



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE LONDRINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
COLEGIADO DO CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



**Ciências
Biológicas**
UEL

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

BEATRIZ MARTINS DA COSTA PASSOS MOREIRA

**EFEITO DE NANOPARTÍCULAS CONTENDO DOADOR DE
ÓXIDO NÍTRICO NO PROCESSO DE TRANSPLANTIO DE
PLÂNTULAS DE *Heliocarpus popayanensis* Kunth**

Londrina – Paraná
2024

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE GRADUAÇÃO
EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

BEATRIZ MARTINS DA COSTA PASSOS MOREIRA

**EFEITO DE NANOPARTÍCULAS CONTENDO DOADOR DE
ÓXIDO NÍTRICO NO PROCESSO DE TRANSPLANTIO DE
PLÂNTULAS DE *Heliocarpus popayanensis* Kunth**

Monografia apresentada ao Curso de Graduação em Ciências Biológicas da Universidade de Londrina como um dos requisitos à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas

Orientador: Halley Caixeta de Oliveira
Coorientadora: Giovanna Camargo do Carmo

Londrina – Paraná

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Halley Caixeta de Oliveira

Ma. Giovanna Camargo do Carmo

Prof. Dra. Renata Stolf Moreira

Londrina, 08 de maio de 2024

Dedico este trabalho aos meus pais e irmãs que sempre estiveram ao meu lado e acreditaram em mim.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais e irmãs por todo carinho e apoio.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Halley Caixeta de Oliveira por todo apoio, dedicação, paciência e tempo investido em ensinar durante todo esse processo.

Agradeço também pela oportunidade de desenvolver este trabalho.

Agradeço também à minha coorientadora Giovanna Camargo do Carmo, que foi essencial para o desenvolvimento deste trabalho, também me auxiliando em cada etapa do processo.

Também agradeço à professora Dr.^a Renata Stolf Moreira, que compõe a banca examinadora, por sua disponibilidade.

Gostaria de agradecer também à minha namorada, que trouxe leveza para esse momento tão importante, além de me dar apoio incondicional.

Aos meus amigos de turma, Paola, Rafaela, Carlos, Eduardo e Gabriele, por estarem ao meu lado durante todos os momentos.

Aos meus amigos de casa, Giovanna, Gabriela e Bruna que mesmo longe, se fizeram sempre presentes.

Aos colegas de laboratório, que desde o início me acolheram tão bem, tornando todo o processo mais tranquilo e descontraído, além também de toda a ajuda e ensinamentos, especialmente Giovanna, Lara, Leonardo e Laura.

Também agradeço aos meus avós e tio, que sempre me apoiaram e incentivaram.

À Universidade Estadual de Londrina, pela minha formação

Às agências de financiamento da pesquisa, em especial a Fundação Araucária/SETI (NAPI Biodiversidade: Recursos Genéticos e Biotecnologia)

MOREIRA, Beatriz Martins da Costa Passos. **Efeito de nanopartículas contendo doador de óxido nítrico no processo de transplântio de plântulas de *Heliocarpus popayanensis* Kunth**. 2024. 33 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2024.

RESUMO

O desenvolvimento adequado de mudas de espécies arbóreas destinadas ao reflorestamento é crucial para a sobrevivência dos indivíduos após o seu plantio *in situ*. Durante o processo de transferência das plântulas para os tubetes, há uma grande perda da produção, devido ao estresse sofrido após este processo. Nesse sentido, o óxido nítrico (NO) é uma molécula de suma importância para diversos processos fisiológicos nos vegetais, atuando como sinalizadora na resposta a diversos tipos de estresse. Assim, este estudo objetivou avaliar o efeito da aplicação de nanopartículas de quitosana carregadas com S-nitrosoglutationa (NP-GSNO), como um doador de NO, no desenvolvimento de plântulas da espécie nativa da Mata Atlântica *Heliocarpus popayanensis* Kunth após o processo de transplântio. Neste estudo, o tratamento com a nanoformulação foi realizado via *priming* de sementes e/ou no momento do transplântio. Foram utilizadas sementes de *H. popayanensis* para a realização do *priming* com a nanoformulação, na concentração de 2,5 mM, além do controle com água. Posteriormente, após um mês da semeadura em bandejas contendo areia, foram aplicadas as seguintes concentrações de NP-GSNO: 0, 25, 50, 100 e 200 μM . As mesmas concentrações foram aplicadas também diretamente no tubete, logo após o transplântio. Verificou-se que o tratamento com o *priming*, tanto NP-GSNO, como com água, isoladamente, não diferem entre si, mas que sofrem influência quando aplicada a dose no processo de transplântio. Na aplicação no transplântio, a variável comprimento da parte aérea (CPA) diminuiu com a aplicação de 25 μM de NP-GSNO. A aplicação de 50 e 100 μM de NP-GSNO levou a uma diminuição do diâmetro do caule (DC), quando comparadas ao controle, ao contrário do que ocorreu na razão altura diâmetro (RAD), que aumentou nestas mesmas concentrações. Para a variável comprimento da raiz (CR), o efeito positivo ocorreu nas dosagens 25, 50 e 100 μM de NP-GSNO, levando a um maior crescimento da estrutura quando comparada ao controle. Ao contrário, para a razão parte aérea raiz (RPAR), houve uma redução das médias sob estas mesmas concentrações. Assim, pode-se perceber que o uso de doador de NO nanoencapsulado no transplântio pode beneficiar o desenvolvimento de plântulas de *H. popayanensis*, mas que esse efeito é dose dependente.

Palavras-chave: *priming*, S-nitrosoglutationa (GSNO), reflorestamento, espécie arbórea nativa

MOREIRA, Beatriz Martins da Costa Passos. **Effect of nitric oxide donor-containing nanoparticles on the seedling transplantation process of *Heliocarpus popayanensis* Kunth.** 2024. 33 p. Graduation work (Degree in Biological Sciences) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2024.

ABSTRACT

The proper development of tree species seedlings intended for reforestation is crucial for the survival of the individuals after their planting in situ. During the process of transferring the seedlings to the tubes, there is a significant loss in production due to the stress experienced after this process. In this context, nitric oxide (NO) is a molecule of utmost importance for various physiological processes in plants, acting as a signaler in response to various types of stress. Thus, this study aimed to evaluate the effect of applying chitosan nanoparticles loaded with S-nitrosoglutathione (NP-GSNO), as a NO donor, on the development of seedlings of the Atlantic Forest native species *Heliocarpus popayanensis* Kunth after the transplant process. In this study, treatment with the nanoformulation was carried out via seed priming and/or at the time of transplanting. *H. popayanensis* seeds were used for priming with the nanoformulation at a concentration of 2.5 mM, in addition to the control with water. Subsequently, one month after sowing in trays containing sand, the following concentrations of NP-GSNO were applied: 0, 25, 50, 100, and 200 μM . The same concentrations were also applied directly to the tube immediately after transplanting. It was found that treatment with priming, either NP-GSNO or water alone, did not differ from each other but were influenced when the dose was applied during the transplant process. In the transplant application, the shoot length variable decreased with the application of 25 μM of NP-GSNO. The application of 50 and 100 μM of NP-GSNO led to a decrease in stem diameter compared to the control, contrary to what occurred in the height-to-diameter ratio, which increased at these same concentrations. For the root length variable, the positive effect occurred at doses of 25, 50, and 100 μM of NP-GSNO, leading to greater growth of the structure compared to the control. Conversely, for the shoot-to-root ratio, there was a reduction in the averages at these same concentrations. Thus, it can be seen that the use of NO donor nanoencapsulated at the time of transplanting can benefit the development of *H. popayanensis* seedlings, but this effect is dose-dependent.

Keywords: priming, S-nitrosoglutathione (GSNO), reforestation, native species

SUMÁRIO

	Pág.
1. INTRODUÇÃO.....	10
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
2.1 Produção de mudas de espécies nativas face às mudanças climáticas.....	12
2.2 Óxido nítrico.....	14
2.3 Doadores de NO e nanotecnologia.....	15
3. MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1 Material vegetal.....	17
3.2 Preparo das formulações.....	18
3.3 Tratamentos das plantas com as formulações.....	19
3.4 Análises morfológicas.....	20
3.5 Análise estatística.....	21
4. RESULTADOS.....	21
5. DISCUSSÃO.....	27
6. CONCLUSÕES.....	29
REFERÊNCIAS	30

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, as mudanças climáticas vêm preocupando cada vez mais os cientistas e a sociedade civil. Com o aumento na emissão de gases do efeito estufa (GEE) na atmosfera, as temperaturas globais vêm atingindo níveis recordes e trazendo consequências para os diversos níveis bióticos. De acordo com o IPCC (2023), há uma alta probabilidade de aumento de 1,5 °C na temperatura global entre 2021 e 2040. Porém, para além de um aumento na sensação térmica, essa elevação na temperatura pode acarretar aumento no índice de eventos extremos. Eventos como a seca podem ocorrer em muitos casos de forma natural, porém as mudanças climáticas podem elevar sua frequência e duração, podendo trazer consequências como queimadas e morte de diversos organismos, além de escassez de água, perda de plantação e efeito indireto sobre a saúde da população (MUKHERJEE et al., 2018).

Nesse sentido, as florestas apresentam uma grande importância no que diz respeito à mitigação das mudanças climáticas. Biomassas florestais atuam como grandes estoques de carbono na biomassa vegetal, serapilheira e matéria orgânica do solo (FAHEY et al., 2010). A perda da área florestal pode acarretar impactos nos fluxos de rios e modulações de padrões climáticos, como por exemplo aumentando eventos como secas, queimadas, desertificação, alagamento e deslizamentos (SCARANO; CEOTTO, 2015). Um importante setor responsável por parte da degradação florestal é a agropecuária, a qual necessita de uma vasta área que é destinada para plantações muitas vezes de monoculturas, como feijão e soja, além da área destinada para a criação de gado e outros animais. Além da agricultura, podemos citar outros fatores ligados à degradação florestal, direta ou indiretamente, como extração de madeira e infraestrutura (PENDRILL et al., 2022).

Desta forma, frente às mudanças climáticas e a intensificação de seus efeitos futuros, é fundamental que estas sejam resilientes e resistentes às adversidades encontradas de forma a manter a diversidade e sua funcionalidade ecológica. Neste sentido, de acordo com Ameray et al. (2021), é interessante o uso de espécies que apresentam crescimento rápido, de forma que seja acelerado o processo de estocagem de C. Entretanto, durante o processo de cultivo de mudas florestais em viveiros, elas podem enfrentar alguns estresses, como o que ocorre no momento de transplante das plântulas recém-germinadas para os tubetes (RIETVELD, 1989). Desta forma, é importante testar tecnologias que possam

auxiliar as plântulas a terem sucesso na fase de transplântio, de forma a melhor resistirem às adversidades ao serem transferidas para o ambiente natural definitivo, além de acelerar o processo de obtenção das mudas e evitar gastos de mão de obra (SEABRA; RAI e DURÁN, 2013).

Neste cenário, o óxido nítrico (NO) vem se tornando cada vez mais interessante na comunidade científica devido a sua atuação como molécula sinalizadora na resposta a estresses abióticos, como déficit hídrico (DH), salinidade e metais pesados. Todavia, o NO é um radical livre gasoso, tornando a molécula altamente reativa e instável, de difícil aplicação (SALGADO et al., 2013). Dessa forma, o uso de doadores de NO é uma alternativa eficaz e vem demonstrando capacidade em modelar uma variedade de processos fisiológicos, servindo também como estoque de NO (SEABRA et al., 2022; SEABRA; RAI; DURÁN, 2014). As nanopartículas poliméricas (NPs) liberadoras de NO podem ser utilizadas para diversos fins, mostrando resultados positivos em diversas aplicações com na modulação de processos como germinação da semente, crescimento e desenvolvimento da plântula (El-Shetey et al., 2021; Jiang et al., 2021). O uso de doadores como nitroprussiato de sódio (SNP) e S-nitrosotióis (RSNOs) vêm sendo utilizados na agricultura, mostrando melhora no crescimento e defesa vegetal contra estresse (SEABRA et al., 2013).

O uso de nanotecnologia vem sendo um grande aliado nesta jornada, permitindo a aplicação de compostos que auxiliam na otimização do crescimento e desenvolvimento vegetal, tendo então um resultado mais sustentável ecológica e financeiramente (SEABRA; RAI; DURÁN, 2014). O doador S-nitrosoglutationa (GSNO) faz parte da classe dos RSNOs e é formado pela reação espontânea do NO com a glutatona, sendo uma das maiores reservas de NO na célula vegetal (SALGADO et al., 2013). Contudo, os doadores são relativamente instáveis, de forma que sua decomposição é potencializada em exposição à luz e altas temperaturas (SEABRA; DURÁN, 2010). Para contornar esta questão, o uso de NP é uma excelente alternativa, de modo que a nanoencapsulação de moléculas doadoras pode estender seu período de atuação, de maneira que a liberação de NO se torna mais controlada, estendendo o período de ação do doador.

A fim de otimizar a taxa de sucesso na germinação de algumas espécies arbóreas nativas da Mata Atlântica, estudos com *nanopríming* vêm sendo realizados com doadores de NO nanoencapsulados, para observar se o *príming* ajuda a melhorar o desenvolvimento inicial das plântulas. Todavia, ainda não foi

testado se esse tratamento é o eficaz para aumentar a taxa de crescimento e desenvolvimento das plântulas após o processo de transplântio para os tubetes.

1.1 Hipóteses

O *priming* de sementes com nanopartículas de quitosana contendo GSNO (NP-GSNO) e o tratamento no momento do transplântio das plântulas para tubetes resultarão em melhor crescimento e desenvolvimento delas.

1.2 Objetivo

Este trabalho teve como objetivos:

- Avaliar o efeito do *priming* da semente com NP-GSNO como doador de NO no crescimento e desenvolvimento de plântulas de *H. popayanensis* após o processo de transplântio para tubetes.
- Avaliar o efeito da aplicação de NP-GSNO no crescimento e desenvolvimento após transplântio de plântulas *H. popayanensis*.

2. REVISÃO

2.1 Produção de mudas de espécies nativas face às mudanças climáticas

Para além de outros impactos, o desmatamento tem grande papel no agravamento das mudanças climáticas, de forma que, em escala local, o ambiente se torna mais quente e seco (LAWRENCE; VANDECAR, 2014), contribuindo também para 10-20% da emissão global de CO₂ antropogênico (ROSA et al., 2016). Florestas tropicais perderam entre 6,4 e 8,8 milhões de hectares por ano no período de 2011 a 2015, tendo como principal responsável a expansão da agricultura (PENDRILL et al., 2022). No que diz respeito à Mata Atlântica brasileira, restam apenas cerca de 11,6% de sua área original (SCARANO; CEOTTO, 2015). Assim, uma forma para a mitigar os efeitos do desmatamento seria a inversão

deste cenário, por meio do reflorestamento, que pode ser utilizado como sumidouro de carbono atmosférico, aumentando a capacidade de estocagem de carbono (ZHOU et al., 2007), sendo também uma alternativa de relativo baixo custo (NOLAN et al., 2018).

O reflorestamento pode ser planejado e desenvolvido de diversas formas, de modo que possui importância ambiental, social e econômica. Ele pode ser feito de forma em que há maior interferência humana, por meio de plantio de mudas por exemplo, ou pela dispersão natural de sementes (biótica ou abiótica) entre fragmentos (TASSER et al., 2007). Entretanto, o sucesso no plantio de mudas pode ser um desafio em áreas de vegetação escassa, como ocorre em locais de reflorestamento, devido à grande exposição dos indivíduos a estresses abióticos que vêm sendo agravados devido às mudanças climáticas (LOPES-OLIVEIRA et al., 2019).

Desta forma, é importante o desenvolvimento de estratégias que diminuam a vulnerabilidade das mudas, tornando-as menos suscetíveis às adversidades ambientais, de forma que sua implementação se torne viável não apenas ecológica, mas também financeiramente (SUMMERS et al., 2015, FARGIONE et al., 2021, BRANCALION et al., 2019). A constante perda de mudas no processo de plantio faz com que seja necessário um financiamento para novas compras, o que é conflituoso com o orçamento limitado (BRANCALION et al., 2019). Para além de sua viabilidade econômica, é também fundamental o planejamento do plantio, de forma a também tornar eficiente sua manutenção, usando espécies que melhor se adequem aquele ambiente (TURCHETTO et al., 2016). O uso de espécies nativas contribui para a conservação da biodiversidade regional e seus ecossistemas associados, de forma a conferir a sobrevivência de outras espécies maior chance de sucesso a longo prazo da cobertura vegetal e fácil aclimação, sendo um conjunto de fatores que pode ser convertido, inclusive, em benefícios econômicos (NUNES et al., 2020; CHARRIER et al., 2021; CHIABAI et al., 2018).

Durante a própria produção em viveiro, as mudas podem estar sujeitas a fatores de estresse. Normalmente, as sementes são germinadas em um recipiente grande (como uma bandeja com areia), contendo diversas sementes. Após sua germinação, as plântulas são transferidas individualmente para outro recipiente (como tubetes contendo substrato florestal), processo chamado de transplantio. Ao

serem transplantadas para o ambiente natural, as mudas estão sujeitas a diversas adversidades de áreas desmatadas, sendo assim essencial o processo de aclimação em viveiros (LOPES-OLIVEIRA et al., 2019). Como já abordado anteriormente, o reflorestamento nem sempre é um processo fácil e linear, no qual a morte vegetal pode ocorrer por diversos motivos, que vão desde sua vulnerabilidade até desafios relacionados ao custo e elevada demanda por terreno para uso da agropecuária, o qual ocupa 33% da superfície terrestre sem gelo (NUNES et al., 2020). Além disso, o transplante das plântulas para os tubetes após a germinação pode ser um fator de estresse, o que pode estar associado ao sistema radicular que ainda não foi restabelecido (TURCHETTO et al., 2016), de forma que, a depender da gravidade, esta pode ocasionar sua morte (NASCIMENTO; PEREIRA, 2016). Assim, estudar métodos que possibilitem o bom desenvolvimento após o transplante das plântulas no viveiro é essencial. Atualmente, os estudos e trabalhos publicados têm como maior foco a produção de mudas de *Pinus* e *Eucalyptus* (CARVALHO, 2008), o que, além de ser um número bem reduzido de espécies, também não são nativas do Brasil. Neste estudo, utilizamos a espécie *Heliocarpus popayanensis* Kunth, espécie nativa da Mata Atlântica, de forma a reduzir as dificuldades de aclimação das plântulas no viveiro e valorizar a biodiversidade.

2.2 Óxido nítrico

A molécula de óxido nítrico (NO) tem como características ser um radical livre, gasoso, inorgânico, incolor, que possui sete elétrons do nitrogênio, oito do oxigênio e tendo um elétron desemparelhado (DUSSE; VIEIRA; CARVALHO, 2003). Devido a seu tamanho reduzido e característica lipofílica, o NO é capaz de adentrar as membranas celulares, otimizando a comunicação celular (SEABRA; OLIVEIRA, 2016). O composto pode ter origem pela própria planta, endógeno, ou vir de um meio externo, exógeno (SIMONTACCHI et al., 2015). Também de acordo com Dusse, Vieira e Carvalho, até cerca de 1980 via-se NO com foco em sua ação como um gás poluente (NO e NO₂); porém, atualmente este é considerado um dos mais importantes mediadores de processos celulares. Foi reconhecido pela Science, em 1992, como “Molécula do Ano” e, em 1999, três pioneiros na pesquisa sobre o NO receberam o Nobel de Medicina (CERQUEIRA; YOSHIDA, 2002). Ainda no final dos anos 1990, diversas pesquisas trouxeram evidências da

importância do papel do NO em diversos processos fisiológicos em plantas, além de ser uma molécula fundamental na sinalização contra patógenos (WENDEHENNE; DURNER; KLESSING, 2004)

Atualmente sabe-se que este composto atua como um sinalizador envolvido em diversos processos fisiológicos de plantas, como defesa contra patógenos, expansão foliar e crescimento radicular (SANZ et al., 2015). Além disso, o NO está relacionado ao controle dos movimentos estomáticos, reprime o florescimento, modula a expressão dos genes do ciclo celular, reduz a dormência das sementes e estimula a germinação (WILSON; NEILL; HANCOCK, 2007). Estudos apontam o NO como um componente essencial também na resposta de diversas espécies vegetais a fatores de estresse bióticos e abióticos (SIMONTACCHI et al., 2015). Ainda, de acordo com Santisree, Bhatnagar-Mathur e Sharma (2015), a concentração do composto também altera sua resposta na planta, em que altas concentrações podem causar efeitos tóxicos devido à indução de estresse nitrosativo.

Como já mencionado anteriormente, o NO pode ser originado pelo próprio metabolismo vegetal ou fornecido por uma fonte externa. Ainda há muitas questões relacionadas à produção endógena do composto, porém a aplicação exógena vem sendo alvo de diversos estudos nos últimos tempos. O NO pode ser usado para aumentar a tolerância do vegetal aos variados estresses bióticos e abióticos. Entretanto, devido sua natureza gasosa e baixa meia vida em condições aeróbicas (menos de 6s em altas concentrações) (SEABRA et al., 2022), sua aplicação é complexa. Devido a isto, sua aplicação através de doadores de NO tem se mostrado uma estratégia para otimizar seus efeitos biológicos.

2.3 Doadores de NO e nanotecnologia

Uma alternativa para lidar com a dificuldade de aplicação do NO é a utilização de moléculas doadoras, que atuam como reservatórios, transportadores e liberadores de NO, mantendo as funções biológicas dessa molécula (SEABRA; RAI; DURÁN, 2013). Todavia, as moléculas doadoras também apresentam relativa instabilidade frente à variação de temperatura, luminosidade e presença de íons metálicos, podendo levar à uma liberação rápida e exagerada de NO, o que pode ser tóxico para a planta (DO CARMO et al, 2021).

Um exemplo de doador de NO a ser usado na botânica é a GSNO, um derivado S-nitrosado da glutathione, que é relativamente estável (COSTA, 2009), e pode atuar como mediador dos efeitos de sinalização do NO; porém, a GSNO ainda é sensível à variação de luz e temperatura (SEABRA; DURÁN, 2010). Sua síntese se dá através da S-nitrosação da glutathione reduzida (GSH) (BRONIEWSKA; DIERS; HOGG, 2013). Este composto é considerado um reservatório natural de NO, de forma a ser visto como um excelente candidato para a nanoencapsulação. Neste cenário, o uso de nanotecnologia vem se mostrando promissor, pois o nanoencapsulamento destes doadores de NO pode aprimorar sua liberação e estender seu efeito biológico (SEABRA; DURÁN, 2010). Por meio desta tecnologia, o conteúdo é envolto por um material polimérico que protege a molécula doadora da rápida degradação, permitindo sua liberação de forma sustentável, potencializando a captação pelo tecido vegetal e reduzindo sua perda para o meio (SEABRA et al., 2022). Com isso, além de otimizar os efeitos desta molécula, tem-se a possibilidade de aplicar uma menor quantidade do produto, o que pode ser convertido para benefícios econômicos e ambientais (DO CARMO et al., 2021). Diversos materiais podem ser utilizados para a produção de nanopartículas poliméricas (PASCOLI et al., 2018). A quitosana é um polissacarídeo natural derivado da quitina, comumente utilizado na produção de NP, e frequentemente utilizada em diferentes plantas por ser biocompatível, biodegradável, atóxica e de baixo custo (SINGH et al., 2022).

Alguns estudos vêm sendo realizados de forma a melhor entender os efeitos do uso de doadores de NO nanoencapsulados em plantas. Oliveira et al. (2016) conduziram experimentos que visavam testar a eficiência no uso de NP-CSs carregadas com ácido S-nitroso-mercaptopuccínico (S-nitroso-MSA), um composto também doador de NO, em mitigar os efeitos deletérios da salinidade em milho. Observou-se que o uso de NP contendo S-nitroso-MSA foi mais eficiente que do doador livre, mitigando os efeitos deletérios desse estresse. O uso deste mesmo doador de NO nanoencapsulado, utilizado em *H. popayanensis* submetidas à aclimação a pleno sol em viveiro também acarretou em resultados positivos e mais eficientes no crescimento de mudas desta espécie, quando comparada com o uso da formulação não encapsulada ou apenas água (LOPES-OLIVEIRA et al., 2019), reforçando a relevância do nanoencapsulamento em conferir uma liberação gradativa do NO. Estudos conduzidos por Silveira et al.

(2019) concluíram que o uso de NP-GSNO levou a um aumento de assimilação de CO₂ foliar sob DH em comparação com a aplicação de NP-GSNO livre em cana de açúcar, efeito qual associou-se com maior condutância estomática e maior conteúdo relativo de água em condições de déficit hídrico. Em seu trabalho com mudas de *H. papayanensis* utilizando NP também carregada com S-nitroso-MSA, do Carmo et al. (2021) constataram que o uso do doador de NO confere proteção ao DH para a espécie nativa, além de induzir um aumento na fotossíntese e reduziu a perda de água foliar, resultados essenciais para um bom crescimento e desenvolvimento do vegetal. Com isso, pode-se entender que os benefícios do desenvolvimento e aplicação desta tecnologia é de grande interesse tanto ambiental como financeiramente, dentro e fora da agricultura.

Recentemente, em outro estudo também realizado com *H. papayanensis* Kunth, Maldonado et al. (2023) constatou um potencial significativo no *priming* das sementes com NP-GSNO, resultando em melhor desenvolvimento inicial das plântulas. Neste estudo, a aplicação de 2,5 mM da formulação se destacou positivamente em comparação às demais concentrações, levando a um melhor resultados dos parâmetros analisados. No entanto, não foi avaliado se haveria um efeito no transplântio das mudas para o tubete. Dada a suma importância da resiliência dos indivíduos vegetais, cada vez mais ameaçados pelas mudanças climáticas, torna-se de grande interesse conduzir testes com diferentes concentrações da formulação, com o intuito de potencializar o desenvolvimento dos indivíduos após o processo de transplântio. Além disso, seria pertinente investigar os efeitos da aplicação por um período prolongado após a germinação, permitindo uma extensão do experimento conduzido por Maldonado (2023).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Material vegetal

Neste estudo, foi utilizado como material vegetal a espécie *Heliocarpus papayanensis* Kunth (Malvaceae), popularmente conhecido como Jangadeiro. É uma espécie pioneira, semidecidual, típica de borda, clareiras e floresta secundária (LORENZI, 2011). A espécie, que ocorre naturalmente desde o nordeste da Argentina até a Costa Rica, também em diversos estados brasileiros (CARVALHO,

2008), apresenta rápido crescimento (LORENZI, 2011). Esta é uma espécie com dispersão irregular e descontínua (CARVALHO, 2008). Pode atingir uma altura de 20 metros quando adultas. Ainda de acordo com Carvalho, suas raízes são tubulares na base, suas folhas são alternas simples, em que as novas apresentam uma coloração ferrugíneo-tomentosas em ambas as faces, enquanto adulta, glabras na face ventral e margens serreadas. Seu fruto é comprido (entre 10 e 15 mm), de cor roxo-purpúrea ou castanha, apresentando cerdas nas margens e com pelos. Suas flores masculinas são amarelas, enquanto as femininas são róseas. Por fim, sua semente de coloração marrom tem dispersão de forma anemocórica.

Esta espécie nativa da Mata Atlântica tem grande relevância para o reflorestamento devido ao seu rápido crescimento. Sua madeira também é utilizada para produção de lápis, brinquedos e placas de madeira lamelada (BERNARDI, 2018). Para Bernardi, o gênero *Heliocarpus* tem grande importância econômica principalmente devido à sua casca de fibra forte e durável. Segundo relata um estudo sobre o gênero, conduzido pelo jardim botânico de Missouri (1949), a madeira, leve e macia, também pode ser usada em carros alegóricos e rolhas de garrafas. Além disso, como o próprio nome popular sugere, pode ser utilizada para a produção de jangadas, um tipo de barco movido pelo vento, popularmente usado no litoral nordestino.

Para este trabalho, as sementes foram coletadas no final de setembro de 2023 no Vale do Baroré, Londrina - PR. Após a coleta, as sementes foram levadas para a Universidade Estadual de Londrina, onde passaram por um processo de raspagem, para retirada das cerdas que envolvem seu exterior, com o objetivo de elevar o potencial germinativo. Posteriormente, as sementes foram postas em sacos de papéis e armazenadas em geladeiras a 2 °C

3.2 Preparo das formulações

As suspensões com NP-CSs contendo GSH foram fornecidas pela Dra. Amedea Barozzi Seabra, da Universidade Federal do ABC, Santo André/SP. As nanopartículas foram preparadas pelo método de gelificação ionotrópica (OLIVEIRA et al., 2016; SILVEIRA et al., 2019).

Logo antes da aplicação, foi adicionado nitrito de sódio (NaNO₂) à suspensão de nanopartículas, gerando a nitrosação dos grupos tióis do GSH, formando então a

molécula doadora (GSNO). Após a adição de NaNO_2 , a suspensão foi mantida a baixa temperatura e protegida da luminosidade por uma hora (OLIVEIRA et al., 2016; SILVEIRA et al., 2019). Após este período, a suspensão foi diluída em água destilada para atingir a concentração de 2,5 mM para a realização do *priming* das sementes e as seguintes concentrações para a aplicação após o transplântio: 25, 50, 100, 200 μM de NP-GSNO.

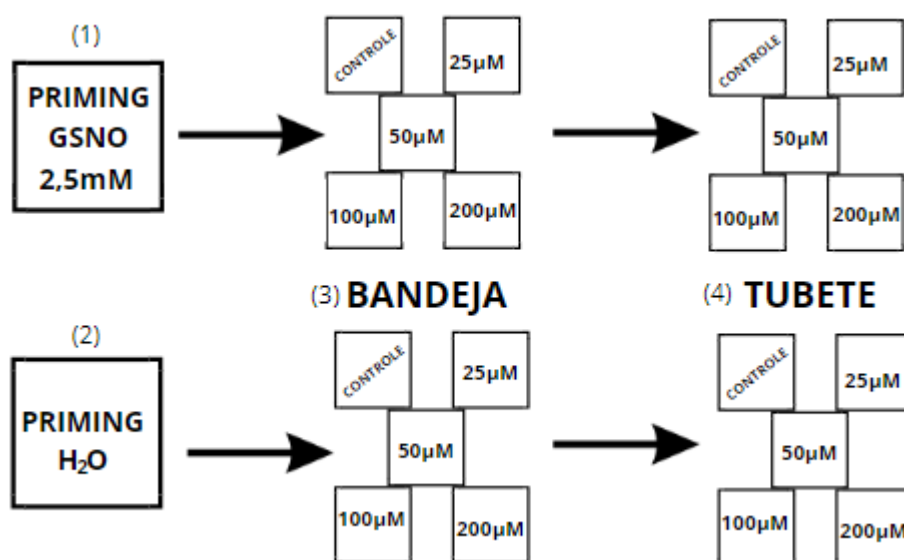
3.3 Tratamentos das plantas com as formulações

Em um primeiro momento, para a realização do *priming*, as sementes foram imersas em 10 mL de água destilada ou suspensão de NP-GSNO por 10 minutos sob agitação contínua. Após esse período, as sementes foram postas para secar à temperatura ambiente por 12 horas. Posteriormente, as sementes foram acondicionadas em vasos contendo areia. Foram dispostas 3000 sementes, divididas em 30 potes, de maneira que, em 50% destes, as sementes passaram pelo processo de *priming* com NP-GSNO na concentração de 2,5 mM, enquanto a outra metade, apenas com água, mantidos sob irrigação diária. Nesta etapa então, o experimento foi dividido entre aqueles que receberam o tratamento de *priming* com NP-GSNO e o controle, que passou pelo processo de *priming* com água. Em seguida, após a germinação e formação das plântulas, 3 recipientes de cada um dos dois tratamentos (*priming* de semente com NP-GSNO e *priming* de semente com água) foram destinados para a aplicação da formulação de NP-GSNO nas concentrações 0, 25, 50, 100 e 200 μM para o tratamento de transplântio. No dia anterior ao seu transplântio, as bandejas foram irrigadas com 35 mL da formulação, com o auxílio de uma seringa. Em seguida, 270 plântulas foram transferidas para tubetes de prolipropileno de 55 mL, contendo substrato comercial Mecplant (Telêmaco Borba, Paraná, Brasil), composto por 80% casca de pinus, 15% casca de arroz carbonizado e 5% de húmus. No dia seguinte a este processo, o substrato recebeu o volume de 15 mL da formulação, também utilizando uma seringa. Os tubetes então foram dispostos no setor de crescimento do viveiro, localizado no Laboratório de Biodiversidade e Restauração de Ecossistemas (LABRE) da Universidade Estadual de Londrina (UEL), contendo sombrite de 60% de retenção de luz.

Os tubetes foram então divididos em 10 tratamentos de forma a avaliar qual a melhor dosagem. As plântulas submetidas ao tratamento após o transplântio

também foram comparadas com a seu respectivo *priming*, podendo melhor concluir se o tratamento prévio da semente fornece benefício ao transplantio.

Figura 1: Esquema representando cada momento do tratamento das sementes e aplicação da formulação no pré e pós transplantio. (1) *Priming* das sementes com NP-GSNO na concentração de 2,5 mM; (2) *Priming* das sementes com água destilada; (3) Concentrações aplicadas nas bandejas um mês após a semeadura, as quais variam entre 0 (controle), 25, 50, 100 e 200 μM e (4) concentrações aplicadas no tubete após a transferência das plântulas para este, tendo como doses, as mesmas concentrações que o processo anterior.



3.4 Análises morfológicas

Semanalmente, durante todo o período de crescimento das plântulas nos tubetes, elas tiveram seu comprimento medido com o auxílio de uma régua. As análises biométricas foram realizadas após dois meses do experimento, em que foram mensurados o diâmetro do caule (DC), comprimento da parte aérea (CPA), massa total seca da parte aérea (MS PA), massa total seca da raiz (MS R), comprimento da raiz (CR) e área foliar específica (AF). O comprimento da parte aérea e da raiz principal (cm) foi medido com o auxílio de régua milimetrada e a área foliar total (cm^2) (AF) com um integrador de área foliar portátil modelo LI-3000CAP (LiCor Inc., Lincoln, NE, EUA). Para a análise da massa seca, as folhas (MSF), parte aérea (MSPA) e raiz (MSR) foram dispostas em sacos de papel e secos em estufa à temperatura de 60 °C até atingirem peso constante. Após a coleta morfológica, calculou-se as razões de acordo com as seguintes fórmulas.

- $RAD = \frac{altura}{diâmetro} (\text{cm mm}^{-1})$
- $RPAR = \frac{parte\ aérea}{raiz} (\text{cm cm}^{-1})$
- $RPAR\ MS = \frac{ms\ parte\ aérea}{ms\ raiz} (\text{g g}^{-1})$

3.5 Análise estatística

A análise estatística foi feita utilizando 20 repetições dispostas em delineamento inteiramente casualizado. Os dados foram verificados para normalidade e homogeneidade por meio dos testes de Shapiro-Wilk e Levene respectivamente. Foi realizado um teste t pelo programa R para verificar o efeito do *priming*. Para avaliar o efeito do tratamento no transplântio, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de um fator e, quando significativa, foram comparadas pelo teste de Fisher ($p < 0,05$), através dos programas PAST 3 e Statistica. Por fim, para as análises com resultado significativo na ANOVA, foi-se realizado um gráfico de regressão pelo programa R e Microsoft Excel.

4. RESULTADOS

Inicialmente foi realizado um teste t, que visou analisar o efeito do tratamento de sementes com o *priming* de NP-GSNO ou água sobre o tratamento no processo de transplântio das plântulas de *H. popayanensis*. Para isso, foram utilizados os dados referentes à aplicação apenas de água no processo de transplântio, de forma a identificar apenas os possíveis efeitos de realizar apenas o pré-tratamento da semente, no desenvolvimento após o transplântio. Todavia, os resultados não foram significativos para nenhum dos parâmetros analisados (Tabela 1), indicando que apenas o tratamento da semente com *priming* de água ou NP-GSNO, no desenvolvimento das plântulas após o processo de transplântio, não diferem entre si.

Tabela 1: Valor de p e média das variáveis comprimento de parte aérea (CPA), comprimento da raiz (CR), diâmetro caule (DC), área foliar (AF), massa seca parte aérea (MS PA), massa seca raiz (MS R), razão parte aérea/raiz total (RPAR), razão altura diâmetro (RAD) e razão parte aérea/raiz da massa seca (RPAR MS) de plântulas cujas sementes foram submetidas ao *priming* com GSNO a 2,5 mM e H₂O (H₂O x GSNO), e posteriormente aplicado apenas água para o tratamento do transplântio, de acordo com o Teste T ($p < 0,05$)

	CPA (cm)	CR (cm)	DC (mm)	AF (cm ²)	MS PA (g)	MS RAIZ (g)	RPAR (cm cm ⁻¹)	RAD (cm mm ⁻¹)	RPAR MS (g g ⁻¹)
MÉDIA ÁGUA	3,06	5,87	0,87	3,8	21,7	8,25	0,538	3,98	0,538
MÉDIA GSNO	3,14	5,48	0,967	3,93	18,1	6,77	0,553	9,97	0,553
VALOR DE P (H₂O x GSNO)	0,711	0,556	0,906	0,885	0,391	0,337	0,746	0,989	0,419

Fonte: o próprio autor

Posteriormente, foi realizada uma ANOVA de um fator, visando identificar os resultados significativos referente ao tratamento das plântulas no transplântio em cada um dos parâmetros morfológicos analisados, levando em consideração o tipo de *priming* realizado nas sementes (*priming* GSNO ou *priming* com água) (Tabela 2). Para as plântulas que receberam tratamento com NP-GSNO no *priming*, houve um efeito significativo para as variáveis CPA, DC e RAD (Tabela 2). Já aquelas que receberam apenas água no *priming* da semente, o efeito significativo ocorreu nas variáveis CR e RPAR após o tratamento de transplântio (Tabela 2).

Tabela 2: Valor de p das variáveis comprimento de parte aérea (CPA), comprimento da raiz (CR), diâmetro caule (DC), área foliar (AF), massa seca parte aérea (MS PA), massa seca raiz (MS R), razão parte aérea/raiz total (RPAR), razão altura diâmetro (RAD) e razão parte aérea/raiz da massa seca (RPAR MS) de plântulas cujas sementes foram submetidas ao priming com GSNO (PGSNO) a 2,5 mM ou H₂O (PH₂O), obtido por meio da ANOVA de uma via ($p < 0,05$).

	CPA (cm)	CR (cm)	DC (mm)	AF (cm ²)	MS PA (g)	MS RAIZ (g)	RPAR (cm cm ⁻¹)	RAD (cm mm ⁻¹)	RPAR MS (g g ⁻¹)
PH₂O	0,14	0,022*	0,757	0,676	0,984	0,183	0,0007*	0,521	0,286
PGSNO	0,035*	0,551	0,032*	0,128	0,108	0,284	0,887	0,021*	0,113

Quanto às dosagens do transplantio propriamente dito, a aplicação de 25 µM de NP-GSNO levou a uma diminuição do CPA em relação às demais dosagens em plantas cujas sementes passaram pelo *priming* com NP-GSNO (Tabela 3). Já a variável DC, sob a aplicação das concentrações 50 e 100 µM de NP-GSNO, apresentou um menor valor médio, quando comparada às demais dosagens em plantas cujas sementes passaram pelo *priming* com NP-GSNO. Por outro lado, estas mesmas dosagens se mostram significativas ao analisar a RAD, onde sob as concentrações 50 e 100 µM de NP-GSNO, houve um aumento em relação ao controle, também em plântulas cujas sementes passaram pelo *priming* com NP-GSNO. Na variável CR, as aplicações de 25, 50 e 100 µM de NP-GSNO levaram a um aumento no comprimento da raiz das plântulas em que as sementes haviam passado anteriormente pelo processo de *priming* com água, em comparação com as demais. Por fim, para a variável RPAR, as concentrações de 25, 50 e 100 µM de NP-GSNO resultaram em uma diminuição da razão quando comparada ao controle, nos indivíduos que passaram pelo tratamento de semente com *priming* de água (Tabela 3).

Tabela 3. Médias de parâmetros relacionados ao crescimento de plântulas de *Heliocarpus popayanensis* Kunth para as seguintes variáveis: comprimento de parte aérea (CPA), comprimento da raiz (CR), diâmetro caule (DC), área foliar (AF), massa seca parte aérea (MS PA), massa seca raiz (MS R), razão parte aérea/raiz total (RPAR), razão altura diâmetro (RAD) e razão parte aérea/raiz da massa seca (RPAR MS) de plântulas cujas sementes foram submetidas ao *priming* com GSNO a 2,5 mM ou H₂O e posteriormente aplicação de GSNO nas concentrações de 0, 25, 50, 100 e 200 µM no transplântio. Letras minúsculas iguais na mesma linha representam médias iguais para o *priming* com água e maiúsculas iguais na mesma linha representam médias iguais para *priming* com NP-GSNO, de acordo com ANOVA de uma via, seguida pelo teste Fisher ($p < 0,05$).

		Concentração GSNO (µM)					
		PRIMING	0	25	50	100	200
CPA (cm)	H ₂ O		a 3,06	a 3,23	a 2,62	a 2,96	a 3,31
	GSNO		A 3,14	B 2,39	A 2,7	A 2,84	A 3,06
	Média		3,1	2,81	2,66	2,9	3,18
CR (cm)	H ₂ O		b 5,87	ab 7,33	ac 8,12	a 8,81	bc 6,72
	GSNO		A 5,49	A 5,55	A 5,81	A 6,02	A 6,95
	Média		5,68	6,44	6,96	7,41	6,83
DC (mm)	H ₂ O		a 0,871	a 0,989	a 1,13	a 0,869	a 1,04
	GSNO		A 0,967	A 0,745	B 0,399	AB 0,657	A 0,985
	Média		0,919	0,867	0,762	0,763	1,01
AF (cm ²)	H ₂ O		a 3,8	a 4,89	a 4,85	a 4,47	a 4,33
	GSNO		A 3,93	A 2,19	A 2,55	A 3,1	A 3,53
	Média		3,86	3,54	3,7	3,78	3,93
MS PA (g)	H ₂ O		a 21,8	a 23,8	a 23,2	a 24	a 22,4
	GSNO		A 18,1	A 11,6	A 13,3	A 15,6	A 16,9
	Média		19,9	17,7	18,2	19,8	19,6
MS RAIZ (g)	H ₂ O		a 8,25	a 9,3	a 11,3	a 8,89	a 10,2
	GSNO		A 6,78	A 5,4	A 5,06	A 7,17	A 7,6

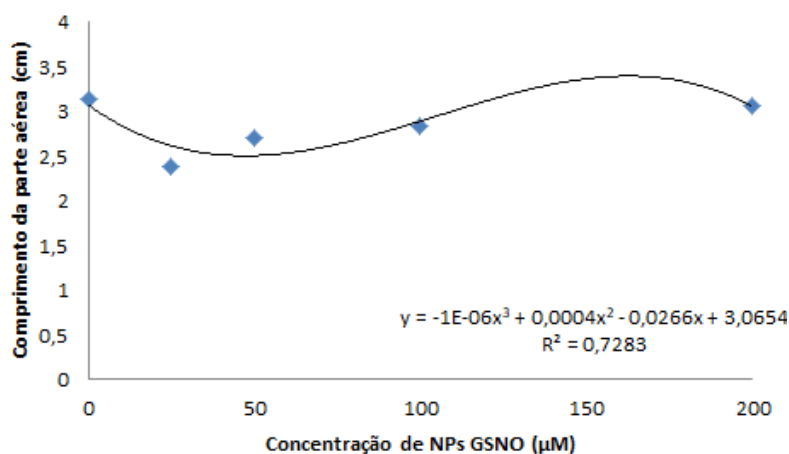
	Média	7,51	7,35	8,18	8,03	8,9
RPAR (cm cm ⁻¹)	H ₂ O	a 0,538	c 0,434	bc 0,364	b 0,336	ac 0,465
	GSNO	A 0,553	A 0,486	A 0,5	A 0,51	A 0,477
	Média	0,545	0,46	0,432	0,423	0,471
RAD (cm mm ⁻¹)	H ₂ O	a 3,98	a 3,4	a 2,99	a 4,3	a 3,6
	GSNO	B 3,97	B 4,09	A 10,4	AB 7,31	B 3,73
	Média	3,97	3,74	6,69	5,80	3,66
RPAR MS (g g ⁻¹)	H ₂ O	a 2,57	a 2,84	a 2,31	a 2,39	a 2,31
	GSNO	A 2,84	A 2,24	A 2,83	A 2,14	A 2,42
	Média	2,70	2,54	2,57	2,26	2,36

Fonte: o próprio autor

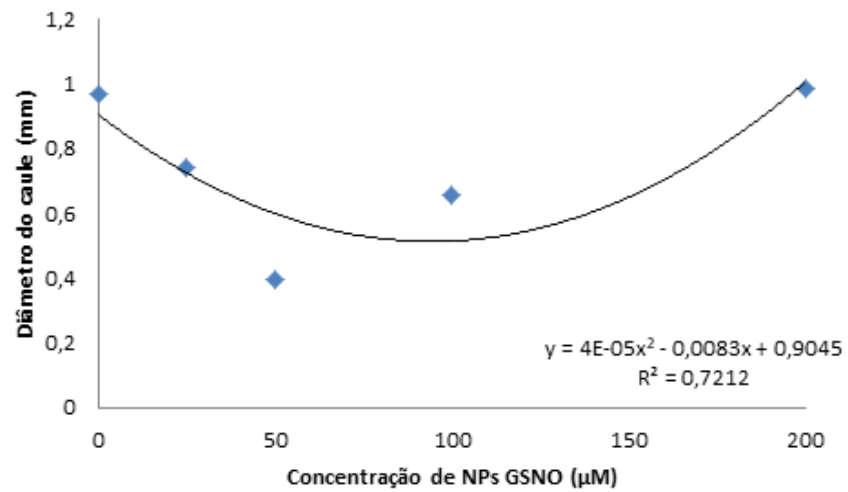
Ademais, com o resultado obtido por meio da ANOVA de uma via, para os resultados $p < 0,05$, foi também realizado uma análise de regressão, cujo gráficos estão representados abaixo (Figura 1).

Figura 1: Modelo de regressão para plântulas de *Heliocarpus popayanensis* Kunth, considerando (A) comprimento da parte aérea (CPA) (cm), (B) diâmetro do caule (DC) (mm) e (C) razão altura/diâmetro (RAD) (cm mm⁻¹), cujas sementes foram submetidas ao processo de *priming* com GSNO 2,5 mM e posteriormente tratadas com diferentes concentrações de NPs GSNO no transplântio.

(A)



(B)



(C)

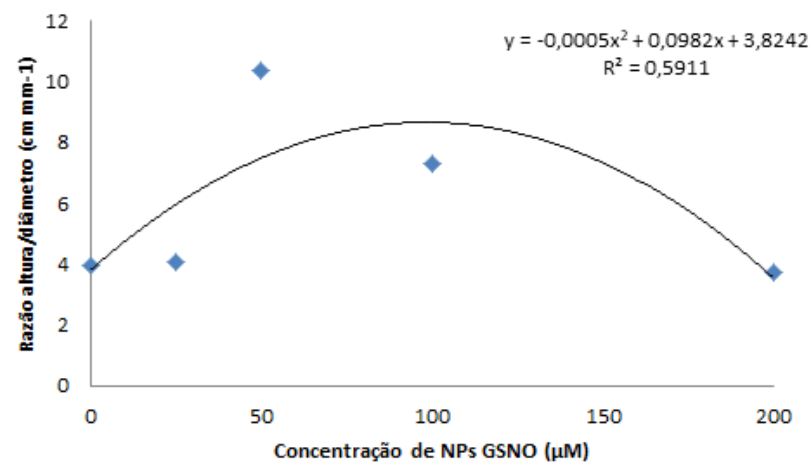
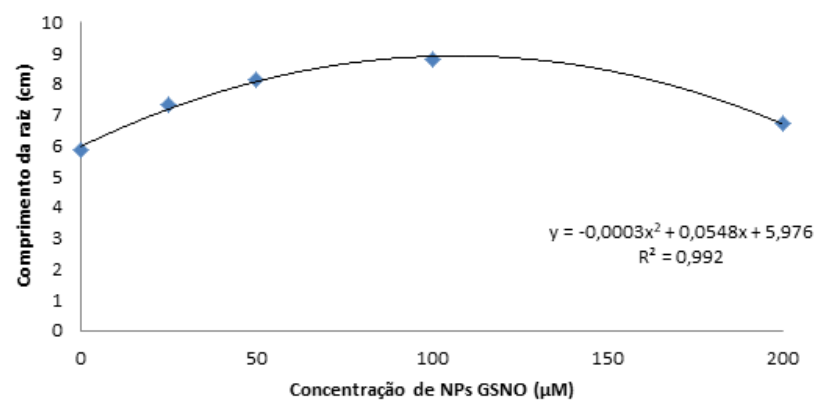
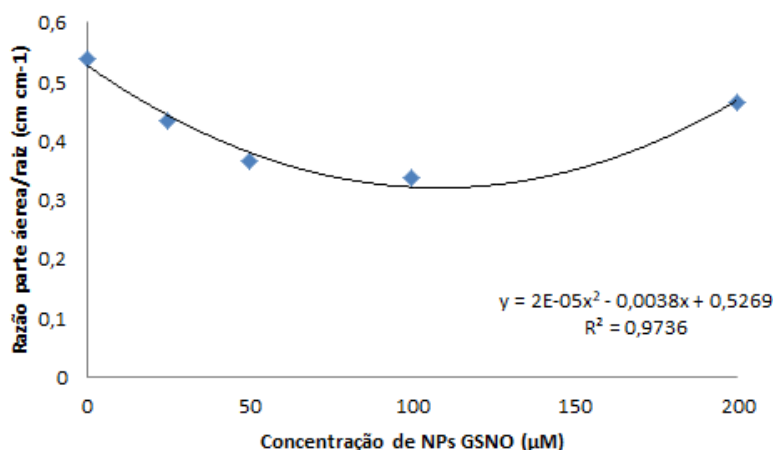


Figura 2: Modelo de regressão para plântulas de *Heliocarpus popayanensis* Kunth, considerando (A) comprimento da raiz (CR) (cm) e (B) razão parte aérea/raiz (RPAR), cujas sementes foram submetidas ao processo de *priming* com água e posteriormente tratadas com diferentes concentrações de NPs GSNO µM no transplântio.

(A)



(B)



Como observado nos gráficos, em relação às variáveis em que o *priming* com NP-GSNO diferiu, o CPA apresentou um efeito cúbico ocorrendo um ponto de inflexão na concentração de 100 µM. Já os parâmetros DC (mm) e RAD (cm mm⁻¹) apresentaram uma relação quadrática negativa e positiva respectivamente. Para a relação negativa, quanto maior a variável independente, e para a relação positiva quanto maior a variável independente, maior também a variável dependente. O ponto de inflexão ocorre mais próximo da concentração de 100 µM, havendo uma força de relação mais fraca na concentração de 50 µM na variável DC, o que indica que as mudanças entre as variáveis não estão fortemente associadas.

Os parâmetros CR (cm) e RAD (cm mm⁻¹), que diferiram para o *priming* com água, a relação quadrática foi positiva e negativa, respectivamente. Neste caso, o ponto de inflexão ocorre na concentração de 100 µM, em ambos os parâmetros, havendo uma força de relação mais fraca na concentração de 50 µM.

No que diz respeito aos resultados obtidos por meio da análise de regressão, pode-se observar que a concentração de 100 µM pode estar relacionada com um bom desenvolvimento da raiz, estando associada à melhor dosagem do crescimento da raiz e razão parte aérea raiz, sendo esta dosagem o ponto de inflexão em ambos os gráficos daqueles indivíduos em que as sementes passaram pelo *priming* com água. Já os gráficos realizados para os parâmetros que obtiveram resultado significativo após o tratamento de *priming* com NP-GSNO, a concentração de 100 µM no ponto de inflexão não são conclusivos no que se trata da dosagem ideal, podendo ter uma relação positiva ou negativa, a depender de cada variável.

5. DISCUSSÃO

O tratamento de *priming* na semente com NP-GSNO não apresentou diferenças estatísticas sobre as plântulas em relação ao *priming* com água, diferentemente do que foi observado em estudo anterior. Maldonado et al. (2023) observaram que as sementes tratadas com nanopartículas liberadoras de NO obtiveram melhor desempenho quando comparadas ao hidrocondicionamento. Entretanto, é importante ressaltar que o estudo mencionado anteriormente objetivou avaliar a germinação das sementes, enquanto o presente trabalho estendeu a análise ao longo de um período mais prolongado, permitindo observar o desenvolvimento mais abrangente dos indivíduos. Essa abordagem pode ter contribuído para uma redução da relevância estatística do *priming* com a formulação NP-GSNO em um contexto de longo prazo.

Os efeitos positivos da aplicação do *priming* de sementes se dão a partir das mudanças metabólicas específicas que ocorrem na semente ao absorver a água. Com isso, processos celulares são ativados, como a síntese de ácidos nucleicos e proteínas, produção de ATP, ativação e reparo do DNA e mecanismos antioxidantes (PAPARELLA et al., 2015). Ainda segundo Paparella et al. (2015), o reparo do DNA é um passo fundamental para o metabolismo pré-germinativo, o qual é ativado quando a semente começa a absorção da água. Esses processos estão associados com a fase inicial de germinação, além de preparar a semente para a protrusão da radícula, o que torna o método eficaz, melhorando a emergência de plântulas, principalmente em condições adversas (DA COSTA et al., 2021). Em um experimento realizado em cultivares de arroz, por exemplo, observou-se que, quando exposto ao estresse hídrico durante a germinação, o hidrocondicionamento diminuiu o teor de malondialdeído, açúcar solúvel e prolina, mas elevou as atividades de fenilalanina amônia-liase, superóxido dismutase, peroxidase e catalase, demonstrando vantagens do *priming* com água para as mudas quando comparadas com aqueles que não passam por esse processo (SUN et al., 2010). Entretanto, conforme Da Silva et al. (2021), os efeitos do NO apresentam uma dualidade, já que em baixas concentrações a molécula atua como sinalizadora, enquanto que níveis mais elevados do composto podem acarretar em estresse nitrosativo, impactando o desenvolvimento do vegetal.

No que se refere aos efeitos da aplicação de NPs contendo GSNO, observados no transplântio, os resultados de cada parâmetro variam de acordo com a dose. A dosagem de 25 μ M resultou em menor média do CPA, comparada às

demais doses aplicadas, o que conferiu um menor desenvolvimento do caule nestas plantas. Já no crescimento da raiz, esta mesma dosagem se mostrou positiva, sendo as dosagens 25, 50 e 100 μM as que levaram ao maior desenvolvimento da raiz. Assim, na dosagem de 25 μM geraram-se plântulas de baixa estatura, porém com um maior desenvolvimento da raiz.

O diâmetro do caule apresentou um menor desenvolvimento nas dosagens de 50 e 100 μM , resultando em plântulas submetidas a essas concentrações com caules mais afilados, o que pode ser negativo, podendo estar associado a um estiolamento, tendo em vista que nestas dosagens, o crescimento da parte aérea teve maior média comparada às demais, de forma a resultar em um caule comprido, porém fino. Esta informação se confirma ao analisarmos a variável RAD, em que teve sua dosagem mais significativa também nas concentrações 50 e 100 μM , reafirmando o que foi apontado anteriormente. Por fim, o parâmetro RPAR obteve um maior resultado com a aplicação das doses 0 e 200 μM , de forma que nessas concentrações houve um crescimento mais acentuado dos indivíduos acima do solo. As demais variáveis não apresentaram resultados significativos nas dosagens aplicadas no transplântio.

Segundo Sanz et al. (2015), o NO promove o crescimento de raízes primárias em baixas concentrações e reprime em doses mais elevadas, reduzindo a divisão celular e o tamanho do meristema. Neste estudo, a aplicação de doador de NO demonstrou um aumento na formação de pelos radiculares e raízes laterais, ampliando o contato da mesma com o solo e absorção de nutrientes, o que proporciona um desenvolvimento em outras estruturas da planta, mas sem necessariamente favorecer o crescimento da raiz principal. Entretanto, a aplicação do doador de NO também pode surtir efeitos negativos no desenvolvimento da raiz principal, como apontado por Sanz et al. (2015). Corroborando com esta informação, no presente estudo, o comprimento da raiz foi maior naqueles indivíduos submetidos ao *priming* com H_2O em relação aos que foram submetidos ao *priming* com NP-GSNO.

Neste estudo, por meio da análise de regressão, constatou-se que a realização do *priming* contendo apenas água, seguido da aplicação de NP-GSNO 100 μM no processo de transplântio, resultou em mudas com um maior desenvolvimento da raiz e menor RPAR. Esse resultado está atrelado a diversos benefícios, como uma maior eficiência nutricional, de forma que a planta pode maximizar a absorção de água e nutrientes, otimizando o uso de recursos

disponíveis (POORTER et al., 2012). Além disso, também pode se tratar de uma estratégia no que diz respeito ao déficit hídrico, em que plantas com maiores sistemas radiculares, aumentam a superfície de absorção de água, tornando-se mais resistente à seca (COMAS et al., 2013). Com relação às plântulas em que as sementes passaram pelo *priming* contendo NP-GSNO e posteriormente receberam a aplicação de 100 µM, houve um estiolamento do caule, ou seja, um caule maior, porém mais fino sob essa concentração, tornando-as mais suscetíveis à quebras, especialmente em condições como vento ou chuva (PIERIK; WIT, 2014) e infestações de pragas e doenças (BALLARÉ et al., 2014).

6. CONCLUSÕES

O *priming* das sementes com NP-GSNO não levou a efeitos no desenvolvimento das mudas pós-transplântio em relação ao *priming* com água. Já o uso da nanoformulação no transplântio afetou o desenvolvimento das mudas, dependendo da dose. Destacou-se a concentração de 100 µM de NP-GSNO por ter promovido o desenvolvimento da raiz de indivíduos provenientes de sementes submetidas ao *priming* com água. Por outro lado, esta mesma concentração de NP-GSNO levou a um estiolamento das mudas provenientes de sementes submetidas ao *priming* com NP-GSNO.

REFERÊNCIAS

AMERAY, A. et al. Silvicultural Practices and Management Strategies Across Boreal, Temperate and Tropical Forests, **Current Forestry Reports**, v. 7, p. 245-266, 2021 DOI: <https://doi.org/10.1007/s40725-021-00151-w>

BALLARÉ, C. L. et al. Light regulation of plant defense. **Annual Review of Plant Biology**, v. 65, p. 335-363, 2014

BERNARDI, C. et al. Challenges and Opportunities for Biodiversity Conservation in the Brazilian Atlantic Forest, **Plant Disease**, v. 102, n. 5, p. 1034, 2018 DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-17-1764-PDN>

BRANCALLION, P. H. S. et al. What makes ecosystem restoration expensive? A systematic cost assessment of projects in Brazil, **Biological Conservation**, v. 240, 2019 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2019.108274>.

BRONIEWSKA, K A; DIERS, A. R.; HOGG, N. S-Nitrosoglutathione, **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 1830, p. 3173-3181, 2013 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.02.004>

DO CARMO, G. C. et al. Nanoencapsulation improves the protective effects of a nitric oxide donor on drought-stressed *Heliocarpus popayanensis* seedlings, **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 225, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112713>.

CAMPOS, E. et al. Encapsulated plant growth regulators and associative microorganisms: Nature-based solutions to mitigate the effects of climate change on plants, **Plant Science**, v. 331, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2023.111688>.

CARVALHO, P. E. R. *In*: CARVALHO, Paulo Ernani Ramalho. **Espécies Arbóreas Brasileiras**, Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2008. v. 3 p. 313-320.

CERQUEIRA, N. F.; YOSHIDA, W. B. Óxido nítrico: revisão. **Acta Cirúrgica Brasileira**, [S. l.], v. 17, p. 417-423, 17 nov. 2002. DOI <https://doi.org/10.1590/S0102-86502002000600011>.

COMAS, L. H. et al. Root traits contributing to plant productivity under drought. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, p. 442. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00442>

COSTA , A. et al. Seed priming improves *Salvia hispanica* L. seed performance under salt stress. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 43, n. 1, p. e52006, 2021. DOI: <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v43i1.52006>

COSTA, I. **Ação da molécula doadora de óxido nítrico S-Nitrosoglutathione (GSNO) na leishmaniose cutânea experimental**. 2009. Dissertação (Mestrado em Imunologia) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009. DOI:10.11606/D.42.2009.tde-27012010-091210.

CHARRIER, G. et al. Interaction of drought and frost in tree ecophysiology: rethinking the timing of risks, **Ann. . Sci.** v. 78, n. 40, 2021
DOI: <https://doi.org/10.1007/s13595-021-01052-5>.

CHIABAI, A. et al. The nexus between climate change, ecosystem services and human health: towards a conceptual framework, **Sci. Total Environ.** v. 635, p. 1191–1204, 2018 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.323>.

DUSSE, L. M. S.; VIEIRA, L. M.; CARVALHO, M. das G.. Revisão sobre óxido nítrico. **Jornal Brasileiro De Patologia E Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 39, n.4, p. 343–350, 2003 <https://doi.org/10.1590/S1676-24442003000400012>

DURNER, J; KLESSING, D. F. Nitric oxide as a signal in plants. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 2, p. 369-374, 1999 DOI: [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(99\)00007-2](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(99)00007-2).

FAHEY, T. J. et al. Forest carbon storage: ecology, management, and policy. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v.8, p. 245-252, 2010 DOI: <https://doi.org/10.1890/080169>

FARGIONE, J. et al. Challenges to the Reforestation Pipeline in the United States, **Frontiers in Forests and Global Change**, v. 4, 2021 DOI: 10.3389/ffgc.2021.629198 DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-17-1764-PDN>

HAGGAR, J. P.; BRISCOE, C.B.; BUTTERFIELD, R. P. Native species: a resource for the diversification of forestry production in the lowland humid tropics, **Forest Ecology and Management**, v. 106, p. 195-203, 1998 DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(97\)00311-3](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(97)00311-3).

IPCC, 2023. AR6 Climate Change 2023: Climate Change and Land — IPCC. URL https://www.ipcc.ch/report/ar6/syr/downloads/report/IPCC_AR6_SYR_FullVolume.pdf (acessado 09/10/2023)

LAWRENCE, D.; VANDECAR, K. Effects of tropical deforestation on climate and agriculture. **Nature Clim Change** v. 5, p. 27–36, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1038/nclimate2430>

LAY. A Revision of the Genus *Heliocarpus* L. *In*: JARDIM BOTÂNICO DE MISSOURI, n. 4, 1949, Missouri, **Anais. JSTOR** vol. 36, p. 507–41, <https://doi.org/10.2307/2394471>.

LOPES-OLIVEIRA, P. J. et al. Effects of nitric oxide-releasing nanoparticles on neotropical tree seedlings submitted to acclimation under full sun in the nursery. **Sci Rep.** v. 9, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-54030-3>

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 2011 v. 3

MALDONADO, L. L. et al. Emergência e desenvolvimento inicial de *Heliocarpus popayanensis* em resposta ao priming de sementes com doador de óxido nítrico nanoencapsulado. *In*: CONGRESSO DE BIOLOGIA DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE LONDRINA, 5., 2023, Londrina, **Anais**.

MUKHERJEE, S.; MISHRA, A.; TRENBERTH, K.E. Climate Change and Drought: a Perspective on Drought Indices. **Curr Clim Change Rep** v. 4, p. 145–163, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40641-018-0098-x>

NASCIMENTO, W. M.; PEREIRA, R. B. **Produção de mudas de hortaliças**. Embrapa. Brasília, 2016

NOLAN, R. H. et al. Safeguarding reforestation efforts against changes in climate and disturbance regimes. **Forest Ecology and Management**, v. 424, p. 458-467, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2018.05.025>

NUNES, S. et al. Challenges and opportunities for large-scale reforestation in the Eastern Amazon using native species, **Forest Ecology and Management**, v. 466, 2020 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2020.118120>.

OLIVEIRA, H. C. et al. Nitric oxide-releasing chitosan nanoparticles alleviate the effects of salt stress in maize plants. **Nitric Oxide, [S. l.]**, v. 61, p. 10-19, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.niox.2016.09.010>

OLIVEIRA, A.T. Estudos ecológicos da vegetação como subsídios para programa de revegetação com espécies nativas: uma proposta metodológica. **Cerne**, v.1, n.1, p.64-72, 1994.

PAPARELLA, S. et al. Seed priming: state of the art and new perspectives. **Plant Cell Rep**, v. 34, p. 1281–1293, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00299-015-1784-y>

PENDRILL, F. et al., Disentangling the numbers behind agriculture-driven tropical deforestation. **Science** v. 377 n.6611, 2022. DOI: [10.1126/science.abm9267](https://doi.org/10.1126/science.abm9267)

PIERIK, R; WIT, M. Shade avoidance: phytochrome signalling and other aboveground neighbour detection cues. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, p. 2815-2824, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1093/jxb/ert389>

POORTER, H. et al. Biomass allocation to leaves, stems and roots: meta-analyses of interspecific variation and environmental control. **New Phytologist**, v. 193, p. 30-50, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03952.x>

RIETVELD, W. J. Transplanting Stress in Bareroot Conifer Seedlings: Its Development and Progression to Establishment, **Northern Journal of Applied Forestry**, v. 6, n. 3, p. 99–107, 1989. DOI: <https://doi.org/10.1093/njaf/6.3.99>

ROSA, I. M. D. et al. The Environmental Legacy of Modern Tropical Deforestation. **Current Biology**, v. 26, p. 2161–2166, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2016.06.013>

SALGADO, I. et al. Nitric oxide signaling and homeostasis in plants: a focus on nitrate reductase and S-nitrosoglutathione reductase in stress-related responses. **Brazilian Journal of Botany**, v. 36, p. 89-98, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40415-013-0013-6>

SANTISREE, P.; BHATNAGAR, P.; SHARMA, K. K. NO to drought multifunctional role of nitric oxide in plant drought: do we have all the answers?. **Plant Science**, v. 239, p. 44-55, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.07.012>

SANZ, L. et al. Nitric oxide (NO) and phytohormones crosstalk during early plant development, **Journal of Experimental Botany**, v. 66, p. 2857–2868, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1093/jxb/erv213>

SCARANO, F.R.; CEOTTO, P. Brazilian Atlantic forest: impact, vulnerability, and adaptation to climate change. **Biodivers Conserv** v. 24, p. 2319–2331, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10531-015-0972-y>

SEABRA, A. B. et al. Nitric oxide-releasing nanomaterials: from basic research to potential biotechnological applications in agriculture. **New Phytologist**, v. 234, n. 4, p. 1119-1125, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1111/nph.18073>

SEABRA, A. B.; DURAN, N. Nitric oxide-releasing vehicles for biomedical applications. **J Mat Chem**, [S. l.], v. 20, n. 9, p. 1624–1637, 2010. <https://doi.org/10.1039/B912493B>

SEABRA, A. B.; RAI, M.; DURÁN, N. Nano carriers for nitric oxide delivery and its potential applications in plant physiological process: A mini review. **J Plant Biochem Biotechnol**, [S.l.], v. 23, n. 1, p. 1–10, 2013. <https://doi.org/10.1007/s13562-013-0204-z>

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**, [S. l.], v. 3, p. 692-718, 13 dez. 2016. DOI: <https://doi.org/10.3934/molsci.2016.4.692>

SILVEIRA, N. M. et al. Encapsulation of S-nitrosoglutathione into chitosan nanoparticles improves drought tolerance of sugarcane plants. **Nitric Oxide Biology and Chemistry**, v. 84, p. 38-44, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.niox.2019.01.004>

SILVA, R. **Fontes inorgânicas de nitrogênio e óxido nítrico alteram a morfologia das raízes de espécies arbóreas neotropicais de diferentes grupos sucessionais**. 2020. 69 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2020

SIMONTACCHI, M. et al. . Plant survival in a changing environment: the role of nitric oxide in plant responses to abiotic stress. **Frontiers in plant science**, v. 6, p. 977, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00977>

SINGH, A. et al. Role of chitosan and chitosan-based nanoparticles in antioxidant regulation of plants, **Nanomaterial-Plant Interactions** p. 321-341, 2022
DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85391-0.00015-0>

STURION, J. A.; ANTUNES, B. M. A. **Produção de mudas de espécies florestais**. In: Galvão APM (Ed.), Reflorestamento de propriedades rurais para fins produtivos e ambientais, Colombo: Embrapa, 2000. p. 125-150

SUMMERS, D. M. et al. The costs of reforestation: A spatial model of the costs of establishing environmental and carbon plantings, **Land Use Policy**, v. 44, p. 110-121, 2015, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.landusepol.2014.12.002>

SUN, Y. et al. Effects of Seed Priming on Germination and Seedling Growth Under Water Stress in Rice **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 36 n. 11, p. 1931-1940, 2010. DOI: doi: [https://doi.org/10.1016/S1875-2780\(09\)60085-7](https://doi.org/10.1016/S1875-2780(09)60085-7)

TASSER, E. et al. Land-use changes and natural reforestation in the Eastern Central Alps, **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 118, p. 115-129, 2007
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.agee.2006.05.004>

TURCHETTO, F et al. Can transplantation of forest seedlings be a strategy to enrich seedling production in plant nurseries?, **Forest Ecology and Management**, v. 375, p. 96-104, 2016 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2016.05.029>

WENDEHENNE, D. DURNER, J. KLESSING, D. F. et al. Nitric oxide: a new player in plant signalling and defence responses, **Current Opinion in Plant Biology**, v. 7, p. 449-455, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2004.04.002>

WILSON, I. D; NEILL, S. J; HANCOCK, J. T. Nitric oxide synthesis and signalling in plants, **Plant, Cell & Environment**, v. 31, p. 622-631, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2007.01761.x>

ZHOU, S. et al. The costs and benefits of reforestation in Liping County, Guizhou Province, China, **Journal of Environmental Management**, v. 85, p. 722-735, 2007 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2006.08.014>