



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

VINICIUS IURA ABREU DA SILVA

**NANOCÁPSULAS DE ÓXIDO NÍTRICO NA ATENUAÇÃO DO
ESTRESSE HÍDRICO E TÉRMICO DURANTE O PROCESSO
GERMINATIVO DE SEMENTES DE SOJA**

Londrina
2023

VINICIUS IURA ABREU DA SILVA

**NANOCÁPSULAS DE ÓXIDO NÍTRICO NA ATENUAÇÃO DO
ESTRESSE HÍDRICO E TÉRMICO DURANTE O PROCESSO
GERMINATIVO DE SEMENTES DE SOJA**

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

Orientador: Prof^a. Dr^a. Inês Cristina Batista Fonseca

Coorientador: Prof. Dr. Claudemir Zucareli

Londrina
2023

Silva, Vinicius Iura Abreu da Silva.

NANOCÁPSULAS DE ÓXIDO NÍTRICO NA ATENUAÇÃO DO ESTRESSE HÍDRICO E TÉRMICO DURANTE O PROCESSO GERMINATIVO DE SEMENTES DE SOJA / Vinicius Iura Abreu da Silva Silva. - Londrina, 2023. 58 f.

Orientador: Inês Cristina Batista Fonseca Fonseca.

Coorientador: Claudemir Zucareli Zucareli.

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

1. Soja - Tese. 2. Sementes - Tese. 3. Nanotecnologia - Tese. 4. Óxido nítrico - Tese. I. Fonseca, Inês Cristina Batista Fonseca. II. Zucareli, Claudemir Zucareli. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

CDU 63

VINICIUS IURA ABREU DA SILVA

**NANOCÁPSULAS DE ÓXIDO NÍTRICO NA ATENUAÇÃO DO
ESTRESSE HÍDRICO E TÉRMICO DURANTE O PROCESSO
GERMINATIVO DE SEMENTES DE SOJA**

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

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Inês Cristina de
Batista Fonseca
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Coorientador: Prof. Dr. Claudemir Zucareli
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. André Sampaio Ferreira
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof^a. Dr^a. Gisely Paula Gomes
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 26 de maio de 2023.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus por ter me dado forças e saúde para que fosse possível chegar até aqui e completar mais uma etapa de extrema importância para o meu crescimento pessoal e profissional.

Agradeço também à minha família, meus pais Acildo Antônio e Lucia Abreu, meu padrasto Roberto Texeira, meus irmãos Roberto Texeira Filho e Emanuelli Gonçalves, meus avós Iria Maria, Ângelo Lopes, Malguerita Diana, Vera Rocco e José Texeira. Agradeço à Luisa Fischer, minha madrinha. Agradeço também meus tios, tias e primos que estiveram comigo durante todo esse período. Sou grato por cada um da minha família.

À Universidade Estadual de Londrina, ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos concedida, a qual me permitiu realizar esta pesquisa e obter o título de Mestre em Agronomia. À Fundação ABC e à GDM pela disponibilidade do material utilizado nesta pesquisa.

Aos Professores Claudemir Zucareli e Inês Cristina de Batista Fonseca pela orientação ao longo destes dois anos, pela paciência, pelo cuidado e por terem marcado minha vida eternamente e torço que um dia eu possa ser um profissional excepcional assim como cada um de vocês. Agradeço também aos Professores Halley Caixeta de Oliveira e André Sampaio Ferreira por toda a ajuda e conhecimento recebidos através de vocês.

Aos membros da banca examinadora, André Sampaio Ferreira e Gisely Paula Gomes pela disponibilidade e contribuições a este trabalho. Aos demais Professores e colaboradores da Universidade Estadual de Londrina por todo o conhecimento adquirido.

Enfim, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para minha formação pessoal e profissional, bem como para a realização deste trabalho.

Gratidão!

“Tudo posso naquele que me fortalece.”
Filipenses 4:13

SILVA, Vinicius Iura Abreu da. **Nanocápsulas de óxido nítrico na atenuação do estresse hídrico e térmico durante o processo germinativo de sementes de soja.** 2023. 58f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 2023.

RESUMO

Os estresses hídrico e térmico são os fatores abióticos que mais interferem negativamente no estabelecimento, no crescimento e no desenvolvimento das culturas. Dentre os compostos que podem auxiliar e atenuar os efeitos da escassez e saturação hídrica, está o óxido nítrico (NO). Para garantir uma liberação controlada e maior eficiência, é possível utilizar a prática de nanoencapsulamento com o auxílio de polímeros biodegradáveis, como a quitosana. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do NO nanoencapsulado, na atenuação dos efeitos causados pelo estresse hídrico e térmico em sementes de soja. No experimento de déficit hídrico foram utilizadas duas situações distintas, sendo elas a presença e a ausência de estresse, atreladas a 5 doses (0, 300, 600, 900, 1200 e 1500 $\mu\text{Mol.L}^{-1}$) de NO nanoencapsulado. Foi simulado o déficit hídrico utilizando o polietilenoglicol (PEG-6000), e atingiu um potencial osmótico de $-0,2$ MPa. Para simular o efeito do estresse térmico realizou-se um experimento com 5 NO nanoencapsulado, contendo as mesmas doses do experimento anterior, sob 3 diferentes temperaturas (20, 25 e 30 °C). As variáveis analisadas em ambos os experimentos foram teste de germinação, primeira contagem de germinação (PCG), comprimento de parte aérea (CPA) e radícula (CPR) e massa seca de parte aérea (MSPA) e de raiz (MSR). As médias foram comparadas pelo Teste de Scott-Knott com o auxílio do programa Sisvar. No primeiro experimento concluiu-se que na ausência de déficit hídrico os tratamentos não demonstraram efeito sobre os parâmetros de PCG, PN, PA, CPA, CR e MR. Porém a hidratação combinada ou não com NO foi inferior para o acúmulo de MSPA. Já na presença de déficit hídrico as doses de 600, 900 e 1500 $\mu\text{Mol.L}^{-1}$ foram superiores aos demais tratamentos, incluindo os tratamentos com e sem hidratação sem NO. Já no segundo experimento concluiu-se que não foi possível inferir sobre o efeito possível do NO em temperatura subótima (20 °C) porém houve aumento dos parâmetros de massa seca. Sob temperatura ótima (25 °C) o tratamento de água com e sem NO foi inferior à testemunha para o parâmetro massa seca de parte aérea. Na condição de temperatura supraótima (30 °C) não houve efeito do NO na germinação e no desenvolvimento inicial.

Palavras-chave: água; estresses abióticos; nanotecnologia; S-nitrosoglutaciona; temperatura.

SILVA, Vinicius Iura Abreu da. **Nitric oxide nanocapsules in the attenuation of water and thermal stress during the germination process of soybean seeds.** 2023. 58p. Dissertation (Master's Degree in Agronomy) – State University of Londrina, Londrina. 2023.

ABSTRACT

Water and heat stress are the abiotic factors that most negatively interfere with the establishment, growth and development of crops. Among the compounds that can help and attenuate the effects of water scarcity and saturation, there is nitric oxide (NO). To ensure a controlled release and greater efficiency, it is possible to use the practice of nanoencapsulation with the aid of biodegradable polymers, such as chitosan. The aim of this work was to evaluate the effect of nanoencapsulated NO in attenuating the effects caused by water and heat stress in soybean seeds. In the water deficit experiment, two different situations were used, namely the presence and absence of stress, linked to 5 doses (0, 300, 600, 900, 1200 and 1500 $\mu\text{Mol.L}^{-1}$) of nanoencapsulated NO. Water deficit was simulated using polyethylene glycol (PEG-6000), and reached an osmotic potential of -0.2 MPa. To simulate the effect of thermal stress, an experiment was carried out with 5 nanoencapsulated NO, containing the same doses as in the previous experiment, under 3 different temperatures (20, 25 and 30 °C). The variables analyzed in both experiments were germination test, first germination count (PCG), length of shoot (CPA) and radicle (CPR) and dry mass of shoot (MSPA) and root (MSR). Means were compared using the Scott-Knott test with the aid of the Sisvar program. In the first experiment, it was concluded that in the absence of water deficit, the treatments showed no effect on the parameters of PCG, PN, PA, CPA, CR and MR. However, hydration combined or not with NO was lower for the accumulation of MSPA. In the presence of water deficit, the doses of 600, 900 and 1500 $\mu\text{Mol.L}^{-1}$ were superior to the other treatments, including treatments with and without hydration without NO. In the second experiment, it was concluded that it was not possible to infer about the possible effect of NO at suboptimal temperature (20 °C) but there was an increase in dry mass parameters. Under optimal temperature (25 °C) the water treatment with and without NO was lower than the control for the dry mass parameter of shoots. In the supraoptimal temperature condition (30 °C) there was no effect of NO on germination and initial development.

Key-words: abiotic stresses; nanotechnology; temperature; S-nitrosoglutathione; water.

LISTA DE TABELAS

ARTIGO A

Tabela 1 – Primeira contagem de germinação (PCG), plântulas normais (PN), plântulas anormais (PA) em condição normal (ausência de déficit hídrico)34

Tabela 2 – Comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), massa seca de parte aérea (MSPA) e massa seca de raiz (MSR) em condição normal (ausência de déficit hídrico)35

Tabela 3 – Primeira contagem de germinação (PCG), plântulas normais (PN), plântulas anormais (PA) em condição de déficit hídrico (-0,2 MPa)36

Tabela 4 – Comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), massa seca de parte aérea (MSPA) e massa seca de raiz (MSR) em condição de déficit hídrico (-0,2 MPa)37

ARTIGO B

Tabela 1 – Primeira contagem de germinação (PCG), plântulas normais (PN), Plântulas anormais (PA) em condição de temperatura subótima (20°C)43

Tabela 2 – Comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), massa seca de parte aérea (MSPA) e massa seca de raiz (MSR) em condição de temperatura subótima (20 °C)44

Tabela 3 – Primeira contagem de germinação (PCG), plântulas normais (PN), Plântulas anormais (PA) em condição de temperatura ótima (25 °C)44

Tabela 4 – Comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), massa seca de parte aérea (MSPA) e massa seca de raiz (MSR) em condição de temperatura ótima (25 °C)45

Tabela 5 – Primeira contagem de germinação (PCG), plântulas normais (PN), Plântulas anormais (PA) em condição de temperatura supraótima (30 °C)45

Tabela 6 – Comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), massa seca de parte aérea (MSPA) e massa seca de raiz (MSR) em condição de temperatura supraótima (30 °C)46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
UEL	Universidade Estadual de Londrina
NO	Óxido nítrico
PEG-6000	Polietilenoglicol
GSNO	S-nitroso-glutathione
SNP	Nitroprussiato de sódio
CHNp	Nanopartículas de quitosana
EROs	Espécies reativas de oxigênio
ERNs	Espécies reativas de nitrogênio
CPA	Comprimento de parte aérea
CR	Comprimento de radícula
MSR	Massa seca de raiz
MSPA	Massa seca de parte aérea
NS	Não significativo
PCG	Primeira contagem de germinação
PMS	Peso de mil sementes
PN	Plântulas normais
PA	Plântulas anormais

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 ASPECTOS GERAIS DA CULTURA DA SOJA.....	16
2.1.1 Origem e Importância Econômica.....	16
2.1.2 Ecofisiologia da Cultura	18
2.1.3 Estádios Fenológicos.....	18
2.2 IMPLANTAÇÃO DA CULTURA.....	19
2.2.1 Sementes.....	19
2.3 ESTRESSE HÍDRICO	20
2.3.1 Déficit Hídrico	20
2.3.2 Excesso Hídrico	21
2.4 ESTRESSE TÉRMICO	22
2.4 ÓXIDO NÍTRICO	23
2.4.1 Ação Antiestresse	25
2.5 NANOTECNOLOGIA.....	27
2.5.1 Nanopartículas.....	27
2.5.2 Óxido Nítrico Nanoencapsulado	28
ARTIGO A: ÓXIDO NÍTRICO NANOENCAPSULADO NA MITIGAÇÃO DO EFEITO DO DÉFICIT HÍDRICO EM SEMENTES DE SOJA	30
ARTIGO B: ÓXIDO NÍTRICO NANOENCAPSULADO NA MITIGAÇÃO DO EFEITO DO ESTRESSE TÉRMICO EM SEMENTES DE SOJA.....	39
REFERÊNCIAS bibliográficas	48

1 INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* L. Merrill) é uma das culturas de maior importância social e econômica no Brasil. Seu cultivo é possível em grande parte do território nacional devido ao desenvolvimento de cultivares adaptadas às regiões produtoras. O grão, produto da soja, pode ser destinado ao consumo humano, animal ou servir como matéria prima para diversos processos industriais.

Para obter o sucesso de uma lavoura de soja, faz-se necessária a utilização de sementes de alta qualidade, com alto vigor, boa germinação e tolerância à diferentes estresses abióticos que podem inviabilizar a implantação, o crescimento e o desenvolvimento da cultura.

Dentre os fatores ambientais que podem influenciar negativamente o estabelecimento inicial da cultura, destaca-se a água e a temperatura. Em diversas regiões produtoras do país é comum a ocorrência de períodos de baixa precipitação atrelada a altas temperaturas. A baixa disponibilidade hídrica tem efeito direto na germinação e na emergência de plântulas, resultando em um menor estande de plantas. Por outro lado, regiões com solos compactados, regimes pluviométricos excessivos e irrigações inadequadas, são impactadas pelo encharcamento, situação em que ocorre a saturação hídrica. Tanto a falta como o excesso de água, proporcionam efeitos negativos às plantas, principalmente nas fases iniciais.

Dentre as alternativas que visam diminuir o efeito dos estresses abióticos em plantas, está a utilização do óxido nítrico. O óxido nítrico (NO) é uma molécula capaz de ativar as enzimas antioxidantes que auxiliam no aumento da tolerância contra estresses bióticos e abióticos. Devido às suas propriedades benéficas, o NO vem sendo amplamente pesquisado com o propósito de garantir uma melhor implantação, crescimento e desenvolvimento às culturas. Porém, os doadores de NO utilizados são instáveis e suscetíveis à decomposição fotoquímica, diminuindo a eficiência de liberação do NO, reduzindo assim os efeitos benéficos em plantas.

Para garantir uma liberação mais precisa e controlada de diversos compostos, como o próprio NO, pode-se utilizar de nanocápsulas que irão auxiliar no processo e garantir maior eficiência do ingrediente ativo. Dentre as nanocápsulas mais utilizadas, está a composta por quitosana, um polímero biodegradável e não poluente, que possui efeito estimulante para as plantas.

Assim, torna-se relevante a hipótese de que o uso de liberadores de

NO, como a S-nitrosoglutathione, com o auxílio de nanocápsulas, durante o preparo das sementes, pode ser uma estratégia eficiente para induzir a tolerância durante o desenvolvimento inicial da soja cultivada sob condições de estresse, como a escassez hídrica, e o estresse térmico causado por altas e baixas temperaturas.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do NO nanoencapsulado, na atenuação dos efeitos causados pelo estresse hídrico e térmico em sementes de soja.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ASPECTOS GERAIS DA CULTURA DA SOJA

2.1.1 Origem e Importância Econômica

A soja (*Glycine max* L. Merrill) é uma planta originária do continente asiático, de uma região que corresponde à China Antiga e estima-se que seu cultivo no Oriente já ultrapassa cinco mil anos. Há mais de três mil anos os chineses utilizam a soja, e durante séculos, seu grão que foi considerado sagrado devido ao seu uso alimentício por parte da civilização chinesa (BORÉM, 1999).

É uma planta pertencente à família Fabaceae, anual, autógama, ereta e herbácea, e que tem algumas de suas características morfológicas influenciadas pelo ambiente, como o ciclo, variando de 75 dias para as cultivares mais precoces, até 200 dias para as cultivares tardias. A altura oscila entre 0,3 e 2 m, e interfere na quantidade de ramificações, entre outros aspectos (MÜLLER, 1981).

A soja é considerada a oleaginosa de maior importância para a humanidade, sendo amplamente cultivada com estimativa de 6% da terra arável do mundo, e desde os anos 1970, a área em produção de soja tem o maior aumento percentual em comparação com qualquer outra grande cultura (HARTMAN et al., 2011).

A soja é pode ter diversas utilizações, dentre elas a extração do óleo proveniente do grão, a destinação ao consumo animal devido ao seu elevado teor proteico, e pode ser incrementada na dieta humana nas formas fresca, seca e fermentada (CASTRO et al., 2008).

Em 1950, no estado do Rio Grande do Sul, se iniciou o cultivo da soja no Brasil, na sua maioria em áreas ocupadas por imigrantes italianos e alemães. As políticas públicas nacionais de desenvolvimento agrícola foram responsáveis por impulsionar e disseminar a cultura, principalmente nas regiões Sul e Sudeste do país (SIEBEN; MACHADO, 2006).

O crescimento exponencial da demanda por alimentos possibilitou que o Brasil entrasse na competição pela exportação de commodities, com a soja (FOYER et al., 2016). Com isso, a agricultura nacional passou a atuar de forma expressiva no abastecimento global, evoluindo com a utilização de novas tecnologias

e com a expansão das áreas agrícolas, levando o país a se colocar no nível de potência. Como resultado dessa evolução, a cadeia do agronegócio passou a ser a principal atividade econômica do Brasil, com a soja sendo o principal produto cultivado, que tornou o país líder nas exportações mundiais e um dos maiores produtores deste grão (BATTISTI et al., 2017).

Sendo assim, o Brasil possui importante participação na oferta e demanda de produtos oriundos do complexo agroindustrial da soja dentro do contexto mundial. Isso se dá pelo fato de que a cadeia produtiva nacional se encontra bem estruturada e possui papel fundamental no desenvolvimento econômico e social de diversas regiões brasileiras (HIRAKURI; LAZAROTTO, 2014).

De acordo com dados da CONAB (2021), estima-se que a produção de soja para a safra 2020/21 seja de 135,86 milhões de toneladas, um aumento de 8,8% em relação à safra anterior, que foi de 124,85 milhões de toneladas. Este aumento de produção será motivado por um aumento de área de aproximadamente 4,2% e produtividade de 4,4%. O aumento de área foi incentivado principalmente pela alta dos preços internacionais, e pelo dólar elevado do ano de 2020.

No cenário da sojicultura brasileira existem cultivares adaptadas às principais regiões produtoras do país e, por meio dos programas de melhoramento genético, continuam as buscas por materiais com maior potencial produtivo e tolerância a fatores que impactam negativamente na produção (ZANON et al., 2018). Seca, excesso de chuvas, baixa luminosidade e temperaturas muito altas ou baixas são fatores abióticos capazes de reduzir significativamente a produtividade, além de restringir locais, solos e épocas em que a soja pode ser cultivada (FARIAS et al., 2007).

Mesmo com a oferta de produto no mercado, a taxa de utilização de sementes certificadas é próxima a 65% para a cultura da soja (PESKE, 2012). Esse baixo percentual de utilização impacta na manutenção do potencial competitivo da agricultura brasileira. É importante ressaltar, que o investimento na aquisição de sementes tem sua compensação monetária, pela garantia do uso de um insumo com segurança fitossanitária, qualidade fisiológica, pureza física e capacidade de atingir o potencial produtivo preconizado pela genética do material escolhido (RODRIGUES; CAMPANTE; BARRETO, 2017).

2.1.2 Ecofisiologia da Cultura

A soja possui melhor adaptabilidade em regiões onde as temperaturas variam de 20 a 30 °C, sendo que o valor ideal para seu estabelecimento, crescimento, desenvolvimento e produção de grãos é próximo de 30 °C. Temperaturas inferiores a 10 °C e superiores a 40 °C são impróprias para o cultivo da soja (FARIAS et al., 2007). Para a produção de sementes de alta qualidade, recomenda-se o cultivo em regiões onde a temperatura é inferior a 22 °C, principalmente durante a fase de maturação, pois temperaturas superiores apresentam alto risco para o desenvolvimento de doenças (COSTA et al., 1994).

Considerando que aproximadamente 90% da planta de soja é constituída por água e esse composto atua em diversos processos fisiológicos e bioquímicos, sua disponibilidade é de extrema importância, principalmente nos períodos entre a germinação-emergência e floração-enchimento de grãos (ZANON et al., 2018). Ao longo do ciclo de desenvolvimento da cultura, uma lavoura com elevado potencial de produtividade necessita de 800 mm de água para obter resultados satisfatórios (ZANON et al., 2015).

2.1.3 Estádios Fenológicos

A distinção das etapas de desenvolvimento da soja é imprescindível para que haja uma descrição clara das etapas percorridas pela cultura, durante o seu ciclo na lavoura (NEUMAIER et al., 2000). A descrição dos estádios fenológicos proposta por Fehr & Caviness (1977) é a escala mais utilizada devido a fácil compreensão e detalhamento, e divide o desenvolvimento da soja em período vegetativo e reprodutivo, como demonstra a Tabela 1, de forma resumida.

Tabela 1 – Escala fenológica da soja proposta por Fehr & Caviness, 1977.

Estádios vegetativos	Denominação
VE	Emergência
VC	Cotilédone
V1	Primeiro nó
V2	Segundo nó
V3	Terceiro nó
V4	Quarto nó
V5	Quinto nó
V6	Sexto nó

Vn	Enésimo nó
Estádios reprodutivos	Denominação
R1	Início do florescimento
R2	Florescimento pleno
R3	Início da formação da vagem
R4	Vagem completamente desenvolvida
R5	Início do enchimento do grão
R6	Grão verde ou vagem cheia
R7	Início da maturação
R8	Maturação plena

Fonte: Fehr & Caviness, 1977.

A escala fenológica proposta por Fehr & Caviness (1977) originalmente, não apresenta subdivisões dos estádios de desenvolvimento. Ritchie et al. (1977) propôs, para melhor detalhamento e compreensão, cinco sub-estádios do estágio R5, a fase em que ocorre o enchimento de grãos, como mostra a Tabela 2.

Tabela 2 – Sub-estádios da fase de enchimento de grãos (R5), proposta por Ritchie et al. (1977).

Sub-estádios	Denominação
R5.1	Granação até 10%
R5.2	Granação de 11% a 25%
R5.3	Granação de 26% a 50%
R5.4	Granação de 51% a 75%
R5.5	Granação de 76% a 100%

Fonte: Ritchie et al., 1977.

2.2 IMPLANTAÇÃO DA CULTURA

2.2.1 Sementes

A germinação das sementes representa uma importante fase no ciclo de vida da planta, a qual desempenha um papel fundamental no estabelecimento de plantas e adaptação ambiental (DONOHUE et al., 2011).

A semente de soja é praticamente desprovida de endosperma e apresenta tegumento que envolve o embrião. O hilo se encontra no tegumento da semente e geralmente possui formato oval, porém pode assumir formato linear. Em uma das extremidades está localizada a rafe, fenda que se estende até o ponto de fixação dos tegumentos ao óvulo e na outra extremidade está a micrópila, formada

pelos integumentos do saco embrionário. Logo abaixo da micrópila, está localizada a ponta do eixo hipocótilo-radícula, que é possível de visualizar através do tegumento. O embrião é composto por dois cotilédones, um eixo hipocótilo-radícula e uma plúmula, sendo esta última formada por duas folhas primárias bem desenvolvidas (VERNETTI; GASTAL, 1979).

As colorações do tegumento e do hilo são variáveis segundo a constituição genética da cultivar. O formato das sementes apresenta influência nas características físicas da vagem. O peso de mil sementes, na maioria das cultivares, varia de 120 a 180 gramas (VERNETTI, 1983).

O preço das sementes de soja segue aumentando com o passar dos anos, e isso faz com que os produtores de sementes se tornem interessados em identificar e adotar práticas agronômicas que são capazes de incrementar atributos de qualidade para tal produto, como a composição, percentual de germinação e vigor (KRUEGER et al., 2013). Sementes consideradas mais vigorosas apresentam maior resistência às condições de menor disponibilidade hídrica (TEKRONY; EGLI, 1991).

2.3 ESTRESSE HÍDRICO

2.3.1 Déficit Hídrico

A água é essencial para que ocorram as reações enzimáticas e a solubilização e transporte de metabólitos, além de atuar como reagente na hidrólise de carboidratos, proteínas e lipídios dos tecidos de reserva das sementes (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000).

O déficit hídrico é um dos estresses abióticos mais comumente enfrentado pelas plantas e influencia no processo germinativo de sementes. Além de afetar a germinação, a baixa disponibilidade de água prejudica todas as fases subsequentes do metabolismo vegetal (REGO et al., 2011), causando diversos distúrbios fisiológicos e morfológicos que reduzirão a taxa fotossintética e resultarão na redução do crescimento, desenvolvimento e rendimento de grãos (FARIAS et al., 2007).

A planta apresentará sintomas da falta de água quando houver rápido secamento do solo, absorção insuficiente de água em solos rasos, retenção osmótica de água devido à salinidade de alguns terrenos ou elevadas taxas de

evapotranspiração, que geralmente ocorrem em regiões de altas temperaturas (BERGASMACHI; BERGONCI, 2017).

A falta de água durante qualquer estágio de desenvolvimento da soja irá afetar a quantidade de massa produzida, e com isso, prejudicará o balanço entre o crescimento vegetativo e reprodutivo (MUNDSTOCK; THOMAS, 2015), ocasionando em perdas no rendimento e na produção de sementes de baixa qualidade (FURLAN et al., 2012). Além disso, a capacidade das folhas em assimilarem dióxido de carbono e das raízes em absorverem nutrientes é reduzida em condição de escassez hídrica (TAIZ et al., 2017).

Entretanto, nos períodos de germinação-emergência e floração-enchimento de grãos, a falta de água é ainda mais prejudicial, sendo, que no primeiro período, tanto o excesso como a falta deste recurso, influenciarão negativamente no desenvolvimento da planta (FARIAS et al., 2007).

O déficit hídrico irá diminuir grandemente a atividade fotossintética da planta (CHAVES et al., 2002), pois o fechamento estomático é considerado o principal fator capaz de reduzir o processo de fotossíntese (SANTOS et al., 2006).

O polietilenoglicol (PEG 6000) é o agente osmótico geralmente utilizado em laboratório para simular os efeitos de déficit hídrico em plantas devido ao fato de não penetrar nas células, ser atóxico, não ser facilmente degradado (VILLELA et al., 1991), ser quimicamente inerte e não eletrolítico. O PEG atua como agente tensionante, tornando a água mais viscosa e de difícil absorção (MARCOS FILHO, 2015).

2.3.2 Excesso Hídrico

As inundações são uma das ocorrências naturais mais perigosas causadas por fortes chuvas, irrigação excessiva e baixa taxa de infiltração de solos, e sua prolongada aparência reduz severamente a produtividade das colheitas nas principais regiões de cultivo do mundo. A saturação hídrica impõe uma forte pressão de seleção nas plantas, uma vez que o excesso de água pode privar as plantas de oxigênio, dióxido de carbono, e luz (MICHAEL et al., 2009).

Os efeitos da saturação hídrica sobre as culturas dependem do estágio em que a planta se encontra (SALISBURY; ROSS, 1992) e da duração desse estresse (GOMES et al., 1992). Em algumas regiões úmidas e quentes, o excesso de

chuvas pode afetar negativamente o processo de germinação (DANTAS et al., 2000).

Plantas cultivadas em solos com altos níveis de compactação, baixo índice de drenagem, excesso de regime pluvial ou irrigação inadequada terão dificuldades em completar seu desenvolvimento, e em alguns casos pode ocorrer a morte das mesmas. Os solos nessas condições possuem problemas de aeração, o que irá causar diminuição do oxigênio disponível, ou seja, condições de hipoxia (ALVES et al., 2002).

A soja vem sendo utilizada como opção de rotação em cultivo de arroz e pastagem em solos de várzea, devido ao fato de apresentar certa tolerância a períodos curtos de inundação. Sob inundação, sementes de soja possuem baixa sobrevivência e germinação no campo devido à rápida perda de viabilidade em ambiente hipóxico, pois o suprimento de oxigênio é necessário para a ativação do processo de germinação (HOOK, 1984; KOZLOWSKI, 1997; PAROLIN, 2001).

O subperíodo compreendido entre a germinação e a emergência é considerado o mais sensível ao excesso hídrico e praticamente não há diferença de tolerância entre a cultivares comercializadas no Brasil (THOMAS; LANGE, 2014).

Sementes submetidas ao encharcamento tanto em condições de laboratório como em condições de campo, terão sua germinação afetada negativamente ou até mesmo impedida. Isso resultará na diminuição de plantas emergidas, comprometendo assim o estande final da cultura (KHOSRAVI; ANDERSON, 1990).

2.4 ESTRESSE TÉRMICO

Dentre os tipos de estresses abióticos mais comuns, está a temperatura, que varia de acordo com a sucessão das estações (RUELLAND; ZACHOWSKI, 2010). Valores de temperatura acima ou abaixo das consideradas ótimas ao desenvolvimento dos organismos vivos são classificadas como estresse térmico e possuem efeitos negativos no desenvolvimento e adaptação dos mesmos, incluindo os vegetais (NAGARAJAN; NAGARAJAN, 2010).

No verão, a amplitude de temperatura diária é maior, ou seja, a diferença entre a temperatura diurna e noturna, e visando reduzir os danos causados por este fator, a evolução permitiu que as plantas desenvolvessem mecanismos de defesa que fossem ativados para minimizar os efeitos negativos causados por esta

flutuação térmica, aumentando a resistência em situações adversas (HEINO; PALVA, 2003).

A temperatura é considerada um fator físico e ambiental, capaz de provocar alterações metabólicas e celulares, gerando níveis de estresse dependendo da duração e intensidade. O efeito da temperatura é variável de acordo com a espécie vegetal e o tecido atingido, podendo induzir a espécie a adquirir tolerância a essas condições (SUNG et al., 2003). As respostas observadas a diferentes níveis de temperatura podem ser desde alterações a níveis celulares, moleculares e até morfológicos (ZINN et al., 2010).

Tanto o crescimento como os processos bioquímicos dos vegetais são regulados pela temperatura, sendo que respondem positivamente numa amplitude entre as temperaturas mínimas e máximas limitantes. Os valores de temperatura influenciam diretamente no grau de hidratação dos tecidos, que conseqüentemente regulam os processos biológicos como dormência, germinação, crescimento, desenvolvimento e senescência (THAKUR et al., 2010).

As plantas sensíveis ao frio podem ser classificadas em três categorias: plantas sensíveis ao resfriamento, plantas resistentes ao resfriamento e plantas resistentes ao congelamento. As plantas sensíveis ao resfriamento são aquelas que não suportam baixas temperaturas, entre 0 e 15°C; já as consideradas resistentes ao resfriamento suportam baixas temperaturas, mas não toleram a formação de cristais de gelo nos tecidos; as resistentes ao congelamento suportam situações de extremo frio, podendo tolerar temperaturas de até -100°C sem influenciar nas estruturas e processos bioquímicos (SLOVÁKOVÁ et al., 2011).

2.4 ÓXIDO NÍTRICO

O óxido nítrico (NO) é um radical livre, inorgânico, gasoso, incolor, composto por sete elétrons de nitrogênio e oito de oxigênio. Possui um elétron desparelhado que é capaz de reagir com outras moléculas ou átomos que possuam também elétrons desparelhados. Na presença de O₂, a meia-vida do NO é de menos de 10 segundos (KHAN et al., 2014).

Durante muito tempo foi considerado que o NO e o dióxido de nitrogênio (NO₂) eram produzidos principalmente por descargas de eletricidade na atmosfera. Cerca de 40 anos atrás, o NO passou a ser identificado como um poluente

atmosférico dos complexos Nox (NO e NO₂), sendo produzido por usinas de energia e motores de automóveis (DELLEDONNE, 2005).

A produção do NO em plantas foi relatada pela primeira vez há mais de 40 anos (KLEPPER, 1975). Entre o final da década de 80 e o início da década de 90, foi descoberto que o NO possui papel fundamental na sinalização em células de mamíferos, além de regular diversos processos fisiológicos. Essa descoberta causou uma revolução nas pesquisas (CULOTTA; KOSHLAND, 1992) e em 1992, a revista Science reconheceu o NO “como a molécula do ano” (KOSHLAND, 1992). Dentre as principais funções do NO na célula, está a ativação da enzima guanilato ciclase que converte a guanosina trifosfato (GTP) em guanosina-3',5'-monofosfato cíclica, um segundo mensageiro (THEILIG et al., 2001).

Sabe-se que o NO está envolvido em diversos processos fisiológicos nos vegetais, que vão desde a germinação ao florescimento e maturação de frutos, e por isso tem se dado uma maior atenção ao funcionamento dos mecanismos de síntese de NO (KHAN et al., 2014).

O NO é uma molécula sinalizadora que participa de processos fisiopatológicos e de desenvolvimento em plantas (GRUN et al., 2006). Alguns trabalhos já demonstraram a participação do NO na sinalização de hormônios (GUO et al., 2003), no processo de fotomorfogênese em plantas (PAGNUSSAT et al., 2003), na resposta da planta ao ataque de organismos patogênicos (DELLEDONNE et al., 1998) e na orientação e crescimento do tubo polínico (PRADO et al., 2004). O seu efeito biológico é determinado principalmente pela concentração, fonte utilizada (FORD et al., 1993) e tempo de exposição ao produto (FEELISCH, 1998).

Além do papel do NO como molécula sinalizadora, ele também atua como modulador da atividade de algumas proteínas e de canais iônicos nas células vegetais, possibilitando um aumento do teor de cálcio intracelular, que irá influenciar na cascata de fosforilação de proteínas (SOKOLOVSKI et al., 2005). Tanto em situações de déficit como de excesso hídrico, a produção de NO nas plantas é reduzida drasticamente (MAGALHÃES et al., 2000).

O NO pode ser produzido, sob condições ácidas e na presença de agentes redutores, como o ácido ascórbico (YAMASAKI et al., 1999) por meio da redução do nitrito (NO₂⁻) a NO, catalisada pela enzima nitrito redutase microbiana; sob condições de anoxia, pode ser obtido pela redução do NO₂⁻ catalisada pela enzima xantina oxidase; através da oxidação da arginina pelo peróxido de hidrogênio (H₂O₂)

(ZHANG et al., 1998); nos cloroplastos, por meio da conversão fotoquímica do dióxido de nitrogênio (NO_2) mediada por carotenóides (COONEY et al., 1994).

Experimentos em que plantas ou parte delas foram tratadas com NO, apontaram a importância dessa molécula em processos como floração (HE et al., 2004), tropismos (HU et al., 2005), senescência de folhas e cotilédones (JASID et al., 2009), movimento estomático (NEILL et al., 2008), crescimento vegetativo de parte aérea (ZHANG et al., 2003), formação de raízes (PAGNUSSAT et al., 2003), crescimento de raízes adventícias (TEWARI et al., 2008), lignificação da parede celular (BOHM et al., 2010), desenvolvimento de pelos radiculares (LOMBARDO et al., 2006) e formação e diferenciação do xilema (GABALDÓN et al., 2005).

Em trabalhos que envolvem germinação, o doador de NO mais comumente utilizado é o nitroprussiato de sódio (SNP), um complexo inorgânico que contém ferro em seu estado ferroso (Fe^{2+}) ligado a um íon nitrosila (NO^+) e cinco ânions cianeto (CN^-) (YAMAMOTO; BING, 2000). O SNP é um sal cristalino de coloração vermelha e pode ser armazenado por um longo período de tempo sob temperatura ambiente, se mantido seco e protegido de luz. Em solução, o SNP é extremamente fotossensível (FEELISCH, 1998).

Os doadores de NO são relativamente instáveis e suscetíveis à temperatura e podem sofrer decomposição fotoquímica, podendo causar uma rápida liberação do NO, reduzindo os efeitos de sinalização em plantas (SEABRA et al., 2015).

O nitroprussiato de sódio (SNP) libera concentrações mais elevadas de NO quando comparado a outros doadores, como a S-nitroso-N-acetilpenicilamina (SNAP) e a S-nitrosoglutationa (GSNO) (EDERLI et al., 2009). Utilizando o SNP como doador de NO, é possível garantir uma maior proteção da planta contra diversos tipos de estresses abióticos e oxidativos, além de promover o crescimento e manutenção da homeostase (OZ et al., 2015). Porém, o SNP apresenta baixa eficiência quando nanoencapsulado comparado ao GSNO.

2.4.1 Ação Antiestresse

O óxido nítrico é uma espécie reativa de oxigênio (EROS), classificado como altamente reativo, podendo atuar como sinalizador de moléculas antioxidantes, possibilitando a eliminação de intermediários reativos, ou também como uma molécula

sinalizadora em uma cadeia de eventos, resultando em mudanças de expressão gênica (LAMATTINA et al., 2003).

O NO aplicado exogenamente através do doador SNP é capaz de proteger as plantas contra estresse por condição salina (UCHIDA et al., 2002; ZHAO et al., 2007), metais pesados (JHANJI et al., 2012; WANG et al., 2013; MAURICE et al., 2016), altas temperaturas (SONG et al., 2006; ZHAO et al., 2009), radiação ultravioleta (UVB) (ZHANG et al., 2011), alumínio (MARCIANO et al., 2010) e déficit hídrico (ZIMMER-PRADOS et al., 2014) pela ativação dos sistemas enzimáticos e não enzimáticos de defesa que eliminam as EROs e assim influenciam na redução de danos celulares (FRANÇA et al., 2018).

Em sementes, o NO é conhecido por atenuar a dormência e promover o processo de germinação, função essa que aparentemente depende da interferência com a rede de sinalização do ácido abscísico (ABA) (SIGNORELLI; CONSIDINE, 2018). Em sementes de *Arabidopsis*, o NO foi capaz de estimular a germinação por meio da redução do período de dormência (BETHKE et al., 2006).

Sob condições de déficit hídrico, a aplicação exógena de NO é capaz de promover a síntese de ácido abscísico, o fechamento dos estômatos, o acúmulo de prolina e a ativação das enzimas antioxidantes, que conseguem impedir que ocorra perda de água e danos oxidativos devido à diminuição da peroxidação lipídica (GARCÍA-MATA; LAMATTINA, 2003; NEILL et al., 2008).

Pires et al., (2016) concluíram que o óxido nítrico é capaz de aumentar a quantidade de enzimas antioxidantes em sementes de gergelim (*Sesamum indicum* L.) sob condição de déficit hídrico simulado através da utilização do PEG-6000, demonstrando que o NO é eficaz em ativar o sistema antioxidantes dessas sementes.

No trabalho realizado por Silveira et al., (2016), no qual foi realizado fornecimento do óxido nítrico na forma de GSNO em cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) foi capaz de aumentar a assimilação de CO₂ e razão raiz/parte aérea. O tratamento contendo óxido nítrico em maior quantidade aumentou a resposta da cultura ao déficit hídrico.

Dessa forma, o NO se mostra capaz de atenuar os efeitos negativos do déficit hídrico em plantas (BOOGAR et al., 2014; FAROOQ et al., 2009; LIAO et al., 2012).

2.5 NANOTECNOLOGIA

Atualmente, a nanotecnologia vem sendo amplamente difundida em várias esferas de produção, inclusive nas áreas referentes à agricultura. A nanotecnologia é dita como a ciência de projetar e construir ferramentas, onde cada átomo e ligação química são precisamente especificados, a fim de formarem um conjunto de recursos que podem ser utilizados para diversos fins tecnológicos (STORRS, 2006). A nanotecnologia possui diversos benefícios potenciais, como o aprimoramento de qualidade e segurança alimentar, redução de insumos agrícolas, enriquecimento do solo com nutrientes em nanoescala, entre outros (PRASAD et al., 2017).

A nanotecnologia agrícola tem despertado grande interesse devido à sua capacidade de fornecer gerenciamento molecular de estresse biótico e abiótico, detecção rápida e fácil de doenças e sistemas de distribuição de fertilizantes e agrotóxicos (KASHYAP et al., 2015).

2.5.1 Nanopartículas

As nanopartículas possuem diferentes composições de superfície e densidades comparadas às partículas de solo e podem ser utilizadas de maneira promissora na agricultura (HOCELLA et al., 2008). A dimensão das nanopartículas varia de 1 a 100 nm (RAVISHANKAR; JAMUNA, 2011). Estas podem ser inorgânicas, poliméricas e lipídicas, e sintetizadas através de diferentes técnicas como a gelificação iônica, emulsificação, polimerização, oxirredução, entre outras maneiras (FRACETO et al., 2016).

As nanopartículas poliméricas se apresentam como uma boa opção de uso devido à sua estabilidade e facilidade de modificação da superfície. Os polímeros biodegradáveis, como é o caso da quitosana, são estudados principalmente como sistemas de entrega e liberação controlada de ingredientes ativos e estabilização de moléculas biológicas, como proteínas, peptídeos ou materiais genéticos (GHORMADE et al., 2011).

A quitosana é um polímero de N-acetil-D-glucosamina e D-glucosamina que possui propriedades que a tornam útil em vários campos. É produzida pela desacetilação de derivados da quitina. É utilizada na agricultura como

bioestimulante para o crescimento e proteção das plantas, e induz vários genes responsivos, proteínas e metabólitos secundários nas plantas. A quitosana desencadeia uma via de transdução de sinal e transduz moléculas secundárias, como peróxido de hidrogênio e óxido nítrico (PONGPRAYOON et al., 2022).

As nanopartículas de quitosana (ChNP) conseguem cruzar barreiras e proteger macromoléculas de se degradarem em meio biológico, além de fazer a liberação de forma controlada até o alvo desejado (PERERA; RAJAPAKSE, 2013). O pequeno tamanho das ChNP garante maior eficiência no processo de interação com a membrana celular, e as pequenas partículas passam a serem absorvidas (GHADI et al., 2014).

Os sistemas à base de quitosana têm ampla e crescente aplicações na indústria alimentar e bioquímica. Alguns ingredientes podem ser encapsulados, independentemente de serem hidrofóbicos, hidrofílicos ou bacterianos (ZHAO et al., 2011). A quitosana retém a bioatividade de macromoléculas, como o DNA e algumas proteínas durante o encapsulamento. A carga positiva oriunda da quitosana ajuda a estabelecer uma forte interação com moléculas carregadas negativamente, sem alterar a sua atividade (DOUNIGHI et al., 2012).

2.5.2 Óxido Nítrico Nanoencapsulado

O encapsulamento de doadores de NO com a utilização de nanomateriais surge como uma estratégia para proteger essas moléculas da decomposição, permitindo que a liberação seja mais controlada e seu período de ação seja prolongado (SEABRA et al., 2015). Diversas nanopartículas poliméricas tem sido desenvolvidas como sistemas carreadores de doadores de NO (SEABRA; DURÁN, 2010), dentre elas, as nanopartículas compostas por quitosana, um polímero adesivo e biodegradável, que apresenta fácil absorção celular e baixa toxicidade (PASCOLI et al., 2018).

No trabalho de Oliveira et al. (2016), considerado pioneiro, foi observado que o óxido nítrico na forma de S-nitroso-MSA encapsulado em nanopartículas de quitosana foi mais eficiente em proteger plantas de milho (*Zea mays* L.) sob situação de estresse salino do que a molécula S-nitroso-MSA quando aplicada em sua forma livre. Este estudo foi realizado sob condições ambientais controladas.

Silveira et al. (2019) verificaram o efeito positivo do óxido nítrico na

forma de GSNO nanoencapsulado por moléculas de quitosana no incremento da tolerância da cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) ao déficit hídrico quando comparado ao fornecimento do óxido nítrico em sua forma livre.

Ma et al. (2019) concluíram que a aplicação do óxido nítrico na forma de GSNO também encapsulado por nanopartículas de quitosana em cerejas (*Prunus avium*), através de imersão, durante o período de 1 minuto e na dose de 60 $\mu\text{mol. L}^{-1}$, foi capaz de reduzir a produção de etileno, perda de massa e respiração, além de aumentar a quantidade de sólidos solúveis dos frutos. Observaram também que essa aplicação reduziu as EROs e aumentou as enzimas antioxidantes, teor de ácido ascórbico e glutatona reduzida.

ARTIGO A: ÓXIDO NÍTRICO NANOENCAPSULADO NA MITIGAÇÃO DO EFEITO DO DÉFICIT HÍDRICO EM SEMENTES DE SOJA

RESUMO

A escassez hídrica está entre os tipos de estresses abióticos que são capazes de reduzir a germinação e o vigor sementes de soja. Dentre as alternativas para aumentar a tolerância de plantas a estresses, cita-se a utilização de moléculas sinalizadoras, como é o caso do óxido nítrico. Para garantir maior eficiência do uso desta molécula, a nanotecnologia vem sendo estudada como uma alternativa viável, através da utilização de nanopartículas de quitosana. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de cinco doses de NO nanoencapsulado (0, 300, 600, 900, 1200 e 1500 mMolL⁻¹) sob duas diferentes situações, uma com ausência de déficit hídrico e outra com a presença do estresse de potencial osmótico -0,2 MPa, simulado através da utilização do polietilenoglicol-6000. As variáveis analisadas foram: primeira contagem de germinação, plântulas normais, plântulas anormais, comprimento de parte aérea e de raiz e massa seca de parte aérea e de raiz. As médias foram comparadas através do Teste de Scott-Knott. Na ausência de déficit hídrico os tratamentos não demonstraram efeito sobre os parâmetros de PCG, PN, PA, CPA, CR e MR. Porém a hidratação combinada ou não com NO foi inferior para o acúmulo de MSPA. Já na presença de déficit hídrico as doses de 600, 900 e 1500 mMol.L⁻¹ foram superiores aos demais tratamentos, incluindo os tratamentos com e sem hidratação sem NO.

Palavras-chave: água; antioxidante; germinação; *Glycine max* L.; nanotecnologia.

ABSTRACT

Water scarcity is among the types of abiotic stresses that are capable of reducing germination and vigor in soybean seeds. Among the alternatives to increase plant tolerance to stress, the use of signaling molecules, such as nitric oxide, is mentioned. To ensure greater efficiency in the use of this molecule, nanotechnology has been studied as a viable alternative, through the use of chitosan nanoparticles. The objective of this work was to evaluate the effects of five doses of nanoencapsulated NO (0, 300, 600, 900, 1200 e 1500 mMolL⁻¹) under two different situations, one with the absence

of water deficit and the other with the presence of osmotic potential stress -0.2 MPa, simulated using polyethylene glycol-6000. The variables analyzed were: first germination count, normal seedlings, abnormal seedlings, shoot and root length, and shoot and root dry mass. Means were compared using the Scott-Knott test. In the absence of water deficit, the treatments showed no effect on the PCG, PN, PA, CPA, CR and MR parameters. However, hydration combined or not with NO was lower for the accumulation of MSPA. In the presence of water deficit, the doses of 600, 900 and 1500 mMol.L⁻¹ were superior to the other treatments, including treatments without and with hydration without NO.

Keywords: antioxidant; germination; *Glycine max* L.; nanotechnology; water.

INTRODUÇÃO

A soja é um dos principais grãos produzidos no Brasil e no mundo. Esta cultura vem sofrendo grandes transformações ao longo dos anos, desde a expansão nas áreas em que é cultivada até o aumento na produtividade (FERREIRA et al., 2022). Com alta representatividade no cenário agrícola brasileiro, em torno de 70% da soja produzida é exportada em forma de grão, óleo e farelo, o que confere ao país estar no ranking de importância desta oleaginosa (BRANDALIZZE, 2017).

Dentre os fatores edafoclimáticos que influenciam o cultivo da soja, a disponibilidade hídrica é considerada o de maior relevância, principalmente nos períodos da germinação até a emergência e da floração ao enchimento de grãos (SENTELHAS et al., 2015). Além de resultar em alterações fisiológicas na planta, a escassez hídrica minimiza a disponibilidade de nutrientes (CEREZINI et al., 2016), antecipa o ciclo da cultura, ocasiona abscisão e redução foliar (CHACON et al., 2017), impactando diretamente no rendimento e na qualidade do produto (ENGELS et al., 2017). Mohamed e Latif (2017) observaram diminuição no comprimento e na massa seca da parte aérea e da raiz, nas quantidades de pigmentos fotossintéticos e no teor relativo de água de diferentes genótipos de soja expostos ao déficit hídrico.

Para diminuir o efeito do déficit hídrico é de extrema importância adotar cultivares adaptadas a cada região e respeitar a época de semeadura, a fim de garantir maior aproveitamento da água durante todo o ciclo (MARIANI; FERRANTE, 2017). Além disso, a utilização de moléculas promotoras de ação antiestresse vem

sendo estudadas para obter melhor desempenho das culturas em situações adversas a fatores abióticos, como a escassez hídricas. Dentre elas, o óxido nítrico (NABI et al., 2019).

Este composto possui função sinalizadora em plantas e pode atuar como antioxidante, e sua finalidade ocorrerá de acordo com o tecido vegetal, tipo de estresse biótico ou abiótico e idade da planta (FERRAZ, 2021). A ação antioxidante de NO ocorre em ambiente em que as espécies reativas de oxigênio (EROs) estão em níveis elevados, de modo prejudicial às células.

O óxido nítrico pode atuar de maneira variada nos vegetais, sendo pela interação com biomoléculas com metais ou radicais livres, ou através da formação de espécies reativas de nitrogênio (ERN), reagindo com o oxigênio e interagindo com lipídios, proteínas e outros compostos (UMBREEN et al., 2018). É uma molécula gasosa que apresenta elevada difusividade e características hidrofóbicas, reagindo rapidamente com o ar atmosférico, o que dificulta sua utilização (POPOVA; TRAN, 2010).

A nanoencapsulação do NO através da utilização de nanopartículas se tornou uma estratégia para proteger essa molécula da decomposição, e desta forma, permitir maior eficiência e durabilidade em seu uso (SEABRA et al., 2017). Dentre os tipos de nanopartículas que se destacam para este uso, encontra-se a quitosana, um polímero biodegradável e adesivo, obtido através da carapaça de crustáceos e que apresenta alta absorção celular e baixa toxicidade (PASCOLI et al., 2018).

Estudos recentes demonstraram efeito positivo do óxido nítrico na forma de S-nitroso-glutationa (GSNO) nanoencapsulado em partículas de quitosana na atenuação dos efeitos do déficit hídrico na cana-de-açúcar (SILVEIRA et al., 2019).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de diferentes doses de NO-GSNO nanoencapsulado em condição de déficit hídrico durante o processo germinativo da soja.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Fitotecnia pertencente ao Departamento de Agronomia, localizado nas dependências da Universidade Estadual de Londrina. As sementes de soja utilizadas eram da cultivar

BMX Fibra 64I61RSF IPRO. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em duas condições distintas, sendo elas presença e ausência de déficit hídrico.

Inicialmente, o lote de sementes foi caracterizado quanto ao teor de água e o peso de mil sementes. O teor de água foi verificado pelo método da estufa, o qual utiliza 4 amostras de 50 sementes cada, e o resultado é expresso pela fórmula $TA = (W1 - W2) / W1$, sendo que $W1$ é o valor de massa das sementes antes de serem alocadas na estufa e $W2$ é o valor de massa das sementes após o processo de secagem. O resultado (TA) é expresso em percentagem. O peso de mil sementes foi obtido através da pesagem de 8 amostras contendo 100 sementes cada, e o resultado foi expresso através da fórmula $PMS = (PA \times 1000) / NS$, onde PMS é o peso das mil sementes, PA é o peso da amostra de trabalho e NS é o número total de sementes.

O déficit hídrico foi simulado com a utilização do polietilenoglicol (PEG-6000) seguindo a metodologia proposta por Vilella et al., 1991, onde para cada potencial osmótico desejado, é necessária determinada quantidade de PEG, expressa em gramas por quilograma de água. O potencial osmótico utilizado para simular o déficit hídrico foi de $-0,2$ MPa. Para o valor de 0 MPa (ausência de déficit hídrico) foi utilizada apenas uma solução de água destilada.

O tratamento das sementes com óxido nítrico consistiu em utilizar a molécula doadora S-nitrosoglutathiona (GSNO) na concentração de 3 mmol L^{-1} nanoencapsulada em moléculas de quitosana.

As nanocápsulas de quitosana contendo óxido nítrico (GNSO-CS NPs) são sintetizadas como descrito por PELEGRINO, et al. (2017) e adquiridas através de parceria com o Instituto ABC. Dessa forma, $0,5\%$ (p/v) CS e 60 mmol-L^{-1} de glutathiona reduzida (GSH) são misturadas através de agitação em 1% de ácido acético por um período de 90 minutos. Cerca de $1,8 \text{ g-L}^{-1}$ de solução de tripolifosfato (TPP) é adicionado à suspensão CS/GSH, tendo como resultado a relação volumétrica de CS/GSH:TPP de $3:1$ (v/v). Essa mistura é agitada durante 45 minutos em temperatura ambiente. Na suspensão, o GSH foi nitrosado adicionando a quantidade equimolar de nitrito de sódio (NaNO_2), e permaneceu em repouso durante uma hora em abrigo da luz, para que ocorra a liberação do óxido nítrico na solução.

Em seguida sementes foram tratadas com 6 diferentes doses do NO nanoencapsulado, sendo elas 0 (apenas água destilada), 300 , 600 , 900 , 1200 e 1500

mMolL⁻¹. Ao todo foram utilizados 7 tratamentos, sendo 6 doses além da testemunha, que consistiu na utilização da semente sem tratamento algum.

As avaliações realizadas foram: primeira contagem de germinação, teste padrão de germinação, comprimento de parte aérea e de raiz e massa seca de parte aérea e de raiz.

O teste de germinação foi realizado em substratos do tipo papel Germitest®. Foram utilizadas 50 sementes em cada repetição. Os papéis foram umedecidos na proporção de 2,5 vezes a massa do papel seco, e estes foram alocados em câmara de germinação do tipo BOD sob temperatura constante de 25 °C com fotoperíodo de 12 horas. A avaliação foi feita no oitavo dia, onde foram avaliadas as plântulas normais, anormais e sementes mortas. Em conjunto com o teste de germinação, no quinto dia, foi realizada a contagem das plântulas normais, que representa a primeira contagem de germinação, que é classificada como uma avaliação de vigor (BRASIL, 2009).

Para a análise de comprimento e massa seca de parte aérea e raiz, 10 sementes foram dispostas no terço superior do rolo de germinação, e seguiu-se as mesmas condições experimentais do teste de germinação, com exceção do fotoperíodo de 12 horas, pois, neste caso, as sementes permanecem no escuro durante os 8 dias. A medição do comprimento foi realizada com o auxílio de régua milimetrada e a massa seca quantificada em balança de precisão após as amostras permanecerem por 3 dias em estufa de ar circulado sob temperatura constante de 65 °C.

Os dados coletados foram submetidos às análises de normalidade e homogeneidade. As médias foram comparadas pelo Teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Foram feitas as regressões polinomiais até 2° grau, retirando o tratamento SA, porém não foi possível estabelecer ajustes representativos e, portanto, não foram apresentados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 1. Primeira contagem de germinação (PCG), plântulas normais (PN), plântulas anormais (PA) em condição normal (ausência de déficit hídrico).

Tratamento	PCG (%)	PN (%)	PA (%)
SA	80,5 a	94,0 a	6,0 a
0	77,5 a	93,5 a	6,5 a

300	84,5 a	95,5 a	4,5 a
600	76,0 a	92,5 a	7,5 a
900	77,0 a	95,0 a	5,0 a
1200	84,0 a	96,0 a	4,0 a
1500	82,5 a	95,0 a	5,0 a
CV%	7,37	3,76	64,59

Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05\%$). CV: coeficiente de variação. SA: sem água.

De acordo com a Tabela 1 é possível verificar que não houve diferença estatística entre as doses utilizadas de óxido nítrico nanoencapsulado para as variáveis primeira contagem de germinação (PCG), plântulas normais (PN) e plântulas anormais (PA) em situação de ausência de déficit hídrico. Estes valores condizem com o que foi observado em um estudo realizado por Kaiser et al. (2017), onde avaliaram os efeitos de liberadores de óxido nítrico na qualidade fisiológica de sementes de repolho. Neste trabalho foi concluído que o óxido nítrico não foi capaz de aumentar os valores do parâmetro primeira contagem de germinação.

Giba et al. (1998) quando trabalhou com sementes de *Paulownia tomentosa* observaram que concentrações de oxido nítrico estimularam a germinação em concentrações superiores a 1,0 mmol L⁻¹ de nitroprussiato de sódio (SNP), um outro tipo de doador de óxido nítrico bastante utilizado. As concentrações de óxido nítrico que promovem a germinação variam conforme a espécie vegetal e o doador utilizado, sendo que no caso das sementes de repolho concentração mais baixas foram mais efetivas que as mais altas, indicando possível toxicidade (KAISER et al., 2017).

Tabela 2. Comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), massa seca de parte aérea (MSPA) e massa seca de raiz (MSR) em condição normal (ausência de déficit hídrico).

Tratamento	CPA (cm)	CR (cm)	MSPA (g)	MSR (g)
SA	8,94 a	12,33 a	0,029 a	0,007 a
0	9,37 a	11,85 a	0,022 b	0,005 a
300	7,89 b	11,07 a	0,023 b	0,009 a
600	8,11 b	11,16 a	0,023 b	0,006 a
900	9,28 a	11,35 a	0,021 b	0,005 a
1200	7,35 b	9,64 a	0,022 b	0,006 a
1500	9,33 a	11,62 a	0,024 b	0,009 a
CV%	9,02	9,53	14,68	42,07

Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05\%$). CV: coeficiente de variação. SA: sem água.

Observando a Tabela 2, verifica-se que dentro das variáveis

comprimento de parte aérea (CPA) e massa seca de parte aérea (MSPA) houve diferenças estatísticas entre as doses do óxido nítrico nanoencapsulado que foram utilizadas na situação ausente de déficit hídrico. No caso do CPA, as doses 0, 900 e 1500 mMolL⁻¹ foram superiores as demais, porém, não diferenciaram da testemunha sem água (SA), sendo assim, inviável determinar qual foi a melhor dose. Além disso, os resultados observados não seguiram um esquema linear entre dose e efeito, o que também impossibilita, neste estudo, verificar até que dose o efeito positivo deixa de se manifestar. Para a variável MSPA, todas as doses utilizadas foram inferiores à testemunha sem água, o que permite inferir que neste caso, os tratamentos não trouxeram benefício, e sim, prejudicaram o acúmulo de massa seca.

Song et al. (2009) quando avaliou sementes de *Suaeda salsa* observaram que o aumento na concentração de NO₃ não foi capaz de estimular a germinação de plântulas e a produção de massa seca da parte aérea.

As variáveis comprimento de raiz (CR) e massa seca de raiz (MSR) não apresentaram diferenças estatísticas entre as doses utilizadas quando analisadas pelo Teste de Scott-Knott, demonstrando que o óxido nítrico nanoencapsulado não foi capaz de beneficiar nem prejudicar estes parâmetros nesta condição. Correa-Aragunde et al. (2008) observaram que o óxido nítrico afeta o crescimento de raízes de tomate de forma dose-dependente, sendo que as baixas concentrações de óxido nítrico na forma de nitroprussiato de sódio (SNP) são capazes de estimular o crescimento das raízes e aumentar a quantidade de massa fresca e seca, enquanto as altas concentrações possuem efeito negativo sobre o crescimento das plantas.

Tabela 3. Primeira contagem de germinação (PCG), plântulas normais (PN), plântulas anormais (PA) em condição de déficit hídrico (-0,2 MPa)

Tratamento	PCG (%)	PN (%)	PA (%)
SA	53,0 b	65,0 c	35,0 b
0	46,5 c	58,3 c	42,5 b
300	45,0 c	54,0 c	46,0 b
600	62,5 a	84,0 a	14,0 c
900	61,5 a	73,0 b	21,5 c
1200	25,5 d	38,0 d	61,5 a
1500	63,5 a	84,0 a	13,5 c
CV%	6,49	11,39	22,23

Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05\%$). CV: coeficiente de variação. SA: Sem água.

Analisando a Tabela 3 é possível observar que dentro das três variáveis descritas, sendo elas, primeira contagem de germinação (PCG), plântulas

normais (PN) e plântulas anormais (PA) houve diferenças estatísticas entre as médias quando comparadas pelo Teste de Scott-Knott.

No caso da primeira contagem de germinação (PCG) as doses de 600, 900 e 1500 mMol.L⁻¹ foram superiores as demais, e diferenciaram da testemunha sem água. A dose de 1200 mMol.L⁻¹ foi considerada a menos eficiente dentre todas. Lucchese et al. (2018) observaram aumento da quantidade plântulas anormais quando as sementes de *Toona ciliata* foram submetidas à solução com PEG-6000 para simular déficit hídrico.

Tabela 4. Comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), massa seca de parte aérea (MSPA) e massa seca de raiz (MSR) em condição de déficit hídrico (-0,2 MPa).

Tratamento	CPA (cm)	CR (cm)	MSPA (g)	MSR (g)
SA	4,28 a	12,84 a	0,016 a	0,011 a
0	4,53 a	12,75 a	0,016 a	0,010 a
300	5,08 a	11,50 b	0,019 a	0,018 a
600	5,20 a	9,87 b	0,022 a	0,017 a
900	5,00 a	11,00 b	0,014 a	0,008 a
1200	3,94 a	10,33 b	0,011 a	0,016 a
1500	4,49 a	10,42 b	0,010 a	0,003 a
CV%	19,93	10,36	41,48	84,51

Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05\%$). CV: coeficiente de variação. SA: sem água.

Observando a Tabela 4 nota-se que não houve diferença estatística para as variáveis comprimento de parte aérea (CPA), massa seca de parte aérea (MSPA) e de raiz (MSR) nas doses de óxido nítrico utilizadas. Na variável comprimento de raiz (CR) as testemunhas com e sem água se comportaram de maneira superior aos outros tratamentos, os quais envolviam o óxido nítrico. Isso nos permite inferir que o óxido nítrico resultou em diminuição das raízes de sementes de soja nesta condição.

Kaiser et al. (2016) quando submeteram sementes de repolho tratadas com óxido nítrico em condição de baixo potencial osmótico para simular efeito da salinidade, não observaram diferenças estatísticas para as variáveis massa seca de parte aérea (MPSA) e massa seca de raiz (MSR), o que condiz com os resultados observados neste trabalho. Pires et al. (2016) verificaram que a aplicação de óxido nítrico foi capaz de reverter a redução ocasionada pelo déficit hídrico, simulado através da utilização do PEG-600, para os parâmetros massa seca de parte aérea (MSPA) e de raiz (MSR) em sementes de gergelim (*Sesamum indicum* L.).

CONCLUSÃO

Na ausência de déficit hídrico os tratamentos não demonstraram efeito sobre os parâmetros de PCG, PN, PA, CPA, CR e MR. Porém a hidratação combinada ou não com NO foi inferior para o acúmulo de MSPA. Portanto, o NO nanoencapsulado nesta condição não apresentou efeito na germinação e desenvolvimento inicial das raízes, porém comprometeu o desenvolvimento da parte aérea.

Já na presença de déficit hídrico as doses de 600, 900 e 1500 mMolL⁻¹ foram superiores aos demais tratamentos, incluindo os tratamentos sem e com hidratação sem NO. Sendo assim, conclui-se que as doses superiores a 600 mMolL⁻¹ (com exceção de 1200 mMolL⁻¹) apresentaram germinação superior às testemunhas. Não houve efeito no desenvolvimento inicial de parte aérea, porém limitou o crescimento a partir de 300 mMolL⁻¹.

ARTIGO B: ÓXIDO NÍTRICO NANOENCAPSULADO NA MITIGAÇÃO DO EFEITO DO ESTRESSE TÉRMICO EM SEMENTES DE SOJA

RESUMO

O estresse térmico está entre os tipos de estresses abióticos que são capazes de reduzir a germinação e o vigor sementes de soja, podendo ser ocasionado tanto por baixas como altas temperaturas. Dentre as alternativas para aumentar a tolerância de plantas a estresses, cita-se a utilização de moléculas sinalizadoras, como é o caso do óxido nítrico. Para garantir maior eficiência do uso desta molécula, a nanotecnologia vem sendo estudada como uma alternativa viável, através da utilização de nanopartículas de quitosana. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de cinco doses de NO nanoencapsulado (0, 300, 600, 900, 1200 e 1500 mMolL⁻¹) sob três diferentes temperaturas, 20, 25 e 30 °C, consideradas temperaturas subótimas, ótimas e supraótimas, respectivamente. As variáveis analisadas foram: primeira contagem de germinação, plântulas normais, plântulas anormais, comprimento de parte aérea e de raiz e massa seca de parte aérea e de raiz. As médias foram comparadas através do Teste de Scott-Knott. Não foi possível inferir sobre o efeito possível do NO em temperatura subótima (20 °C) porém houve aumento dos parâmetros de massa seca. Sob temperatura ótima (25 °C) a o tratamento de água com e sem NO foi inferior à testemunha para o parâmetro massa seca de parte aérea. Na condição de temperatura supraótima (30 °C) não houve efeito do NO na germinação e desenvolvimento inicial.

Palavras-chave: antioxidante; germinação; *Glycine max* L.; nanotecnologia; temperatura.

ABSTRACT

Thermal stress is among the types of abiotic stresses that are capable of reducing germination and vigor in soybean seeds, and can be caused by both low and high temperatures. Among the alternatives to increase plant tolerance to stress, the use of signaling molecules, such as nitric oxide, is mentioned. To ensure greater efficiency in the use of this molecule, nanotechnology has been studied as a viable alternative,

through the use of chitosan nanoparticles. The objective of this work was to evaluate the effects of five doses of nanoencapsulated NO (0, 300, 600, 900, 1200 and 1500 mMolL⁻¹) under three different temperatures, 20, 25 and 30 °C, considered suboptimal, optimal and supraoptimal temperatures, respectively. The variables analyzed were: first germination count, normal seedlings, abnormal seedlings, shoot and root length, and shoot and root dry mass. Means were compared using the Scott-Knott test. It was not possible to infer the possible effect of NO at suboptimal temperature (20 °C) but there was an increase in dry mass parameters. Under optimal temperature (25 °C) the water treatment with and without NO was lower than the control for the dry mass parameter of shoots. In the supraoptimal temperature condition (30 °C) there was no effect of NO on germination and initial development.

Keywords: antioxidant; germination; *Glycine max* L.; nanotechnology; temperature.

INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é uma das culturas mais cultivadas ao redor do mundo e representa grande parte dos produtos exportados oriundos da agricultura brasileira. Sua importância mundial se dá pelo fato de que a soja é utilizada tanto para a alimentação humana e animal, e como matéria prima para diversos produtos industriais (ARTUZO et al., 2018).

O potencial produtivo da soja é bastante afetado pelas alterações climáticas, dentre elas, o aumento e diminuição da temperatura (SHAHEEN et al., 2016). A soja possui melhor adaptabilidade em regiões onde as temperaturas variam desde 20 (temperatura subótima) a 30°C (temperatura supraótima), sendo que o valor ideal para seu estabelecimento, crescimento, desenvolvimento e produção de grãos é próximo de 25 °C. (FARIAS et al., 2007). No caso da produção de sementes, recomenda-se o cultivo em regiões onde a temperatura é inferior a 22 °C, principalmente durante a fase de maturação, pois temperaturas superiores apresentam alto risco para o desenvolvimento de doenças e implicam negativamente na qualidade do produto (COSTA et al., 1994).

As temperaturas tanto acima como abaixo das consideradas ideais podem ser consideradas estresse térmico para a planta, e afetam negativamente o processo fotossintético, respiração, transpiração e conseqüentemente reduzem a produtividade

da cultura (LAHIVE et al., 2018). O estresse por temperatura também é capaz de limitar outros processos metabólicos, como a germinação de sementes e crescimento de plântulas (SIEBERS et al., 2015).

Diante disso, a utilização de moléculas sinalizadoras para aumentar a tolerância a diferentes estresses vem sendo estudada e discutida, como é o caso do óxido nítrico, uma molécula sinalizadora que está envolvida na resposta a estresses abióticos (SANZ et al., 2015). As substâncias liberadoras de óxido nítrico, como a S-nitroso-glutationa (GSNO), apresentam capacidade de evitar ou até mesmo reverter os danos causados pelas altas temperaturas, as quais reduzem consideravelmente o vigor das sementes (PEREIRA et al., 2010).

Dentre as limitações da utilização do óxido nítrico está o fato desta molécula apresentar caráter gasoso e baixa eficiência de aplicação, o que dificulta que o efeito desejado seja atingido (KHAN et al., 2014). Neste contexto, a utilização de nanopartículas surge como uma estratégia para proteger essas moléculas da decomposição, permitindo que a liberação seja mais controlada e seu período de ação seja prolongado (SEABRA et al., 2015). As nanopartículas compostas de quitosana representam uma boa opção nestes casos pois são biodegradáveis, apresentam baixa toxicidade e possuem caráter bioestimulante, podendo influenciar positivamente no crescimento e proteção das plantas (PONGPRAYOON et al., 2022).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes doses de óxido nítrico nanoencapsulado em moléculas de quitosana na germinação de sementes de soja, submetidas a três diferentes temperaturas, 20, 25 e 30°C.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Fitotecnia pertencente ao Departamento de Agronomia, localizado nas dependências da Universidade Estadual de Londrina. As sementes de soja utilizadas eram da cultivar BMX Fibra 64I61RSF IPRO. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com esquema fatorial 7x3 (doses x temperaturas).

Inicialmente, o lote de sementes foi caracterizado quanto ao teor de água e o peso de mil sementes. O teor de água foi verificado pelo método da estufa, o qual utiliza 4 amostras de 50 sementes cada, e o resultado é expresso pela fórmula $TA = (W1 - W2) / W1$, sendo que $W1$ é o valor de massa das sementes antes de

serem alocadas na estufa e W2 é o valor de massa das sementes após o processo de secagem. O resultado (TA) é expresso em percentagem. O peso de mil sementes foi obtido através da pesagem de 8 amostras contendo 100 sementes cada, e o resultado foi expresso através da fórmula $PMS = (PA \times 1000) / NS$, onde PMS é o peso das mil sementes, PA é o peso da amostra de trabalho e NS é o número total de sementes.

O tratamento das sementes com óxido nítrico consistiu em utilizar a molécula doadora S-nitrosoglutationa (GSNO) na concentração de 3 mmol L⁻¹ nanoencapsulada em moléculas de quitosana.

As nanocápsulas de quitosana contendo óxido nítrico (GNSO-CS NPs) são sintetizadas como descrito por PELEGRINO, et al. (2017) e adquiridas através de parceria com o Instituto ABC. Dessa forma, 0,5% (p/v) CS e 60 mmol-L⁻¹ de glutathione reduzida (GSH) são misturadas através de agitação em 1% de ácido acético por um período de 90 minutos. Cerca de 1,8 g-L⁻¹ de solução de tripolifosfato (TPP) é adicionado à suspensão CS/GSH, tendo como resultado a relação volumétrica de CS/GSH:TPP de 3:1 (v/v). Essa mistura é agitada durante 45 minutos em temperatura ambiente. Na suspensão, o GSH foi nitrosado adicionando a quantidade equimolar de nitrito de sódio (NaNO₂), e permaneceu em repouso durante uma hora em abrigo da luz, para que ocorra a liberação do óxido nítrico na solução.

Em seguida sementes foram tratadas com 6 diferentes doses do NO nanoencapsulado, sendo elas 0 (apenas água destilada), 300, 600, 900, 1200 e 1500 mMolL⁻¹. Ao todo foram utilizados 7 tratamentos, sendo 6 doses além da testemunha, que consistiu na utilização da semente sem tratamento algum.

Após o tratamento das sementes, elas foram alocadas em diferentes temperaturas. As três temperaturas utilizadas foram: 20 °C (subótima), 25 °C (ótima) e 30 °C (supraótima) e para cada temperatura foi regulada a câmara BOD.

As avaliações realizadas foram: primeira contagem de germinação, teste padrão de germinação, comprimento de parte aérea e de raiz e massa seca de parte aérea e de raiz.

O teste de germinação foi realizado em substratos do tipo papel Germitest®. Foram utilizadas 50 sementes em cada repetição. Os papéis foram umedecidos na proporção de 2,5 vezes a massa do papel seco, e estes foram alocados em câmara de germinação do tipo BOD sob temperatura constante de 20, 25 e 30 °C com fotoperíodo de 12 horas. A avaliação foi feita no oitavo dia, onde foram

avaliadas as plântulas normais, anormais e sementes mortas. Em conjunto com o teste de germinação, no quinto dia, foi realizada a contagem das plântulas normais, que representa a primeira contagem de germinação, que é classificada como uma avaliação de vigor (BRASIL, 2009).

Para a análise de comprimento e massa seca de parte aérea e raiz, 10 sementes foram dispostas no terço superior do rolo de germinação, e seguiu-se as mesmas condições experimentais do teste de germinação, com exceção do fotoperíodo de 12 horas, pois, neste caso, as sementes permanecem no escuro durante os 8 dias. A medição do comprimento foi realizada com o auxílio de régua milimetrada e a massa seca quantificada em balança de precisão após as amostras permanecerem por 3 dias em estufa de ar circulado sob temperatura constante de 65 °C.

Os dados coletados foram submetidos às análises de normalidade e homogeneidade. As médias foram comparadas pelo Teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Foram feitas as regressões polinomiais até 2° grau, retirando o tratamento SA, porém não foi possível estabelecer ajustes representativos e, portanto, não foram apresentados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 1. Primeira contagem de germinação (PCG), plântulas normais (PN), Plântulas anormais (PA) em condição de temperatura subótima (20 °C).

Tratamento	PCG (%)	PN (%)	PA (%)
SA	87,5 a	90,0 a	9,0 b
0	78,0 b	85,0 b	14,5 a
300	86,0 a	87,5 a	12,5 b
600	78,5 b	79,0 b	20,5 a
900	93,5 a	94,0 a	6,0 b
1200	87,5 a	89,0 a	11,0 b
1500	89,5 a	90,5 a	8,5 b
CV%	5,03	4,67	35,54

Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05\%$). CV: coeficiente de variação. SA: Sem água.

Observando a Tabela 1, verifica-se que houve diferença estatística entre as variáveis apresentadas. No caso da primeira contagem de germinação e plântulas normais, as doses de 300, 900, 1200 e 1500 mMolL⁻¹ foram superiores as demais, porém não diferiram da testemunha sem água, impossibilitando de inferir que

houve efeito positivo do óxido nítrico nanoencapsulado. A quantidade de plântulas anormais foi inferior na testemunha e nas doses de 900 e 1500, demonstrando possível toxicidade do óxido nítrico nas demais doses testadas.

Tabela 2. Comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), massa seca de parte aérea (MSPA) e massa seca de raiz (MSR) em condição de temperatura subótima (20 °C).

Tratamento	CPA (cm)	CR (cm)	MSPA (g)	MSR (g)
SA	7,05 b	10,43 a	0,023 b	0,004 c
0	7,70 b	10,90 a	0,020 b	0,009 b
300	4,93 d	9,28 a	0,019 b	0,013 a
600	7,34 b	11,16 a	0,025 a	0,014 a
900	9,00 a	10,60 a	0,027 a	0,010 b
1200	8,00 b	10,90 a	0,026 a	0,010 b
1500	6,31 c	10,25 a	0,024 a	0,014 a
CV%	10,60	8,23	13,68	32,35

Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05\%$). CV: coeficiente de variação. SA: Sem água.

Na Tabela 2 é possível observar que as variáveis comprimento de parte aérea (CPA), massa seca de parte aérea (MSPA) e de raiz (MSR) diferiram estatisticamente entre as doses de óxido nítrico que foram utilizadas. No caso do CPA, a dose de 900 mMolL⁻¹ se mostrou superior aos demais tratamentos, e isso refletiu também em um maior acúmulo de massa seca de parte aérea. Porém, para a variável MSPA as doses de 600 em diante apresentaram comportamento semelhante e positivo, diferindo das testemunhas com e sem água e da dose de 600 mMolL⁻¹. No caso da MSR, as doses de 300, 600 e 1500 mMolL⁻¹ foram consideradas superiores as demais. Na variável comprimento de raiz (CR) os tratamentos não se diferenciaram estatisticamente quando comparados pelo Teste de Scott-Knott.

Tabela 3. Primeira contagem de germinação (PCG), plântulas normais (PN), Plântulas anormais (PA) em condição de temperatura ótima (25 °C).

Tratamento	PCG (%)	PN (%)	PA (%)
SA	80,5 a	94,0 a	6,0 a
0	77,5 a	93,5 a	6,5 a
300	84,5 a	95,5 a	4,5 a
600	76,0 a	92,5 a	7,5 a
900	77,0 a	95,0 a	5,0 a
1200	84,0 a	96,0 a	4,0 a
1500	82,5 a	95,0 a	5,0 a
CV%	7,37	3,76	64,59

Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05\%$). CV: coeficiente de variação. SA: Sem água.

De acordo com a Tabela 3 é possível verificar que não houve diferença estatística entre as doses utilizadas de óxido nítrico nanoencapsulado para as variáveis primeira contagem de germinação (PCG), plântulas normais (PN) e plântulas anormais (PA) em condição de temperatura ótima (25 °C).

Tabela 4. Comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), massa seca de parte aérea (MSPA) e massa seca de raiz (MSR) em condição de temperatura ótima (25 °C).

Tratamento	CPA (cm)	CR (cm)	MSPA (g)	MSR (g)
SA	8,94 a	12,33 a	0,029 a	0,007 a
0	9,37 a	11,85 a	0,022 b	0,005 a
300	7,89 b	11,07 a	0,023 b	0,009 a
600	8,11 b	11,16 a	0,023 b	0,006 a
900	9,28 a	11,35 a	0,021 b	0,005 a
1200	7,35 b	9,64 a	0,022 b	0,006 a
1500	9,33 a	11,62 a	0,024 b	0,009 a
CV%	9,02	9,53	14,68	42,07

Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05\%$). CV: coeficiente de variação. SA: sem água.

Observando a Tabela 2, verifica-se que dentro das variáveis comprimento de parte aérea (CPA) e massa seca de parte aérea (MSPA) houve diferenças estatísticas entre as doses do óxido nítrico nanoencapsulado que foram utilizadas na condição de temperatura ótima (25 °C). No caso do CPA, as doses 0, 900 e 1500 mMOL⁻¹ foram superiores as demais, porém, não diferenciaram da testemunha sem água (SA), sendo assim, inviável determinar qual foi a melhor dose. Além disso, os resultados observados não seguiram um esquema linear entre dose e efeito, o que também impossibilita, neste estudo, verificar até que dose o efeito positivo deixa de se manifestar. Para a variável MSPA, todas as doses utilizadas foram inferiores à testemunha sem água, o que permite inferir que neste caso, os tratamentos não trouxeram benefício, e sim, prejudicaram o acúmulo de massa seca.

As variáveis comprimento de raiz (CR) e massa seca de raiz (MSR) não apresentaram diferenças estatísticas entre as doses utilizadas quando analisadas pelo Teste de Scott-Knott, demonstrando que o óxido nítrico nanoencapsulado não foi capaz de beneficiar nem prejudicar estes parâmetros sob esta temperatura.

Tabela 5. Primeira contagem de germinação (PCG), plântulas normais (PN), Plântulas anormais (PA) em condição de temperatura supraótima (30 °C).

Tratamento	PCG (%)	PN (%)	PA (%)
SA	53,5 a	77,0 a	22,5 a
0	27,5 b	64,0 b	32,5 a

300	39,5 a	84,5 a	12,5 b
600	41,5 a	87,0 a	12,0 b
900	44,0 a	81,5 a	15,0 b
1200	45,5 a	83,5 a	19,0 b
1500	46,5 a	90,0 a	5,5 b
CV%	20,41	6,28	45,71

Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05\%$). CV: coeficiente de variação. SA: sem água.

Observando a Tabela 5 é possível verificar que para as variáveis primeira contagem de germinação (PCG), plântulas normais (PN) e plântula anormais (PA) houve diferença estatística entre os tratamentos utilizados. No caso da PCG, a testemunha com água, ou dose 0 mMOL⁻¹ foi considerada inferior aos demais tratamentos, que não diferenciaram entre si. A quantidade de plântulas normais também foi inferior apenas no tratamento com água. Este mesmo tratamento, juntamente com a testemunha sem água representaram os maiores valores de PA.

Tabela 6. Comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), massa seca de parte aérea (MSPA) e massa seca de raiz (MSR) em condição de temperatura supraótima (30 °C).

Tratamento	CPA (cm)	CR (cm)	MSPA (g)	MSR (g)
SA	8,73 a	12,61 a	0,026 a	0,013 a
0	7,80 a	8,53 b	0,032 a	0,015 a
300	7,51 a	7,81 b	0,024 a	0,012 a
600	8,88 a	12,63 a	0,034 a	0,009 a
900	7,68 a	9,28 b	0,033 a	0,020 a
1200	5,86 a	9,51 b	0,019 a	0,012 a
1500	6,65 a	6,64 b	0,034 a	0,018 a
CV%	18,47	24,00	42,34	79,56

Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05\%$). CV: coeficiente de variação. SA: sem água.

Através da Tabela 6 verifica-se que as variáveis comprimento de parte aérea (CPA), massa seca de parte aérea (MSPA) e de raiz (MSR) não apresentaram diferenças estatísticas entre os tratamentos quando as médias foram comparadas pelo Teste de Scott-Knott. No caso do comprimento de raiz (CR), a dose de 600 mMOL⁻¹ foi considerada superior as demais, porém se igualou no comportamento à testemunha sem água, impossibilitando de confirmar efeito positivo do óxido nítrico nanoencapsulado.

CONCLUSÃO

Não foi possível inferir sobre o efeito possível do NO em temperatura subótima (20°C) porém houve aumento dos parâmetros de massa seca. Sob temperatura ótima (25°C) o tratamento de água com e sem NO foi inferior à testemunha para o parâmetro massa seca de parte aérea. Na condição de temperatura supraótima (30°C) não houve efeito do NO na germinação e desenvolvimento inicial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, J. D.; MAGALHÃES, M. M.; GOULART, P. F. P.; DANTAS, B. F.; GOUVÊIA, J. A.; PURCINO, R. P.; MAGALHÃES, P. C.; FRIES, D. D.; DO LIVRAMENTO, D. E.; MEYER, L. E.; SEIFFERT, M.; SILVEIRA, T. Mecanismos de tolerância da variedade de milho “saracura” (BRS 4154) ao alagamento. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 1, n. 1, p. 41-52, 2002.
- ARIF, M.; JAN, M.; KHAN, U. N.; KHAN, A.; KHAN, M. J.; MUNIR, I. Effect of seed priming on growth parameters of soybean. **Pakistan Journal of Botany**, v. 42, p. 2803-2812, 2010.
- ARTUZO, F. D.; FOGUESATTO, C. R.; SOUZA, Â. R. L. D.; SILVA, L. X. D. Costs management in maize and soybean production. **Revista Brasileira de Gestão de Negócios**, v. 20, n. 2, p. 273-294, 2018.
- BATTISTI, R.; SENTELHAS, P. C.; BOOTE, K. J.; GIL, G. M.; FARIAS, J. R. B.; BASSO, C. J. Assessment of soybean yield with altered water-related genetic improvement traits under climate change in Southern Brazil. **European Journal of Agronomy**, v. 83, p. 1-14, 2017.
- BENÍTEZ-RODRÍGUEZ, L., GAMBOA-DEBUEN, A.; SÁNCHEZ-CORONADO, M. E.; ALVARADO-LÓPEZ, S.; SORIANO, D.; MÉNDEZ, I.; VÁZQUEZ-SANTANA, S.; CARABIAS-LILO, J.; MENDOZA, A.; OROZCO-SEGOVIA, A. Effects of seed burial on germination, protein mobilization and seedling survival in *Dodonaea viscosa*. **Plant Biology**, v. 16, p. 732-739, 2014.
- BETHKE, P. C.; LIBOUREL, I. G. L.; JONES, R. L. Nitric oxide reduces seed dormancy in Arabidopsis. **J. Exp. Bot**, v. 57, p. 517-526, 2006.
- BERGAMASCHI, H.; BERGONCI, J. I. **As plantas e o clima: Princípios e aplicações**. Guaíba: Agrolivros, 2017.
- BÖHM, F. M. L. Z.; FERRARESE, M. L. L.; ZANARDO, D. I. L.; MAGALHÃES, J. R.; FERRARESE-FILHO, O. Nitric oxide affecting root growth, lignification and related enzymes in soybean seedlings. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 32, p. 1039-1046, 2010.
- BOOGAR, A. R.; SALEHI, H.; JOWKAR, A. Exogenous nitric oxide alleviates oxidative damage in turfgrasses under drought stress. **South African Journal of Botany**, v. 92, p. 78-82, 2014.
- BORÉM, A. **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: UFV, 1999. 817p.
- BRASIL. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, 2009.
- BRANDALIZZE, V. Realidade e perspectivas de mercado e comercialização da soja no Brasil e no mundo. *In*: FANCELLI, A. L. **Soja: condicionantes de alta**

produtividade. Piracicaba: USP-ESALQ, p. 1-29, 2017.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção.** Jaboticabal: FUNEP, 2000.

CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. A.; SESTARI, I. **Manual de Fisiologia Vegetal: Fisiologia de Cultivos.** 1ª edição. Piracicaba: Editora Agronômica Ceres, 2008.

CEREZINI, P.; FAGOTTI, D. S. L.; PÍPOLO, A. E.; HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A. Water restriction and physiological traits in soybean genotypes contrasting for nitrogen fixation drought tolerance. **Scientia Agricola**, v. 74, n. 2, p. 110-117, 2017.

CHACON, D. P.; BARAJAS, E. M.; ESTEVA, A. G.; DELGADO, R. L.; SHIBATA, J. K.; VALDIVIA, C. B. P. Biomass remobilization in two common bean (*Phaseolus vulgaris*) cultivars under water restriction. **South African Journal of Botany**, v. 112, p. 79-88, 2017.

CHAVES, M. M.; PEREIRA, J. S.; MAROCO, J.; RODRIGUES, M. L.; RICARDO, C. P. P.; OSÓRIO, M. L.; CARVALHO, I.; FARIA, T.; PINHEIRO, C. How plants cope with stress in the field: photosynthesis and growth. **Annals of Botany**, Oxford, v. 89, p. 907-916, 2002.

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Histórico mensal da soja: Análise mensal – safra 2020/2021:** Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento. 2021.

COONEY, R. V.; HARWOOD, P. J.; CUSTER, L. J.; FRANKE, A. A. Light-mediated conversion of nitrogen dioxide to nitric oxide by carotenoids. **Environ Health Perspect**, v. 5, n. 102, 1994.

CORREA-ARAGUNDE, N.; LOMBARDO, C.; LAMATTINA, L. Nitric oxide: an active nitrogen molecule that modulates cellulose synthesis in tomato roots. **New Phytologist**, 179: 386-396, 2008.

COSTA, N. P.; FERREIRA, L. A. G.; FRANÇA NETO, J. B.; HENNING, A. A.; KRYZYANOWSKI, F. C. Zoneamento ecológico do estado do Paraná para a produção de sementes de cultivares precoces de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 16, n. 1, p. 12-19, 1994.

CULOTTA, E; KOSHLAND, D. E. NO news is good news. **Science**, v. 258, n. 5090, p. 1862-1865, 1992.

DAHAL, P.; BRADFORD, K. J.; JONES, R. A. Effects of priming and endosperm integrity on seed germination rates of tomato genotypes II. **J. Exp. Bot**, v. 41, p. 1441-1453, 1990.

DANTAS, B. F.; ARAGÃO, C. A.; CAVARIANI, C.; NAKAGAWA, J.; RODRIGUES, J. D. Efeito da duração e da temperatura de alagamento na germinação e no vigor de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 22, n. 1, p. 88-96, 2000.

DELLEDONNE, M. NO news is good news for plants. **Current Opinion in Plant Biology**, Verona, v. 8, n. 4, p. 390-396, 2005.

DELLEDONNE, M.; XIA, Y.; DIXON, R. A.; LAMB, C. Nitric oxide functions as a signal in plant disease resistance. **Nature**, v. 394, p. 585–588, 1998.

DONOHUE K.; RUBIO DE CASAS, R; BURGHARDT, L.; KOVACH, K.; WILLIS, C. G. Germination, postgermination adaptation, and species ecological ranges. **Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics**. 41, p. 293-319, 2011.

DOUNIGHI, M. N.; ESKANDARI, R.; AVADI, M.; ZOLFAGHARIAN, H.; MOHAMMAD S. A.; REZAYAT, M. Preparation and in vitro characterization of chitosan nanoparticles containing *Mesobuthus eupeus* scorpion venom as an antigen delivery system. **J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis**, v. 18, n. 1, p. 44-52, 2012.

EDERLI, L.; REALE, L.; MADEO, L.; FERRANTI, F.; GEHRING, C., FORNACIARI, M.; ROMANO, B.; PASQUALINI, S. NO release by nitric oxide donors in vitro and in planta. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 47, p. 42-48, 2009.

FARIAS, J. R. B.; NEPOMUCENO, A. L.; NEUMAIER, N. **Ecofisiologia da soja - Circular Técnica**, n. 9. Londrina: Embrapa Soja, 2007.

FAROOQ, M.; BASRA, S. M. A.; WAHID, A.; REHMAN, H. Exogenously nitric oxide enhances the drought tolerance in fine grain aromatic rice (*Oryza sativa* L.). **Journal Agronomy & Crop Science**, v. 195, p. 254-261, 2009.

FEELISCH, M. The use of nitric oxide donors in pharmacological studies. **NaunynSchmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 358, p. 113-122, 1998.

FEHR, W. R.; CAVINESS, C. E. **Stages of soybean development**. Ames: Iowa State University of Science and Technology, 1977.

FERRAZ, A. K. L. **Óxido nítrico na redução do estresse oxidativo induzido por herbicida em plantas de melão**. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, 2021.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, p. 1039-1042, 2011.

FERREIRA, V. R.; BRITO, C.; TOMAZ, C. A.; BRAVO, J. P. Desempenho produtivo de soja em diferentes manejos de espaçamento e densidade de plantas. **Revista Agrária Acadêmica**, v. 5, n. 2, 2022.

FORD, P. C.; WINK, D. A.; STANBURY, D. M. **Autoxidation kinetics of aqueous nitric oxide**. Federation of European Biochemical Societies, 1993.

FOYER, C. H.; LAM, H-M.; NGUYEN, H. T.; SIDDIQUE, K. H. M.; VARSHNEY, R. V.; COLMER, T. D.; COWLING, W.; BRAMLEY, H.; MORI, T. A.; HODGSON, J. M.; COOPER, J. W.; MILLER, A. J.; KUNERT, K.; VORSTER, J.; CULLIS, C.; OZGA, J. A.; WAHLQVIST, M. L.; LIANG, Y.; SHOU, H.; SHI, K.; YU, J.; FODOR, N.; KAISER,

- B. N.; WONG, F-L.; VALLIYODAN, B.; CONSIDINE, M. J. Neglecting legumes has compromised human health and sustainable food production. **Nature Plants**, v. 2, p. 1-10, 2016.
- FRACETO, L. F.; GRILLO, R.; MEDEIROS, G. A.; SCOGNAMIGLIO, V.; REA, G.; BARTOLUCCI, C. Nanotechnology in Agriculture: Which Innovation Potential Does It Have? **Frontiers in Environmental Science**, v. 4, 2016.
- FRANÇA, M. G. C.; PEDROSA, M. G.; CARVALHO, M. M. L.; MAGALHÃES, J. R.; CORDEIRO, F. C.; SOUZA, S. R. Óxido nítrico em plantas. *In*: FERNANDES, M. S.; SOUZA, S. R.; SANTOS, L. A. **Nutrição Mineral de Plantas**. 2ª edição. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2018, p. 195-226.
- FURLAN, A.; LLANES, A.; LUNA, V.; CASTRO, S. Physiological and biochemical responses to drought stress and subsequent rehydration in the symbiotic association peanut - *Bradyrhizobium* sp. **Agronomy**, n. 318083, 2012.
- GABALDÓN, C., GÓMEZ ROS, L. V., PEDRENO, M. A., ROS BARCELÓ, A. Nitric oxide production by the differentiating xylem of *Zinnia elegans*. **New Phytologist**, v. 165, p. 121-130, 2005.
- GARCÍA-MATA, C.; LAMATTINA, L. Abscisic acid, nitric oxide and stomatal closure is nitrate reductase on of the missing links? **Trends Plants Sci**, v. 8, n. 1, p. 20-26, 2003.
- GHADI, A.; MAHJOUR, S.; TABANDEH, F.; TALEBNIA, F. Synthesis and optimization of chitosan nanoparticles: potential applications in nanomedicine and biomedical engineering. **Casp J Int Med**, v. 5, n. 3, p. 156, 2014.
- GHORMADE, V.; DESHPANDE, M. V.; PAKNIKAR, K. M. Perspectives for nanobiotechnology enabled protection and nutrition of plants. **Biotechnol Adv**, v. 29, p. 792-803, 2011.
- GIBA, Z.; GRUBISC, D.; TODOROVIC, S.; SAJC, L.; STOJAKOVIC, D.; KONJEVIC, R. Effect of nitric oxide-releasing compounds on phytochrome-controlled germination of Empress tree seeds. **Plant Growth Regulation**, 26:175-181, 1998.
- GOMES, A.S., SOUZA, R.O., LERÍPIO, A.A. Produtividade do arroz irrigado em diferentes sistemas de cultivo. *In*: REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 20, 1992, Pelotas. Anais... Pelotas: EMBRAPA-CPACT, 305 p. p.108-112, 1992.
- GRUN, S.; LINDERMAYR, C.; SELL, S.; DURNER, J. Nitric oxide and gene regulation in plants. **J. Exp. Bot**, v. 57, p. 507-516, 2006.
- GUO, F.; OKAMOTO, M; CRAWFORD, N. M. Identification of a plant nitric oxide synthase gene involved in hormonal signaling. **Science**, v. 302, p. 100-103, 2003.
- HARTMAN, G. L.; WEST, E. D.; HERMAN, T. K. Crops that feed the World 2. Soybean – worldwide production, use, and constraints caused by pathogens and pests. **Food Sec**, v. 3, p. 5-17, 2011.

HE, Y.; TANG, R. H.; HAO, Y.; STEVENS, R. D.; COOK, C. W.; AHN, S. M.; JING, L.; YANG, Z.; CHEN, L.; GUO, F.; FIORANI, F.; JACKSON, R. B.; CRAWFORD, N. M.; PEI, Z. M. Nitric oxide represses the Arabidopsis floral transition. **Science**, v. 305, p. 1968-1971, 2004

HEINO, P.; PALVA, E. T. Signal transduction in plant cold acclimation. In: HIRT, H.; SHINOZAKI, K. (eds.) **Plant responses to abiotic stress**, Springer-Verlag, Heidelberg, Berlin, v. 4, cap. 6, p.151-185, 2003.

HIRAKURI, M. H.; LAZAROTTO, J. J. **O agronegócio da soja nos contextos mundial e brasileiro**. Londrina: Embrapa Soja, 2014.

HOCELLA, M. F. JR.; LOWER, S. K.; MAURICE, P. A.; LEE PENN, R.; SAHAI, N.; SPARKS, D. L.; TWINING, B. S. Nanominerals, mineral nanoparticles, and earth systems. **Science**, v. 319, p. 1631-1635, 2008.

HODGES, D. M.; ANDREWS, C. J., JOHNSON, D. A.; HAMILTON, R. I. Antioxidant enzyme responses to chilling stress in differentially sensitive inbred maize lines. **Journal of Experimental Botany, Oxford**, v. 48, n. 310, p. 1105- 1113, 1997.

HU, X.; NEILL, S.J.; TANG, Z.; CAI, G. J. Nitric oxide mediates gravitropic bending in soybean roots. **Plant Physiology**, v. 137, p. 663-670, 2005.

JASID, S.; GALATRO, A.; VILLORDO, J. J.; PUNTARULO, S.; SIMONTACCHI, M. Role of nitric oxide in soybean cotyledon senescence. **Plant Science**, v. 176, p. 662–668, 2009.

JHANJI, S.; SETIA, R. C.; KAUR, N.; KAUR, P.; SETIA, N. Role of nitric oxide in cadmium-induced stress on growth photosynthetic components and yeald of *Brassica napus* L. **J Environ Biol**, v. 6, p. 1027-1032, 2012.

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

KAISER, I. S.; MACHADO, L. C.; LOPES, J. C.; MENGARDA, L. H. C. Efeito de liberadores de óxido nítrico na qualidade fisiológica de sementes de repolho sob salinidade. **Revista Ceres**, v. 1, 2016.

KASHYAP, P. L.; XIANG, X.; HEIDEN, P. Chitosan nanoparticle based delivery systems for sustainable agriculture. **Int J Biol Macromol**, v. 77, p. 36-51, 2015.

KERING, M.K.; ZHANG, B. Effect of priming and seed size on germination and emergence of six food-type soybean varieties. **International Journal of Agronomy**, v. 859212, 2015.

KHAN, M. N.; MOBIN, M.; MOHAMMAD, F.; CORPAS, F. J. **Nitric oxide in plants: metabolism and role in stress physiology**. London: Springer, 2014.

KHOSRAVI, G. R.; ANDERSEN, I. C. Pre-emergence flooding and nitrogen

atmosphere effects on germinating corn inbreds. **Agronomy Journal, Madison**, v. 82, n. 2, p. 495-499, 1990.

KLEPPER, L. Evolution of nitrogen oxide gases from herbicide treated plant issues. **WSSA Abstracts**, v. 184, p. 70, 1975.

KOSHLAND, D. E. The molecule of the year. **Science**, v. 258, p. 1861, dez 1992.

KRUEGER, K.; GOGGI, A. S.; MALLARINO, A. P.; MULLEN, R. E. Phosphorus and Potassium Fertilization Effects on Soybean Seed Quality and Composition. **Crop Science**, v. 53, p. 602-610, 2013.

LAHIVE, F.; HADLEY, P.; DAYMOND, A. J. The impact of elevated CO₂ and water deficit stress on growth and photosynthesis of juvenile cacao (*Theobroma cacao* L.). **Photosynthetica**, p.1-10, 2018.

LAMATTINA, L.; GARCIA-MATA, C.; GRAZIANO, M.; PAGNUSSAT, G. Nitric oxide: the versatility of an extensive signal molecule. **Annual Review of Plant Biology**, v.54, p.109-36, 2003.

LIAO, W. B.; HUANG, G. B.; YU, J. H.; ZHANG, M. L. Nitric oxide and hydrogen peroxide alleviate drought stress in marigold explants and promote its adventitious root development. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 58, p. 6-15, 2012.

LOMBARDO, M. C., GRAZIANO, M., POLACCO J. C.; LAMATTINA, L. Nitric Oxide Functions as a Positive Regulator of Root Hair Development. **Plant Signaling & Behavior**, v. 1, p. 28-33, 2006.

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). **Food Chemistry**, v. 285, p. 10-21, 2019.

MAGALHÃES, J. R.; PEDROSO, M. C.; DURZAN, D. Nitric oxide, and ethylene emission in *Arapdopsis thaliana*. **Physiol Mol Biol Plants**, v. 6, p. 117-127, 2000.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, n.2, p.176-77, 1962.

MARCIANO, D. P. R. O.; RAMOS, F. T.; ALVIN, M. N.; MAGALHÃES, J. R.; FRANÇA, M. G. C. Nitric oxide reduces the stress effects of aluminum on the process of germination and early root growth of rice. **J Plant Nutr Soil Sci**, v. 6, p. 885-891, 2010.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Londrina: ABRATES, 2015.

MARIANI, L.; FERRANTE, A. Agronomic Management for Enhancing Plant Tolerance to Abiotic Stresses - Drought, Salinity, Hypoxia, and Lodging. **Horticulturae**, v. 3, n. 52, 2017.

- MAURICE, N.; PING, C. Y.; MIAOMIAO, Q.; CONSTANTINE, U.; BO, Y.; QI, K. Y. Effects of exogenous nitric oxide on germination and carbohydrates mobilization in alfafa seedlings under cadmium stress. **Int J Sci Env Technol**, v. 5, p. 2237-2350, 2016.
- MICHAEL, B. J.; KIMIHARU, I.; OSAMU, I. Evolution and Mechanisms of Plant Tolerance to Flooding Stress. **Annals of Botany**, v. 103, p. 137-142, 2009.
- MOHAMED, H. I.; LATIF, H. H. Improvement of drought tolerance of soybean plants by using methyl jasmonate. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 23, n. 3, p. 545-556, 2017.
- MÜLLER, L. Taxonomia e morfologia. *In*: MIYASAKA, S.; MEDINA, J. C. **A soja no Brasil**. 1ª ed. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, p. 65-104, 1981.
- MUNDSTOCK, C. M.; THOMAS, A. L. **Soja: fatores que afetam o crescimento e o rendimento de grãos**. Porto Alegre: Evangraf/UFRGS, 2005. 31p.
- NABI, R. B. S.; TAYADE, R.; HUSSAIN, A.; KULKARNI, K. P.; IMRAN, Q. M.; MUN, B.G.; YUN, B-W. Nitric oxide regulates plant responses to drought, salinity, and heavy metal stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 161, p. 120-133, 2019.
- NAGARAJAN, S.; NAGARAJAN, S. Abiotic tolerance and crop improvement. *In*: PAREEK, A.; SOPORY, S. K.; BOHNERT, H. J.; GOVINDJEE (eds.). **Abiotic stress adaptation in plants: Physiological, Molecular and Genomic Foundation**. Springer, Dordrecht, cap. 1, p.1-11, 2010.
- NEILL, S. J.; BARROS, R.; BRIGHT, J.; DESIKAN, R.; HANCOCK, J.; HARRISON, J.; MORRIS, P.; RIBEIRO, D; WILSON, I. Nitric oxide, stomatal closure, and abiotic stress. **Journal of Experimental Botany**, v. 59, p. 165–176, 2008.
- NEUMAIER, N.; NEPOMUCENO, A. L.; FARIAS, J. R. B.; OYA, T. Estádios de desenvolvimento da cultura de soja. *In*: BONATO, E. R. **Estresses em soja**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2000. p. 253.
- 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**, v. 61, p. 10-19, 2016.
- OZ, M. T.; EYIDOGAN, F.; YUCEL, M.; ÖKTEM, H. A. Functional role of nitric oxide under abiotic stress conditions. *In*: KHAN, M. N.; MOBIM, M.; MOHAMMAD, F.; CORPAS, F. J. **Nitric oxide action in abiotic stress responses in plants**. Cham: Springer International Publishig, p. 193-219, 2015.
- PAGNUSSAT, G. C.; LANTERI, M. L.; LAMATTINA, L. Nitric oxide and cyclic GMP are messengers in the indole acetic acid-induced adventitious rooting process. **Plant Physiology**, v. 132, p. 1241-1248, 2003.
- PASCOLI, M.; LOPES-OLIVEIRA, P. J.; FRACETO, L. F.; SEABRA, A. B.;

- OLIVEIRA, H. C. State of the art of polymeric nanoparticles as carrier systems with agricultural applications: a minireview. **Energy Ecol. Environ.**, v. 3, 137-148, 2018.
- PELEGRINO, M. T.; WELLER, R. B.; CHEN, X.; BERNARDES, J. S.; SEABRA, A. B. Chitosan nanoparticles for nitric oxide delivery in human skin. **MedChemComm**, v. 8, n. 4, p. 713-719, 2017.
- PEREIRA, B. L. C.; BORGES, E. E. L.; OLIVEIRA, A. C.; LEITE, H. G.; GONÇALVES, J. F. C. Influência do óxido nítrico na germinação de sementes de *Plathymenia reticulata* Benth com baixo vigor. **Scientia Forestalis**, 38:629-636, 2010.
- PERERA, U.; RAJAPAKSE, N. Chitosan nanoparticles: preparation, characterization, and applications. In: KIM, S. K. **Seafood processing by-products: trends and applications**. Springer, New York, p. 371-387, 2013.
- PESKE, S. T.; VILLELA, F. A.; MENEGHELLO, G. E. **Sementes: Fundamentos Científicos e Tecnológicos**, ed 2. Pelotas, UFPel, p. 573, 2012.
- PIRES, R. M. O.; SOUZA, G. A.; DIAS, D. C. F. S.; OLIVEIRA, L. A.; BORGES, E. E. L. Ação protetora do óxido nítrico em sementes de gergelim submetidas ao estresse hídrico. **Journal of Seed Science**, v. 38, p. 350-357, 2016.
- PONGPRAYOON, W.; SIRINGAM, T.; PANYA, A.; ROYTRAKUL, S. Application of Chitosan in Plant Defense Responses to Biotic and Abiotic Stresses. **Applied Science and Engineering Progress**, v. 15, n. 1, 3865, 2022.
- POPOVA, L.; TRAN, A. T. Nitric oxide in plants: Properties, biosynthesis and physiological functions. **Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science**, v. 34, p. 173-183, 2010.
- PRADO, A. M.; PORTERFIELD, D. M.; FEIJÓ, J. A. Nitric oxide is involved in growth regulation and re-orientation of pollen tubes. **Development**, v. 131, p. 2707-2714, 2004.
- PRASAD, R.; BHATTACHARYYA, A.; NGUYEN, Q. D. Nanotechnology in Sustainable Agriculture: Recent Developments, Challenges and Perspectives. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. 1014, 2017.
- PROM-U-TAY, C.; RERKARSEM, B.; YAZICI, A.; CAKMAK, I. Zinc priming promotes seed germination and seedling vigor of rice. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 175, p. 482-488, 2012.
- RAVISHANKAR, RAI, V.; JAMUNA, BAI, A. Nanoparticles and their potential application as antimicrobials, science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances. In: MÉNDEZ-VILAS, A. **Microbiology Series**, v. 1, n. 3, p. 197-209, 2011.
- REGO, S. S.; FERREIRA, M. M.; NOGUEIRA, A. C.; GROSSI, F.; SOUSA, R. K. DE.; BRONDANI, G. E.; ARAUJO, M. A.; SILVA, A. L. L. DA. Estresse hídrico e salino na germinação de sementes de *Anadenanthera colubrina* (Veloso) Brenan.

Journal of Biotechnology and Biodiversity, v. 2, p. 37-42, 2011.

RITCHIE, S. W.; HANWAY, J. J.; THOMPSON, H. E.; BENSON, G. O. **How a soybean plant develops**. Ames: Iowa State University of Science and Technology, 1977.

RODRIGUES, J. A. P.; CAMPANTE, P.; BARRETO, M. A lei de proteção de cultivares e a sua importância para a pesquisa e desenvolvimento de novas variedades vegetais. **Anuário Brasileiro de Sementes**, Brasília, DF, p. 12-17, 2017.

RUELLAND, E.; ZACHOWSKI, A. **How plants sense temperature**. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 69, p. 225-232, 2010.

SALISBURY, F. B., ROSS, C. W. **Plant physiology**. 4^a ed. California: Wadsworth, 1992. 682p.

SANTOS, M. G.; RIBEIRO, R. V.; OLIVEIRA, R. F.; MACHADO, E. C.; PIMENTEL, C. The role of inorganic phosphate on photosynthesis recovery of common bean after a mild drought deficit. **Plant Science**, v. 170, p. 659-664, 2006.

SANZ, L.; ALBERTOS, P.; MATEOS, I.; SÁNCHEZ-VICENTE, I.; LECHÓN, T.; FERNÁNDEZ-MARCOS, M.; LORENZO, O. Nitric oxide (NO) and phytohormones crosstalk during early plant development. **Journal of Experimental Botany**, 66:2857-2868, 2015.

SEABRA, A. B.; DURÁN, N. Nitric oxide-releasing vehicles for biomedical applications. **J. Mater. Chem.**, v. 20, p. 1624-1637, 2010.

SEABRA, A. B.; JUSTO, G. Z.; HADDAD, P. S. State of the art, challenges and perspectives in the design of nitric oxide-releasing polymeric nanomaterials for biomedical applications. **Biotechnol. Adv.**, v. 33, p. 1370-1379, 2015.

SEABRA, A. B.; FABBRI, G. K.; PELEGRINO, M. T.; SILVA, L. C.; RODRIGUES, T. Synthesis, characterization and cytotoxicity of S-nitroso-mercaptosuccinic acid-containing alginate/chitosan nanoparticles. **Journal of Physics: Conference Series**. IOP Publishing. 838 (1), 2017.

SENTELHAS, P. C.; BATTISTI, R.; CÂMARA, G. M. S.; FARIAS, J. R. B.; HAMPF, A.; NENDEL, C. The soybean yield gap in Brazil - magnitude, causes and possible solutions for a sustainable production. **Journal of Agricultural Science**, v. 153, n. 8, p. 1394-1411, 2015.

SIEBEN, A.; MACHADO, C. A. Histórico e contextualização sócio-econômica e ambiental da soja (*Glycyne max*) no Brasil. **GeoAmbiente**, Jataí, v. 7, p. 71-88, jul-dez, 2006.

SHAHEEN, T.; RAHMAN, M.; SHAHID RIAZ, S. M.; ZAFAR, Y.; RAHMAN, M. Soybean production, abiotic and biotic Stresses in: **Soybean Production**, v.1, p. 177-196, 2016.

SIGNORELLI, S.; CONSIDINE, M. J. Nitric oxide enables germination by a four-pronged attack on ABA-induced seed dormancy. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, 2018.

SILVA, T. A.; SILVA, P. B.; SILVA, E. A. A.; NAKAGAWA, J.; CAVARIANI, C. Condicionamento fisiológico de sementes de soja, componentes de produção e produtividade. **Ciência Rural**, v. 46, p. 227-232, 2016.

SILVEIRA, N. M.; FRUNGILLO, L.; MARCOS, F. C.; PELEGRINO, M. T.; MIRANDA, M. T.; SEABRA, A. B.; RIBEIRO, R. V. Exogenous nitric oxide improves sugarcane growth and photosynthesis under water deficit. **Planta**, 244 (1), p. 181-190, 2016.

SLOVÁKOVÁ, L.; MATUSÍKOVÁ, J. S.; HUDÁK, J. Effect os low temperatures on the structure of plant cells: Structural, Biochemical and Molecular Aspects. **Handbook of Plant and Crop Stress**. CRC Press, Boca Raton, 3ª ed., p. 1193, 2011.

SOKOLOVSKI, S.; HILLS, A.; GAY, R.; GARCIA-MATA, C.; LAMATTINA, L.; BLATT, M. R. Protein phosphorylation is a prerequisite for intracellular Ca^{2+} release and ion channel control by nitric oxide and abscisic acid in guard cells. **The Plant Journal**, v. 43, p. 520-529, 2005.

SONG, J.; SHI, G.; XING, S.; CHEN, M.; WANG, B. Effects of nitric oxide and nitrogen on seedling emergence, ion accumulation, and seedling growth under salinity in the euhalophyte *Suaeda salsa*. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, 172:544-549, 2009.

SONG, L.; DING, W.; ZHAO, M.; SUN, B.; ZHANG, L. Nitric oxide protects against oxidative stress under heat stress in the calluses from two ecotypes of reed. **Plant Sci**, v. 4, p. 449-458, 2006.

STORRS, H. J. **Nanofuture: What's Next for Nanotechnology?** Amherst, NY, USA: Prometheus Books, 2009.

SUNG, D. Y.; KAPLAN, F.; LEE, K. J.; GUY, C. L. Acquired tolerance to temperature extremes. **Trends in Plant Science**, Netherlands, v. 8, n. 4, p.179-187, 2003.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6ª ed. Porto Alegre, Rio Grande do Sul: ARTMED, 2017.

TEKRONY, D. M.; EGLI, D. B. Relationship of seed vigor to crop yield: a review. **Crop Science**, v. 31, p. 816-822, 1991.

TEWARI, R.K.; KIM, S.Y.; HAHN, E. J.; PAEK, K. Y. Involvement of nitric oxideinduced NADPH oxidase in adventitious root growth and antioxidant defense in *Panax ginseng*. **Plant Biotechnology Reports**, v. 2, 113-122, 2008.

THAKUR, P.; KUMAR, S.; MALIK, J. A.; BERGER, J. D.; NAYYAR, H. Cold stress effects on reproductive development in grain crops: An overview. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 67, p. 429-443, 2010.

THEILIG, F.; BOSTANJOGLO, M.; PAVENDÄST, H.; GRUPP, C.; HOLLAND, G.; SLOSAREK, I.; GRESSNER, A. M.; RUSSWURM, M.; KOESLING, D.; BACHMANN, S. Cellular distribution and function of soluble guanylyl cyclase in rat kidney and liver. **J Am Soc Nephrol**, v. 12, p. 2209-2220, 2001.

THOMAS, A. L.; LANGE, C. E. **Soja em solos de várzea do Sul do Brasil**. 1ª ed. Porto Alegre: Evangraf, 2014. 128 p.

UCHIDA, A.; JAGENDORF, A. T.; HIBINO, T.; TAKABE, T.; TAKABE, T. Effects of hydrogen peroxide and nitric oxide on both salt and heat stress tolerance in rice. **Plant Sci**, v. 3, p. 515-523, 2002.

UMBREEN. S.; LUBEGA, J.; CUI, B.; PAN. Q.; JIANG, J.; LOAKE, G. J. Specificity in nitric oxide signaling. **Journal of Experimental Botany**, v. 69, p. 3439-3448. 2018.

VERNETTI, F. J.; GASTAL, M. F. C. **Descrição botânica da soja**. Pelotas: Embrapa, 1979.

VERNETTI, F.J. Genética da soja; características qualitativas. *In*: VERNETTI, F.J. Ed. **Soja: genética e melhoramento**. Campinas: Fundação Cargill, 1983. p.93-124.

VILLELA, 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**, v. 26, p. 1957-1968, 1991

WANG, Y.; LOAKE, G. J.; CHU, C. Cross-talk of nitric oxide and reactive oxygen species in plant programmed cell death. **Front Plant Sci**, v. 4, p. 314, 2013.

YAMAMOTO, T.; BING, R. J. Nitric oxide donors. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 225, p. 200-206, 2000.

YAMASAKI, H.; SAKIHAMA, Y.; TAKAHASHI, S. An alternative pathway for nitric oxide production in plants: new features of an old enzyme. **Trends in Plant Science**, v. 4, P. 128-129, 1999.

ZANON, A. J.; WINCK, J. E. M.; STRECK, N. A.; ROCHA, T. S. M.; CERA, J. C.; RICHTER, G. L.; LAGO, I.; SANTOS, P. M.; MACIEL, L. R.; GUEDES, J. V. C.; MARCHESAN, E. Desenvolvimento de cultivares de soja em função do grupo de maturação e tipo de crescimento em terras altas e terras baixas. **Bragantia**, v. 74, n. 4, p. 400-411, 2015.

ZANON, A. J.; SILVA, M. R.; TAGLIAPIETRA, E. L.; CERA, J. C.; BEXAIRA, K. P.; RICHTER, G. L.; DUARTE, A. J.; ROCHA, T. S. M.; WEBER, P. S.; STRECK, N. A. **Ecofisiologia da Soja Visando Altas Produtividades**, ed 1. Santa Maria: Santa Maria: Palloti/SM, v.1, p. 136, 2018.

ZHANG, H.; SHEN, W. B.; XU, L. L. Effects of nitric oxide on the germination of wheat seeds and its reactive oxygen species metabolisms under osmotic stress. **Acta Botanica Sinica**, v. 45, p. 901-905,

2003.

ZHANG, M.; DONG, J. F.; JIN, H. H.; SUN, L. X.; XU, M. J. Ultraviolet-B-induced flavonoid accumulation in *Betula pendula* leaves is dependent upon nitrate reductase-mediated nitric oxide signaling. **Three Physiol**, v. 8, p. 788-807, 2011.

ZHANG, Z.; NAUGHTON, D.; WINYARD, P. G.; BENJAMIN, N.; BLAKE, D. R.; SYMONS, M. C. Generation of nitric oxide (NO) by a nitrite reductase activity of xanthine oxidase: a potential pathway for NO formation in the absence of NO synthase activity. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 24, p. 767-772, 1998.

ZHAO, L. M.; SHI, L. E.; ZHANG, Z. L.; CHEN, J. M.; SHI, D. D.; YANG, J.; TANG, Z., X. Preparation and application of chitosan nanoparticles and nanofibers. **Braz J Chem Eng**, v. 28, n. 3, p. 353-362, 2011.

ZHAO, M. G.; CHEN, L.; ZHANG, L.; ZHANG, W. Nitric reductase dependent nitric oxide production is involved in cold acclimation and freezing tolerance in *Arapdopsis*. **Plant Physiol**, v. 2, p. 755-767, 2009.

ZHAO, M. G.; TIAN, Q. Y.; ZHANG, W. H. Nitric oxide synthase dependent nitric oxide production is associated with salt tolerance in *Arapdopsis*. **Plant Physiol**, v. 1, p. 206-217, 2007.

ZIMMER-PRADOS, L. M.; MOREIRA, A. S. F. P.; MAGALHÃES, J. R.; FRANÇA, M. G. C. Nitric oxide increases tolerance responses to moderate water deficit in leaves of *Phaseolus vulgaris* and *Vigna unguiculata* bean species. **Physio Mol Bio Plants**, v. 3, p. 295-301, 2014.

ZINN, K. E.; TUNC-OZDEMIR, M.; HARPER, J. F. Temperature stress and plant sexual reproduction: Uncovering the weakest links. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 61, n. 7, p. 1959-1968, 2010.