

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

NAYARA CLARETE DA PENHA

**EFEITO DO *PRIMING* COM ÓXIDO NÍTRICO NO DESENVOLVIMENTO INICIAL
DE UM HÍBRIDO DE MILHO SENSÍVEL À SECA, EM COMPARAÇÃO À UM
HÍBRIDO TOLERANTE**

Alfenas/MG

2022

NAYARA CLARETE DA PENHA

**EFEITO DO *PRIMING* COM ÓXIDO NÍTRICO NO DESENVOLVIMENTO INICIAL
DE UM HÍBRIDO DE MILHO SENSÍVEL À SECA, EM COMPARAÇÃO À UM
HÍBRIDO TOLERANTE**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Ciências Ambientais.

Orientador: Prof. Dr. Plínio Rodrigues dos Santos Filho
Coorientador: Prof. Dr. Thiago Corrêa de Souza

Alfenas/MG

2022

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central

Penha, Nayara Clarete da.

Efeito do priming com óxido nítrico no desenvolvimento inicial de um híbrido de milho sensível à seca, em comparação à um híbrido tolerante /
Nayara Clarete da Penha. - Alfenas, MG, 2022.

47 f. : il. -

Orientador(a): Plínio Rodrigues dos Santos Filho.

Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2022.

Bibliografia.

1. Déficit hídrico. 2. Óxido nítrico. 3. Priming de sementes. 4. Fluorescência da clorofila. 5. Zea mays. I. Santos Filho, Plínio Rodrigues dos, orient. II. Título.

NAYARA CLARETE DA PENHA

**EFEITO DO *PRIMING* COM ÓXIDO NÍTRICO NO DESENVOLVIMENTO INICIAL
DE UM HÍBRIDO DE MILHO SENSÍVEL À SECA, EM COMPARAÇÃO À UM
HÍBRIDO TOLERANTE**

A Banca examinadora abaixo-assinada, aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Ciências Ambientais.

Aprovada em: 24 de fevereiro de 2022

Prof. Dr. Plinio Rodrigues dos Santos filho
Universidade Federal de Alfenas

Assinatura: 

Prof. Dr. Breno Régis Santos
Universidade Federal de Alfenas

Assinatura: 

Dr.^a Marina de Lima Nogueira
Universidade de São Paulo, Campus Luiz de Queiroz

Assinatura: 

Ao meu pai Divino Francisco da Penha, que eu sei que continua olhando e torcendo sempre por mim.

Dedico!

AGRADECIMENTOS

À Deus, por sempre me amparar nos momentos difíceis e sempre direcionar meus caminhos.

À minha mãe Maria Lázara, meu exemplo de bondade e perseverança, por não medir esforços para me ver feliz e realizada. Você foi minha melhor professora, esse título é nosso.

Ao meu pai Divino Francisco, por me incentivar a continuar estudando e se orgulhar de mim.

À minha irmã e melhor amiga Gilmara, por tornar meus dias mais leves e divertidos, além de me auxiliar em análises no laboratório.

Ao meu orientador Plínio, por sempre me incentivar e acreditar que eu conseguiria, estando sempre disponível para me auxiliar.

Ao meu coorientador Thiago pelo estímulo e esclarecimento das dúvidas sobre metodologias que surgiam.

Ao meu gato Tigrinho, meu maior presente de Alfenas, por aparecer no momento exato para tornar minha vida mais feliz.

A doutora Kamila Dázio e seu orientado Wellington, pela gentileza de me auxiliarem com as análises de fluorescência da clorofila.

A colega de doutorado Giovana, por me acompanhar em várias etapas dos experimentos.

Ao casal de amigos Rafaela e Gabriel, por estarem comigo nessa jornada em Alfenas.

Aos funcionários dos Laboratórios de Bioquímica e Biotecnologia Ambiental e Genotoxicidade (Biogen).

À pesquisadora Neidiquele do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), pelo auxílio com as análises feitas através do sistema WinRHIZO.

À Embrapa Milho e Sorgo pela concessão das sementes de milho.

À FAPEMIG pela concessão da bolsa de mestrado.

À Capes pelo suporte financeiro ao PPGCA e aos projetos. O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.

À UNIFAL pelo suporte e infraestrutura.

Muito obrigada!

RESUMO

A escassez de água é um dos principais fatores abióticos limitantes da produtividade na cultura do milho (*Zea mays* L.). O déficit hídrico é um dos principais agentes responsáveis pela diminuição da produção de milho, reduzindo o crescimento e o desenvolvimento das plantas. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi verificar o papel do *priming* com óxido nítrico no aumento da tolerância ao déficit hídrico de plântulas de um híbrido de milho sensível à seca. Para estabelecimento do *priming*, as sementes do híbrido BRS 1010 foram submetidas à tratamentos com diferentes concentrações de S-nitrosoglutationa (GSNO) (0, 50 e 100 μM), e posteriormente plantadas em caixas plásticas do tipo *gerbox*. Para indução do déficit hídrico, o substrato areia foi umedecido com solução de manitol a 1 MPa, utilizando-se 73,597 gramas de manitol por litro de água destilada. Após dez dias de cultivo em BOD, avaliou se parâmetros de emergência, crescimento, atividade fotossintética e morfologia radicular. O *priming* de sementes foi positivo para o crescimento das plântulas e produção de massa de parte aérea e radicular, na concentração de 100 μM . Com relação às avaliações fotossintéticas, para o *quenching* fotoquímico e não fotoquímico, novamente a concentração de 100 μM ocasionou uma melhoria da eficiência fotossintética das plântulas expostas à condição adversa. Os demais parâmetros fotossintéticos não apresentaram alterações devido ao estresse hídrico e aplicação de GSNO, assim como para as análises morfológicas radiculares em geral. Portanto, pode se concluir que a concentração de 100 μM foi a mais eficaz para atuar alguns efeitos do estresse hídrico no híbrido BRS, sendo recomendada a utilização do *priming* nesta concentração.

Palavras-chave: déficit hídrico; óxido nítrico; *priming* de sementes; fluorescência da clorofila; *Zea mays*.

ABSTRACT

Water scarcity is one of the main abiotic factors limiting productivity in corn (*Zea mays* L.). Water deficit is one of the main agents responsible for the decrease in corn production, reducing the growth and development of plants. Therefore, the objective of this work was to verify the role of priming with nitric oxide in increasing the tolerance to water deficit of seedlings of a corn hybrid sensitive to drought. To establish the priming, the seeds of the hybrid BRS 1010 were submitted to treatments with different concentrations of S nitrosoglutathione (GSNO) (0, 50 and 100 μM), and later planted in plastic gerbox boxes. To induce water deficit, the sand substrate was moistened with a 1 MPa mannitol solution, using 73.597 grams of mannitol per liter of distilled water. After ten days of cultivation in BOD, parameters of emergence, growth, photosynthetic activity and root morphology were evaluated. Seed priming was positive for seedling growth and shoot and root mass production at a concentration of 100 μM . Regarding the photosynthetic evaluations, for the photochemical and non-photochemical quenching, again the concentration of 100 μM caused an improvement in the photosynthetic efficiency of the seedlings exposed to the adverse condition. The other photosynthetic parameters showed no changes due to water stress and GSNO application, as well as for root morphological analysis in general. Therefore, it can be concluded that the concentration of 100 μM was the most effective to act on some effects of water stress in the BRS hybrid, and the use of priming at this concentration is recommended.

Keywords: water deficit; nitric oxide; seed priming; chlorophyll fluorescence; *Zea mays*.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	8
1.1	OBJETIVOS.....	10
1.1.1	Objetivo Geral.....	10
1.1.2	Objetivos Específicos.....	10
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	11
2.1	CULTURA DO MILHO.....	11
2.2	DÉFICIT HÍDRICO.....	12
2.3	<i>PRIMING</i> DE SEMENTES.....	13
2.4	ÓXIDO NÍTRICO.....	14
2.5	FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA.....	15
2.6	MORFOLOGIA RADICULAR.....	16
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	18
3.1	<i>PRIMING</i> DAS SEMENTES E CONDIÇÕES DE CULTIVO.....	18
3.2	AVALIAÇÕES DO CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO DA PARTE AÉREA E RAÍZES.....	19
3.3	FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA.....	19
3.4	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	20
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
5	CONCLUSÃO.....	37
	REFERÊNCIAS.....	38

1 INTRODUÇÃO

A seca é uma das principais causas da diminuição do rendimento da produção agrícola. Além de alterações climáticas, o alto custo da implantação de um sistema de irrigação é um dos fatores que podem afetar os problemas causados pela falta de água nas plantas. O déficit hídrico também é um dos principais agentes responsáveis pela diminuição da produção de milho, afetando as relações hídricas das plantas, reduzindo o crescimento e o desenvolvimento. A redução na produtividade de grãos pode ser muito severa, chegando até a perda total da produção (SALES *et al.*, 2016; PATERNIANI, 2019).

Melhorar o rendimento da safra sob estresse hídrico é um dos principais objetivos do melhoramento genético. Diversos genes de resistência à seca foram encontrados nos últimos anos, porém o deslocamento desse conhecimento do laboratório para a produção em campo continua sendo um desafio considerável. Recentemente, algumas novas estratégias se tornaram fontes de pesquisa devido às suas vantagens de baixo custo, conveniência, adaptação em campo e baixos danos ambientais (ZHANG; SUN; DAI, 2021).

O estágio de plântula é determinante para o estabelecimento da lavoura de milho, para que se obtenha o estande de plantas adequado e maior produção. O déficit hídrico durante a germinação pode levar à inibição da protusão radicular e emergência (TEJEDA, 2019; KAYA *et al.*, 2006). O *priming* de sementes consiste na hidratação controlada da semente, realizada a um nível onde as atividades metabólicas relacionadas à germinação começam, mas a protrusão radicular não ocorre (FAROOQ *et al.*, 2006b). Este pré-tratamento pode melhorar a tolerância das plantas contra estresses abióticos por meio de germinação aprimorada e acelerada (CHEN; ARORA 2013).

A realização do *priming* de sementes estimula os processos metabólicos de pré-germinação de sementes e uso de reservas. Além disso, aumenta a atividade do sistema antioxidante e a reparação das membranas. Essas alterações melhoram o vigor das sementes durante a germinação e emergência sob estresse, alterando a porcentagem, uniformidade e velocidade do processo germinativo (IBRAHIM, 2016; FAROOQ *et al.*, 2006a; MACDONALD *et al.*, 2009). Isso faz com que haja redução do tempo de exposição das sementes a condições desfavoráveis, como ataques de microrganismos e a escassez de água (MARCOS FILHO, 2015).

Durante o estresse hídrico, as plantas adotam mecanismos para se adaptarem e suportarem maiores períodos de seca. Porém compostos e fatores endógenos, como enzimas antioxidantes, muitas vezes não são suficientes para evitar danos aos tecidos. Por isso, atualmente há um grande interesse nas pesquisas relacionadas a resposta bioquímica e molecular de espécies vegetais a várias condições de estresse abiótico, assim como a identificação de moléculas associadas à resposta a esses estresses (ROYCHOUDHURY, 2017; RADY *et al.*, 2020).

O óxido nítrico (NO) é uma molécula sinalizadora redox pequena e muito importante, que nos vegetais está envolvida em um vasto número de processos fisiológicos. O NO está associado ao crescimento, germinação, fotossíntese, senescência foliar, dentre outros, podendo ser benéfico, prejudicial ou insignificante para as plantas de uma forma dependente da dose (NABI *et al.*, 2019). A aplicação exógena de óxido nítrico em concentrações mais baixas promove a germinação das sementes, alongamento do hipocótilo, desenvolvimento do pólen, floração e atraso da senescência (SAMI *et al.*, 2018).

A S-nitrosoglutationa é formada pela reação de NO com glutatona na presença de oxigênio, sendo uma reserva móvel útil de NO bioativo com maior meia-vida em células vegetais, além de decomposição espontânea. Esta forma de armazenamento e transporte de NO é importante para sua ação sinalizadora, realizando transferências do mesmo para proteínas (CORPAS *et al.* 2019; LANCASTER, 2017; LINDERMAYR, 2018).

Embora a aplicação de doadores de NO exógeno possa ser um procedimento mais rápido e barato, é fundamental a avaliação de qual doador seria o mais eficaz para a cultura de interesse (concentração, tempo de exposição e forma de aplicação), além de que o composto selecionado deve ser ecologicamente correto (BHAT; AHMAD; CORPAS, 2021). Como exemplo de doador de NO que apresenta toxicidade, tem-se o nitroprussiato de sódio, que pode ocasionar a liberação de cianeto após sua redução e decomposição, causando toxicidade celular (WANG *et al.*, 2002).

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Verificar o papel do *priming* com óxido nítrico no aumento da tolerância ao déficit hídrico em plântulas de um híbrido de milho sensível à seca.

1.1.2 Objetivos específicos

- a) Verificar se houve aumento do crescimento das plantas devido a aplicação dos tratamentos e melhora no resultado de parâmetros fotossintéticos e de morfologia radicular;
- b) determinar quais concentrações utilizadas de óxido nítrico são mais eficientes na indução da tolerância ao déficit hídrico;
- c) constatar se a possível tolerância induzida no milho sensível pode ser comparada à presente no híbrido DKB 390 tolerante.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 CULTURA DO MILHO

O milho (*Zea mays* L.) é uma gramínea pertencente à família Poaceae (antiga Gramineae), originária da América Central ou México. É uma das culturas mais amplamente cultivadas no mundo, por possuir uma diversidade de genótipos que possibilita grande adaptabilidade a climas tropicais, subtropicais e temperados (DUARTE *et al.*, 2016; YANG; YAN, 2021). Esta cultura desempenha um papel significativo em diversos segmentos econômicos, como para consumo na alimentação de animais e produção do combustível etanol. Assim, a produção de milho ao longo do tempo tem aumentado continuamente com os avanços da tecnologia e elevada demanda (XU; ZHANG, 2021).

Nas últimas 20 safras, a produção mundial de milho quase dobrou: em 2000/2001 foi de 601,7 milhões de toneladas e na safra 2019/20, estima-se um montante de 1,1 bilhão de toneladas do cereal produzido mundialmente. Os principais consumidores do grão são Estados Unidos, China, União Europeia e Brasil, que juntos são responsáveis por 65,15% da demanda da produção mundial. Estados Unidos, China, Brasil e União Europeia também são os principais produtores mundiais (CONAB, 2019).

O Brasil encontra-se consolidado como 3º maior produtor de milho no mundo e 2º maior exportador. O país também tem um alto consumo interno do cereal, devido ao fato de ser um dos principais produtores mundiais de proteína animal. Ao longo dos anos a dinâmica da cadeia produtiva do milho mudou substancialmente no país, já que o grão deixou de ser apenas um produto destinado à alimentação animal, e passou a ser uma commodity exportável. Além disso, o milho firmou-se como uma matriz energética na produção de etanol (CONAB, 2018).

Na safra 2021/22 espera-se um aumento de 4% da área plantada e 34% da produção de milho. A probabilidade de preços elevados em 2022 deverá estimular o plantio de milho para este ciclo. A expectativa média de produtividade é de 5,62 mil quilos por hectare para a produção total. Há a probabilidade de aumento de 93% dos estoques de passagem ao fim da safra, porém este valor é inferior à média das últimas cinco safras. O consumo deste cereal deverá aumentar 4% em função da

expansão do consumo de milho para a produção de etanol e busca de cereais para alimentação animal (CONAB, 2021).

2.2 DÉFICIT HÍDRICO

O milho é cultivado em praticamente todos os estados brasileiros. Graças aos programas de melhoramento genético, as plantas de milho geralmente apresentam bom desempenho sob diferentes condições climáticas. Porém, a interferência de diversos estresses abióticos durante o seu cultivo, como a escassez na disponibilidade de água, acaba ocasionando perdas significativas no rendimento da produção (MARQUES, 2019).

Mundialmente, a falta de água é responsável pelas maiores perdas de produtividade das culturas de maior importância econômica. O efeito deste estresse ocasionado pela falta de água é complexo, porque as plantas estão expostas a outros fatores de estresse, que não o déficit hídrico. Na maior parte das regiões produtoras de milho, as plantas estão expostas também a altos níveis de irradiação e à alta temperatura do ar, que causam um aumento da evapotranspiração, agravando as consequências da escassez de água nos tecidos vegetais (SOUZA; BARBOSA, 2015).

A cultura do milho é mais sensível à condição de estresse hídrico nos períodos de pré--antese e enchimento de grãos, porém no estágio de plântula os danos podem ser severos e irreversíveis. Esse estágio é determinante para o estabelecimento da lavoura, para que se obtenha o número de plantas desejado, buscando a máxima produtividade (TEJEDA, 2019). O déficit de água durante a fase de germinação pode causar o declínio ou mesmo a total inibição da protusão radicular e emergência das plântulas (KAYA *et al.*, 2006).

O conteúdo de água no solo é muito importante para determinação da taxa de crescimento das raízes do milho. A quantidade de água disponível auxilia a turgidez das células radiculares e promove a expansão celular, podendo atuar ainda na lubrificação entre a coifa e as partículas do solo, permitindo maior crescimento e melhor penetração radicular (BARBER *et al.*, 1988). A diminuição da porcentagem de água no solo em níveis que ocasionam estresse, causa a diminuição do volume celular, inibição de enzimas que atuam no ciclo de Calvin, danifica o aparelho fotossintético das plantas e reduz a assimilação de carbono (PORCEL *et al.*, 2015).

A radiação em plantas com inibição das enzimas do ciclo de Calvin, devido à falta de água, causa excesso de energia no complexo antena de fotossistemas, um processo pelo qual as clorofilas recebem uma grande quantidade de energia e pigmentos fotoprotetores, como carotenoides e xantofilas. Assim, a energia fotoquímica não é dissipada na forma de calor, mas sim como oxigênio, formando espécies reativas de oxigênio. O estresse oxidativo causado por estas moléculas produzidas em grandes quantidades, pode acarretar a morte de plantas (CHOUDHURY *et al.*, 2016).

2.3 PRIMING DE SEMENTES

Este processo consiste em um tratamento de pré semeadura em que as sementes são hidratadas em água, uma solução osmótica, água ou solução osmótica com aditivos, ou ainda através do contato com um transportador sólido umedecido, para iniciar o processo de germinação. Este processo é interrompido antes da emergência da radícula e as sementes são geralmente secas para posterior *manuseio* e armazenamento (PAPARELLA *et al.*, 2015; FAROOQ *et al.*, 2019). A classificação do *priming* depende de seus agentes. Os mais comumente utilizados são *hidropriming*, *osmopriming* e *halopriming* (NAWAZ, J. *et al.*, 2013).

Esta técnica estimula os processos metabólicos de pré--germinação e prepara a semente para que ocorra a protrusão da raiz. Além disso, aumenta a atividade do sistema antioxidante e a reparação das membranas. Essas alterações promovem o vigor das sementes durante a germinação e emergência sob estresse (IBRAHIM, 2016). O condicionamento fisiológico das sementes contribui para o aumento da taxa de germinação, do percentual, uniformidade e velocidade de germinação das sementes (FAROOQ *et al.*, 2006a).

A realização do *priming* de sementes propicia o uso de reservas e a síntese de metabólitos necessários à germinação (MACDONALD *et al.*, 2009). O processo de hidratação controlada ainda propicia a ativação dos processos metabólicos de germinação, favorecendo a uniformização, conseqüentemente melhorando o desempenho das plantas no campo, fazendo com que o processo germinativo seja mais rápido. Isso faz com que haja redução do tempo de exposição das sementes a condições desfavoráveis, como ataques de microrganismos e déficit hídrico, entre outros (MARCOS FILHO, 2015).

Entre as várias estratégias adotadas para melhorar a tolerância à seca das plantas, acredita-se que o *priming* de sementes seja uma abordagem de fácil aplicação, baixo custo e eficácia (ASHRAF; FOOLAD, 2005). No *priming* de sementes com nutrientes, as sementes são embebidas em solução nutritiva, com o intuito de aumentar o conteúdo de nutrientes da semente, para que o efeito do condicionamento melhore a germinação e estabelecimento das plântulas (IMRAN; BOELT; MÜHLING, 2018).

2.4 ÓXIDO NÍTRICO

O óxido nítrico é uma importante molécula sinalizadora, que está relacionada a vários processos bioquímicos e fisiológicos que ocorrem em plantas que se encontram em situações de estresse, como o déficit hídrico (SILVEIRA *et al.*, 2017a). Dentre estes processos, pode-se citar a germinação, crescimento radicular, fechamento estomático e resposta ao estresse biótico e abiótico (LINDERMAYR, 2018). Embora a tolerância a seca relacionada ao NO esteja estreitamente ligada à sua capacidade de diminuir a abertura estomática e o estresse oxidativo, ela também pode afetar outros processos fisiológicos, como fotossíntese e acúmulo de prolina (SANTISREE; BHATNAGAR-MATHUR; SHARMA, 2015).

Duas enzimas significativas na síntese de NO nos vegetais são a óxido nítrico sintase (NOS) e nitrato redutase (NR). Segundo descobertas atuais, o envolvimento da NR na síntese do NO parece ser indireto. Além disso, pesquisas em nível subcelular mostraram que a mitocôndria, o peroxissomo e o cloroplasto parecem ter papéis relevantes na síntese de óxido nítrico. Porém o NO age em conjunto com outras moléculas sinalizadoras, como espécies reativas ao oxigênio, sulfato de hidrogênio e gás hidrogênio. Estas interações moleculares geram componentes úteis no controle celular, como peroxinitrito e nitrosotióis. Ainda, o NO também pode estar envolvido na sinalização de ácidos graxos, através da formação de ácidos nitrograxos (KOLBERT *et al.*, 2019).

Um mecanismo que regula os níveis de NO nas células vegetais depende da S-nitrosilação da glutathione (GSH), dando origem à S-nitrosoglutathione (GSNO), que pode ser armazenada ou degradada, de acordo com a situação que se encontra a célula (ZUCCARELLI *et al.*, 2017). A S-Nitrosoglutathione é a forma de armazenamento e transporte do NO e desempenha um papel muito importante na

sinalização do mesmo, podendo realizar transferências de NO para outras proteínas (transnitrosilação) (LINDERMAYR, 2018).

A produção de óxido nítrico nas plantas superiores envolve uma via redutiva que abrange a redutase do nitrato ou redução não enzimática e uma via oxidativa envolvendo a enzima semelhante a óxido nítrico sintase (NOS). A S-nitrosoglutathione (GSNO) é metabolizada pela GSNO redutase (GSNOR), responsável pelo controle dos níveis de NO e nitrosotiol em resposta a estímulos bióticos e abióticos. Recentemente, houve a proposta de que além das respostas ao estresse, a GSNO atua na absorção e a assimilação de nitrato nas plantas, sendo uma espécie de NO bioativa importante (SATHEE *et al.*, 2019; ZHAN *et al.*, 2018).

A S-nitrosoglutathione, formada por reação espontânea do NO com a glutathione, é então um importante reservatório e doador de NO nas células vegetais. Os níveis de GSNO são controlados pela enzima GSNOR, que é a principal enzima responsável pela modulação dos pools de S-nitrosotiol. A grande capacidade do NO de interagir e modificar diferentes alvos dentro das células vegetais deve relacionada aos vários papéis desse radical livre, formado endogenamente em células vegetais (SALGADO *et al.*, 2013; BHAT; AHMAD; CORPAS, 2021).

A S-nitrosoglutathione redutase é considerada uma enzima chave na regulação dos níveis intracelulares de S-nitrosoglutathione e da proteína S-nitrosilação. No catabolismo do óxido nítrico, GSNOR catalisa a decomposição irreversível de GSNO em glutathione oxidada. A GSNOR está envolvida na regulação do crescimento e desenvolvimento das plantas, mediado por mecanismos de sinalização dependentes de NO (KUBIENOVÁ *et al.*, 2016; LI *et al.*, 2021). A S-nitrosoglutathione redutase é necessária para manter níveis equilibrados de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, participando do controle geral do estado redox celular (PETŘIVALSKÝ *et al.*, 2014).

2.5 FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA

Os métodos de análise da fluorescência da clorofila baseiam-se na hipótese de que a energia luminosa absorvida pelas moléculas de clorofila pode ser dissipada por três diferentes vias, competitivas e interligadas: dissipação fotoquímica (fotossíntese); dissipação não fotoquímica (emissão de calor); ou reemissão em um comprimento de onda maior que o absorvido pelas clorofilas, a fluorescência. Por

consequência, a alteração em uma das vias ocasionará mudanças nas outras (HALNET, 2018).

Analisando-se a fluorescência da clorofila, obtém-se a os valores de F_0 , que representa a fluorescência inicial, equivalente à fração da energia absorvida pelo complexo-antena e não transmitida, que é o nível de fluorescência da clorofila quando todos os centros do fotossistema II (PSII) estão abertos. Assim, esta energia não é absorvida pelos pigmentos fotossintéticos. A eficiência ou o rendimento quântico máximo do PSII é dada pela razão F_v/F_m , em que F_m é a intensidade máxima de fluorescência, quando todos os centros de reação do PSII estão fechados e F_v é a fluorescência variável, obtida pela equação ($F_m - F_0$) (CATUNDA *et al.*, 2005).

Uma melhor compreensão da resposta fotossintética ao estresse da seca é necessária para melhorar a produção em terras agrícolas com limitação hídrica (ZHOU *et al.*, 2019). Para a determinação das mudanças na atividade fotossintética, os parâmetros de fluorescência da clorofila são muito importantes. A técnica de fluorescência é usada para determinar a eficiência do fotossistema II. Em condições de seca, uma diminuição na fotossíntese com fechamento dos estômatos também pode ocorrer como consequência da degradação da clorofila (KRAMER *et al.*, 2004; ANJUM *et al.*, 2011).

De acordo com Magalhães *et al.* (2009), existem diferenças na fluorescência da clorofila que distinguem as linhagens de milho tolerantes a seca em relação às linhagens sensíveis. A eficiência do fotossistema II revela o nível de excitação da energia no sistema de pigmentos envolvidos na fotossíntese, e tem-se constituído uma potente ferramenta de seleção de plantas de milho tolerantes a condições adversas, como a seca (DURÃES *et al.*, 2005).

2.6 MORFOLOGIA RADICULAR

Atualmente, através de novas técnicas inovadoras, é possível o estudo da estrutura, função e potencial genético do sistema radicular das plantas. Esta manipulação torna viável o melhoramento do rendimento da cultura e a sobrevivência da planta em ambientes estressantes. O sistema radicular apresenta três principais funções: local de aquisição de água e nutrientes do solo, suporte essencial para a ancoragem da planta e sensor de estresses abióticos e bióticos.

Também há funções secundárias, como armazenamento de fotoassimilados, síntese de fitohormônios e propagação clonal (LUPINI *et al.*, 2018).

A estrutura modular do sistema radicular propicia que as plantas respondam de forma rápida ao ambiente em que vivem, tornando-as mais adaptáveis às mudanças ambientais, como a disponibilidade de água e nutrientes. Há tipos de raízes capazes de elevar a produtividade, devido a sua maior capacidade de adquirir nutrientes e água (MAGALHÃES; NEGRI.; SOUSA, 2013).

Os sistemas de análise de imagem facilitaram medições rápidas do comprimento de raízes finas, diâmetro, volume radicular, dentre outros. O sistema WinRHIZO é diferente de outros sistemas de análise de imagem, devido ao fato de detectar e fazer correções para áreas da raiz com sobreposição. Pode utilizar o método não estatístico de Regent (método WinRHIZO) e o método estatístico de Tennant (método de interseção de linha) (WANG; ZHANG, 2009).

O sistema radicular desempenha um papel importante na tolerância das plantas ao déficit hídrico. Alterando o sistema radicular, as plantas utilizam estratégias para lidar com a restrição hídrica. Como exemplo, pode haver aumento da exploração de água em camadas mais profundas do solo. Desse modo, a morfologia das raízes permite obter informações importantes a respeito da tolerância ao déficit hídrico de uma cultura (DUARTE, 2018).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 PRIMING DAS SEMENTES E CONDIÇÕES DE CULTIVO

O experimento foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia Ambiental e Genotoxicidade, localizado na UNIFAL, Campus Alfenas. Foram utilizados dois híbridos de milho contrastantes para a tolerância à seca, DKB 390 (tolerante) e BRS 1010 (sensível). Inicialmente as sementes do híbrido BRS 1010 passaram por uma assepsia com hipoclorito de sódio 2% por 10 minutos e posteriormente lavadas três vezes com água destilada.

Para estabelecimento do *priming*, as sementes do híbrido BRS 1010 foram submetidas à tratamentos com diferentes concentrações de S-nitrosoglutathione (GSNO) (0, 50 e 100 μ M), enquanto que as sementes de DKB 390 permaneceram somente submersas em água destilada por 20 horas. A quantidade de solução em mL utilizada foi determinada através do peso das sementes de cada tratamento multiplicado por 10, quantidade suficiente para o encobrimento total das sementes pela solução. Os tratamentos foram mantidos em *beckers* cobertos por plástico filme, em BOD sob fotoperíodo de 12 horas de luz e temperatura de 30 °C.

Após a retirada do *priming* e breve secagem em temperatura ambiente, as sementes foram plantadas em caixas plásticas do tipo *gerbox* transparentes, preenchidas com 500 gramas de areia previamente peneirada e seca à 100 °C. Para determinação da quantidade de água necessária para umedecer o substrato antes do plantio, foi feito um cálculo através do peso de 500 gramas de areia seca (quantidade suficiente para preencher uma caixa *gerbox*). Esta quantidade de areia foi colocada em um filtro de papel, onde foi adicionada uma quantidade de água destilada já conhecida. Passados quinze minutos, tempo necessário para que o excesso de água fosse drenado, este volume de água foi usado para o cálculo através da diferença da quantidade de água que ficou retida na areia (100%). A partir desta quantidade calculada, em função da espécie a ser semeada (60% da capacidade de retenção de água para gramíneas, como o milho) correspondeu à quantidade de água adicionada em cada *gerbox*, seguindo a metodologia descrita nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

Para indução do estresse hídrico, foi utilizada solução de manitol a -1 MPa, utilizando-se 73,597 gramas de manitol por litro de água destilada, conforme

estipulado por Ávila *et al.* (2007). Nos tratamentos sem indução de estresse, foi adicionada à areia somente água destilada. Foram plantadas 10 sementes por *gerbox*, que continuaram a ser mantidas em BOD nas mesmas condições de fotoperíodo e temperatura já citadas, sendo feito um desbaste nas caixas em que foi verificada a emergência de mais que cinco plântulas. As caixas também foram pesadas diariamente, para reposição de água destilada até que se atingisse o peso inicial registrado. Os tratamentos com estresse receberam manitol apenas no umedecimento antes do plantio, para que não houvesse aumento do estresse estipulado com o decorrer dos dias.

3.2 AVALIAÇÕES DO CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO DA PARTE AÉREA E RAÍZES

A emergência foi monitorada por dez dias, com observações realizadas e anotadas a cada 24 horas. O comprimento da raiz principal e da parte aérea foram medidos dez dias após o plantio. Também foram calculados a porcentagem de emergência das plantas e o índice de velocidade de emergência (IVE), de acordo com Ávila *et al.* (2005), em que $IVE = N1/D1 + N2/D2 + \dots + Nn/Dn$. O N da fórmula corresponde ao número de plântulas verificadas no dia da contagem e o D refere-se ao número de dias após a semeadura.

A parte aérea de duas plantas por parcela foi pesada para determinação da matéria fresca. Feitas as demais avaliações, o sistema radicular de duas plantas de cada parcela experimental (*gerbox*) foi lavado e pesado para determinação da matéria fresca radicular. Posteriormente as raízes foram armazenadas em frascos plásticos de 80 mL, submersas em álcool etílico 70%. Por meio da análise de imagens do software WinRhizo®, foram determinadas as variáveis comprimento total, superfície, diâmetro médio e volume radiculares.

3.3 FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA

As avaliações da fluorescência da clorofila foram efetuadas utilizando-se o equipamento FluorCam FC 800-C da marca Photon Systems Instruments Ltda. As leituras foram efetuadas na epiderme adaxial das folhas em estágio V2 totalmente expandidas, num total de duas plantas selecionadas ao acaso por *gerbox*. Após uma

adaptação de 30 minutos no escuro foi medida a fluorescência mínima (F_o) com uma luz suficientemente baixa evitando reações fotoquímicas e também a fluorescência máxima (F_m), aplicando-se por 0,8 segundos um pulso de luz saturante de 7000 μm de fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Nas amostras adaptadas no escuro, a máxima eficiência do fotossistema (PSII) foi estimada pela razão F_v/F_m e F_v/F_o e a produção quântica basal dos processos não fotoquímicos no PSII foi calculada pela razão F_o/F_m (ROHÁČEK, 2002). A fluorescência constante (F_s) foi obtida e em seguida outro pulso de luz saturante de luz foi aplicado por 1 s para obtenção da fluorescência máxima emitida pelas folhas (F_m'). A luz actínica foi removida e as folhas foram irradiadas com luz vermelho-distante, para obtenção de F_o adaptado a luz (F_o'). O *quenching* fotoquímico foi calculado como $qP = (F_m' - F_s)/(F_m' - F_o')$ e o *quenching* não fotoquímico foi calculado como $NPQ = (F_m - F_m')/F_m' \Delta F/F_m'$ (VAN KOOTEN; SNEL, 1990). Outros parâmetros também foram feitos como: produção quântica fotoquímica efetiva adaptada à luz (PSII) = $F_m' - F_s/F_m' = \Delta F/F_m'$ e rendimento quântico do PSII em estado estacionário $QY = (F_m_Lss - F_t_Lss)/F_m_Lss$ (VAN KOOTEN; SNEL 1990).

3.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA

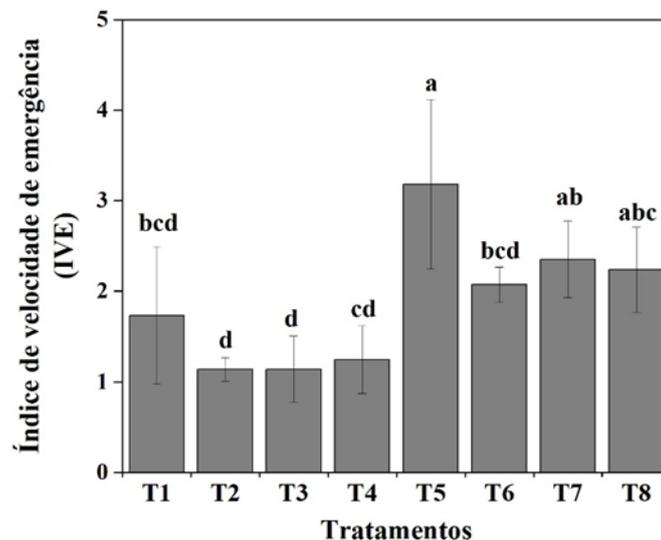
O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), com um total de oito tratamentos: BRS controle (irrigação feita apenas com água destilada), BRS estresse, BRS estresse + 50 μM de GSNO, BRS estresse + 100 μM de GSNO, BRS controle + 50 e 100 μM de GSNO, DKB controle e DKB estresse. Foram utilizadas cinco repetições, contendo no máximo cinco plântulas por parcela.

As análises estatísticas foram realizadas pelo software Sisvar (FERREIRA, 2011), através de análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey ao nível ($p < 0.05$) de probabilidade. A criação dos gráficos foi feita através do software Origin 2016® (ORIGINLAB, 2016).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O índice de velocidade de emergência (IVE) foi maior nos tratamentos DKB controle (T5), BRS controle + 50 (T7) e 100 μM de GSNO (T8), conforme mostra o gráfico 1. Este resultado evidencia que a aplicação do *priming* atuou melhorando a velocidade da germinação do híbrido BRS 1010 irrigado, enquanto que o estresse hídrico causou uma redução significativa tanto no híbrido sensível, quanto no tolerante. Na situação de seca induzida, o doador de óxido nítrico não foi capaz de melhorar a velocidade de emergência do milho, entretanto sua influência é positiva quando a condição hídrica no substrato é adequada. Como já esperado, DKB apresentou uma emergência muito mais precoce do que BRS, quando ambos estão expostos ao déficit hídrico e também na capacidade de campo ideal ao cultivo. Porém é importante destacar que com irrigação adequada e uso do GSNO em ambas as concentrações testadas, o híbrido BRS apresenta o mesmo índice de velocidade que DKB 390, no mesmo estado ambiental (T5).

Gráfico 1 – Índice de velocidade de emergência dos híbridos de milho sensível (BRS) e tolerante (DKB), com *priming* de diferentes concentrações de GSNO.



Fonte: Autor (2022).

Legenda: BRS controle (T1), BRS estresse (T2), BRS estresse + 50 μM (T3), BRS estresse + 100 μM (T4), BRS controle + 50 e 100 μM (T7 e T8), DKB controle e DKB estresse (T5 e T6). Letras diferentes indicam diferença significativa, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

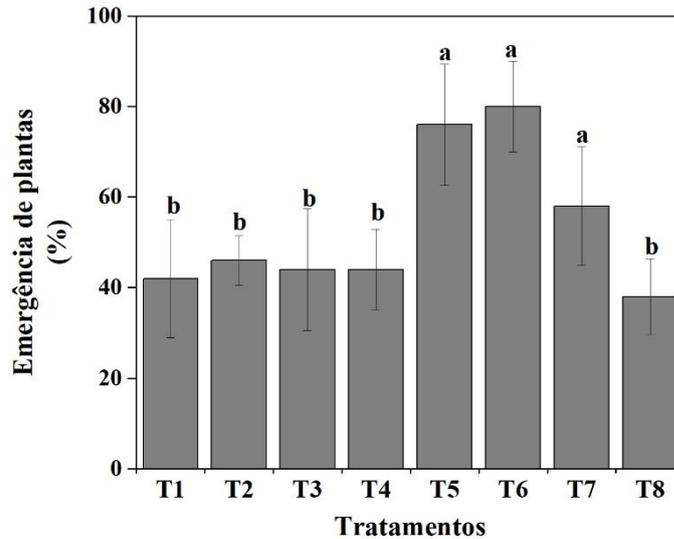
O óxido nítrico (NO) é de natureza lipofílica e altamente difusível através da membrana celular, envolvendo-se em muitos processos fisiológicos, bioquímicos e

de desenvolvimento em plantas, como a emergência (CECHIN *et al.*, 2015). Em baixas concentrações, o NO está envolvido na regulação da cascata de sinalização da dormência das sementes, germinação e crescimento das mudas causadas pelo ácido abscísico (ABA) (PRAKASH *et al.*, 2019).

De acordo com ZHANG *et al.* (2006) o pré-tratamento com nitroprussiato de sódio 100 μM , promoveu melhora da germinação de plântulas de milho sob estresse salino, entretanto, no presente trabalho o óxido nítrico oriundo da aplicação de GSNO não foi expressivo na condição de seca induzida. Já Silveira *et al.* (2020) verificou que o pré-tratamento de sementes de feijão comum com S-nitrosoglutathione, sob déficit hídrico, não levou ao aumento do IVE.

O estresse hídrico não afetou a porcentagem de germinação de plantas do híbrido DKB 390. BRS 1010 (T1, T2, T3, T4 e T8) apresentou menor taxa de germinação em comparação com o DKB 390 (T5 e T6) em todos os tratamentos, exceto no controle aliado à 50 μM de GSNO (T7) (Gráfico 2). Assim, todos os tratamentos foram iguais, com exceção de T5, T6 e T7. Como possui melhoramento genético para tolerância à seca através de melhor desenvolvimento radicular, o milho DKB exibiu as maiores porcentagens de emergência. O uso do GSNO 50 μM melhorou o desempenho do milho BRS na condição irrigada, igualando seu desempenho ao do híbrido melhorado.

Gráfico 2 – Porcentagem de emergência de plantas dos híbridos de milho sensível (BRS) e tolerante (DKB), com *priming* de diferentes concentrações de GSNO.



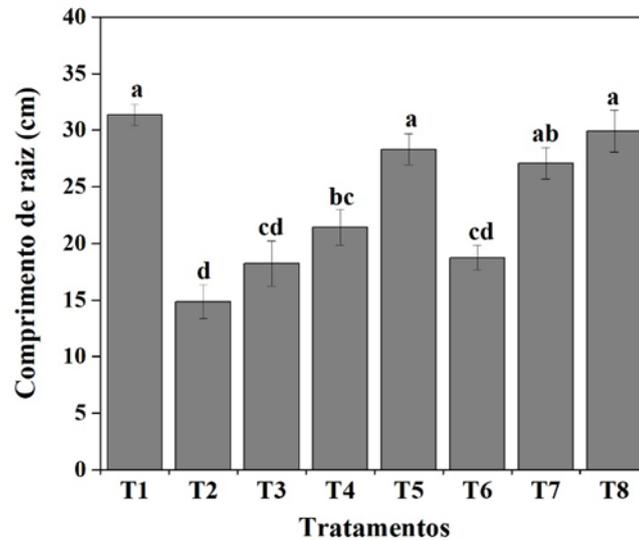
Fonte: Autor (2022).

Legenda: BRS controle (T1), BRS estresse (T2), BRS estresse + 50 μM (T3), BRS estresse + 100 μM (T4), BRS controle + 50 e 100 μM (T7 e T8), DKB controle e DKB estresse (T5 e T6). Letras diferentes indicam diferença significativa, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Estudos já evidenciaram que há uma correlação direta entre os efeitos do NO no crescimento radicular e na sinalização hormonal, incluindo auxina, ácido salicílico, ácido jasmônico, ácido abscísico e sinalização de citocinina (LOMBARDO; LAMATTINA, 2018). A aplicação de compostos liberadores de NO promove o alongamento, o desenvolvimento e a formação de raízes laterais e adventícias, destacando o papel do óxido nítrico na organogênese da raiz (CORREA-ARAGUNDE, FORESI; LAMATTINA, 2015; GOUVÊA *et al.*, 1997).

Para a variável comprimento radicular, os melhores resultados foram obtidos nos tratamentos controle de DKB 390 (T5) e BRS 1010 (T1, T7 e T8), com e sem uso das concentrações de GSNO (Gráfico 3). Entretanto, na condição de estresse o GSNO mostrou-se capaz de aumentar o comprimento radicular, na concentração de 100 μM (T4). Este aumento levou à raízes mais desenvolvidas em relação ao milho BRS sem tratamento e sob estresse hídrico (T2). Porém, não houve equivalência com os tratamentos irrigados. Ambos os híbridos apresentaram uma redução significativa no comprimento do sistema radicular quando submetidos ao déficit hídrico, não diferindo entre si.

Gráfico 3 – Comprimento radicular dos híbridos de milho sensível (BRS) e tolerante (DKB), com *priming* de diferentes concentrações de GSNO.



Fonte: Autor (2022).

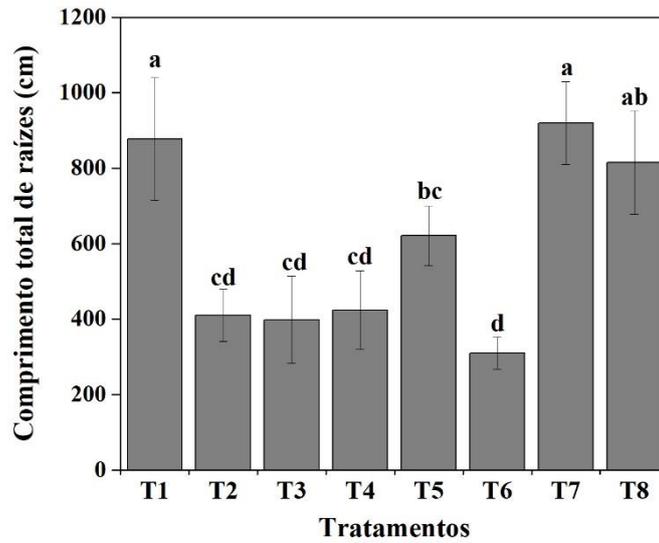
Legenda: BRS controle (T1), BRS estresse (T2), BRS estresse + 50 μM (T3), BRS estresse + 100 μM (T4), BRS controle + 50 e 100 μM (T7 e T8), DKB controle e DKB estresse (T5 e T6). Letras diferentes indicam diferença significativa, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

As sementes preparadas com *priming* podem manter uma "memória" das respostas ao estresse induzidas, que são acionadas quando o estresse é encontrado durante a germinação, ou enquanto ocorre o estabelecimento inicial das plântulas (CHEN; ARORA, 2013). Segundo Silveira *et al.* (2016) a pulverização de solução de GSNO em plantas de cana sob déficit hídrico, melhora o crescimento das raízes, porém concentrações menores ou maiores que 100 μM causaram efeitos protetores leves no desenvolvimento radicular. Também Gouvêa *et al.* (1997) constataram efeitos benéficos do uso de doadores de NO em plantas de milho, em que 0,1 nM de nitroprussiato de sódio (SNP) induziu o crescimento e alongamento do sistema radicular. O óxido nítrico atua na mediação da resposta da auxina, acarretando a formação de raízes adventícias. Um aumento na concentração de NO é necessária para os eventos moleculares envolvidos na formação de raízes adventícias induzidas pelo ácido indol acético (PAGNUSSAT *et al.*, 2002).

Houve um maior comprimento radicular total nos tratamentos com o híbrido BRS irrigado sob condições ideais, com e sem a aplicação do *priming* de sementes nas duas diferentes concentrações testadas (T1, T7 e T8) (Gráfico 4). Curiosamente, o híbrido DKB (T5) apresentou menor comprimento radicular em comparação ao BRS, ambos em condições hídricas ótimas para seu desenvolvimento. Em relação

às plântulas afetadas pelo estresse hídrico, o *priming* com GSNO nas duas concentrações (T3 e T4), não ocasionaram melhores resultados para o híbrido sensível sob estresse. Além disso, BRS e DKB não diferiram nos resultados quando submetidos à falta de água.

Gráfico 4 – Comprimento total de raízes dos híbridos de milho sensível (BRS) e tolerante (DKB), com *priming* de diferentes concentrações de GSNO.



Fonte: Autor (2022).

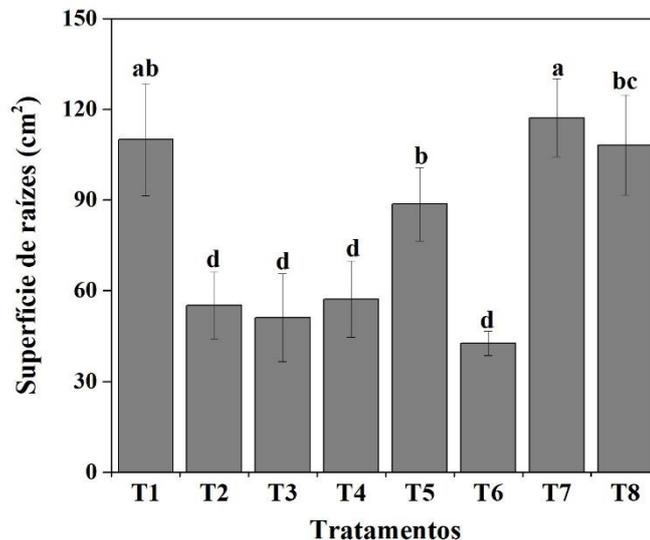
Legenda: BRS controle (T1), BRS estresse (T2), BRS estresse + 50 μM (T3), BRS estresse + 100 μM (T4), BRS controle + 50 e 100 μM (T7 e T8), DKB controle e DKB estresse (T5 e T6). Letras diferentes indicam diferença significativa, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Resultados de Wang *et al.* (2022) em mudas de tomate submetidas à estresse por tratamento com diferentes concentrações, mostraram que o NO foi capaz de aliviar o estresse das plântulas, avaliando-se o comprimento radicular total, resposta esta diferente da encontrada para a cultura do milho. Já Souza *et al.* (2016) concluíram que as médias mais altas para comprimento total radicular de milho foram obtidas nos tratamentos irrigados, comparando-se o híbrido DKB 390 com um híbrido sensível à seca, resultado este semelhante ao encontrado neste trabalho. Além disso, DKB demonstrou valores mais baixos para o comprimento da raiz quando o estresse hídrico foi imposto na fase vegetativa da cultura.

De maneira geral as plântulas com maiores valores de superfície radicular foram as irrigadas (T1, T5, T7 e T8), como mostra o gráfico 5. Porém, o genótipo BRS 1010 associado à 50 μM de GSNO e irrigação adequada (T7) obteve maior superfície radicular, comparado ao DKB 390 controle (T5). Os híbridos não diferiram

entre si na condição adversa imposta, mesmo com a aplicação do óxido nítrico, ou seja, todos os tratamentos com indução de seca foram iguais estatisticamente.

Gráfico 5 – Superfície de raízes dos híbridos de milho sensível (BRS) e tolerante (DKB), com *priming* de diferentes concentrações de GSNO.



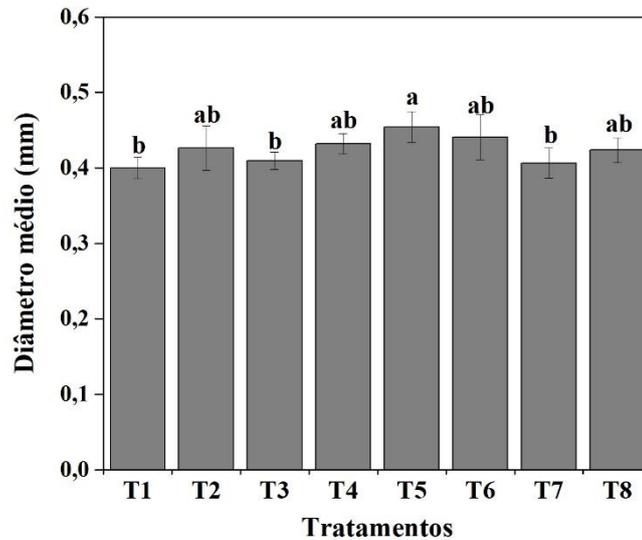
Fonte: Autor (2022).

Legenda: BRS controle (T1), BRS estresse (T2), BRS estresse + 50 μM (T3), BRS estresse + 100 μM (T4), BRS controle + 50 e 100 μM (T7 e T8), DKB controle e DKB estresse (T5 e T6). Letras diferentes indicam diferença significativa, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

De acordo com Silveira *et al.* (2020), em crescimento radicular o déficit hídrico diminuiu o comprimento e a área superficial de raízes, assim como as concentrações de 50 e 100 μM de GSNO em pré-tratamento de sementes de feijão não interferiram nos resultados para plântulas de milho em déficit hídrico. Segundo Magalhães *et al.* (2014), o genótipo DKB 390 possui mais mecanismos fisiológicos que atuam em nível de parte aérea para diminuir a perda de água, fazendo com que o emprego de energia para o sistema radicular e aumento da absorção de água seja menor. Além disso, Magalhães *et al.* (2015) concluíram que a tolerância ao déficit hídrico no genótipo DKB390 está ligada a um aumento nos níveis de NO nas plantas.

O diâmetro médio radicular não demonstrou-se afetado pelas variações impostas durante o experimento (Gráfico 6). O estresse hídrico não interferiu nos resultados desta variável em nenhum dos dois híbridos de milho testados, assim como o doador de óxido nítrico não teve efeitos positivos, nem mesmo nos tratamentos irrigados.

Gráfico 6 – Diâmetro médio de raízes dos híbridos de milho sensível (BRS) e tolerante (DKB), com *priming* de diferentes concentrações de GSNO.



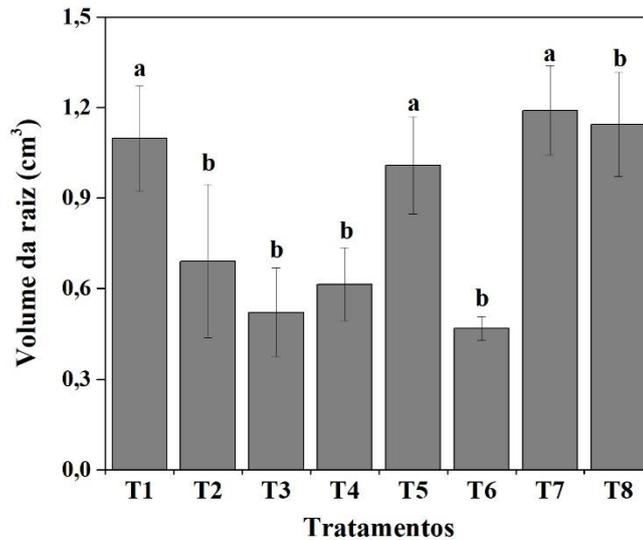
Fonte: Autor (2022).

Legenda: BRS controle (T1), BRS estresse (T2), BRS estresse + 50 μM (T3), BRS estresse + 100 μM (T4), BRS controle + 50 e 100 μM (T7 e T8), DKB controle e DKB estresse (T5 e T6). Letras diferentes indicam diferença significativa, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Conforme resultados obtidos por Jales *et al.* (2021), plantas de milho do genótipo BRS 1040 também sensível ao déficit hídrico, não apresentaram variação do diâmetro médio e volume radiculares em situação de estresse hídrico, em relação à condição ideal de cultivo. Moreira *et al.* (2010) também não encontraram efeitos negativos da baixa disponibilidade de água para as características volume e diâmetro de raiz, em plantas de sorgo.

Analisando-se o volume radicular, nota-se que este parâmetro foi bastante afetado pelo déficit hídrico tanto no híbrido BRS (T2, T3 e T4), quanto no DKB (T6) (Gráfico 7). Além disso, o *priming* de sementes com GSNO não apresentou efeitos positivos em nenhuma das concentrações testadas. O genótipo de milho tolerante teve redução do volume radicular na mesma proporção do genótipo sensível à seca, quando expostos à esta condição.

Gráfico 7 – Volume de raízes dos híbridos de milho sensível (BRS) e tolerante (DKB), com *priming* de diferentes concentrações de GSNO.



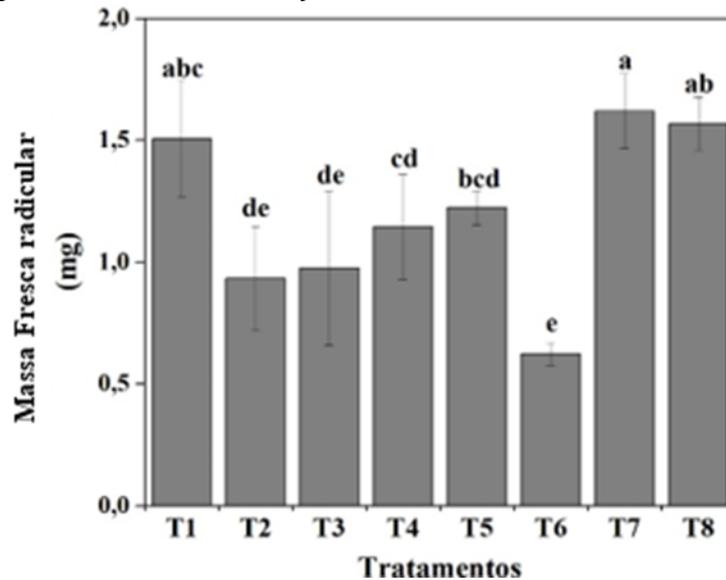
Fonte: Autor (2022).

Legenda: BRS controle (T1), BRS estresse (T2), BRS estresse + 50 μM (T3), BRS estresse + 100 μM (T4), BRS controle + 50 e 100 μM (T7 e T8), DKB controle e DKB estresse (T5 e T6). Letras diferentes indicam diferença significativa, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Souza *et al.* (2016) constataram que em plantas de milho em estágio V5 comparando-se o híbrido DKB 390 com um híbrido sensível à seca, também houve uma diminuição no volume do sistema radicular, nos dois híbridos avaliados (tolerante e sensível) devido ao déficit hídrico. Coelho *et al.* (2016) também verificou que houve queda do volume radicular de plantas de milho sob déficit hídrico cultivadas em casa de vegetação.

A massa fresca radicular foi severamente reduzida nos tratamentos em que houve indução do déficit hídrico, em ambos os híbridos (T2, T3, T4 e T6), que não diferiram entre si nesta condição (Gráfico 8). Os tratamentos em que a capacidade de campo estava ideal para o desenvolvimento das plantas de milho (T1, T5, T7 e T8), proporcionaram os melhores resultados para esta variável. A utilização do *priming* não igualou a produção de massa de raízes das plantas estressadas em relação as irrigadas, entretanto a concentração de 100 μM (T4) levou a uma maior produção, diferindo dos tratamentos estressados. Assim, para esta variável de crescimento o óxido nítrico induziu melhores resultados nas plantas de milho sensíveis ao estresse, em comparação às tolerantes.

Gráfico 8 – Massa fresca radicular dos híbridos de milho sensível (BRS) e tolerante (DKB), com *priming* de diferentes concentrações de GSNO.



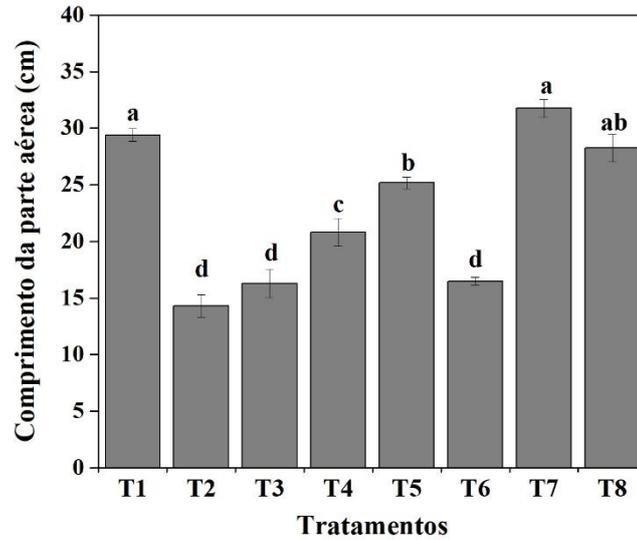
Fonte: Autor (2022).

Legenda: BRS controle (T1), BRS estresse (T2), BRS estresse + 50 μM (T3), BRS estresse + 100 μM (T4), BRS controle + 50 e 100 μM (T7 e T8), DKB controle e DKB estresse (T5 e T6). Letras diferentes indicam diferença significativa, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

O estresse hídrico é uma condição em que o potencial hídrico do solo é inferior ao potencial hídrico da célula vegetal. O efeito direto do estresse hídrico nas plantas é a limitação da absorção de água pelas raízes, que perturba o equilíbrio hídrico da planta e inibe seu crescimento (SHAN; WANG, 2016). Segundo Marques *et al.*, 2014, plantas de milho expostas à salinidade apresentaram uma melhora do crescimento radicular devido ao pré-tratamento com diferentes concentrações de nitroprussiato de sódio, também um doador de óxido nítrico.

Com relação ao comprimento da parte aérea, a condição de estresse imposta afetou os dois híbridos de milho igualmente (T2 e T6) (Gráfico 9 e Fotografias 1 e 2). Entretanto, no fornecimento apropriado de água, o milho sensível apresentou plantas maiores em comparação ao tolerante. Novamente a concentração de 100 μM (T4) se destacou, com maior desenvolvimento das plantas em relação às somente submetidas ao déficit hídrico. Este resultado ainda se mostrou superior ao híbrido DKB 390 tolerante, demonstrando que o óxido nítrico foi capaz de tornar o híbrido sensível mais eficaz no desenvolvimento foliar, em comparação ao milho tolerante à seca. Porém, estes valores não se igualam aos tratamentos controles do próprio BRS e também DKB (T1, T5, T7 e T8), como demonstrado no gráfico 9.

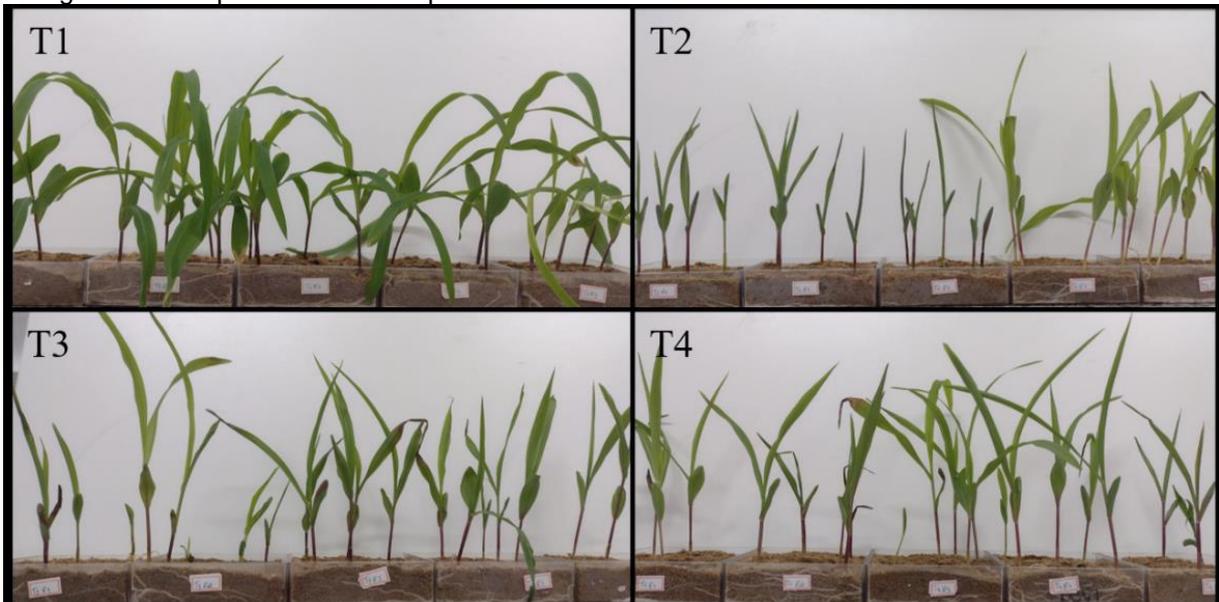
Gráfico 9 – Comprimento da parte aérea dos híbridos de milho sensível (BRS) e tolerante (DKB), com *priming* de diferentes concentrações de GSNO.



Fonte: Autor (2022).

Legenda: BRS controle (T1), BRS estresse (T2), BRS estresse + 50 μM (T3), BRS estresse + 100 μM (T4), BRS controle + 50 e 100 μM (T7 e T8), DKB controle e DKB estresse (T5 e T6). Letras diferentes indicam diferença significativa, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

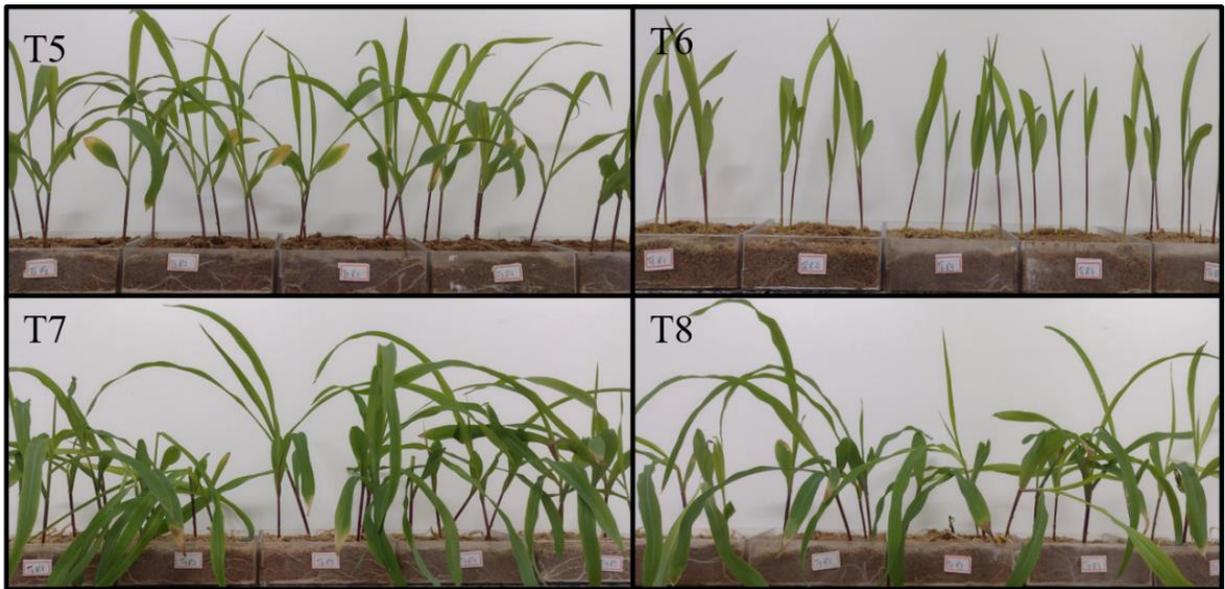
Fotografia 1 – Aspecto visual das plântulas de milho.



Fonte: Autor (2021).

Legenda: BRS controle (T1), BRS estresse (T2), BRS estresse + 50 μM (T3), BRS estresse + 100 μM (T4). As fotos foram tiradas no 7º dia de cultivo.

Fotografia 2 – Aspecto visual das plântulas de milho.



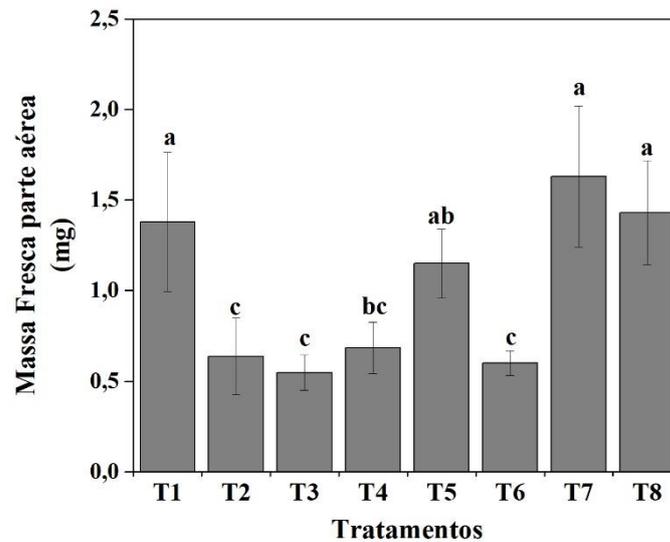
Fonte: Autor (2022).

Legenda: DKB controle e DKB estresse (T5 e T6), BRS controle + 50 e 100 μM (T7 e T8). As fotos foram tiradas no 7º dia de cultivo.

Majeed *et al.* (2020) reconhecem a importância do NO como uma molécula sinalizadora de estresse, capaz de regular positivamente os mecanismos de defesa no milho para resistir a condições de limitação de água. Esta molécula está envolvida na regulação do crescimento e o desenvolvimento em plantas sob estresse abiótico (RASHEED *et al.*, 2021).

A massa fresca da parte aérea também foi reduzida em decorrência da diminuição da disponibilidade de água (Gráfico 10). Ambos os híbridos tiveram queda da produção (T2 e T6), em relação aos seus respectivos tratamentos controle, não diferindo entre si na condição de estresse. O *priming* de GSNO 100 μM (T4) proporcionou melhores resultados entre as plantas sob déficit hídrico, não diferenciando-se dos tratamentos irrigados. Apesar de não ocasionar um maior desenvolvimento da parte aérea comparada às plantas submetidas à seca do híbrido BRS, esta concentração de GSNO obteve melhores resultados considerando-se o híbrido DKB sob estresse hídrico.

Gráfico 10 – Massa fresca da parte aérea dos híbridos de milho sensível (BRS) e tolerante (DKB), com *priming* de diferentes concentrações de GSNO.



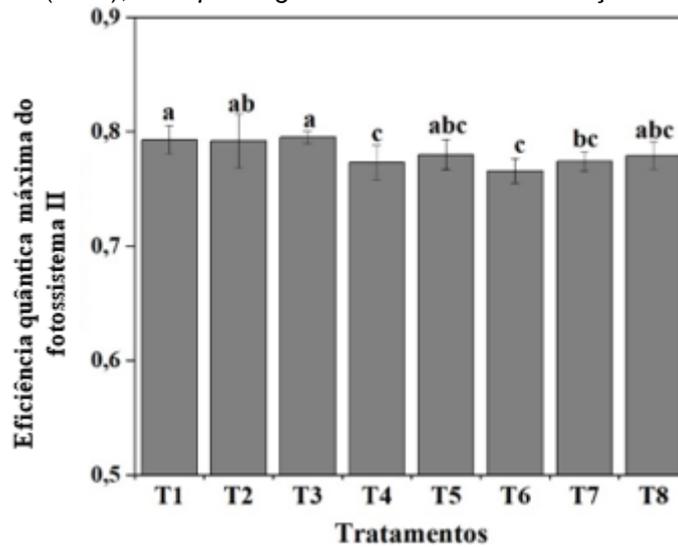
Fonte: Autor (2022).

Legenda: BRS controle (T1), BRS estresse (T2), BRS estresse + 50 μ M (T3), BRS estresse + 100 μ M (T4), BRS controle + 50 e 100 μ M (T7 e T8), DKB controle e DKB estresse (T5 e T6). Letras diferentes indicam diferença significativa, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

A manutenção dos níveis de água celulares é a principal estratégia de defesa das plantas para mitigar os danos causados pela seca (CHOWDHURY *et al.*, 2016). Além disso, o NO interage com o sistema antioxidante das folhas e está ainda envolvido nas respostas de defesa sistêmica ao estresse, ou seja, respostas de seções das plantas que não estão expostas diretamente ao próprio estresse (ARORA *et al.*, 2016). Em mudas de milho, o tratamento com NO exógeno aliviou a perda de água e o dano oxidativo das folhas sob déficit hídrico (HAO; XING; ZHANG, 2008).

A eficiência quântica máxima do fotossistema II (PSII) de modo geral apresentou maiores valores no híbrido sensível à seca, tanto em condição de irrigação adequada, quanto em restrição de água (Gráfico 11). O *priming* com 50 μ M (T3) igualou os valores das plantas em estresse ao tratamento controle para BRS, entretanto com 100 μ M + estresse (T4) resultou-se na menor média desta variável. Portanto, a menor concentração de GSNO empregada ocasionou uma melhora significativa da eficiência fotossintética do híbrido sensível sob estresse, em comparação ao tolerante na mesma situação.

Gráfico 11 - Eficiência quântica máxima do fotossistema II dos híbridos de milho sensível (BRS) e tolerante (DKB), com *priming* de diferentes concentrações de GSNO.



Fonte: Autor (2022).

Legenda: BRS controle (T1), BRS estresse (T2), BRS estresse + 50 μM (T3), BRS estresse + 100 μM (T4), BRS controle + 50 e 100 μM (T7 e T8), DKB controle e DKB estresse (T5 e T6). Letras diferentes indicam diferença significativa, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

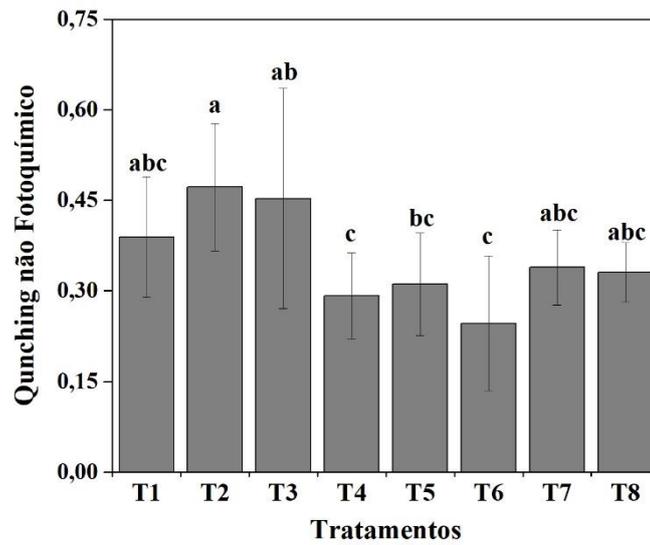
A seca diminui significativamente a eficiência quântica máxima pelos centros PSII e *quenching* fotoquímico das plantas (SANTISREE; BHATNAGAR-MATHUR; SHARMA, 2015). Contudo, nesta pesquisa, este efeito não foi tão pronunciado. De acordo com Magalhães *et al.* (2015), comparando-se os híbridos BRS 1010 e DKB 390 sob déficit hídrico severo, a máxima eficiência do fotossistema II não variou significativamente entre os genótipos.

Segundo Sami *et al.* (2018), doses mais baixas de nitroprussiato de sódio promovem a fotossíntese, enquanto que doses mais altas podem causar sua inibição. Na pesquisa desenvolvida por Silveira *et al.* (2021), a eficiência quântica efetiva do fotossistema II foi aumentada pela pulverização de doadores de NO, como GSNO, em plantas de cana-de-açúcar também em déficit hídrico. Porém, Oliveira *et al.* (2019) testando nanopartículas de quitosana liberadoras de NO em plantas de milho sob estresse salino, constataram que o tratamento não alterou a eficiência máxima do fotossistema II, assim como Boldizsár *et al.* (2013) com o doador DETA/NO.

Como observado para a eficiência quântica máxima do fotossistema II, o *quenching* não fotoquímico não sofreu grandes alterações devido ao estresse, tanto nas plantas sensíveis, quanto nas tolerantes (Gráfico 12). Porém, os tratamentos que apresentaram menores valores foram os compostos pelo BRS +

100 μM de GSNO (T4) e DKB sob déficit hídrico (T2), conforme demonstrado na figura 8. Porém, de maneira geral, o híbrido DKB apresentou menores valores de extinção não-fotoquímica comparado ao BRS, ou seja, teve menor dissipação de energia através da produção de calor na forma de radiação infravermelha.

Gráfico 12 – *Quenching* não fotoquímico dos híbridos de milho sensível (BRS) e tolerante (DKB), com *priming* de diferentes concentrações de GSNO.



Fonte: Autor (2022).

Legenda: BRS controle (T1), BRS estresse (T2), BRS estresse + 50 μM (T3), BRS estresse + 100 μM (T4), BRS controle + 50 e 100 μM (T7 e T8), DKB controle e DKB estresse (T5 e T6). Letras diferentes indicam diferença significativa, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

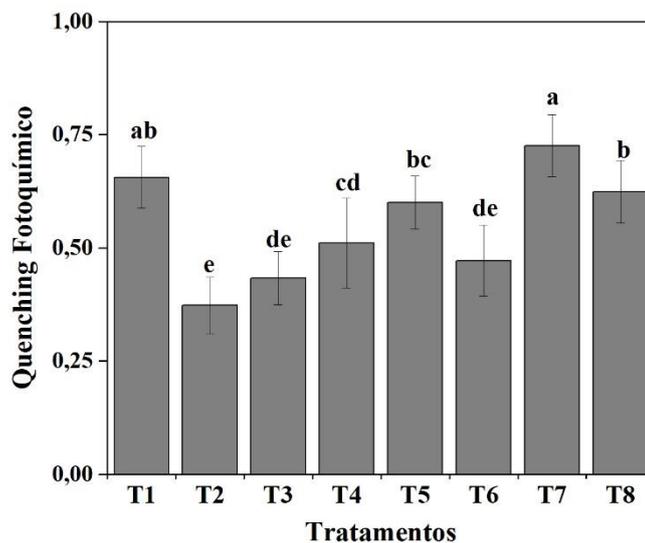
De acordo com Silveira *et al.* (2016) a pulverização foliar com 100 μM de GSNO reduziu o *quenching* não fotoquímico sob déficit de água na cana-de-açúcar, sugerindo que o GSNO foi eficaz em proteger as plantas do excesso de energia luminosa no PSII. Este resultado, assim como no presente estudo, indica que o GSNO nesta concentração pode diminuir a extinção não-fotoquímica da fluorescência da clorofila. Já Silveira *et al.* (2017b) constataram que a pulverização de GSNO 100 μM foliar levou a menor extinção não fotoquímica no déficit de água em *Saccharum officinarum*, resultado semelhante ao encontrado neste estudo para a cultura do milho.

Evidências experimentais indicam que o NO é um dos sinais essenciais necessários no fechamento estomático induzido por ABA, que funcionam juntos para a função estomática coordenada (DESIKAN *et al.*, 2003). Além disso, a

aplicação de NO exógeno mostrou que as funções do cloroplasto também são significativamente afetadas por este gás (MISRA et., 2014).

Em geral, o *quenching* fotoquímico do milho foi maior nos dois híbridos em condição ideal de irrigação, como demonstrado no gráfico 13. Os dois genótipos também apresentaram o mesmo nível de sensibilidade ao estresse estatisticamente (T2 e T6). Apesar de o tratamento com GSNO não ter sido capaz de igualar os resultados de BRS ao seu respectivo controle, a concentração de 100 μM (T4) aumentou o *quenching* fotoquímico deste genótipo em relação ao seu tratamento apenas com a indução de estresse por manitol.

Gráfico 13 – *Quenching* fotoquímico dos híbridos de milho sensível (BRS) e tolerante (DKB), com *priming* de diferentes concentrações de GSNO.



Fonte: Autor (2022).

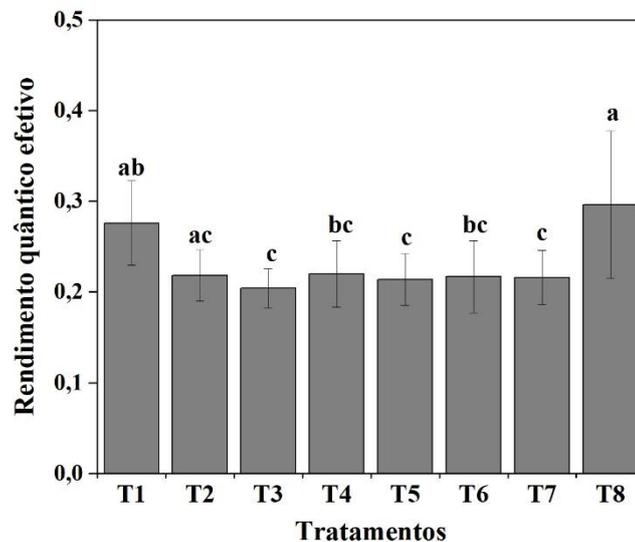
Legenda: BRS controle (T1), BRS estresse (T2), BRS estresse + 50 μM (T3), BRS estresse + 100 μM (T4), BRS controle + 50 e 100 μM (T7 e T8), DKB controle e DKB estresse (T5 e T6). Letras diferentes indicam diferença significativa, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Conforme Farooq *et al.* (2009), em plantas de arroz em condição de seca e tratadas com SPN, a ação de sinalização do NO foi evidente principalmente com o aumento da expressão de antioxidantes, melhora da estabilidade de membranas celulares, fotossíntese e estado hídrico da folha. Em experimento realizado por Magalhães *et al.* (2015b) também com os híbridos BRS 1010 e DKB 390 em estresse hídrico, houve redução significativa da taxa fotossintética para os dois genótipos, que não se igualaram nas duas condições de irrigação. Como o *quenching* fotoquímico pode ser definido como a utilização da energia

luminosa para os processos fotoquímicos da fotossíntese, está intimamente ligado a taxa fotossintética de plantas (CAMPOSTRINI, 2001).

O rendimento quântico efetivo do fotossistema II foi pouco afetado pelo déficit hídrico, tanto no genótipo sensível à seca quanto no tolerante (T2 e T6). As diferentes concentrações de GSNO disponibilizadas no *priming* de sementes também não demonstraram efeitos positivos significativos (T3 e T4), em relação aos seus respectivos tratamentos controles (Gráfico 14).

Gráfico 14 – Rendimento quântico efetivo do fotossistema II dos híbridos de milho sensível (BRS) e tolerante (DKB), com *priming* de diferentes concentrações de GSNO.



Fonte: Autor (2022).

Legenda: BRS controle (T1), BRS estresse (T2), BRS estresse + 50 μ M (T3), BRS estresse + 100 μ M (T4), BRS controle + 50 e 100 μ M (T7 e T8), DKB controle e DKB estresse (T5 e T6). Letras diferentes indicam diferença significativa, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Segundo resultados de Silveira *et al.* 2019, o déficit hídrico reduziu a eficiência quântica efetiva do PSII, e essa diminuição foi atenuada em plantas pulverizadas com GSNO encapsulado ou livre, diferentemente do que foi constatado nesta pesquisa. Ainda segundo Silveira *et al.* (2016), a pulverização de solução de GSNO em plantas de cana sob déficit hídrico afetou positivamente a eficiência quântica potencial do PSII indicando um efeito protetor do óxido nítrico.

5 CONCLUSÃO

O *priming* de sementes não foi capaz de melhorar os parâmetros de emergência de plântulas do híbrido BRS na condição de estresse. Porém foi capaz de induzir tolerância significativa no crescimento das plantas e produção de massa de parte aérea e radicular, na concentração de 100 μM . Estes resultados igualaram--se ou em alguns casos foram superiores ao híbrido DKB sob déficit hídrico. Com relação às avaliações fotossintéticas, para o *quenching* fotoquímico e não fotoquímico, novamente a concentração de 100 μM ocasionou uma melhoria da eficiência fotossintética das plantas expostas à condição adversa. Os demais parâmetros fotossintéticos não apresentaram alterações devido ao estresse hídrico e aplicação de GSNO, assim como para as análises morfológicas radiculares em geral. Portanto, pode--se concluir que a concentração de 100 μM foi a mais eficaz para atuar em alguns efeitos do estresse hídrico no híbrido BRS, sendo recomendada a utilização do *priming* nesta concentração.

REFERÊNCIAS

- ANJUM, S. A. *et al.* Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. **African Journal of Agricultural Research**, Chongqing, p. 2026-2032, May 2011.
- ARORA, D. *et al.* Mechanisms of nitric oxide crosstalk with reactive oxygen species scavenging enzymes during abiotic stress tolerance in plants. **Free Radical Research**, Delhi, v. 50, n. 3, p. 291-303, 14 Jan. 2016.
- ASHRAF, M.; FOOLAD, M. R. Pre-sowing seed treatment—a shotgun approach to improve germination, plant growth, and crop yield under saline and non-saline conditions. **Advances in Agronomy**, Faisalabad, p. 223-271, Dec. 2005.
- ÁVILA, M. R. *et al.* Influência do estresse hídrico simulado com manitol na germinação de sementes e crescimento de plântulas de canola. **Revista Brasileira de Sementes**, Maringá, v. 29, n. 1, p. 98-106, abr. 2007.
- ÁVILA, M. R. *et al.* Testes de laboratório em sementes de canola e a correlação com a emergência das plântulas em campo. **Revista Brasileira de Sementes**, Maringá v. 27, n. 1, p. 62-70, 2005.
- BARBER, S. A. *et al.* Effect of soil temperature and water on maize root growth. **Plant Soil**, West Lafayette, v.111, n.2, p.267-269, 1988.
- BHAT, J. A.; AHMAD, P.; CORPAS, F. J. Main nitric oxide (NO) hallmarks to relieve arsenic stress in higher plants. **Journal Of Hazardous Materials**, Nanjing, v. 406, p. 124289, Mar. 2021.
- BOLDIZSÁR, Á.; *et al.* Nitric oxide affects salt-induced changes in free amino acid levels in maize. **Journal Of Plant Physiology**, Martonvásár, v. 170, n. 11, p. 1020-1027, July 2013.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 2009. 399 p.
- CAMPOSTRINI, E. **Fluorescência da clorofila a: considerações teóricas e aplicações práticas**. Rio de Janeiro: [s.n.], 2001. 31 p.
- CATUNDA, M.G. *et al.* Efeitos de herbicidas na atividade fotossintética e no crescimento de abacaxi (*Ananas comosus*). **Planta Daninha**, v.23, n.1, p.115-121, 2005.
- CECHIN, I. *et al.* Nitric oxide reduces oxidative damage induced by water stress in sunflower plants. **Bragantia**, São Paulo, v. 74, n. 2, p. 200-206, abr. 2015.
- CHEN, K.; ARORA, R. Priming memory invokes seed stress-tolerance. **Environmental And Experimental Botany**, Ames, v. 94, p. 33-45, Oct. 2013.

CHOUHDURY, F. K. *et al.* Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. **The Plant Journal**, Texas, v. 90, n. 5, p. 856-867, Nov. 2016.

CHOWDHURY, J. *et al.* Effect of drought stress on gas exchange characteristics of four soybean genotypes. Bangladesh, **Journal Of Agricultural Research**, Bangladesh, v. 41, n. 2, p. 195-205, jun. 2016.

COELHO, A. E. *et al.* Características biométricas e acúmulo de nitrogênio em plantas de milho inoculadas com *Azospirillum brasilense* sob déficit hídrico em casa de vegetação. *In*: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 31., 2016, Bento Gonçalves. **Anais [...]**. Bento Gonçalves: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2016. p. 1543-1547.

Companhia Nacional de Abastecimento (Brasil). **Perspectivas para a agropecuária**. Brasília, 2018. v. 6.

Companhia Nacional de Abastecimento (Brasil). **Perspectivas para a agropecuária**. Brasília, 2019. v. 7.

Companhia Nacional de Abastecimento (Brasil). **Perspectivas para a agropecuária**. Brasília, 2021. v. 8.

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

CORPAS, F. J. Nitric oxide and hydrogen sulfide in plants: which comes first? **Journal of Experimental Botany**, Granada, v. 70, n. 17, p. 4391-4404, 30 Jan. 2019.

DESIKAN, R. *et al.* ABA, hydrogen peroxide and nitric oxide signalling in stomatal guard cells. **Journal Of Experimental Botany**, Bristol, v. 55, n. 395, p. 205-212, Nov. 2003.

DUARTE, A. B. **Germinação de sementes e morfoanatomia de raízes de cultivares de soja submetidas à simulação de déficit hídrico**. 2018. 38 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2018.

DUARTE, E. C. C. *et al.* Manejo de herbicidas no controle de plantas daninhas e sua influência no crescimento e produção do milho híbrido AG 1051. **Agrotec**, v.37, n.1, p.71-80, 2016.

DURÃES, F. O. M. *et al.* Caracterização fenotípica de linhagens de milho quanto ao rendimento e à eficiência fotossintética. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 4, n. 3, p 355-361, 2005.

- FAROOQ, M. *et al.* Exogenously applied nitric oxide enhances the drought tolerance in fine grain aromatic Rice (*Oryza sativa* L.). **Journal Of Agronomy And Crop Science**, Faisalabad, v. 195, n. 4, p. 254-261, Aug. 2009.
- FAROOQ, M. *et al.* Integration of pre-sowing soaking, chilling and heating treatments for vigour enhancement in rice (*Oryza sativa* L.). **Seed Science And Technology**, Faisalabad, v. 34, n. 2, p. 499-506, July 2006a.
- FAROOQ, M. *et al.* Nutrient homeostasis, metabolism of reserves, and seedling vigor as affected by seed priming in coarse rice. **Canadian Journal Of Botany**, Faisalabad, v. 84, n. 8, p. 1196-1202, Aug. 2006b.
- FAROOQ, M. *et al.* Seed priming in field crops: potential benefits, adoption and challenges. **Crop and Pasture Science**, Faisalabad, v. 70, n. 9, p. 731, 2019.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.
- GOUVÊA, C. M. C. P. *et al.* NO – releasing substances that induce growth elongation in maize root segments. **Plant Growth Regulation**, Campinas, v. 21, n. 3, p. 183-187, 1997.
- HANELT, D. Photosynthesis assessed by chlorophyll fluorescence. In: HÄDER, Donat-P. **Bioassays: advanced methods and applications**. [S.l]: Elsevier, 2018. p. 169-198.
- HAO, G.-P.; XING, Y.; ZHANG, J.-H. Role of nitric oxide dependence on nitric oxide synthase-like activity in the water stress signaling of maize seedling. **Journal of Integrative Plant Biology**, Taian, v. 50, n. 4, p. 435-442, Apr. 2008.
- IBRAHIM, E. A. Seed priming to alleviate salinity stress in germinating seeds. **Journal Of Plant Physiology**, Giza, v. 192, p. 38-46, Mar. 2016.
- IMRAN, M.; BOELT, B.; MÜHLING, K. H. Zinc seed priming improves salt resistance in maize. **Journal of Agronomy and Crop Science**, Kiel, v. 204, n. 4, p. 390-399, 8 Mar. 2018.
- JALES, H. F. *et al.* **Morfofisiologia do milho inoculado com *Azospirillum brasilense* submetido à restrição hídrica e à adubação nitrogenada**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2021. 43 p.
- KAYA, M. D. *et al.* Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). **European Journal Of Agronomy**, Ankara, v. 24, n. 4, p. 291-295, May 2006.
- KOLBERT, Z. *et al.* A forty year journey: the generation and roles of NO in plants. **Nitric Oxide**, Szeged, v. 93, p. 53-70, Dec. 2019.
- KRAMER, D. M. *et al.* New fluorescence parameters for the determination of Q_A redox state and excitation energy fluxes. **Photosynthesis Research**, Pullman, v. 79,

n. 2, p. 209-218, 2004.

KUBIENOVÁ, L. *et al.* Detection of S-nitrosoglutathione reductase activity in plants. **Methods In Molecular Biology**, Olomouc, p. 175-189, 2016.

LANCASTER, J. R. How are nitrosothiols formed de novo in vivo?. **Archives Of Biochemistry And Biophysics**, Pittsburgh, v. 617, p. 137-144, Mar. 2017.

LI, B. *et al.* The emerging role of GSNOR in oxidative stress regulation. **Trends. Plant Science**, Zhejiang, v. 26, n. 2, p. 156-168, Feb. 2021.

LINDERMAYR, C. Crosstalk between reactive oxygen species and nitric oxide in plants: key role of s-nitrosoglutathione reductase. **Free Radical Biology And Medicine**, Neuherberg, v. 122, p. 110-115, July 2018.

LOMBARDO, M. C.; LAMATTINA, L. Abscisic acid and nitric oxide modulate cytoskeleton organization, root hair growth and ectopic hair formation in Arabidopsis. **Nitric Oxide**, Mar del Plata, v. 80, p. 89-97, Nov. 2018.

LUPINI, A. *et al.* Root morphology. **Advances in Plant Ecophysiology Techniques**, Calabria, p. 15-28, 2018.

MACDONALD, M. T. *et al.* Seed preconditioning with natural and synthetic antioxidants induces drought tolerance in tomato seedlings. **Hortscience**, Nova Scotia, v. 44, n. 5, p. 1323-1329, Aug. 2009.

MAGALHÃES, K. S.; NEGRI, B. F.; SOUSA, S. M. **Análise morfológica do sistema radicular do painel de diversidade de milho da Embrapa Milho e Sorgo**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2013. 34 p.

MAGALHÃES, P. C. *et al.* **Caracterização do sistema radicular e dos componentes da produtividade em quatro genótipos de milho cultivados sob déficit hídrico**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2014. 25 p.

MAGALHÃES, P. C. *et al.* Caracterização ecofisiológica de linhagens de milho submetidas a baixa disponibilidade hídrica durante o florescimento. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 8, n. 3, p. 223-232, dez. 2009.

MAGALHÃES, P. C. *et al.* **Relação entre óxido nítrico, sistema antioxidante enzimático e ABA em milho sob déficit hídrico severo**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2015a. 27 p.

MAGALHÃES, P. C. *et al.* Relationship Between Nitric Oxide, Enzymatic Antioxidant System And ABA In Maize Under Long-Term Drought. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 14, n. 2, p. 155-166, 30 ago. 2015b.

MAJEED, S. *et al.* Nitric oxide regulates water status and associated enzymatic pathways to inhibit nutrients imbalance in maize (*Zea mays* L.) under drought stress. **Plant Physiology And Biochemistry**, Bahawalpur, v. 155, p. 147-160, Oct. 2020.

MARCOS FILHO, J. Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 72, n. 4, p. 363-374, ago. 2015.

MARQUES, D. M. Déficit hídrico e doses de nitrogênio na morfofisiologia e produção de genótipos de milho inoculados por *Azospirillum brasilense*. 2019. 40 f. Tese (Doutorado em Botânica Aplicada) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2019.

MARQUES, E. C. *et al.* Eficiência do pré-Tratamento com nitroprussiato de sódio na indução de aclimatação de plantas de milho à salinidade. *In: INOVAGRI INTERNATIONAL MEETING*, 2., 2014, Fortaleza, Ceará, Brasil. **Anais [...]**. Fortaleza, Ceará, Brasil: Inovagri/Inct-Ei/Inctsal, 2014. p. 4816-4825.

MARQUES, E. C. **Aclimatação de plantas de milho à salinidade mediada pelo pré-tratamento com nitroprussiato de sódio**. 2013. 51 f. Tese (Doutorado em Bioquímica) – Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2013.

MISRA, A. N. *et al.* Action and target sites of nitric oxide in chloroplasts. **Nitric Oxide**, Ranchi, v. 39, p. 35-45, May 2014.

MOREIRA, L. R. *et al.* Fenotipagem de sorgo sacarino para tolerância ao estresse de seca por meio de parâmetros fisiológicos e radiculares. *In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO*, 28., 2010, Goiânia. **Anais [...]**. Goiânia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2010. p. 174-180.

NABI, R. B. S. *et al.* Nitric oxide regulates plant responses to drought, salinity, and heavy metal stress. **Environmental and Experimental Botany**, Daegu, v. 161, p. 120-133, May 2019.

NAWAZ, J. *et al.* Seed priming a technique. **International Journal of Agriculture and Crop Sciences**, Faisalabad, v. 6, n. 20, p. 1373-1381, 2013.

OLIVEIRA, H. C. *et al.* Nitric oxide-releasing chitosan nanoparticles alleviate the effects of salt stress in maize plants. **Nitric Oxide**, Londrina, v. 61, p. 10-19, Dec. 2016.

ORIGINLAB C. **Origem (Pro), version 2016**. Northampton, MA, EUA. Disponível em: <https://www.originlab.com/index.aspx?go=Products/Origin>. Acesso em: 20 set. 2021.

PAGNUSSAT, G. C. *et al.* Nitric Oxide Is Required for Root Organogenesis. **Plant Physiology**, Mar del Plata, v. 129, n. 3, p. 954-956, July 2002.

PAPARELLA, S. *et al.* Seed priming: state of the art and new perspectives. **Plant Cell Reports**, Pavia, v. 34, n. 8, p. 1281-1293, 27 Mar. 2015.

PATERNIANI, M. E. A. G. Z. *et al.* Estratégias de melhoramento para tolerância à seca em germoplasma de milho tropical. **Singular Meio Ambiente e Agrárias**, Campinas, v. 1, n. 1, p. 19-24, ago. 2019.

PETŘIVALSKÝ, M. *et al.* S-nitrosoglutathione reductase: a key regulator of s-nitrosylation in plant development and stress responses. **Signaling and Communication in Plants**, Olomouc, p. 283-299, 24 Nov. 2014.

PORCEL, R. *et al.* Arbuscular mycorrhizal symbiosis ameliorates the optimum quantum yield of photosystem II and reduces non-photochemical quenching in rice plants subjected to salt stress. **Journal Of Plant Physiology**, Granada, v. 185, p. 75-83, Aug. 2015.

PRAKASH, V. *et al.* Crosstalk between nitric oxide (NO) and abscisic acid (ABA) signalling molecules in higher plants. **Environmental And Experimental Botany**, Allahabad, v. 161, n. 1, p. 41-49, May 2019.

RADY, M. M. *et al.* Selenium application in two methods promotes drought tolerance in *Solanum lycopersicum* plant by inducing the antioxidant defense system. **Scientia Horticulturae**, Fayoum, v. 266, p. 109-290, May 2020.

RASHEED, R. Role of NO in plants: a current update. In: SINGH, V. P.; SINGH, S.; SANDALIO, L. M. (ed.). **Nitric Oxide in Plant Biology**: an ancient molecule with emerging roles. [S.l.]: Academic Press, 2021. p. 139-168.

ROHÁČEK, K. Chlorophyll Fluorescence Parameters: the definitions, photosynthetic meaning, and mutual relationships. **Photosynthetica**, České Budějovice, v. 40, n. 1, p. 13-29, Mar. 2002.

ROYCHOUDHURY, A. Editorial for special issue "Abiotic stress tolerance in plants" of *Plant Gene*. **Plant Gene**, West Bengal, v. 11, p. 59-60, Sept. 2017.

SALES, R. A. *et al.* Estimativa das necessidades hídricas do milho cultivado nas condições edafoclimáticas de São Mateus – ES. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 13, n. 23, p. 598-609, jun. 2016.

SALGADO, I. *et al.* Nitric oxide signaling and homeostasis in plants: a focus on nitrate reductase and s-nitrosoglutathione reductase in stress-related responses. **Brazilian Journal of Botany**, Campinas, v. 36, n. 2, p. 89-98, June 2013.

SAMI, F. *et al.* Nitric oxide-mediated integrative alterations in plant metabolism to confer abiotic stress tolerance, NO crosstalk with phytohormones and NO-mediated post translational modifications in modulating diverse plant stress. **Nitric Oxide**, Aligarh, v. 73, p. 22-38, Feb. 2018.

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

SATHEE, L. *et al.* Nitric oxide-induced regulation of plant developmental processes and abiotic stress responses. **Plant Abiotic Stress Tolerance**, New Delhi, p. 381-408, 2019.

SHAN, C.; WANG, Y. Exogenous salicylic acid-induced nitric oxide regulates leaf

water condition through root osmoregulation of maize seedlings under drought stress. **Brazilian Journal Of Botany**, Xinxiang, v. 40, n. 2, p. 591-597, Dec. 2016.

SILVEIRA, N. M. *et al.* Chitosan-encapsulated nitric oxide donors enhance physiological recovery of sugarcane plants after water deficit. **Environmental and Experimental Botany**, Campinas, v. 190, p. 104593, Oct. 2021.

SILVEIRA, N. *et al.* Encapsulation of S-nitrosoglutathione into chitosan nanoparticles improves drought tolerance of sugarcane plants. **Nitric Oxide**, Campinas, v. 84, n. 1, p. 38-44, Mar. 2019.

SILVEIRA, N. M. *et al.* Evidence towards the involvement of nitric oxide in drought tolerance of sugarcane. **Plant Physiology And Biochemistry**, Campinas, v. 115, p. 354-359, June 2017a.

SILVEIRA, N. M. *et al.* Exogenous nitric oxide improves sugarcane growth and photosynthesis under water deficit. **Planta**, Campinas, v. 244, n. 1, p. 181-190, 22 ar. 2016.

SILVEIRA, N. M. *et al.* Germination and initial growth of common bean plants under water deficit as affected by seed treatment with S-nitrosoglutathione and calcium chloride. **Theoretical And Experimental Plant Physiology**, Campinas, v. 32, n. 1, p. 49-62, Feb. 2020.

SILVEIRA, N. M. *et al.* S-nitrosoglutathione spraying improves stomatal conductance, rubisco activity and antioxidant defense in both leaves and roots of sugarcane plants under water deficit. **Physiologia Plantarum**, Campinas, v. 160, n. 4, p. 383-395, June 2017b.

SOUZA, G. M.; BARBOSA, A. M. Fatores de estresse no milho são diversos e exigem monitoramento constante. **Visão Agrícola, Piracicaba**, v. 13, n. 1, p. 30-34, dez. 2015.

SOUZA, T. C. *et al.* Corn root morphoanatomy at different development stages and yield under water stress. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Alfenas, v. 51, n. 4, p. 330-339, abr. 2016.

TEJEDA, L. H. C. **Déficit hídrico em plântulas de milho: aspectos morfológicos e moleculares**. 2019. 37 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2019.

VAN KOOTEN, O.; SNEL, J. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. **Photosynthesis Research**, Wageningen, v. 25, n. 3, p. 47-50, Sept. 1990.

WANG, C. *et al.* Nitric oxide enhances salt tolerance in tomato seedlings by regulating endogenous S-nitrosylation levels. **Journal of Plant Growth Regulation**, Lanzhou, v. 1, n. 1, p. 1-19, Jan. 2022.

WANG, M.-B.; ZHANG, Q. Issues in using the WinRHIZO system to determine

physical characteristics of plant fine roots. **Acta Ecologica Sinica, Taiyuan**, v. 29, n. 2, p. 136-138, July 2009.

WANG, P. G. *et al.* Nitric Oxide Donors: chemical activities and biological applications. **Chemical Reviews**, Detroit, v. 102, n. 4, p. 1091-1134, 26 Feb. 2002.

XU, X.; ZHANG, Y. Network analysis of corn cash price comovements. **Machine Learning with Applications**, Raleigh, v. 6, p. 100140, Dec. 2021.

YANG, N.; YAN, J. New genomic approaches for enhancing maize genetic improvement. **Current Opinion in Plant Biology**, Wuhan, v. 60, p. 101977, Apr. 2021.

ZHANG, H.; SUN, X.; DAI, M. Improving crop drought resistance with plant growth regulators and rhizobacteria: mechanisms, applications, and perspectives. **Plant Communications**, Wuhan, p. 100228, Aug. 2021.

ZHANG, Y. *et al.* Nitric oxide enhances salt tolerance in maize seedlings through increasing activities of proton-pump and Na⁺/H⁺ antiport in the tonoplast. **Planta**, Nanjing, v. 224, n. 3, p. 545-555, 25 Feb. 2006.

ZHAN, N. *et al.* S-nitrosylation targets GSNO reductase for selective autophagy during hypoxia responses in plants. **Molecular Cell**, Beijing, v. 71, n. 1, p. 142-154, July 2018.

ZHOU, R. *et al.* Drought-induced changes in photosynthetic electron transport in maize probed by prompt fluorescence, delayed fluorescence, P700 and cyclic electron flow signals. **Environmental And Experimental Botany**, Yangzhou, v. 158, p. 51-62, Feb. 2019.

ZUCCARELLI, R. *et al.* Shedding light on NO homeostasis: light as a key regulator of glutathione and nitric oxide metabolisms during seedling deetiolation. **Nitric Oxide**, São Paulo, v. 68, p. 77-90, Aug. 2017.