNO	11,34	12,61	12,78	13,16	14	12,5	$y = -8\text{E-}06x^2 + 0,0085x + 11,699$	90%	531	7,55
NP-GSNO	11,25	11,47	11,56	11,58	13,23	11,07	$y = -6\text{E-}06x^2 + 0,0066x + 10,984$	72%	550	4,73
Massa seca de parte aérea (mg/planta)										
NP-MSNO	3,3	3,5	3,8	4,7	4,8	3,5	$y = -6\text{E-}06x^2 + 0,0063 + 3,24$	94%	525	13,77
NP-GSNO	3,3	3,9	4,2	4,5	4,7	3,5	$y = -5\text{E-}06x^2 + 0,0051x + 3,53$	94%	510	11,49
Massa seca de raiz (mg/planta)										
NP-MSNO	3,6	3,4	4,1	4,5	4,9	3,7	$y = -6\text{E-}09x^2 + 0,0058x + 3,41$	92%	483	7,55
NP-GSNO	3,6	3,8	4,1	4,3	4,8	3,4	$y = -5\text{E-}06x^2 + 0,0048x + 3,57$	96%	480	8,35

Os dados de cada doador foram avaliados separadamente: nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptopuccinico (NP-MSNO) ou S-nitrosoglutationa (NP-GSNO). **Fonte:** O próprio autor (2023). Os dados representam médias (n = 4).

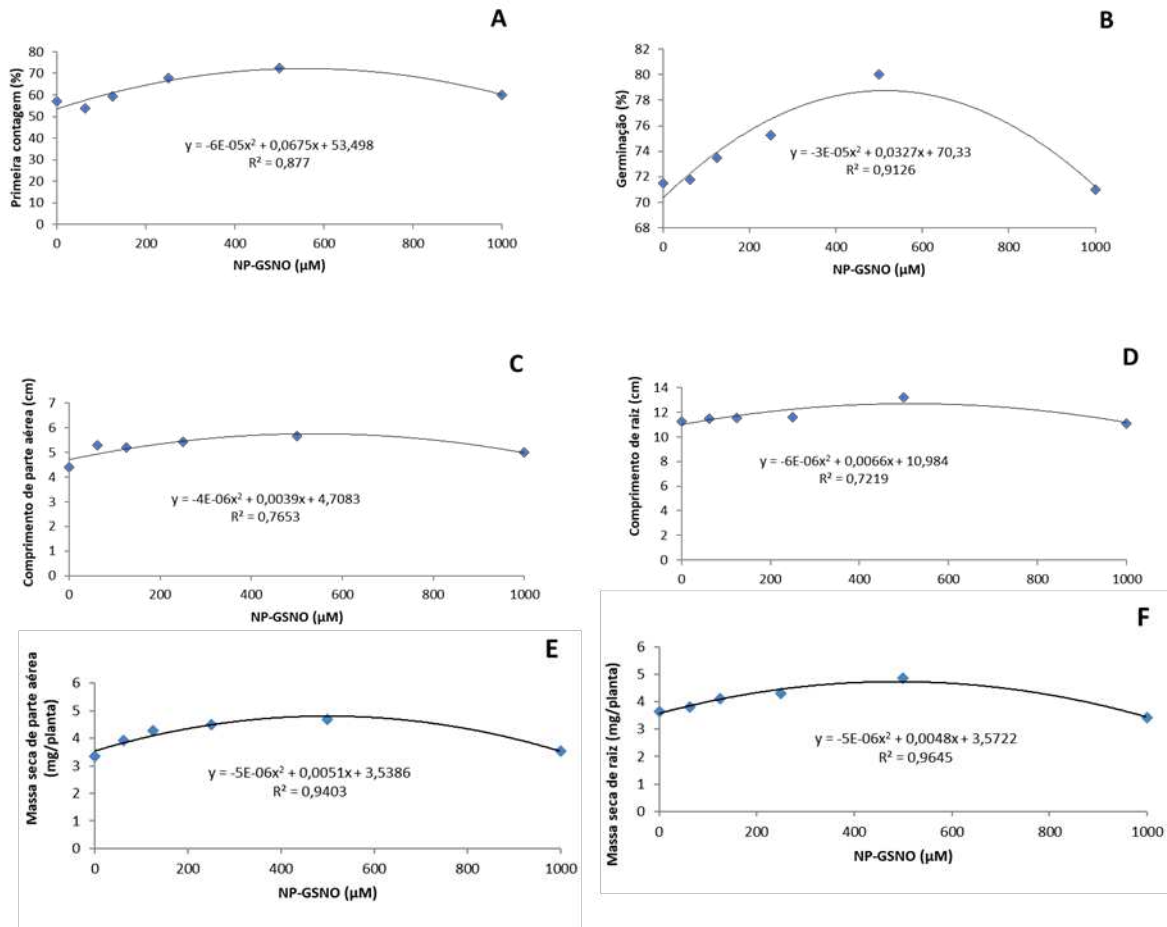
De forma geral, é possível verificar uma elevação gradual ao aumentar da dosagem de 0 para 500 μM , seguido de uma tendência de queda a partir de 1000 μM , em ambos os doadores nanoencapsulados (Figuras 2 e 3). Dessa forma, a análise dos gráficos permitiu estabelecer 500 μM como a dosagem ótima para os demais experimentos.

Figura 2 - Efeito do priming com diferentes doses de nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptopuccínico (NP-MSNO) sobre (A) primeira contagem de germinação, (B) porcentagem de germinação total, (C) comprimento da parte aérea, (D) comprimento da raiz, (E) massa seca da parte aérea e (F) massa seca da raiz de plântulas de trigo da cultivar BRO 303. Os dados representam médias ($n = 4$).



Fonte: O próprio autor (2023).

Figura 3 - Efeito do priming com diferentes doses de nanopartículas de quitosana contendo S-nitrosoglutationa (NP-GSNO) sobre (A) primeira contagem de germinação, (B) porcentagem de germinação total (C) comprimento da parte aérea, (D) comprimento da raiz, (E) massa seca da parte aérea e (F) massa seca da raiz (F) de plântulas de trigo da cultivar BRO 303. Os dados representam médias (n = 4).



Fonte: O próprio autor (2023).

4.2 EFEITO DO PRIMING NA GERMINAÇÃO DO TRIGO EM LABORATÓRIO SEM DÉFICT HÍDRICO

Os resultados dos diferentes primings na condição sem déficit hídrico (Tabela 3) mostram que os parâmetros porcentagem de germinação e massa seca de raiz não se diferiram entre os tratamentos. Os doadores livres nanoencapsulados induziram acréscimos na primeira contagem de germinação e massa seca de parte aérea se comparados ao controle sem priming e com água, enquanto apenas os nanoencapsulados elevaram os comprimentos de parte aérea e raiz quando comparados aos doadores livres e os controles.

Tabela 3 - Primeira contagem de germinação (PC), porcentagem de germinação total (G), comprimento de parte aérea (CPA) e da raiz (CR), massa seca de parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR) de plântulas de trigo da cultivar RBO 303 em função dos primings com nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptopuccínico (NP-MSNO) ou S-nitrosoglutaciona (NP-GSNO), doadores livres ácido S-nitroso-mercaptopuccínico (MSNO) e S-nitrosoglutaciona (GSNO), nanopartículas de quitosana vazias (NP) e água (ÁGUA), além do controle sem priming (SP) sem déficit hídrico.

Tratamentos	PC (%)	G (%)	CPA (cm)	CR (cm)	MSPA (mg/planta)	MSR (mg/planta)
SP	77,5 B	95,5 A	8,1 C	10,2 B	5,1 B	5,1 A
ÁGUA	82,5 B	96,5 A	8,1 C	10,5 B	5,1 B	5,5 A
NP	90,3 A	98 A	7,9 C	11,7 A	5 B	5,4 A
MSNO	89 A	91,5 A	7,7 C	11,1 B	5,5 A	4,9 A
NP-MSNO	87 A	95,5 A	9,5 A	11,5 A	5,6 A	4,7 A
GSNO	88 A	97,5 A	8,6 B	11,1 B	5,6 A	5,8 A
NP-GSNO	90 A	98,5 A	9,2 A	12,3 A	6,1 A	5,1 A
CV (%)	4,4	3,5	5,4	5,8	8,4	12,6

Médias (n = 4) seguidas por uma mesma letra nas colunas não diferem de acordo com o teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). *CV= Coeficiente de variação. **Fonte:** O próprio autor (2023).

4.3 EFEITO DO PRIMING NA GERMINAÇÃO DO TRIGO EM LABORATÓRIO COM DÉFICT HÍDRICO

Sementes tratadas com NP-MSNO e NP-GSNO, quando submetidas ao estresse hídrico, apresentaram dados de primeira contagem de germinação, porcentagem de germinação e comprimento de raiz superiores quando comparados aos demais tratamentos (Tabela 4). Nota-se que o efeito de NP-MSNO na primeira contagem de germinação e porcentagem de germinação foi maior que o de NP-GSNO.

Todos os primings realizados levaram a incremento nos parâmetros de vigor e crescimento se comparados ao controle SP. Todas as formulações testadas levaram a um aumento de pelo menos 1 mg na massa seca de parte aérea e raiz em relação ao controle sem priming e o tratamento com água. Quanto ao teor de clorofila total, as formulações NP-GSNO e NP-MSNO se destacaram ao levar a um incremento mais significativo, com teores 2 vezes maior quando comparados ao controle SP.

Tabela 4 - Primeira contagem de germinação (PC), porcentagem de germinação de sementes (G), comprimento de parte aérea (CPA) e da raiz (CR), massa seca de parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR) e Teor de clorofila totais (Clor Total) de plântulas de trigo da cultivar RBO 303 em função dos primings com nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptosuccínico (NP-MSNO) ou S-nitrosoglutationa (NP-GSNO), doadores livres ácido S-nitroso-mercaptosuccínico (MSNO) e S-nitrosoglutationa (GSNO), nanopartículas de quitosana vazias (NP) e água (ÁGUA), além do controle sem priming (SP) com déficit hídrico.

Tratamentos	PC (%)	G (%)	CPA (cm)	CR (cm)	MSPA (mg/planta)	MSR (mg/planta)	Clor Total (ug/g MS)
SP	53 D	70,5 D	3,5 D	10,5 D	3 B	3,2 B	727,3 B
ÁGUA	59 C	71 D	4,5 C	11,4 C	3,2 B	3,5 B	1511,03 B
NP	44 E	76,5 C	5,2 A	12,7 B	4,5 A	3,9 A	981,20 B
MSNO	59 C	74 C	5,3 A	13,3 B	4,5 A	4,1 A	1191,94 B
NP-MSNO	82 A	87 A	5,3 A	13,9 A	4,7 A	4,1 A	1972,08 A
GSNO	58,5 C	72 D	4,8 B	12,9 B	4,4 A	4,4 A	1322,22 B
NP-GSNO	71,5 B	82,5 B	5,4 A	13,6 A	4,7 A	4,3 A	2640,49 A
CV (%)	3,8	3,9	4,6	3,5	4,5	8,3	40,3

Médias (n = 4) seguidas por uma mesma letra nas colunas não diferem de acordo com o teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). *CV= Coeficiente de variação. **Fonte:** O próprio autor (2023).

Os tratamentos NP-GSNO e NP-MSNO incrementaram a incidência de pelos absorventes das raízes, diâmetro médio de raízes, comprimento e quantidade média de pelos absorventes de 14,5%, 25,4 μm , 68,1 μm e 2 mm^2 , respectivamente, para o NP-MSNO, e 14,6%, 38,9 μm , 91 μm e 2,6 mm^2 , respectivamente, para o NP-GSNO, em relação ao controle SP (Tabela 5).

Outro tratamento que se destacou foi o GSNO, que elevou em 20,9 μm , 76,7 μm e 2 mm^2 os parâmetros diâmetro médio de raízes, comprimento e quantidade média de pelos absorventes, respectivamente, em relação ao controle SP.

Também é possível observar que não houve diferença entre os tratamentos para o número de raízes e que, para o comprimento de pelos absorventes, todos os primings tiveram efeito positivo em relação ao SP e água.

Tabela 5 - Número de raízes (NR), incidência de pelos absorventes das raízes (IC), diâmetro médio de raízes (DM), comprimento (CP) e quantidade média de pelos absorventes (QMP) de plântulas de trigo da cultivar RBO 303 em função dos primings com nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptosuccínico (NP-MSNO) ou S-nitrosoglutationa (NP-GSNO), doadores livres ácido S-nitroso-mercaptosuccínico (MSNO) e S-nitrosoglutationa (GSNO), nanopartículas de quitosana vazias (NP) e água (ÁGUA), além do controle sem priming (SP) com déficit hídrico.

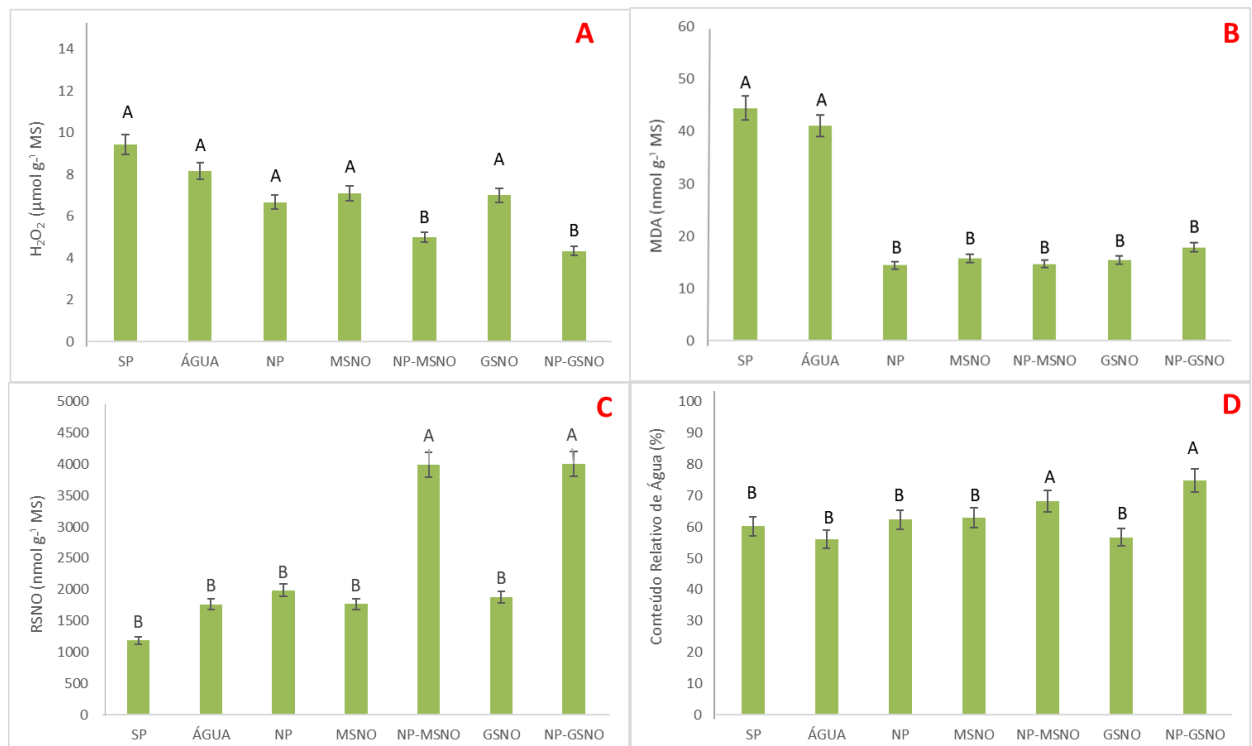
Tratamentos	NR	IC (%)	DM (μm)	CP (μm)	QMP (mm^2)
SP	4,1 A	78,8 C	374,3 B	135,5 C	5,5 B
ÁGUA	4,2 A	87,4 B	365,2 B	164,3 B	6,5 B
NP	4,2 A	89,5 B	393,2 A	206,5 A	7,5 A
MSNO	4,2 A	83,3 C	381,6 B	204 A	6,5 B
NP-MSNO	4,1 A	93,4 A	399,7 A	203,6 A	7,5 A
GSNO	4,3 A	86,3 B	395,2 A	212,2 A	7,5 A
NP-GSNO	4,4 A	93,3 A	413,2 A	226,5 A	8,1 A
CV (%)	6	4,2	4,1	6,4	12,4

Médias (n = 4) seguidas por uma mesma letra nas colunas não diferem de acordo com o teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). *CV= Coeficiente de variação. **Fonte:** O próprio autor (2023).

Nos parâmetros bioquímicos NP-GSNO e NP-MSNO foram os únicos tratamentos a levarem a uma redução significativa dos teores de peróxido de hidrogênio (4,3 e 5 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MS respectivamente), além de acréscimos de 2817 e 2803 nmol g^{-1} MS nos valores de RSNO e 14,7 e 8,1% de conteúdo relativo de água com relação ao controle SP (Figura 4 A, 4 C e 4 D). Já para a peroxidação lipídica, tanto o SP como o priming com água tiveram maiores valores com relação aos demais (9,45 e 8,18 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MS, respectivamente), indicando que houve o efeito protetor de todas as formulações testadas (Figura 4 B).

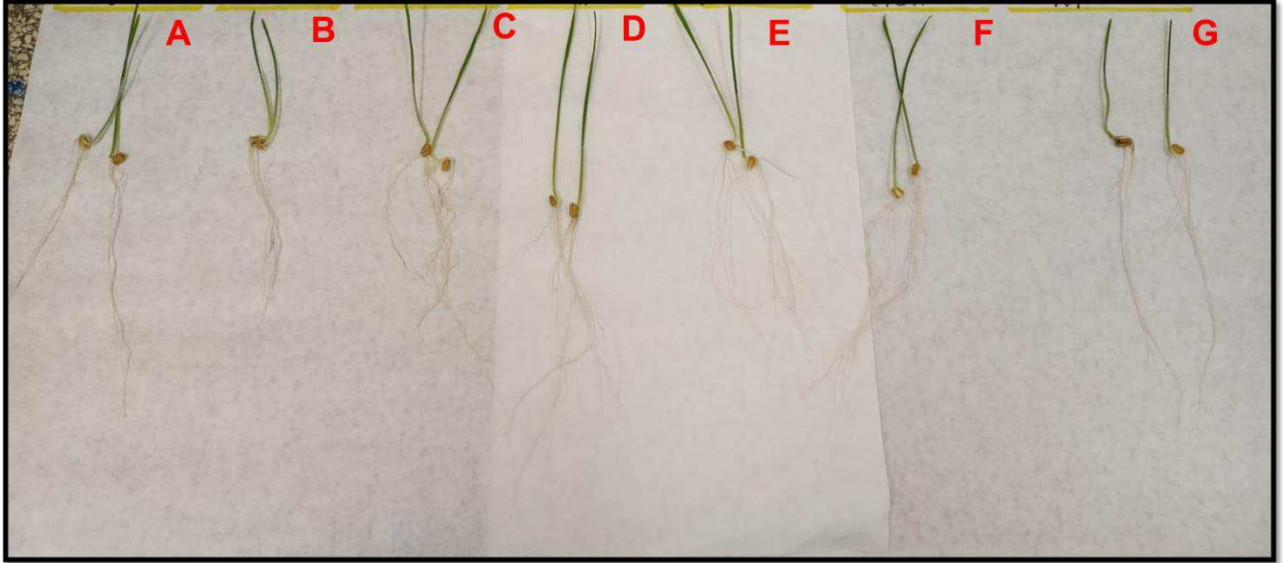
Ao se observar a figura 5, pode-se visualizar o efeito positivo dos diferentes primings na germinação e vigor das plântulas após sete dias. Destacam-se os tratamentos NP-MSNO e NP-GSNO (Figuras 5 C e 5 D), apresentando maior comprimento tanto de raiz como parte aérea.

Figura 4 - (A) Conteúdo de peróxido de hidrogênio, (B) peroxidação lipídica, (C) nitrosotióis e (D) conteúdo relativo de água de plântulas de trigo da cultivar RBO 303 em função dos primings com nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptosuccínico (NP-MSNO) ou S-nitrosoglutationa (NP-GSNO), doadores livres ácido S-nitroso-mercaptosuccínico (MSNO) e S-nitrosoglutationa (GSNO), nanopartículas de quitosana vazias (NP) e água (ÁGUA), além do controle sem priming (SP) com déficit hídrico. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem de acordo com o teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Os dados são médias \pm erro padrão ($n = 4$).



Fonte: O próprio autor (2023).

Figura 5 - Plântulas provenientes dos tratamentos com diferentes primings de sementes de trigo. (A) Água, (B) Controle sem priming, (C) Nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptosuccínico, (D) Nanopartículas de quitosana contendo S-nitrosoglutationa, (E) Ácido S-nitroso-mercaptosuccínico livre, (F) S-nitrosoglutationa livre e (G) Nanopartícula de quitosana sem doador de NO.



Fonte: O próprio autor (2022).

4.4 EFEITO DO PRIMING EM PLANTAS DE TRIGO EM CASA DE VEGETAÇÃO SEM DÉFICIT HÍDRICO

Quando as plantas de trigo submetidas aos tratamentos com priming foram mantidas em situação de capacidade de campo em casa de vegetação, elas não apresentaram diferença significativa para os parâmetros massa seca de parte aérea, massa seca de raiz, comprimento de parte aérea e de raiz, com médias de 33,7 mg, 16,4 mg, 21,12 cm e 29,5 cm, respectivamente (Tabela 6).

Tabela 6 - Massa seca de parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR), comprimento de parte aérea (CPA) e raiz (CR) de plântulas de trigo da cultivar RBO 303 em função dos primings com nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptosuccínico (NP-MSNO) ou S-nitrosoglutationa (NP-GSNO), doadores livres ácido S-nitroso-mercaptosuccínico (MSNO) e S-nitrosoglutationa (GSNO), nanopartículas de quitosana vazias (NP) e água (ÁGUA), além do controle sem priming (SP), em casa de vegetação sem déficit hídrico.

Tratamentos	MSPA (mg/planta)	MSR (mg/planta)	CPA (cm)	CR (cm)
SP	34 A	14 A	20,62 A	23,12 A
ÁGUA	36 A	16 A	22 A	25,75 A
NP	34 A	14 A	19,50 A	24,87 A
MSNO	33 A	18 A	22,25 A	25,37 A
NP-MSNO	32 A	17 A	21,62 A	27,50 A
GSNO	35 A	18 A	20,87 A	26,37 A
NP-GSNO	32 A	18 A	21,12 A	28,87 A
CV (%)	24,12	30,56	6,69	12,63

Médias (n = 4) seguidas por mesma letra nas colunas não diferem de acordo com o teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). **Fonte:** o próprio autor.

O número médio de raízes por planta e a incidência de pelos absorventes também não variaram entre os tratamentos, com médias de 5,15 e 49,15%, respectivamente. O tratamento NP-GSNO demonstrou maior quantidade média de pelos absorventes quando comparado aos demais tratamentos, com valor de 7,2 mm⁻² (Tabela 7).

O diâmetro da raiz e o comprimento dos pelos absorventes foram afetados por todos os doadores (livres e nanocapsulados), levando a um aumento nesses parâmetros em relação ao controle SP e ÁGUA (Tabela 7).

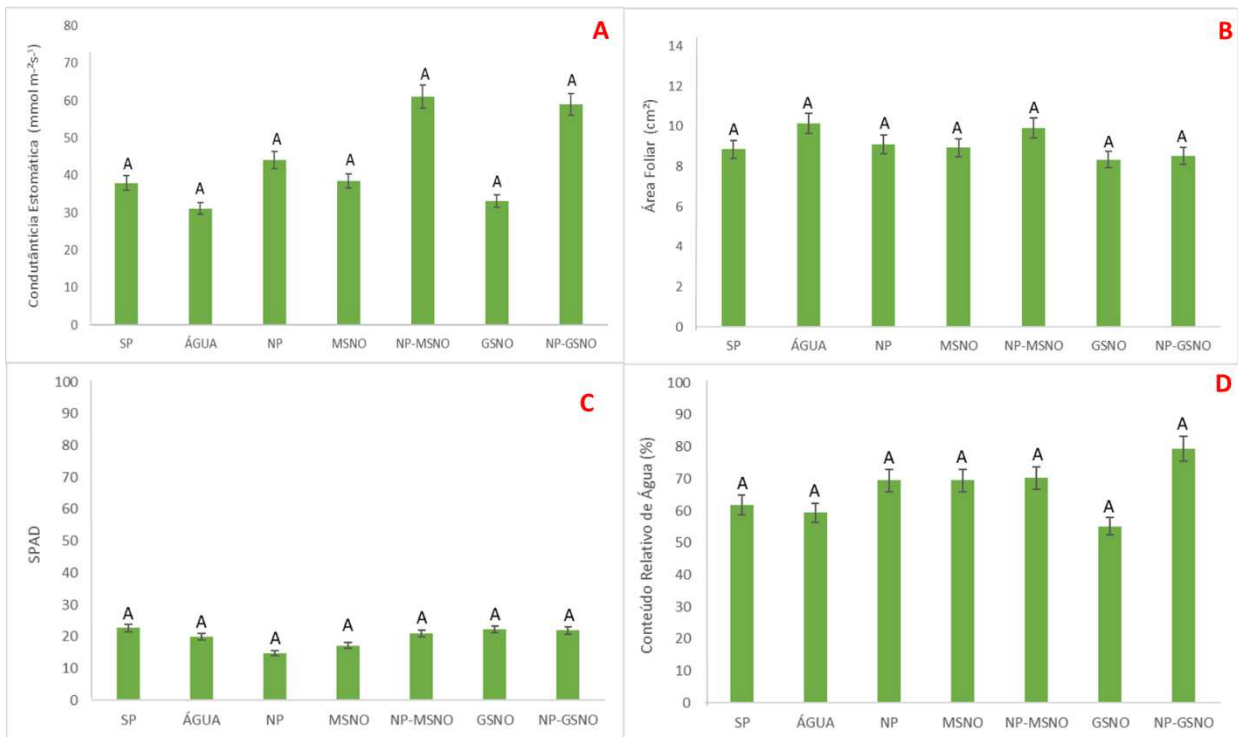
Tabela 7 - Número (NR) de raízes, incidência de pelos absorventes das raízes (IC), diâmetro médio de raízes (DM), comprimento (CP) e quantidade média de pelos absorventes (QMP) de plântulas de trigo da cultivar RBO 303 em função dos primings com nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptopuccínico (NP-MSNO) ou S-nitrosoglutationa (NP-GSNO), doadores livres ácido S-nitroso-mercaptopuccínico (MSNO) e S-nitrosoglutationa (GSNO), nanopartículas de quitosana vazias (NP) e água (ÁGUA), além do controle sem priming (SP), em casa de vegetação sem déficit hídrico.

Tratamentos	NR	IC (%)	DM (μm)	CP (μm)	QMP (mm^2)
SP	4,5 A	35,2 A	471 B	135 B	4,2 C
ÁGUA	4,7 A	46,5 A	465 B	164 B	4,2 C
NP	4,7 A	46,7 A	493 A	221 A	4,7 C
MSNO	5,7 A	45,5 A	490 A	201 A	4 C
NP-MSNO	5,1 A	50,5 A	501 A	199 A	5,6 B
GSNO	5,7 A	57 A	496 A	229 A	5,3 B
NP-GSNO	5,5 A	62,7 A	512 A	226 A	7,2 A
CV (%)	14,07	15,8	3,14	12,56	8,97

Médias (n = 4) seguidas por mesma letra nas colunas não diferem de acordo com o teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). **Fonte:** O próprio autor (2023).

Os dados obtidos nos parâmetros condutância estomática, área foliar, índice SPAD e conteúdo relativo de água (Figura 6 A, 6 B, 6 C e 6D) demonstram que não houve diferença significativa entre os tratamentos, com médias de 43,5 $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$; 9,1 cm^2 ; 28,1 e 66,4% respectivamente.

Figura 6 - (A) Condutância estomática, (B) área foliar, (C) índice SPAD e (D) conteúdo relativo de água de plântulas de trigo da cultivar RBO 303 em função dos primings com nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptosuccínico (NP-MSNO) ou S-nitrosoglutationa (NP-GSNO), doadores livres ácido S-nitroso-mercaptosuccínico (MSNO) e S-nitrosoglutationa (GSNO), nanopartículas de quitosana vazias (NP) e água (ÁGUA), além do controle sem priming (SP), em casa de vegetação sem déficit hídrico. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem de acordo com o teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Os dados são médias \pm erro padrão ($n = 4$).



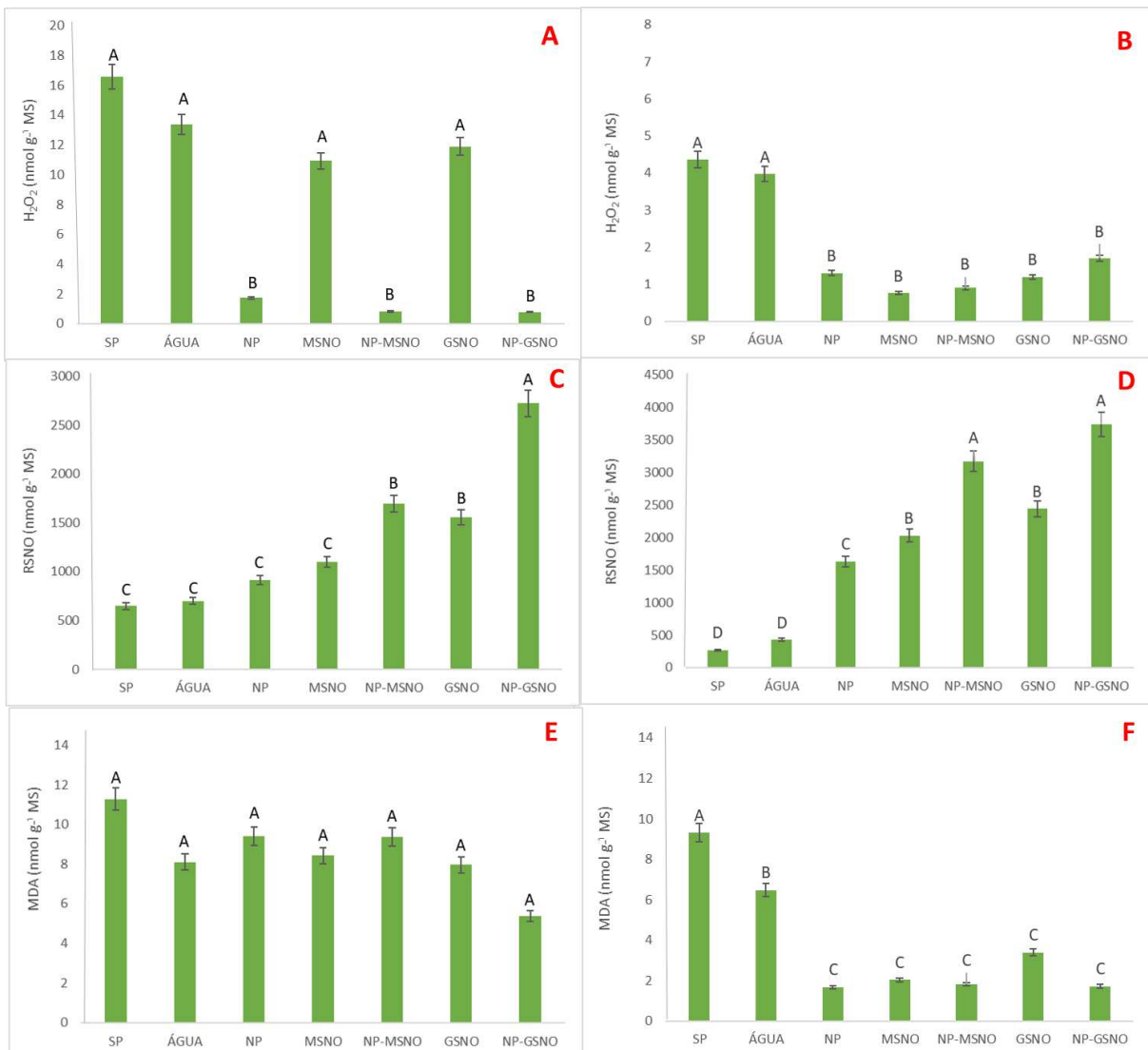
Fonte: O próprio autor (2023).

Nas análises bioquímicas das folhas as plantas sem déficit hídrico (Figura 7), todos os tratamentos com nanopartículas levaram a uma redução no conteúdo de peróxido de hidrogênio, porém não houve diferença significativa quanto à peroxidação lipídica. Os tratamentos NP-MSNO, GSNO e NP-GSNO também induziram um incremento nos teores de RSNOs, sendo que NP-GSNO apresentou os maiores teores comparados aos demais (Figura 7A, 7C e 7E).

As mesmas análises, quando realizadas na raiz, apresentaram os maiores conteúdos de peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica para os tratamentos com água e o controle sem priming. Com relação aos teores de tióis RSNOs nas raízes, todos os tratamentos mostraram elevação comparado ao priming com água e o controle SP, com destaque novamente ao NP-GSNO que apresentou o maior valor (Figura 7B, 7D e 7F).

Nas figuras 8 e 9, é possível visualizar as plantas de trigo tratadas nos vasos e desmontadas, respectivamente, permitindo observar a manutenção no padrão visual das plantas mesmo com os diferentes tratamentos realizados nas sementes.

Figura 7 - (A) Conteúdo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em parte aérea, (B) conteúdo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) na raiz, (C) nitrosotióis (RSNO) em parte aérea, (D) nitrosotióis (RSNO) na raiz, (E) peroxidação lipídica (MDA) em parte aérea e (F) peroxidação lipídica (MDA) na raiz de plântulas de trigo da cultivar RBO 303 em função dos primings com nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptosuccínico (NP-MSNO) ou S-nitrosoglutationa (NP-GSNO), doadores livres ácido S-nitroso-mercaptosuccínico (MSNO) e S-nitrosoglutationa (GSNO), nanopartículas de quitosana vazias (NP) e água (ÁGUA), além do controle sem priming (SP), em casa de vegetação sem déficit hídrico. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem de acordo com o teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Os dados são médias \pm erro padrão ($n = 4$).



Fonte: O próprio autor (2023).

Figura 8 - Vasos do experimento em casa de vegetação sem déficit hídrico, provenientes dos diferentes tratamentos das sementes: (A) Água, (B) Controle sem priming, (C) Nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptosuccínico, (D) Nanopartículas de quitosana contendo S-nitrosoglutationa, (E) Ácido S-nitroso-mercaptosuccínico livre, (F) S-nitrosoglutationa livre e (G) Nanopartícula de quitosana sem doador de NO.

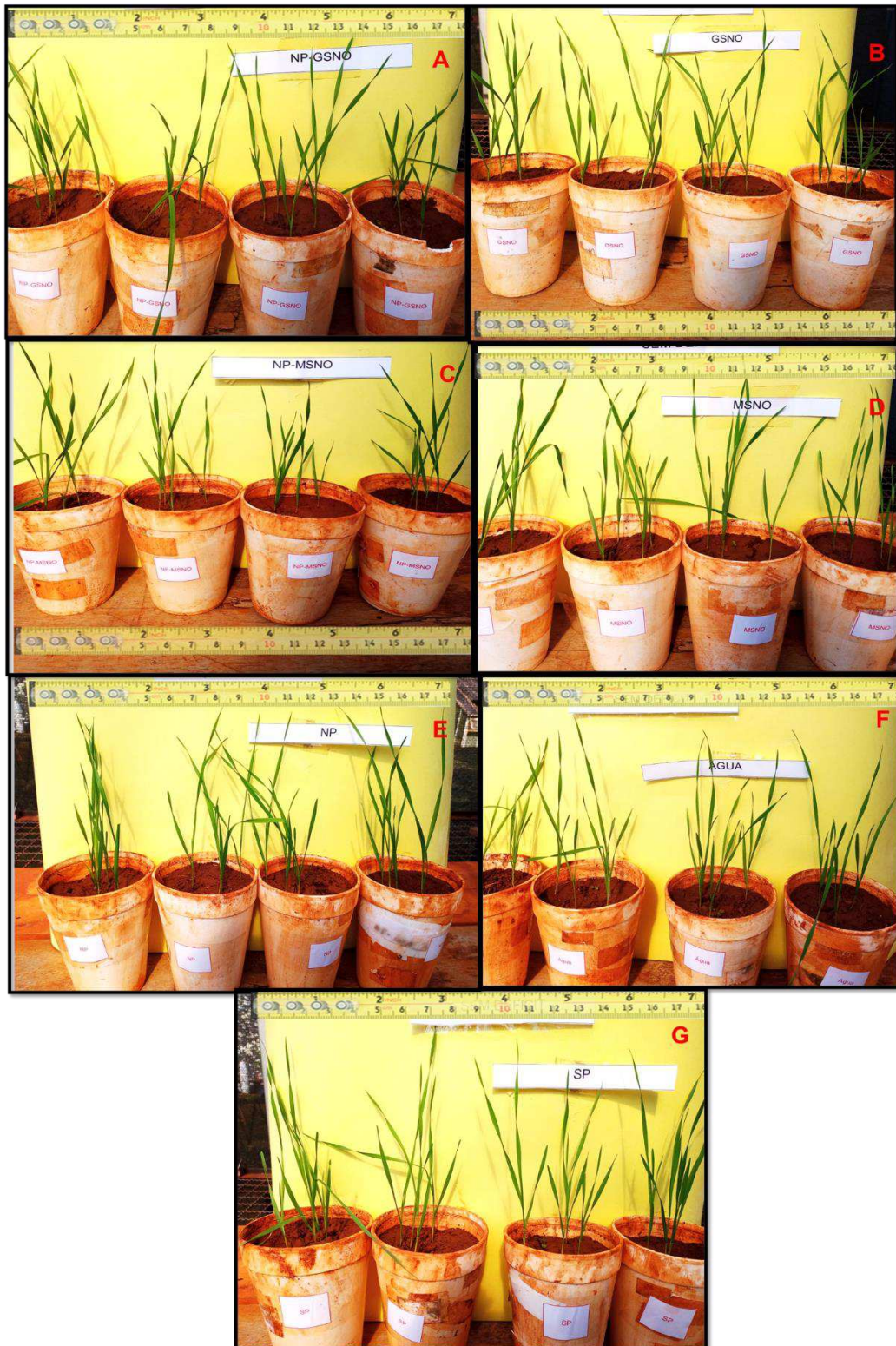
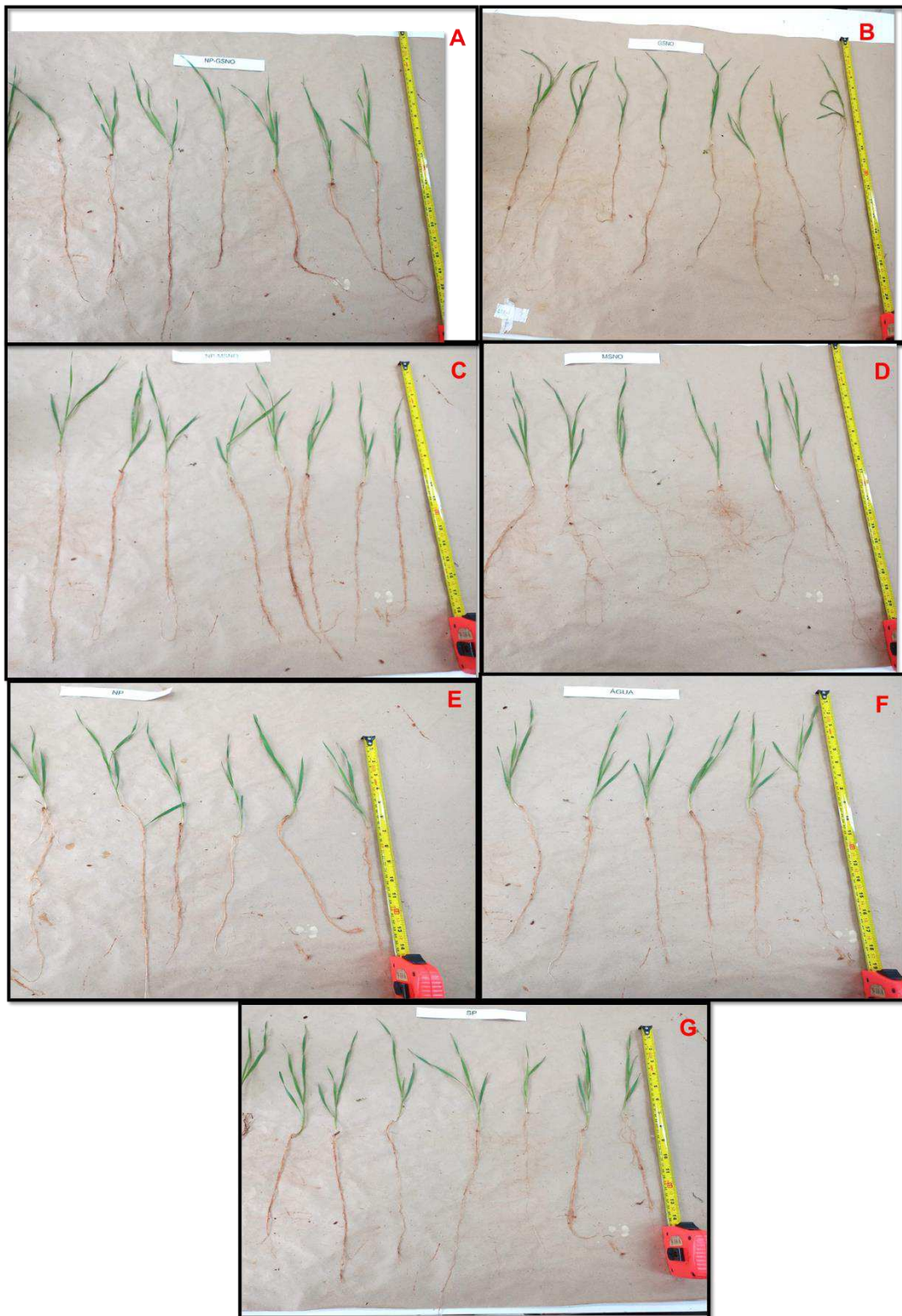


Figura 9 - Plantas do experimento em casa de vegetação sem déficit hídrico, provenientes dos diferentes tratamentos das sementes: (A) Água, (B) Controle sem priming, (C) Nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptosuccinico, (D) Nanopartículas de quitosana contendo S-nitrosoglutationa, (E) Ácido S-nitroso-mercaptosuccínico livre, (F) S-nitrosoglutationa livre e (G) Nanopartícula de quitosana sem doador de NO.



Fonte: O próprio autor (2023).

4.5 EFEITO DO PRIMING EM PLANTAS DE TRIGO EM CASA DE VEGETAÇÃO COM DÉFICT HÍDRICO

Ao avaliar as plantas de trigo submetidas ao déficit hídrico em casa de vegetação, é possível verificar que os tratamentos não diferiram em massa seca de parte aérea, massa seca de raiz e comprimento de parte aérea, com médias de 46 mg, 27,2 mg e 21,1 cm entre tratamentos (Tabela 8).

Quanto ao comprimento de raiz, todos os primings tiveram acréscimo nesse parâmetro se comparados ao controle e ao priming com água. Além disso, os doadores de NO nanoencapsulados (NP-GSNO e NP-MSNO) mostraram as maiores elevações em relação a todos os tratamentos para o comprimento de raiz (Tabela 8).

Tabela 8 - Massa seca de parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR), comprimento de parte aérea (CPA) e raiz (CR) de plântulas de trigo da cultivar RBO 303 em função dos primings com nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptopuccínico (NP-MSNO) ou S-nitrosoglutaciona (NP-GSNO), doadores livres ácido S-nitroso-mercaptopuccínico (MSNO) e S-nitrosoglutaciona (GSNO), nanopartículas de quitosana vazias (NP) e água (ÁGUA), além do controle sem priming (SP), em casa de vegetação com déficit hídrico.

Tratamentos	MSPA (mg/planta)	MSR (mg/planta)	CPA (cm)	CR (cm)
SP	33 A	19,5 A	19,3 A	19,1 C
ÁGUA	41 A	22,2 A	20,7 A	23,1 C
NP	36 A	26,5 A	21,1 A	25,5 B
MSNO	43 A	27,2 A	20,5 A	27,1 B
NP-MSNO	42 A	32,2 A	22,8 A	33 A
GSNO	42 A	26,5 A	20,5 A	26,6 B
NP-GSNO	43 A	36,2 A	23,3 A	35 A
CV (%)	24,56	25,91	10,18	11,6

Médias (n = 4) seguidas por mesma letra nas colunas não diferem de acordo com o teste de Scott-Knott (p<0,05). **Fonte:** O próprio autor (2023).

O número de raízes por planta não diferiu entre os tratamentos testados (Tabela 9). Porém, ao observar o diâmetro médio das raízes e o comprimento dos pelos absorventes, o priming com água e o controle SP mostraram menores valores comparados aos demais (Tabela 9).

O priming de sementes com NP-GSNO levou aos maiores valores na incidência e na quantidade média de pelos absorventes de raiz em relação aos outros primings, com acréscimo de 39,5% na incidência de pelos e 3,6 mm⁻² na quantidade média de pelos absorventes em relação ao controle SP (Tabela 9).

Tabela 9 - Número (NR) de raízes, incidência de pelos absorventes das raízes (IC), diâmetro médio de raízes (DM), comprimento (CP) e quantidade média de pelos absorventes (QMP) de plântulas de trigo da cultivar RBO 303 em função dos primings com nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptopuccínico (NP-MSNO) ou S-nitrosoglutationa (NP-GSNO), doadores livres ácido S-nitroso-mercaptopuccínico (MSNO) e S-nitrosoglutationa (GSNO), nanopartículas de quitosana vazias (NP) e água (ÁGUA), além do controle sem priming (SP), em casa de vegetação com déficit hídrico.

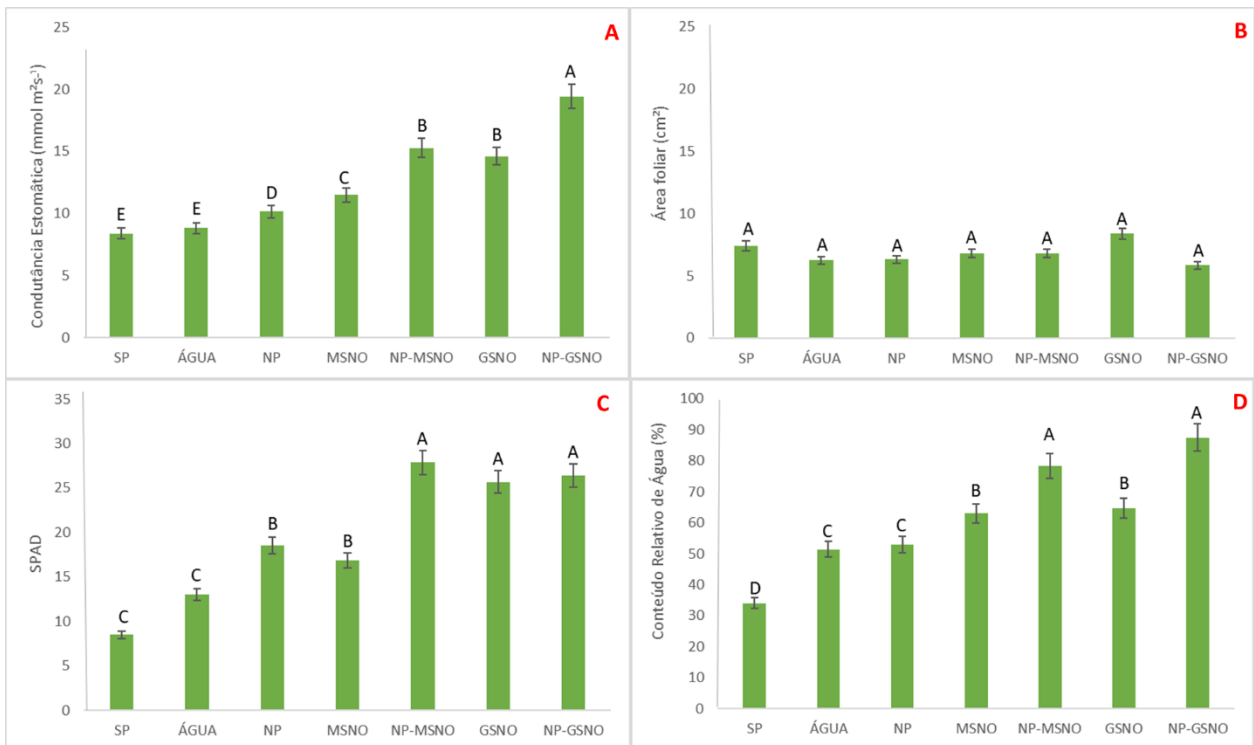
Tratamentos	NR	IC (%)	DM (μm)	CP (μm)	QMP (mm^2)
SP	4,5 A	48,2 B	371 B	195 B	3,5 C
ÁGUA	4,7 A	48,7 B	365 B	224 B	4,5 C
NP	4,7 A	54 B	393 B	281 A	5,2 B
MSNO	5,7 A	50 B	384 A	261 A	5,3 B
NP-MSNO	5,1 A	57,2 B	401 A	259 A	6 B
GSNO	5,7 A	51 B	396 A	289 A	5,6 B
NP-GSNO	5,5 A	87,7 A	412 A	286 A	7,1 A
CV (%)	14	15,4	3,9	9,6	13

Médias (n = 4) seguidas por mesma letra nas colunas não diferem de acordo com o teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). **Fonte:** O próprio autor (2023).

Ao observar a Figura 10, é possível verificar que os parâmetros fisiológicos foram afetados pelo priming das sementes. Para o conteúdo relativo de água nas folhas, todos os tratamentos mostraram maior valor em comparação ao controle SP. Todavia, o efeito dos doadores de NO nanoencapsulados foi maior que o dos doadores livres, os quais por sua vez foram mais efetivos que os primings com NP e água (Figura 10 D).

Para a condutância estomática e índice SPAD, todos os tratamentos testados foram superiores ao priming com água e ao controle SP. Os primings com NP-MSNO, NP-GSNO e GSNO tiveram maiores índices SPAD, ao passo que NP-GSNO apresentou maior condutância estomática em relação aos demais (Figura 10 A e 10 C).

Figura 10 - (A) Condutância estomática, (B) área foliar, (C) índice SPAD e (D) conteúdo relativo de água de plântulas de trigo da cultivar RBO 303 em função dos primings com nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptosuccínico (NP-MSNO) ou S-nitrosoglutationa (NP-GSNO), doadores livres ácido S-nitroso-mercaptosuccínico (MSNO) e S-nitrosoglutationa (GSNO), nanopartículas de quitosana vazias (NP) e água (ÁGUA), além do controle sem priming (SP), em casa de vegetação com déficit hídrico. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem de acordo com o teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Os dados são médias \pm erro padrão ($n = 4$).



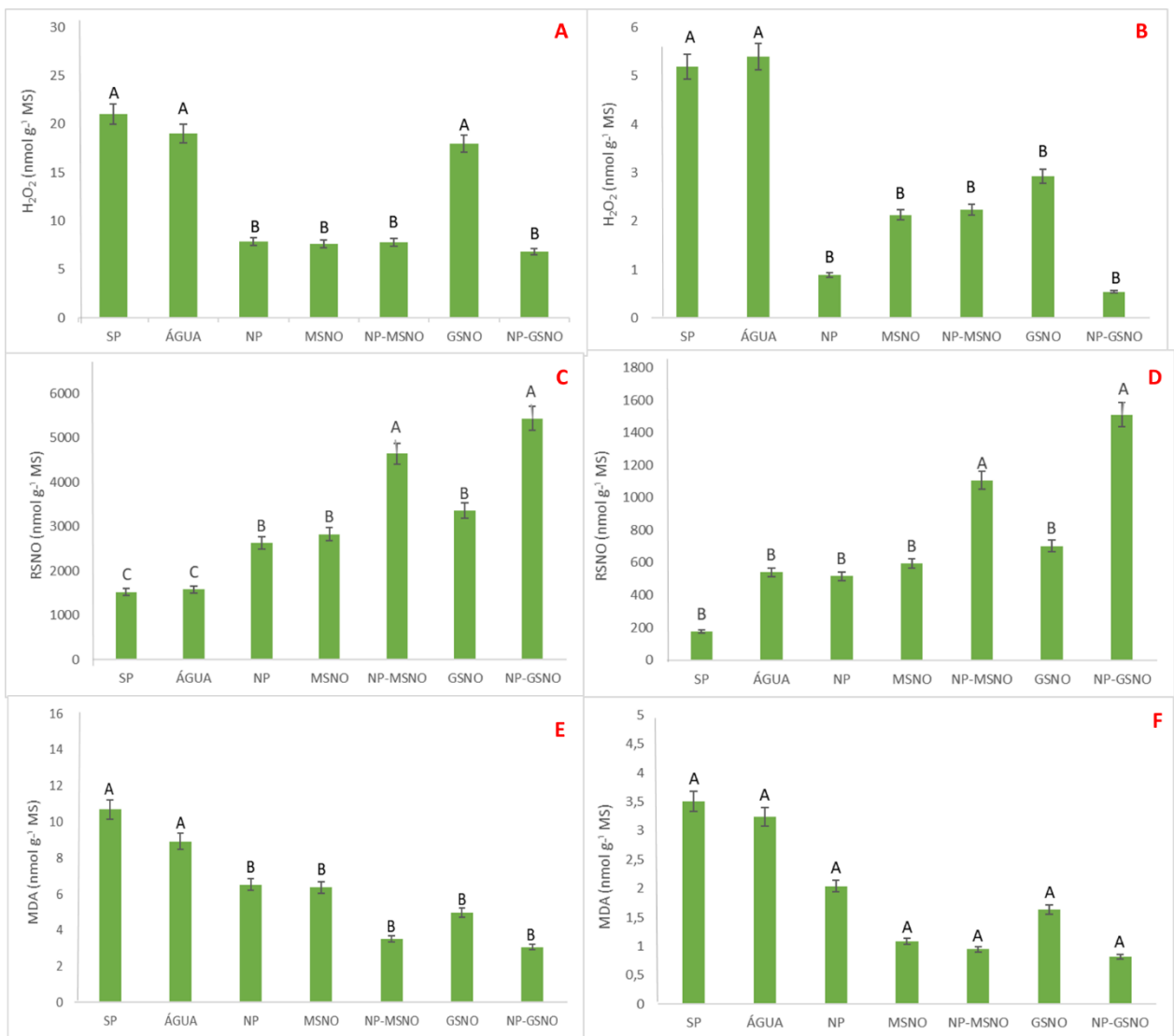
Fonte: O próprio autor (2023).

Nas análises bioquímicas (Figura 11), é possível observar que as plantas submetidas ao déficit hídrico em casa de vegetação sofreram influência dos tratamentos em todas as análises realizadas em parte aérea (Figura 11 A, 11 C, 11 E). Os tratamentos ÁGUA, GSNO e SP levaram às maiores quantidades de peróxido de hidrogênio, enquanto a peroxidação lipídica foi maior nos tratamentos SP e ÁGUA. No caso do teor de RSNO (Figura 11 C), todos os tratamentos resultaram em maiores valores em relação ao controle SP e a ÁGUA, sendo que o NP-GSNO e MP-MSNO tiveram maiores valores.

Quando os mesmos parâmetros bioquímicos foram analisados nas raízes (Figura 11 B, 11 D e 11 F), não foi possível verificar diferença significativa nos indicadores de peroxidação lipídica, porém os teores de peróxido de hidrogênio foram maiores nos tratamentos SP e ÁGUA. Todavia os tratamentos com NP-GSNO e NP-MSNO apresentaram um acréscimo no conteúdo de RSNO comparados aos demais

tratamentos.

Figura 11 - (A) Conteúdo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em parte aérea, (B) conteúdo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) na raiz, (C) nitrosotióis (RSNO) em parte aérea, (D) nitrosotióis (RSNO) na raiz, (E) peroxidação lipídica (MDA) em parte aérea e (F) peroxidação lipídica (MDA) na raiz de plântulas de trigo da cultivar RBO 303 em função dos primings com nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptosuccínico (NP-MSNO) ou S-nitrosoglutationa (NP-GSNO), doadores livres ácido S-nitroso-mercaptosuccínico (MSNO) e S-nitrosoglutationa (GSNO), nanopartículas de quitosana vazias (NP) e água (ÁGUA), além do controle sem priming (SP), em casa de vegetação com déficit hídrico. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem de acordo com o teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Os dados são médias \pm erro padrão ($n = 4$).



Fonte: O próprio autor (2023).

Os parâmetros visuais da parte aérea das plantas após o período de cessamento da rega em casa de vegetação podem ser vistos na Figura 12. Os tratamentos ÁGUA e SP apresentam maior quantidade de folhas necrosadas e tombadas, coerente aos resultados de condutância estomática e níveis de peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica encontrados (Figura 12 F e G), enquanto as plantas tratadas com NP-GSNO e NP-MSNO (Figura 12 A e 12 C) se mostram mais verdes e túrgidas. Também é possível observar os efeitos da escassez hídrica na parte aérea e raiz na Figura 13.

Figura 12 - Vasos do experimento em casa de vegetação com déficit hídrico, provenientes dos diferentes tratamentos das sementes: (A) Água, (B) Controle sem priming, (C) Nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptosuccinico, (D) Nanopartículas de quitosana contendo S-nitrosoglutationa, (E) Ácido S-nitroso-mercaptosuccínico livre, (F) S-nitrosoglutationa livre e (G) Nanopartícula de quitosana sem doador de NO.

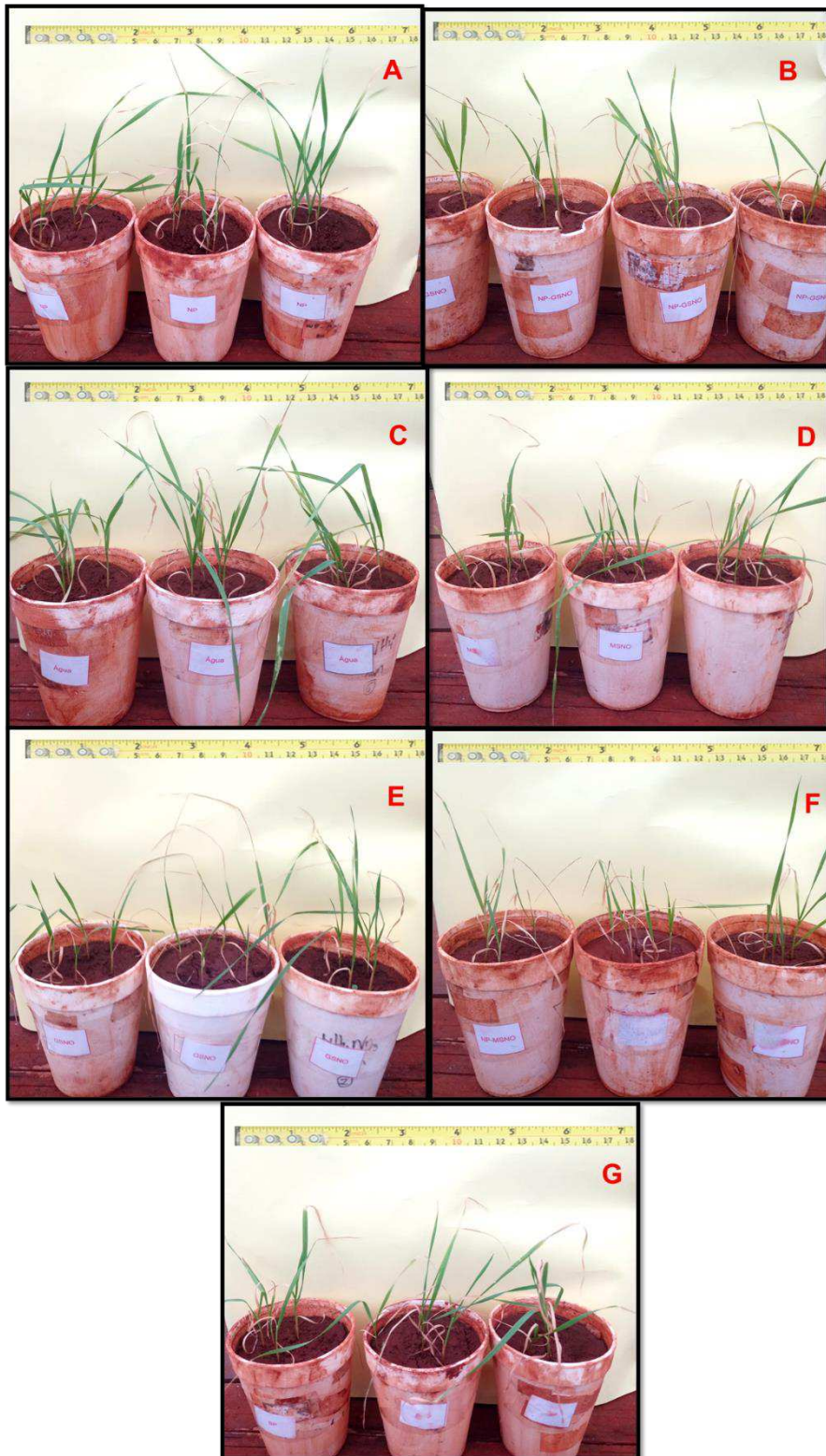
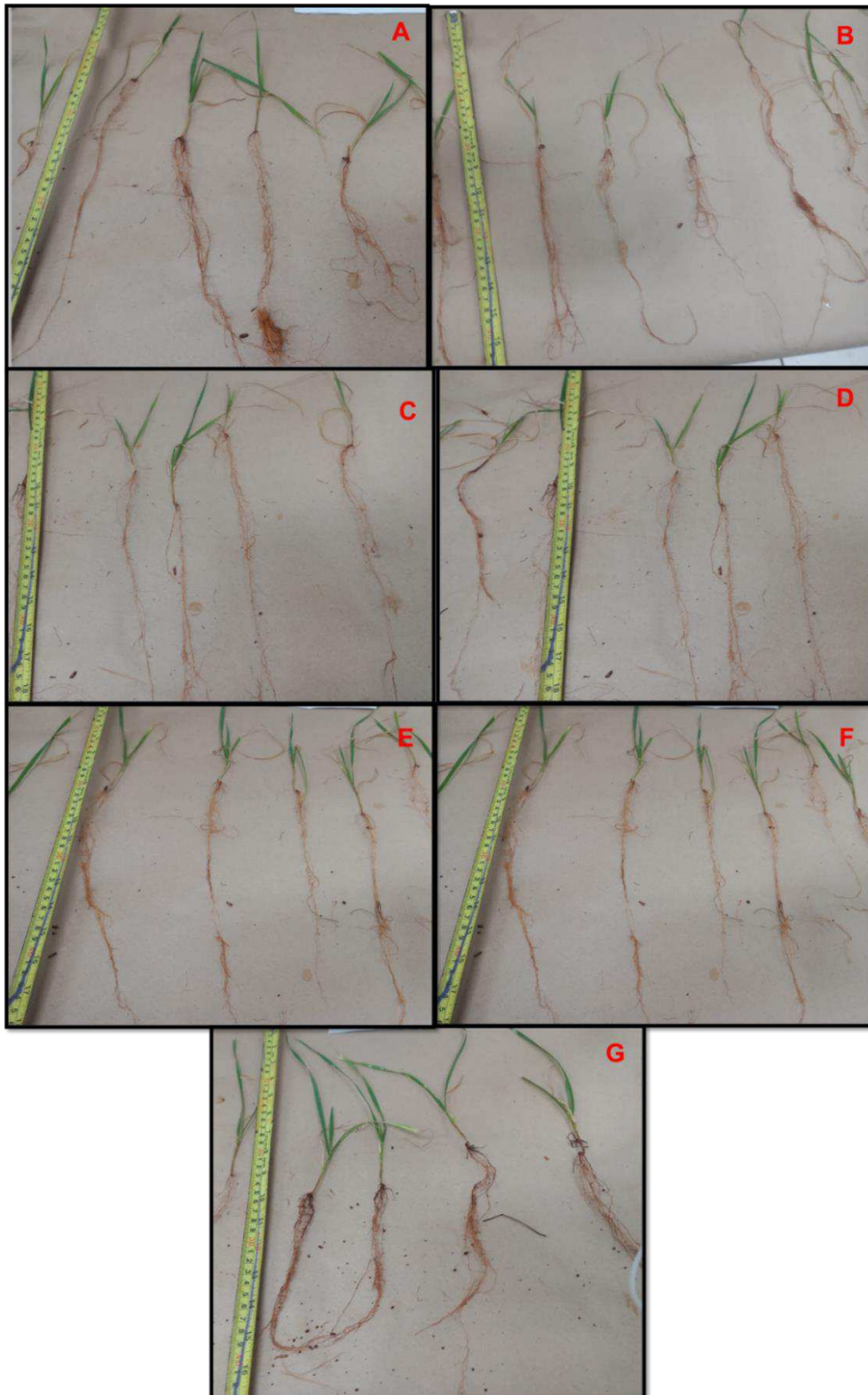


Figura 13 - Plantas do experimento em casa de vegetação com déficit hídrico, provenientes dos diferentes tratamentos das sementes: (A) Água, (B) Controle sem priming, (C) Nanopartículas de quitosana contendo ácido S-nitroso-mercaptosuccinico, (D) Nanopartículas de quitosana contendo S-nitrosoglutationa, (E) Ácido S-nitroso-mercaptosuccínico livre, (F) S-nitrosoglutationa livre e (G) Nanopartícula de quitosana sem doador de NO.



5 DISCUSSÃO

O NO é uma molécula sinalizadora que atua em inúmeros processos biológicos das plantas, incluindo a resposta a diferentes estresses abióticos (HASANUZZAMAN et al., 2020). Neste cenário, o presente estudo indicou o potencial de uso do priming de sementes com doadores de NO como uma estratégia para aumentar a tolerância do trigo à deficiência hídrica. Além disso, demonstrou-se que a nanoencapsulação dos doadores potencializou os efeitos protetores do NO, tanto em ambiente *in vitro* como de casa de vegetação.

Inicialmente, realizou-se um experimento *in vitro* para obter a curva de dose resposta dos MSNO e GSNO nanoencapsulados, obtendo-se a concentração ótima de 500 μM para ambos os doadores. É de extrema importância testar diferentes concentrações dos doadores de NO, já que as dosagens ótimas de NO variam de acordo com a cultura, o estresse empregado, genótipo e até o doador escolhido (FARIAS et al., 2003). Isso permite uma melhor exploração dos benefícios do doador de NO, evitando efeitos fitotóxicos de doses supraótimas. O NO já é bem conhecido por ter atividade sinalizadora em quantidades adequadas, mas pode causar morte celular e inibição do desenvolvimento em níveis elevados devido à indução de estresse nitro-oxidativo (SEABRA; OLIVEIRA, 2016; SANTISREE et al., 2015). Silveira et al. (2020) fizeram um pré-tratamento de sementes de feijão com GSNO nas concentrações de 50, 100, 500, 1000 e 2000 μM , sob deficiência hídrica. Nesse trabalho, a maior concentração do doador de NO levou aos maiores comprimentos de plântulas, apesar de ter reduzido a germinação das sementes.

Bibi et al. (2020) também tiveram diferentes respostas ao avaliarem a germinação e o crescimento de plântulas de sete genótipos de trigo sob estresse de temperatura, utilizando priming das sementes com SNP a 1000 e 10000 μM . A concentração de 1000 μM se mostrou mais benéfica para a germinação na maioria das cultivares, ao passo que o comprimento de parte aérea foi maior na dose de 10000 μM .

A dose ótima de 500 μM de GSNO e MSNO foi utilizada nos experimentos subsequentes do presente trabalho em ambiente laboratorial e em casa de vegetação. Na condição *in vitro* sem déficit hídrico, os doadores de NO nanoencapsulados e livres proporcionaram aumento na porcentagem da primeira contagem de germinação das sementes de trigo, o que é um indicativo de maior vigor. Em comparação, mais efeitos positivos do priming foram observados em sementes submetidas à deficiência hídrica. Todos os tratamentos com priming proporcionaram melhores respostas na primeira contagem de germinação, comprimento de raiz e parte aérea, incidência e comprimento de pelos absorventes em relação ao controle SP,

demonstrando o efeito do priming por si só em sementes sob estresse.

De fato, o priming (mesmo com água) é conhecido por induzir um estado fisiológico nas sementes conhecido como “estado preparado”, que permite uma resposta mais rápida e eficiente frente a estresses (JISHA et al., 2013; SHELAR et al., 2021). Ao elevar a umidade das sementes, o priming promove a antecipação das duas primeiras etapas da germinação, levando à reativação dos sistemas preexistentes, à síntese de enzimas e à formação de organelas, acelerando a terceira etapa de formação de novos componentes celulares (CARRILLO-RECHE et al., 2018). Por exemplo, o priming possibilita a mobilização de reservas na semente e a reparação de DNA, RNA e membrana celular, melhorando a síntese proteica, a emergência e o vigor de plântulas (MOSAVIKIA et al., 2020; SEN; PUTHUR, 2020).

Os benefícios deste pré-tratamento são apresentados na meta-análise de Carrillo-Reche et al. (2018). Em condições de campo, o priming de sementes promove acréscimos significativamente positivos na velocidade de germinação (22%), na porcentagem de germinação (11%) e nos rendimentos totais (21%) com relação à semeadura convencional. Utilizando sementes de beterraba sacarina, Blunk et al. (2019) observaram um aumento na velocidade de germinação, desenvolvimento de raízes laterais e superfície do embrião em sementes submetidas ao priming em relação às convencionais.

Os doadores de NO nanoencapsulados e livres também tiveram efeitos positivos adicionais sobre a germinação, massa seca de parte aérea e raiz e comprimento de parte aérea e raiz, além de reduzirem os níveis de peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica das plântulas sob déficit hídrico quando comparados ao controle SP e tratamento com água. Esses efeitos proporcionados pelos tratamentos com liberação de NO decorrem do fato desta ser uma molécula sinalizadora importante no processo de germinação, no desenvolvimento da raiz e na proteção contra o estresse oxidativo (SHARMA et al., 2021; CORPAS et al., 2021; GUPTA et al., 2022). Em altas concentrações, o H_2O_2 pode levar à peroxidação lipídica e danos às biomembranas, com consequentes efeitos negativos no crescimento vegetal (HABIBI et al., 2016). O efeito protetor do NO pode ser proveniente da reação direta com ânion superóxido e da promoção da expressão e da atividade de enzimas antioxidantes (HASANUZZAMAN et al., 2021; LAU et al., 2021).

Por exemplo, Pires et al. (2016) descreveram um aumento da atividade das enzimas catalase, peroxidases, ascorbato peroxidase e superóxido dismutase em sementes de gergilim tratadas com doador de NO nitroprusiato de sódio, resultando na proteção contra o estresse oxidativo e no melhor desenvolvimento de sementes sob

déficit hídrico. Habibi et al. (2016), ao estudarem os efeitos do SNP em plantas de arroz sob estresse salino, observaram um aumento da atividade de enzimas catalase, superóxido dismutase e peroxidase o que levou à diminuição dos níveis de peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica, com efeitos positivos na produção de biomassa e no rendimento de grãos.

No presente estudo, observou-se que a nanoencapsulação potencializou os efeitos positivos dos doadores de NO na germinação das sementes, no desenvolvimento da raiz e no crescimento das plântulas de trigo, bem como o efeito protetor do NO contra o estresse oxidativo. Além disso, NP-GSNO e NP-MSNO foram os únicos tratamentos a induzirem aumentos no teor de clorofilas e no conteúdo relativo de água nas plântulas. O melhor resultado dos doadores nanoencapsulados pode ser decorrente das propriedades de carga, bioadesão e mucoadesividade da quitosana, que proporcionariam uma melhor interação e entrega do ativo às células vegetais. Além disso, a proteção contra a degradação prematura do doador de NO e a liberação gradual desse gás promovem um melhor aproveitamento do produto aplicado, diminuindo perdas ambientais (SUNDAR; KUNDU; KUNDU, 2010; SEABRA et al., 2022). De fato, apenas os tratamentos NP-MSNO e NP-GSNO foram capazes de aumentar o conteúdo de RSNO nas plântulas, o que ratifica uma melhor biodisponibilidade intracelular de NO.

Esses benefícios do uso de nanopartículas liberadoras de NO em relação aos doadores livres também foram vistos na proteção de mudas de *Heliocarpus popayanensis* contra a seca (DO CARMO et al., 2021), e o estresse luminoso (LOPES-OLIVEIRA et al., 2019), proteção contra estresse salino em plantas de milho (OLIVEIRA et al., 2016) e estresse por cobre em mudas de alface (PELEGRINO et al., 2020). Essa potencialização da bioatividade de moléculas pela nanoencapsulação também já foi reportada para outros reguladores do crescimento vegetal, como tiamina, óxido de zinco, giberelina e auxina (MUTHUKRISHNAN et al. 2019; VARGAS-MARTINEZ et al., 2023; PEREIRA et al., 2019; KORPAYEV et al 2021).

Ainda no experimento in vitro, os efeitos do NP-MSNO foram mais acentuados que o NP-GSNO, principalmente na primeira contagem de germinação e porcentagem de germinação. Isso pode ser decorrente do fato de essas avaliações serem realizadas em um período curto de tempo (4 e 8 dias) associado à taxa de liberação de NO mais rápida do MSNO em comparação à GSNO (SILVEIRA et al., 2021).

Por outro lado, a liberação mais gradual do NO pela GSNO a torna um doador mais eficiente na indução de respostas de longo prazo, como as alterações na morfologia da raiz importantes para uma melhor absorção de água durante o déficit hídrico (OLIVEIRA et al., 2017). De fato, a GSNO foi mais eficiente que o MSNO em

promover a formação de pelos absorventes. Da mesma forma, NP-GSNO e NP-MSNO levaram a aumentos mais expressivos no comprimento de raiz e na incidência de pelos absorventes em relação aos demais tratamentos na avaliação feita após 8 dias de déficit hídrico em laboratório.

A importância da nanoencapsulação para potencializar os efeitos duradouros do NO ficou ainda mais evidente nos ensaios em casa de vegetação. Tanto em condições de capacidade de campo quanto de déficit hídrico, o priming de sementes com NP-GSNO e NP-MSNO levou a um aumento nos teores endógenos de RSNO, diâmetro de raiz, comprimento e quantidade média de pelos absorventes, além da redução dos níveis de peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica em ao menos um dos órgãos analisados em comparação ao controle SP e priming com água. Além disso, em plantas sob deficiência hídrica, os tratamentos com doadores nanoencapsulados promoveram maiores condutância estomática, conteúdo relativo de água na folha e índice SPAD, mesmo em comparação aos doadores livres.

Em particular, o tratamento NP-GSNO se destacou no experimento de casa de vegetação com déficit hídrico ao promover os maiores valores da quantidade/incidência de pelos absorventes e condutância estomática em relação aos demais tratamentos. Isso está possivelmente relacionado à sua taxa de liberação de NO mais lenta.

O NO é conhecido por atuar juntamente com as auxinas e o etileno na regulação da arquitetura do sistema de raízes e formação de pelos absorventes, através de alterações da expressão gênica, de modificações pós-traducionais e dos níveis de ROS (ILYAS et al., 2020). Por sua vez, essas alterações no desenvolvimento da raiz podem favorecer a absorção de água e nutrientes, permitindo a manutenção de maiores níveis de clorofilas e de maior condutância estomática ao mesmo tempo que o conteúdo relativo de água nas folhas permanece elevado.

Resultados semelhantes foram observados por Do Carmo et al. (2021) em um estudo com mudas da espécie arbórea *Heliocarpus popayanensis* que receberam NP-MSNO no substrato sob restrição hídrica. Além disso, Silveira et al. (2021) reportaram uma maior eficiência no uso da água por plantas de cana-de-açúcar que receberam aplicação foliar de doadores de NO nanoencapsulados sob déficit hídrico. Nesse processo, o NO age na regulação da sinalização do ácido abscísico nas células-guarda através da S-nitrosação das proteínas OST1, o que favorece a abertura estomática e assimilação de CO₂ (ILYAS et al., 2020). Diferente de estudos prévios, o presente trabalho inova ao demonstrar o efeito duradouro do priming de sementes com doadores nanoencapsulados em regular a condutância estomática em condições de seca impostas

mais de um mês após a germinação, o que demonstra uma promissora forma de aplicação para proteção de sementes no desenvolvimento inicial da planta de trigo.

Outro fator observado no trabalho foi o efeito benéfico do tratamento com nanopartícula de quitosana vazia (NP), onde tanto em condições com ou sem deficiência hídrica nos dois ambientes testados, trouxe acréscimos nos parâmetros de morfologia de raiz com relação ao controle e priming com água. Benefícios também foram vistos no trabalho de Menéndez (2020) onde a aplicação de quitosana via embebição de sementes em soja proporcionou aumento na taxa de germinação e comprimento de plântula.

Este benefício pode ser em decorrência da quitosana apresentar biocompatibilidade, biodegradável, que aumentam a entrega do produto ao organismo alvo e sua melhor translocação e ser fonte de matéria orgânica, ação antifúngica, auxiliar na regulação do crescimento e desenvolvimento de planta, além de ser único polímero catiônico solúvel em água comercialmente disponível (LIMA et al., 2022).

Dessa forma, o priming com doadores de NO nanoencapsulados se mostram como uma ótima opção para o aumento da tolerância de plantas à deficiência hídrica. Mesmo assim, ainda é importante a realização de estudos com essa técnica de tratamento para outras culturas, diferentes estresses e épocas de semeadura.

6 CONCLUSÃO

O priming de sementes com doadores de NO nanocapsulados promoveu benefícios morfológicos, fisiológicos e bioquímicos para as plantas de trigo submetidas ao déficit hídrico tanto em laboratório quanto em casa de vegetação. Esses benefícios incluem incrementos no vigor, porcentagem de germinação, desenvolvimento de raiz, teor de clorofilas, RNSO, conteúdo relativo de água e condutância estomática, além de proteção contra estresse oxidativo durando mais de um mês. Esses resultados demonstram o grande potencial da aplicação do priming de sementes com doadores de NO nanoencapsulados na ativação de mecanismos de defesa do trigo contra o déficit hídrico, melhorando o estabelecimento inicial da cultura nessa condição desfavorável, em especial do tratamento NP-GSNO que manteve seus benefícios em raízes e proteção contra estresse oxidativo por mais de 30 dias.

REFERÊNCIAS

- ABATI, J.; BRZEZINSKI, C. R.; ZUCARELI, C.; HENNING, F. A.; ALVES, V. F.N.; GARCIA, V. V. Qualidade fisiológica de sementes de trigo tratadas com biorregulador em condições de restrição hídrica. **Abrates**, Maringá, v.24, n.1, p.32-36, maio 2014.
- ACHKOR, H.; DIAZ, M., FERNANDEZ, M. R.; BIOSCA, J. A.; PARES, X.; MARTINEZ, M. C. Enhanced formaldehyde detoxification by overexpression of glutathione-dependent formaldehyde dehydrogenase from *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, Lancaster, v.132, n.4, p.2248–2255, ago 2003.
- AGNIHOTRI, S.A.; MALLIKARJUNA, N.N.; AMINABHAVI, T. M. Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery. **Journal of Controlled Release**, Amsterdam, v.100, n.1, p.5–28, nov 2004.
- AHMED, K.B.M.; KHAN, A.M.M.; SIDDIQUI, H.; JAHAN, A. Chitosan and its oligosaccharides, a promising option for sustainable crop production- a review. **Carbohydrate Polymers**, United Kingdom, v.227, n.115, p.1-17, jan 2020.
- ALABDALLAH, N. M.; HASAN, M. M.; HAMMAMI, I.; ALGHAMDI, A. I.; ALSHHRI, D.; ALATAWI, H. A. Green synthesized metal oxide nanoparticle mediate growth regulation and physiology of crop plants under drought stress. **Plants**, New York, v. 10, p. 17-30, aug 2021.
- ALEXIEVA, V.; SERGIEV, I.; MAPELLI, S.; KARANOV, E. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant Cell and Environment**, Oxford, v.24, n.12, p.1337-1344, dez 2001.
- ANJUM, S. A.; TANVEER, M.; ASHRAF, U.; HUSSAIN, S.; SHAHZAD, B.; KHAN, I.; WANG, L. Effect of progressive drought stress on growth, leaf gas exchange, and antioxidant production in two maize cultivars. **Environ Sci Pollut Res Int**, New York, v.23, n.17, p.17132-17141, maio 2016.
- ARASIMOWICZ, M.; FLORYSZAK-WIECZOREK, J. Nitric oxide as a bioactive signalling molecule in plant stress responses. **Plant Science**, Limerick, v.172, n.5, p.876-887, maio 2007.
- ASHRAF, M.; FOOLAD, M.R. Pre-sowing Seed Treatment-A Shotgun Approach to Improve Germination Growth and Crop Yield under Saline and Non-Saline Conditions. **Advanced Agronomy**, Amsterdam, v. 88, n.1, p.223-271, dec 2005.
- ASTIER, J.; GROSS, I.; DURNER, J. Nitric oxide production in plants: an update. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.69, n.14, p.3401-3411, nov 2018.
- AZEVEDO, R.A.; CARVALHO, R.F.; CIA, M.C.; GRATÃO, O.L. Sugarcane Under Pressure: An Overview of Biochemical and Physiological Studies of Abiotic Stress. **Tropical Plant Biol**, Mulkey, v.4, n.1, p.42–51, mar 2011.
- BARBERO, A. P. P.; DE BARROS, F.; DA SILVA, E. A.; SUZUKI, R. M. Influência do déficit hídrico na germinação de sementes e no desenvolvimento inicial de três espécies de Pleurothallidinae (Orchidaceae). **Revista Brasil, Bot**, v.34, n.4, p.593-601, out.-dez 2011.
- BARROSO, J. B.; CORPAS, F. J.; CARRERAS, A.; RODRÍGUEZ-SERRANO, M.; ESTEBAN, F. J.; FERNÁNDEZ-OCAÑA, A.; CHAKI, M.; ROMERO-PUERTAS, M. C.; VALDERRAMA, R.; SANDALIO, L. M.; DEL RÍO, L. A. Localization of S-

nitrosogluthione and expression of S-nitrosogluthione reductase in pea plants under cadmium stress. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.57, n.8, p.1785-1793, apr 2006.

BEHBOUDI, F.; TAHMASEBI-SARVESTANI, Z.; KASSAEE, M.Z.; MODARRES-SANAVY, S.A.M.; SOROOSHADEH, A.; MOKHTASSI-BIDGOLI, A. Evaluation of chitosan nanoparticles effects with two application methods on wheat under drought stress. **Journal of Plant Nutrition**, Stuttgart, v. 42, n.13, p. 1439 -1451, jun 2019.

BESSON-BARD, A.; PUGIN, A.; WENDEHENNE, D. New insights into nitric oxide signaling in plants. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v.59, n.1, p.21-39, jun 2008.

BIBI, A; MAJID, S. A; AZHAR, N; AMJAD, M. S; ASHRAF, S; AHMAD, I; MUMTAZ, S; IJAZ, S. Differential changes in growth and enzyme activities of chilling induced wheat seedlings by nitric oxide priming. **Intl J Agric Biol**, v. 23, n. 1, p. 919 - 926, may 2020.

BLUNK, S.; DE HEER, M.I.; MALIK, A.H.; FREDLUND, K.; EKBLAD, T.; STURROCK, C. J.; MOONEY, S. J. Seed priming enhances early growth and improves area of soil exploration by roots. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v.158, n.1, p.1–11, feb 2019.

BOSCHINI, A.P.M.; SILVA, C.L.; OLIVEIRA, C.A.; OLIVEIRA JÚNIOR, M.P.; MIRANDA, M.Z.; FAGIOLI, M. Aspectos quantitativos e qualitativos do grão de trigo influenciados por nitrogênio e lâminas de água. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Paraíba, v.15, p.450-457, nov 2011.

BRACCINI, A. L.; RUIZ, H. A.; BRACCINI, M. C. L.; REIS, M. S. Germinação e vigor de sementes de soja sob estresse hídrico induzido por soluções de cloreto de sódio, manitol e polietileno glicol. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.18, n.1, p.10-16, 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. 1 ed. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 2009. 364p.

BRONIOWSKA, K.A.; DIERS, A.R.; HOGG, N. S-Nitrosogluthione. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v.1830, n.5, p.3173–3181, feb 2013.

C. European Commission Recommendation of 1 October 2011 on the definition of nanomaterial. **Official Journal of the European Union**, Bruxelas, v. 229, p. 1-5, jun. 2022. Disponível em: [ur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32022H0614\(01\)&from=EN#:~:text=\(9\)%20%20termo%20«nanomaterial,constituintes%20de%20agregados%20ou%20aglomerados](http://ur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32022H0614(01)&from=EN#:~:text=(9)%20%20termo%20«nanomaterial,constituintes%20de%20agregados%20ou%20aglomerados).

CAMEJO, G.; WALLIN, B.; ENOJÄRVI, M. Analyses of oxidation and antioxidants using microtiter plates. In: Armstrong D (ed.) *Free Radical and Antioxidants Protocols*. **Methods Mol Biol**, Rockville Pike, p.377–387, jan 1998.

CARRILLO-RECHE, J.; VALLEJO-MARÍN, M.; QUILLIAM, R.S. Quantifying the potential of ‘on-farm’ seed priming to increase crop performance in developing countries. A meta-analysis. **Agronomy for Sustainable Development**, Sustain, v.38, n.64, p.1-14, nov 2018.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5. Ed. Jaboticabal, Funep, 2012. ISBN: 9788578050900.

CEMADEN (2023). Centro nacional de monitoramento e alertas de desastres naturais.

Boletim de monitoramento de seca e impactos no Brasil. **Boletim Mensal**, V. 4, n. 56, fev 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/cemaden/pt-br/assuntos/monitoramento/monitoramento-de-seca-para-o-brasil/monitoramento-de-secas-e-impactos-no-brasil-2013-janeiro-2023>.

CHEN, K.; ARORA, R. Dynamics of the antioxidant system during seed osmopriming, post-priming germination, and seedling establishment in spinach (*Spinacia oleracea*). **Plant Science**, v.180, n.2, p.212–220, fev 2011.

CHEN, Y.H.; KAO, C.H. Calcium is involved in nitric oxide-and auxin-induced lateral root formation in rice. **Protoplasma**, Germany, v.249, n.1, p.187-195, apr 2012.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **A cultura do trigo**. Brasília, DF, v.11, n.81, jun 2017. ISBN: 978-85-62223-09-9.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Análise Mensal**. Brasília, DF, v.10, n.4, abr 2022. Disponível em: www.conab.gov.br.

CORPAS, F. J.; GONZÁLEZ-GORDO, S.; PALMA, J. M. NO source in higher plants: presente and future of an unresolved question. **Trends in plant Science**, Granada, v. 27, n. 2, p. 116-119, jan 2022.

CORPAS, F.J.; ALCHE, J.D.; BARROSO, J.B. Current overview of S-nitrosoglutathione (GSNO) in higher plants. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v.4, n.126, p.1-4, may 2013.

CORPAS, F.J.; CHAKI, M.; FERNÁNDEZ-OCAÑA, A.; VALDERRAMA, R.; PALMA, J. M.; CARRERAS, A.; BEGARA-MORALES, J. C.; AIRAKI, M.; DEL RÍO, L. A.; BARROSO, J. B. Metabolism of reactive nitrogen species in pea plants under abiotic stress conditions. **Plant and Cell Physiology**, Kyoto, v.49, n.1, p.1711–1722, nov 2008.

CORREA-ARAGUNDE, N.; FORESI, N.; LAMATTINA, L. Nitric oxide is a ubiquitous signal for maintaining redox balance in plant cells: regulation of ascorbate peroxidase as a case study. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.66, n.10, p.2913–2921, mar 2015.

COSTA-BROSETA, A.; RESA, C.; CASTILLO, M.; RUIZ, M. F.; SALINAS, J.; LEÓN, J. Nitric Oxide Controls Constitutive Freezing Tolerance in Arabidopsis by Attenuating the Levels of Osmoprotectants, Stress-Related Hormones and Anthocyanins. **Scientific Reports**, Londres, v.8, n.1, p.1-8, jun 2018.

DELIAN, E.; BADULESCU, L.; DOBRESCU, A.; CHIRA, L.; LAGUNOVSKI-LUCHIAN, V. A brief overview of seed priming benefits in tomato. **Romanian Biotechnological Letters**, Romanian, v.22, n.3, p.1-9, jan 2017.

DEMIR, I.; MAVI, K. The effect of priming on seedling emergence of differentially matured watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum and Nakai) seeds. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.102, n.4, p.467-473, dec 2004.

DESIKAN, R.; GRIFFITHS, R.; HANCOCK, J.; NEILL, S. A new role for an old enzyme: nitrate reductase-mediated nitric oxide generation is required for abscisic acid-induced stomatal closure in *Arabidopsis thaliana*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, D.C, v.99, n.25, p.16314–16318, dez 2003.

DO CARMO GC, IASTRENSKI LF, DEBIASI TV, DA SILVA RC, GOMES DG,

PELEGRINO MT, BIANCHINI E, STOLF-MOREIRA R, PIMENTA JA, SEABRA AB, OLIVEIRA HC. Nanoencapsulation improves the protective effects of a nitric oxide donor on droughtstressed *Heliocarpus popayanensis* seedlings. **Ecotox Environ Saf**, New York, v. 225, p. 1-13, dec 2021.

DUTTA, P. K.; DUTTA, J.; TRIPATHI, V. S. Chitin and chitosan: chemistry, properties and applications. **Journal of Scientific & Industrial Research**, New Delhi, v.63, p. 20-31, jan 2004.

ELGADIR, M.A.; UDDIN, M.S.; FERDOSH, S.; ADAM, A.; Chowdhury, A.J.K.; Sarker, M.Z.I. Impact of chitosan composites and chitosan nanoparticle composites on various drug delivery systems: a review. **Journal of Food and Drug Analysis**, Taiwan, v.23, n.4, p.619-629, dez 2015.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 3 ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA/CNPS, 2013. 353p.

ESKANDARI, H.; ALIZADEH-AMRAIE, A. Evaluation of seed quality of wheat (*Triticum aestivum*) under water limitation induced by a partial root-zone irrigation regime. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.45, n.1, p.248-251, sep 2017.

ESKANDARI, H.; KAZEMI, K.K. Response of different bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes to post-anthesis water deficit. **Notulae Scientia Biologicae, Transylvania**, v.2, n.4, p.49, dec 2010.

ETENE - ESCRITÓRIO TÉCNICO DE ESTUDOS ECONÔMICOS DO NORDESTE. **Trigo: produção e mercado**. Fortaleza, CE, v.5, n.151, jan 2021.

FAN, W.; YAN, W.; XU, Z. S.; NI, H. Formation mechanism of monodisperse, low molecular weight chitosan nanoparticles by ionic gelation technique, **Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces**, Amsterdam, v.90, n.1, p.21–27, fev 2012.

FANCY, N. N.; BAHLMANN, A. K.; LOAKE, G.J. Nitric oxide function in plant abiotic stress. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v.40, n.4, p.462-472, abr 2017.

FARAJI, J.; SEPEHRI, A.; SALCEDO-REYES, J. C. Titanium Dioxide Nanoparticles and Sodium Nitroprusside Alleviate the Adverse Effects of Cadmium Stress on Germination and Seedling Growth of Wheat (*Triticum aestivum* L.). **Univ. Sci.** [s.l.]. vol.23, n.1, p.61-87, mar 2018.

FARIAS, C. R. J.; DEL PONTE, E. M.; DAL MAGRO, T.; PIEROBOM, C. R. Inibição de germinação de sementes de trigo e milho em teste de sanidade em substrato de papel. **Revista brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.9, n.2, p.141-144, abr-jun 2003.

FRACETO, L. F.; GRILLO R.; DE MEDEIROS, G. A.; SCOGNAMIGLIO, V.; REA, G.; BARTOLUCCI, C. Nanotechnology in agriculture: which innovation potential does it have. **Frontiers in Environmental Science**, Lausanne, v.4, n.20, p.61-66, mar 2016.

FRUNGILLO, L.; SKELLY, M. J.; LOAKE, G. J.; SPOEL, S. H.; SALGADO, I. S-nitrosothiols regulate nitric oxide production and storage in plants through the nitrogen assimilation pathway. **Nature Communications**, London, v.5, n.5401, p.1-10, nov 2014.

GIAUQUE, H.; CONNOR, E. W.; HAWKES, C. V. Endophyte traits relevant to stress tolerance, resource use and habitat of origin predict effects on host plants. **New Phytologist**, Lancaster, v.221, [s.l.], p.2239-2249, set 2019.

GUPTA, K. J.; KALADHAR, V. C.; FITZPATRICK, T. B.; FERNIE, A. R. Nitric oxide regulation of plant metabolismo. **Molecular Plant**, Oxford, v. 15, n. 2, p. 1-12, dez 2021.

HABIBI, N; JAVED, M. T; AZEEM, M; ALI, Q; SAHEEN, H. L; ASHRAF, M. Nitric oxide regulated improvement in growth and yield of rice plants grown under salinity stress: antioxidant defense system. **Applied Ecology and Environmental Research**, v.14, n.5, p.91-105, jul 2016.

HASANUZZAMAN, M.; BHUYAN, B.; ZULFIQAR, F.; RAZA, A.; MOHSIN, S. M.; MAHMUD, J. A.; FUJITA, M.; FOTOPOULOS, V. Reactive Oxygen Species and Antioxidant Defense in Plants under Abiotic Stress: Revisiting the Crucial Role of a Universal Defense Regulator. **Antioxidants**, Larchmont, v.9, [s.l.], p.681-733, jul 2020.

HEGEDÜS, A.; ERDEI, S.; HORVÁTH, G. Comparative studies of H₂O₂ detoxifying enzymes in green and greening barley seedlings under cadmium stress. **Plant Science**, Shannon, v.160, n.6, p.1085-1093, may 2001.

HUSSAIN, A.; CHAUDHRY, M.; WAJID, A.; AHMAD, A.; IBRAHIM, M.; GOHEER, A. Influence of Water Stress on Growth, Yield and Radiation Use Efficiency of Various Wheat Cultivars. **International journal of agriculture e biology**, Salt Lake, v.6, n.6, p.1074-1079, jan 2004.

IBRAHIM, E. A. Seed priming to alleviate salinity stress in germinating seeds. **Journal of Plant Physiology**, Sófia, v.192, p.38-46, mar 2016.

ILYAS, M; NISAR, M; KHAN, N; HAZRAT, A; KHAN, A. H; HAYAT, K; FAHAD, S; KHAN, A; ULLAH, A. Estratégias de Tolerância à Seca em Plantas: Uma Abordagem Mecanicista. **Journal of Plant Growth Regulation**, Pakistan, v.40, n.1, p.926-944, jun 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00344-020-10174-5>.

INSTITUTO DE DESNVOLVIMENTO RURAL DO PARANÁ – IDR. **Agrometeorologia: Dados diários de Londrina**. Disponível em: <https://www.idrparana.pr.gov.br/Pagina/Dados-Meteorologicos-Historicos-e-Atuais> Acesso em: 10/03/2023.

IVANCHENKO, M. G.; MUDAY, G. K.; DUBROVSKY, J. G. Ethylene–auxin interactions 11 regulate lateral root initiation and emergence in *Arabidopsis thaliana*. **The Plant Journal**, Oxford, v.12 55, n.2, p.335-347, jun 2008.

JISHA, K.C.; VIJAYAKUMARI, K.; PUTHUR, J.T. Seed priming for abiotic stress tolerance: an overview. **Acta Physiol Plantarum**, Cracow, v.35, n.5, p.1381-1396, dec 2013.

JOUDEH, N.; LINKE, D. Nanoparticle classification, physicochemical properties, characterization, and applications: a comprehensive review for biologists. **Journal of nanobiotechnology**, London, v. 20, n.262, p. 1-29, jun 2022.

JOUDEH, N; LINKE, D. Classificação, propriedades físico-químicas, caracterização e aplicações de nanopartículas: uma revisão abrangente para biólogos. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 20, n 252, p. 1-29, 2022.

KAH, M. Nanopesticides and nanofertilizers: emerging contaminants or opportunities for risk mitigation?. *Frontiers in chemistry*, Lausanne, v.3, n.64, p.1-6, nov 2015.

KAUR, KHUSHDEEP.; KAUR, KAMALJIT. Nitric oxide improves thermotolerance in spring maize by inducing varied genotypic defense mechanisms. **Acta Physiologiae Plantarum**, Cracow, v.40, n.55, p.1-10, feb 2018.

KAYA, C.; ASHRAF, M.; SONMEZ, O.; POLAT, T.; TUNA, A. The Combined Effects of Nitric Oxide and Thiourea on Plant Growth and Mineral Nutrition of Salt-Stressed Plants of Two Maize Cultivars with Differential Salt Tolerance. **Journal of Plant Nutrition**, Stuttgart, v.42, n.1, p.1-22, jul 2017.

KHATUN, S.; ALI, M. B.; HAHN, E.J.; PAEK, K. Y. Copper toxicity in *Withania somnifera*: Growth and antioxidante enzymes responses of in vitro grow plants. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v.64, n.3, p.279-285, dez 2008.

KOLBERT, Z.; ORTEGA, L.; ERDEI, L. 2010. Involvement of nitrate reductase (NR) in osmotic stress-induced NO generation of *Arabidopsis thaliana* L. roots. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v.167, n.1, p.77-80, jan 2010.

KOLBERT, Z.S.; BARROSO, J.B.; BROUQUISSE, R.; CORPAS, F.J.; GUPTA, K.J.; LINDERMAYR, C.; LOAKE, G. J.; PALMA, J. M.; PETŘIVALSKÝ, M.; WENDEHENNE, D.; HANCOCK, J.T. A forty year journey: The generation and roles of NO in plants. **Nitric Oxide: Biology and Chemistry**, Orlando, v.93, n.1, p.53-70, dec 2019.

KORPAYEV, S; KARAKEÇILI, A; DUMANOĞLU, H; OSMAN, S. I. A. Chitosan and silver nanoparticles are attractive auxin carriers: A comparative study on the adventitious rooting of microcuttings in apple rootstocks. **Biotechnol Journal**. V.16, n.8, p.1-10, may 2021. Doi: 10.1002/biot.202100046.

KUMARASWAMY, R.V.; KUMARI, S.; CHOUDHARY, R.C.; PAL, A.; RALIYA, R.; BISWAS, P.; SAHARAN, V. Engineered chitosan based nanomaterials: Bioactivities, mechanisms and perspectives in plant protection and growth. **International Journal of Biological Macromolecules**, Basel, v.113, p.494–506, feb 2018.

LAMBERS, H.; CHAPIN III, F.S.; PON, T.L. Respiration. In: LAMBERS, H.; CHAPIN III, F.S.; PON, T.L. **Plant physiological ecology**, 2. ed. Springer: Library of Congress Control, 2008. p. 101-110.

LARGE, E.C. Growth stages in cereals. Illustration of the Feekes Scale. **Plant Pathology**, London, v.3, p.128-129, 1954.

LAU, S. E; HAMDAN, M. F; PUA, T. L; SAIDI, N. B; TAN, B. C. 2021. Plant nitric oxide signaling under drought stress. **Plants**, London, v. 10, n. 2, p. 360–389, fev 2021.
LEITE, R.S.; NASCIMENTO, M. N.; SILVA, A. L.; SANTOS, R. J. Chemical priming agents controlling drought stress in *Physalis angulata* plants. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.275, p.1-9, n. 109, jan 2021.

LEOPOLDO, C.; VECHIO, G. Nanotecnologia e suas aplicações: uma revisão quanto aos seus conceitos, potencial de uso, riscos e tendências. **Revista Interface Tecnológica**, [s.l.], v.17, n.1, p.144-154, dez 2020.

LETERRIER, M.; CHAKI, M.; AIRAKI, M.; VALDERRAMA, R.; PALMA, J. M.; BARROSO, J. B.; CORPAS, F.J. Function of S-nitrosoglutathione reductase (GSNOR) in plant development and under biotic/abiotic stress. **Plant Signaling and Behavior**, Georgetown, v.6, n.6, p.789-793, jun 2011.

Li, Y.; BOEDA, E.; FORESTIER, H.; ZHOU, Y. Lithic Technology, typology and cross-regional comparison of Pleistocene lithic industries: Comment on the earliest evidence of Levallois in East Asia. **L'Anthropologie**, [s.l.], v.123, n.102728, p.769-781, dec 2019.

LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C. Chlorophylls and carotenoids:

measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, New York, p. 1-8, nov. 2001.

LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, New York, p. 1-8, nov. 2001.

LIRA-RUAN, V.; MENDIVIL, S.N.; DUBROVSKY, J.G. Heuristic aspect of the lateral root initiation index: a case study of the role of nitric oxide in root branching. **Applications in Plant Sciences**, Rockville, v.1, n.10, p.1-9, oct 2013.

LIMA, Y. C; BONILLA, O. H; DE LUCENA, E. M. P. Uso da quitosana na agricultura: uma revisão com ênfase na aplicação em sementes. **Research Society and Development**, v.11, n.2, p. 1-10, jan 2022.

LOMBARDO, M.C.; LAMATTINA, L. Nitric oxide is essential for vesicle formation and trafficking in Arabidopsis root hair growth. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.63, n.13, p.4875-4885, ago 2012.

MA, Y.; FU, L.; HUSSAIN, Z.; HUANG, D.; ZHU, S. Enhancement of Storability and Antioxidant Systems of Sweet Cherry Fruit by Nitric Oxide-releasing Chitosan Nanoparticles (GSNO-CS NPs). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Whashington, v.285 p.10–21, jul 2019.

MACHADO, B. Q. V. **Avaliação de três cultivares de soja quanto à tolerância ao déficit hídrico induzido por polietilenoglicol**. 2014. 19 f. Trabalho de Conclusão de Curso - Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, 2014.

MAJID, S.A.; ASGHAR, R.; MURTAZA, G. Yield stability analysis conferring adaptation of wheat to pre-and post-anthesis drought conditions. **Pakistan Journal of Botany**, Pakistan, v. 39, n. 5, p. 1623-1637, oct 2007.

MALUIN, F.N.; HUSSEIN, M. *Chitosan-Based Agronanochemicals as a Sustainable Alternative in Crop Protection*. **Molecules**, Berlim, v. 25, n.7, p.1611- 1633, apr 2020.

MANFRON, P.A.; LAZZAROTTO, C.; MEDEIROS, S.L.P. Trigo – Aspectos agrometeorológicos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.23, n.2, p.233- 239, Abril.1993.

MANJUNATHA, G.; NIRANJAN, R.A.J, S.; SHETTY, N.P.; SHETTY, H.S. Nitric oxide donor seed priming enhances defense responses and induces resistance against pearl millet downy mildew disease. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v.91, n.1, p.1-11, may 2008.

MENG, Z.B.; CHEN, L.Q.; SOU, D.; LI, G. X.; TANG, C. X.; ZHENG, S. J. Nitric oxide is the shared signalling molecule in phosphorus-and iron- deficiency-induced formation of cluster roots in white lupin (*Lupinus albus*). **Annals of Botany**, Oxford, v.109, n.6, p.1055-1064, feb 2012.

MENÉNDEZ, D. C; RODRÍGUEZ, A. B. F; HERNÁNDEZ, L. T. Efecto de la masa molecular de quitosanos en la germinación y el crecimiento in vitro de soya. **Cultivos Tropicales**, v.41, n.1, p.1-10, jan 2020.

MICHEL, B.E.; KAUFMANN, M.R. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. **Plant Physiology**, Lancaster, v.51, n.6, p.914-916, 1973.

MORI, C. Aspectos econômicos da produção e utilização. In: BORÉM, A.; SCHEEREN, P. L. (Ed.). **Trigo: do plantio à colheita**. Viçosa, MG: Ed. UVF, 2015. p.11-34.

- MORO, C.F.; GASPAR, M.; SILVA, F.R.; PATTATHIL, S.; HAHN, M.G.; SALGADO, I.S.; BRAGA, I.S. S-nitrosoglutathione promotes cell wall remodelling, alters the transcriptional profile and induces root hair formation in the hairless *root hair defective 6* (*rhd6*) mutant of *Arabidopsis thaliana*. **New Phytologist**, Lancaster, v.213, n.4, p.1771–1786, nov 2017.
- MOSAVIKIA, A.A.; MOSAVI, S.G.; SEGHATOLESLAMI, M.; BARADARAN, R. Chitosan nanoparticle and pyridoxine seed priming improves tolerance to salinity in milk thistle seedling. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, Romania, v. 48, n.1, p.221-233, jan.2020.
- MUTHUKRISHNAN, S; MURUGAN, I; MUTHUKUMAR. Chitosan nanoparticles loaded with thiamine stimulate growth and enhances protection against wilt disease in Chickpea. **Carbohydrate Polymers**, Índia, v. 212, n.a, p. 169-177, fev 2019.
- MUTHUKRISHNAN, S; MURUGAN, I; MUTHUKUMAR. Chitosan nanoparticles loaded with thiamine stimulate growth and enhances protection against wilt disease in Chickpea. **Carbohydrate Polymers**, Índia, v. 212, n.a, p. 169-177, fev 2019.
- NEILL, S.J.; DESIKAN, R.; HANCOCK, J.T. Nitric oxide signalling in plants. **The New Phytologist**, London, v.159, n.1, p.11–35, jun 2003.
- NILE, S. H.; THIRUVENGADAM, M.; WANG, Y.; SAMYNATHAN, R.; SHARIATI, M. A.; REBEZO, M.; NILE, A.; SUN, M.; VENKIDASAMY, B.; XIAO, J.; KAI, G. Nano-priming as emerging seed priming technology for sustainable agriculture-recent developments and future perspectives. **Journal of nanobiotechnology**, London, v. 20, n. 245, p. 1-31, jun 2022.
- NOGUEIRA, R.J.; MORAES, J.A.P.D.; BURITY, H.A.; BEZERRA NETO, E. Alterações na resistência à difusão de vapor das folhas e relações hídricas em aceroleiras submetidas a déficit de água. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Recife, v.13, n.1, p.75 - 87, maio 2001.
- OLIVEIRA, H.C.; GOMES, B.C.R.; PELEGRINO, M.T.; SEABRA, A.B. Nitric oxide-releasing chitosan nanoparticles alleviate the effects of salt stress in maize plants. **Nitric Oxide**, Orlando, v.30, n.61. p.10-19, dec 2016.
- OLIVEIRA, H. C.; DA SILVA, L. M. I.; FREITAS, L. D.; DEBIASI, T. V.; MARCHIORI, N.; AIDAR, M. P. M.; BIANCHINI, E.; PIMENTA, J. A.; MOREIRA, R. S. Nitrogen use strategies of seedlings from neotropical tree species of distinct successional groups. **Plant Physiology and Biochemistry**, Lancaster, v. 114, p. 119-127, mar 2017.
- OLMOS, E.; MARTÍNÉZ-SOLANO, J.R.; PIQUERAS, A.; HELLÍN, E. Early steps in oxidative burst induced by cádmium in cultured tobacco cells (BY-2 line). **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.54, n.381, p.291-301, jan 2003.
- PELEGRINO, M.T; KOHATSU, M. Y; SEABRA, A. B; MONTEIRO, L. R; GOMES, D. G; OLIVEIRA, H. C; ROLIM, W. R; JESUS, T. A; BATISTA, B. L; LANGE, C. N. Efeitos de nanopartículas de óxido de cobre no crescimento de mudas de alface (*Lactuca sativa* L.) e possíveis implicações do óxido nítrico em sua defesa antioxidante. **Environ Monit Assess** v.192, n.232, p.1-14, fev 2020. <https://doi.org/10.1007/s10661-020-8188-3>.
- PERAZA-VILLARREAL, H.; SÁNCHEZ-CORONADO, M.E.; LINDIG-CISNER OS, R.; TINOCO-OJANGUREN, C.; VELÁZQUEZ-ROSAS, N.; CÁMARA-CABRALES, L.; OROZCO-SEGOVIA, A. Seed Priming Effects on Germination and Seedling Establishment of Useful Tropical Trees for Ecological Restoration. **Tropical**

Conservation Science, [s.l.], v.11, n.1, p.1–15, jan 2018.

PEREIRA, A; OLIVEIRA, H. C; FRACETO, L. F. Nanopartículas poliméricas como alternativa para aplicação do ácido giberélico na agricultura sustentável: um estudo de campo. **Scientific Reports**, v.9, n7135, p.1-10, may 2019. Doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43494-y>.

PEREIRA, A.E.S.; OLIVEIRA, H.C.; FRACETO, L.F.; SANTAELLA, C. Nanotechnology Potential in Seed Priming for Sustainable Agriculture. **Nanomaterials**, Basel, v.11, n.2, p.267, jan 2021.

PÉREZ-DE-LUQUE, A. Interaction of Nanomaterials with Plants: What Do We Need for Real Applications in Agriculture. **Frontiers in Environmental Science**. Córdoba, v.5, n.12, p.1-7, apr 2017.

PIMENTA, J.A. Relações hídrica. In: KERBAUY, G.B. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019. p. 2-5.

PIRES, R.M.O.; SOUZA, G. A.; DIAS, D.C.F.S.; OLIVEIRA, L.A.; BORGES, E.E.L. Protective action of nitric oxide in sesame seeds submitted to water stress. **Journal of Seed Science**, [s.l.], v.38, n.4, p.350-357, sep 2016.

REMANS, T.; THIJS, S.; TRUYENS, S.; WEYENS, N.; SCHELLINGEN, K.; KEUNEN, E.; GIELEN, H.; CUYPERS, A.; VANGRONVELD, J. Understanding the development of roots exposed to contaminants and the potential of plant-associated bacteria for optimization of growth. **Annals of Botany**, v. 110, n. 2, p. 239-252, jul 2012.

REQUE, P.M. **Caracterização de compostos bioativos resultantes da biotransformação de farinha de trigo por *Bacillus* spp. e bactérias ácido lácticas**. 2018. 56. Tese de Doutorado (Doutorando em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2018.

RIBEIRO, G; PIMENTE, A.J.B; DE SOUZA, M.A.; ROCHA, J.R.A.S.; DA FONSECA, W.B. Estresse por altas temperaturas em trigo: impacto no desenvolvimento e mecanismos de tolerância. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.18, n.2-4, p.133-142, abr-jun 2012.

SAKAMOTO, A.; UEDA, M.; MORIKAWA, H. *Arabidopsis* glutathione-dependent formaldehyde dehydrogenase is an S-nitrosoglutathione reductase, **Federation of European Biochemical Societies Letters**, Amsterdam, v.515, n.3, p.20-24, mar 2002.

SANTISREE, P.; BHATNAGAR-MATHUR, P.; SHARMA, K.K. NO to drought-multifunctional role of nitric oxide in plant drought: Do we have all the answers? **Plant Science**, Limerick, v.239, n.4, p.44-55, out 2015.

SANTOS, D.; GUIMARÃES, V.F.; KLEIN, J.; FIOREZE, S.L.; MACEDO JÚNIOR, E.K. Cultivares de trigo submetidas a déficit hídrico no início do florescimento, em casa de vegetação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.16, n.8, p.836–842, maio 2012.

SARTO, M.V.M.; SARTO, J.R.W.; RAMPIM, L.; ROSSET, J.S.; BASSEGIO, D.; COSTA, P.F.; INAGAKI, A.M. Wheat phenology and yield under drought: A review. **Australian Journal of Crop Science**, Australia, v.11, n.8, p.941, nov 2017.

SATHIYABAMA, M.; INDHUMATHI, M.; AMUTHA, T. Preparation and characterization of curcumin functionalized copper nanoparticles and their application enhances disease

resistance in chickpea against wilt pathogen, **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, [s.l.], v. 29, p.1-24, oct 2020.

SCALON, S.P.Q.; MUSSURY, R.M.; EUZÉBIO, V. L. M.; KODAMA, F. M.; KISSMANN, C. Estresse hídrico no metabolismo e crescimento inicial de mudas de mutambo (*Guazuma ulmifolia* Lam.). **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.21, n.4, p.655-662, out.-dez 2011.

SEABRA, A. B.; SIVEIRA, N. M.; RIBEIRO, R. V.; PIERETTI, J. C.; BARROSO, J. B.; CORPOS, F. J.; PALMA, J. M.; HANCOCK, J. T.; PETRIVALSKY, M.; GUPTA, K. J.; WENDEHENNE, D.; LOAKE, G. JJ.; DURNER, J.; LINDERMAYR, C.; MOLNÁR, A.; KOLBERT, Z.; OLIVEIRA, H. C. Nitric oxide-releasing nanomaterials: from basic research to potential biotechnological applications in agricultures. **New Phytologist Foundation**, Lancaster, v. 234, n. 4, p. 1119-1125, mar 2022.

SEABRA, A.B.; OLIVEIRA, H.C. How nitric oxide donors can protect plants in a changing environment: what we know so far and perspectives. **AIMS Molecular Science**, Springfield, v.3, n.4, p.692-718, dez 2016.

SEABRA, A.B.; RAI, M.; DURÁN, N. Nano carriers for nitric oxide delivery and its potencial applications in plant physiological process: A mini review. **Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology**, Berlin, v.23, n.1, p.1-10, jan 2014.

SEN, A.; PUTHUR, J.T. Influence of different seed priming techniques on oxidative and antioxidative responses during the germination of *Oryza sativa* varieties. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, Nandula, v.26, n.1, p.551–565, feb 2020.

SHAMSI, K.; PETROSYAN, M.; NOOR-MOHAMMADI, G.; HAGHPARAST, R. The role of water déficit stress and water use efficiency on bread wheat cultivars. **Journal of Applied Biosciences**, Legon, v.35, p.2325-2331, nov 2010.

SHARMA, A.; SINGH, R. K.; SINGH, P.; VAISHNAV, A.; GUO, D. J.; VERMA, K. K.; LI, D. P.; SONG, X. P.; MALVIYA, M. K.; KHAN, N.; LAKSHMANAN, P.; LI, Y. R. Insights into the bacterial and nitric oxide induced salt tolerance in sugarcane and their growth promoting abilities. **Microorganisms**, v. 9, n. 2203, p. 1-29, oct 2021.

SHELAR, A; SINGH, A. V; MAHARJAN, R. S; LAUX, P; LUCH, A; GEMMATI, D; TISATO, V; SINGH, S. P; SANTILLI, M. F; SHELAR, A; CHASKAR, M; PATIL, R. Sustainable Agriculture through Multidisciplinary Seed Nanopriming: Prospects of Opportunities and Challenges. **Cells**, India, v.10, n.2428, p.1-22, set 2021. Doi: 10.3390/cells10092428.

SHIGEOKA, S.; ISHIKAWA, T.; TAMOI, M.; MIYAGAWA, Y.; TAKEDA, T.; YABUTA, Y.; YOSHIMURA, K. Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.53, n.372, p.1305-1319, maio 2002.

SILVA, D.G.; TOMA, H.E. **Nanotecnologia para todos! Cartilha educativa para educação e ensino da nanotecnologia**. 72p. 2018.

SILVEIRA, N. M.; FRUNGILLO, L.; MARCOS, F. C.; PELEGRINO, M. T.; MIRANDA, M. T.; SEABRA, A. B.; RIBEIRO, R. Exogenous nitric oxide improves sugarcane growth and 2 photosynthesis under water déficit. **Nitric Oxide**, Orlando, v. 244, n. 1, p. 181-190, mar 2016.

SILVEIRA, N. M.; SEABRA, A.B.; MARCOS, F.C.C.; PELEGRINO, M.T. ; MACHADO, E.C.; RIBEIRO, R.V. Encapsulation of S-nitrosoglutathione into chitosan nanoparticles

improves drought tolerance of sugarcane plants. **Nitric Oxide-biology and Chemistry**, Orlando, v.84, p.38-44, mar 2019.

SILVEIRA, N.M.; RIBEIRO, R.V.; PRATAVIERA, P.J.C.; PISSOLATO, M.D.; PIERETTI, J.C.; SEABRA, A.B.; MACHADO, E.C. Germination and initial growth of common bean plants under water deficit as affected by seed treatment with S-nitrosoglutathione and calcium chloride. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, Lancaster, v.32, p.49–62, feb 2021.

SIMONTACCHI M.; GALATRO, A.; RAMOS-ARTUSO, F.; SANTA-MARÍA, G. E. Plant survival in a changing environment: The role of nitric oxide in plant responses to abiotic stress. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v.6, n.977,p.1-19, nov 2015.

SOUSA, L. F.; MENEZES-SILVA, P. E.; LOURENÇO, L. L.; GALMÉS, J.; GUIMARÃES, A. C.; SILVA, A. F.; LIMA, A. P. R.; HENNING, L. M. M.; COSTA, A. C.; SILVA, F. G.; FARNESE, F. S. Improving water use efficiency by changing hydraulic and stomatal characteristics in soybean exposed to drought: the involvement of nitric oxide. **Physiologia Plantarum**, Heidelberg, v.168, n.3, p.576-589, maio 2019.

SUN, C.; YU, J.; HU, D. Nitrate: a crucial signal during lateral roots development. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v.8, n.485, p.1-9, apr 2017.

SUNDAR, S.; KUNDU, J.; KUNDU, S.C. Biopolymeric nanoparticles. **Science and Technology of Advanced Materials**, New York, v. 11, n.1, p. 1-13, fev 2010.

TEIXEIRA, L. R.; BRACCINI, A. L.; SPERANDIO, D.; SCARPIM, C. A.; SCHUSTER, I.; VIGANO, J.; Avaliação de cultivares de soja quanto à tolerância ao estresse hídrico em substrato contendo polietileno glicol. **Acta Sci.**, Agron., Maringa, v. 30, n. 2, p. 217-223, 2008.

TERRILE, M.C.; PARÍS, R.; CALDERÓN-VILLALOBOS, L.A.; IGLESIAS, M.J.; LAMATTINA, L.; ESTELLE, M.; CASALONGUÉ, C. A. Nitric oxide influences auxin signaling through S-nitrosylation of the *Arabidopsis* transport inhibitor response 1 auxin receptor. **The Plant Journal**, Oxford, v.70, n.3, p.492-500, jan 2012.

TRIPATHY, S.; DAS, S.; CHAKRABORTY, S.P.; SAHU, S.K.; PRAMANIK, P.; ROY, S. Synthesis, characterization of chitosan-tripolyphosphate conjugated chloroquine nanoparticle and its in vivo anti-malarial efficacy against rodent parasite: a dose and duration dependent approach, **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v.434, n.1-2, p.292-305, set 2012.

VARGAS-MARTINEZ, G; BETANCOURT-GALINDO, R; JUÁREZ-MALDONATO, A; SÁNCHEZ-VEJA, M; SANDOVAL-RANGEL, A; LÓPEZ, A. M. impact of npszno and rhizospheric microorganisms on tomato growth and biomass. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, México, v.26, n.10, p.1-12, set 2022.
Doi: <http://dx.doi.org/10.56369/tsaes.4332>.

VIEIRA, F.C.F.; SANTOS JUNIOR, C. D.; NOGUEIRA, A. P. O.; DIAS, A. C. C.; HAMAWAKI, O. T.; BONETTI, A. M.; Aspectos fisiológicos e bioquímicos de cultivares de soja submetidos a déficit hídrico induzido por peg 6000. **Bioscience Journal**, Uberlandia, v.29, n.2, p. 543-552, 2013.

VILELA, F.A.; DONI FILHO, L.; SIQUEIRA, E.L. Tabela do potencial osmótico em função da concentração de polietileno glicol 6000 e da temperatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.26, n.11/12, p.1957-1968, nov-dez 1991.

- VITOR, S.C.; DUARTE, G.T. Nitrate reductase is required for the transcriptional modulation and bactericidal activity of nitric oxide during the defense response of *Arabidopsis thaliana* against *Pseudomonas syringae*. **Planta**, Heidelberg, v. 238, n.3, p.475-486, jun 2013.
- ZADOKS, J.C.; CHANG, T.T.; KONZAK, C.; F. A decimal code for the growth stages of cereals. **Weed Research**, Oxford, v.14, p.415-421, dec 1974.
- ZAINA, I.C.; GAI, V.F. Características morfológicas e qualidade do trigo mourisco sob estresse hídrico. **Revista Cultivando o Saber**, Cascavel, v. 13, n.2, p.112- 121, abr-jun 2020.
- ZHANG, H.; SHEN, W.; ZHANG, W.; XU, L. A rapid response of β -amylase to nitric oxide but not gibberellin in wheat seeds during the early stage of germination. **Planta**, Heidelberg, v.220, n.5, p.708-716, mar 2005.
- ZHAO, M.G.; CHEN, L.; ZHANG, L.L.; ZHANG, W. H. Nitric Reductase-Dependent Nitric Oxide Production Is Involved in Cold Acclimation and Freezing Tolerance in *Arabidopsis* **Plant Physiology**, Lancaster, v.151, n.2, p.755–767, out 2009.
- ZIA, R.; NAWAZ, M. S.; SIDDIQUE, M. J.; HAKIM, S.; IMRAN, A. Plant survival under drought stress: Implications, adaptive responses, and integrated rhizosphere management strategy for stress mitigation **Microbiological Research**, Pakistan, v.242, n.12, p.1-16, jan 2021.
- ZULFIQAR, F., AKRAM, N.A., ASHRAF, M. Osmoprotection in plants under abiotic stresses: new insights into a classical phenomenon. **Planta**, Berlin, v.251, n.3, p.1-17, nov 2020.