

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

THAYSA FERNANDA SILVA RUIZ MARTINS

ANÁLISE DA ATUAÇÃO DA POLIAMINA PUTRESCINA E DA S-NITROSOGLUTATIONA (GSNO) NA MITIGAÇÃO DO DÉFICIT HÍDRICO NO CRESCIMENTO INICIAL DE *Zea mays* L.

**ALFENAS/MG
2024**

THAYSA FERNANDA SILVA RUIZ MARTINS

ANÁLISE DA ATUAÇÃO DA POLIAMINA PUTRESCINA E DA S-NITROSOGLUTATIONA (GSNO) NA MITIGAÇÃO DO DÉFICIT HÍDRICO NO CRESCIMENTO INICIAL DE *Zea mays* L.

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

Orientador: Prof. Dr. Plinio Rodrigues dos Santos Filho
Coorientadora: Dra. Daniele Maria Marques

**ALFENAS/MG
2024**

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas Biblioteca
Central

Martins, Thaysa Fernanda Silva Ruiz.

Análise da atuação da poliamina putrescina e da s- nitrosoglutationa (gsno) na mitigação do déficit hídrico no crescimento inicial de Zea mays L. / Thaysa Fernanda Silva Ruiz Martins. - Alfenas, MG, 2024.
48 f. -

Orientador(a): Plinio Rodrigues dos Santos Filho.
Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2024.
Bibliografia.

1. Milho. 2. Seca. 3. Commodity. 4. Bioestimulantes. 5. Poliamina. I. Santos Filho, Plinio Rodrigues dos, orient.

Ficha gerada automaticamente com dados fornecidos pelo autor.

THAYSA FERNANDA SILVA RUIZ MARTINS

“ ANÁLISE DA ATUAÇÃO DA POLIAMINA PUTRESCINA E DA S-NITROSOGLUTATIONA (GSNO) NA MITIGAÇÃO DO ESTRESSE HÍDRICO NO CRESCIMENTO INICIAL DE *Zea mays L.* ”

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

Aprovada em: 22 de fevereiro de 2024.

Prof. Dr. Plinio Rodrigues dos Santos Filho

Instituição: Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL)

Prof. Dr. Adriano Bortolotti da Silva

Instituição: UNIFENAS

Dr. Antônio Rodrigues da Cunha Neto

Instituição: Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL)



Documento assinado eletronicamente por **Plinio Rodrigues dos Santos Filho, Professor do Magistério Superior**, em 10/09/2024, às 10:56, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1189145** e o código CRC **A3A83E53**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente a Deus, por me acompanhar e guiar a todo instante.

Aos meus pais, Márcia e Marcelo, que sempre me apoiaram e fizeram de tudo para que eu pudesse estudar e residir em Alfenas.

Ao meu companheiro Gustavo, meus amigos Caio e Duda, por sempre me incentivarem e apoiarem minhas decisões, nunca me deixando desistir durante as dificuldades.

Agradeço as minhas amigas e companheiras de pesquisa, Ana Clara e Nayara, que proporcionaram os melhores momentos dentro do laboratório, tornando tudo mais fácil, leve e descontraído.

A pós-doutoranda Giovana Esteves, por toda a paciência e conhecimentos divididos no começo dessa jornada.

Agradeço todos os estagiários, ics e demais discentes envolvidos nos experimentos, análises e demais atividades realizadas, Julianna, Ísis, Guilherme e Arlinda.

Ao professor Dr. Plínio, pelo acolhimento desde o início da estadia na Unifal, ao PPG de Ciências Ambientais e ao Laboratório de Bioquímica. Agradeço por toda a paciência, ensinamentos e dedicação do seu tempo em me orientar.

A Dra. Daniele Marques, por me ajudar, auxiliar e ensinar durante a execução dos experimentos.

Ao Programa de Pós Graduação em Ciências Ambientais pela oportunidade e suporte para a realização deste trabalho.

A UNIFAL-MG e todos os professores que me transmitiram conhecimentos.

Ao Laboratório de Biotecnologia Ambiental & Genotoxicidade (BIOGEN) pelo suporte, equipamentos e espaço cedido.

A todos os técnicos dos laboratórios da universidade, em especial a Kris e ao George, que me ajudaram e me ensinaram diversos processos. E, a todos os terceirizados da UNIFAL-MG, que mantem um ambiente de excelência para todos trabalharem, em específico a Poliana, que se tornou uma grande amiga.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio.

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

RESUMO

Os bioestimulantes vem ganhando cada vez mais espaço no mercado agrícola, se mostrando como uma tecnologia de alto potencial no aumento da produtividade das culturas, em especial, a do milho. Com todo esse potencial agrícola, o estresse ou restrição hídrica pode comprometer essa cultura, devido à sua alta demanda de água. Os bioestimulantes vem como uma alternativa sustentável para mitigar os efeitos do estresse hídrico. A partir da problemática que o déficit hídrico causa na cultura do milho e o quanto isso impacta no setor agrícola, o presente trabalho tem como hipótese que a aplicação exógena dos bioestimulantes putrescina e S-nitrosoglutaciona mitigam os efeitos do déficit hídrico no crescimento inicial em plantas em milho. O objetivo consistiu em avaliar as características biométricas, fisiológicas e bioquímicas do milho com aplicação de S-nitrosoglutaciona e putrescina sob déficit hídrico. Foi realizado experimento através de caixas gerbox e copos plásticos, com duração de dez dias, utilizando controle irrigado, controle de estresse hídrico de 40% e 20% de capacidade de campo e estresse hídrico com a mesma capacidade de campo associada ao uso dos bioestimulantes. Posteriormente foram realizadas análises biométricas, fluorescência da clorofila, quantificação de açúcares totais, açúcares redutores, amido, aminoácidos, proteína, prolina, peroxidação lipídica, peróxido de hidrogênio, enzimas antioxidantes e morfologia radicular. Notou-se que, ambos os bioestimulantes testados trazem benefícios para a cultura do milho. A partir disso, conclui-se que a putrescina foi mais atuante na parte radicular e a S-nitrosoglutaciona na parte foliar. Mais testes deverão ser realizados para observar se esse padrão mantém-se ao longo de todos os estádios fenológicos da cultura, visto que o presente estudo propôs a estudar o crescimento inicial.

Palavras-chave: milho; seca; commodity; bioestimulantes.

ABSTRACT

Biostimulants have been gaining more and more space in the agricultural market, proving to be a technology with high potential for increasing crop productivity, especially corn. With all this agricultural potential, water stress or restriction can compromise this crop, due to its high water demand. Biostimulants come as a sustainable alternative to mitigate the effects of water stress. Based on the problem that water deficit causes in corn cultivation and how much it impacts the agricultural sector, the present work hypothesizes that the exogenous application of the biostimulants putrescine and S-nitrosoglutathione mitigate the effects of water deficit on initial plant growth. in corn. The objective was to evaluate the biometric, physiological and biochemical characteristics of corn with the application of S-nitrosoglutathione and putrescine under water deficit. An experiment was carried out using gerbox boxes and plastic cups, lasting ten days, using irrigated control, water stress control of 40% and 20% field capacity and water stress with the same field capacity associated with the use of biostimulants. Subsequently, biometric analyses, chlorophyll fluorescence, quantification of total sugars, reducing sugars, starch, amino acids, protein, proline, lipid peroxidation, hydrogen peroxide, antioxidant enzymes and root morphology were carried out. It was noted that both biostimulants tested bring benefits to corn crops. From this, it can be concluded that putrescine was more active in the root part and S-nitrosoglutathione in the leaf part. More tests should be carried out to observe whether this pattern remains throughout all phenological stages of the crop, since the present study proposed to study the initial growth.

Keywords: corn; dry; commodity; biostimulants.

SUMÁRIO

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO..... | 9 |
| 2 | REVISÃO DE LITERATURA..... | 11 |
| 2.1 | <i>ZEA MAYS</i> L..... | 11 |
| 2.2 | ESTRESSE HÍDRICO..... | 11 |
| 2.3 | BIOESTIMULANTES..... | 13 |
| 2.4 | PUTRESCINA..... | 13 |
| 2.5 | S-NITROSOGLUTATIONA..... | 14 |
| 3 | ARTIGO: COMO A PUTRESCINA E A S-NITROSOGLUTATIONA (GSNO) ATUA NA MITIGAÇÃO DO DÉFICIT HÍDRICO NO CRESCIMENTO INICIAL DE PLÂNTULAS DE MILHO?..... | 16 |
| 4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 44 |
| | REFERÊNCIAS..... | 45 |

1 INTRODUÇÃO

Uma tecnologia vem ganhando cada vez mais espaço no mercado dentre as culturas agrícolas, são os bioestimulantes. Os bioestimulantes tem função de aliviadores de estresses, visto apresentarem substâncias como hormônios, nutrientes, reguladores vegetais e vitaminas, o que auxilia no bom crescimento e desenvolvimento da planta (Kovalski, 2020; Araújo *et al*, 2021). Os bioestimulantes demonstram importância por apresentar uma abordagem inovadora na agricultura, modificando e regulando os processos fisiológicos das plantas, por intermédio do estímulo do crescimento, aumento da produção da cultura e minimização dos estresses gerados pelo ambiente em que estão inseridas (Silva *et al*, 2021), além de promoverem a diminuição dos impactos negativos à agricultura (Duarte *et al*, 2021).

Os bioestimulantes são definidos como quaisquer substâncias ou microrganismos capazes de ajudar na melhoria e eficácia nutricional, suportar os estresses edafoclimáticos e incrementar os cultivos (Nardi *et al*, 2016), sendo um produto obtido através de diferentes materiais orgânicos, com menos agressão ao meio ambiente (Stadnik *et al*, 2017). Os bioestimulantes são substâncias naturais utilizadas nos vegetais que provocam mudanças no seu metabolismo, influenciando nos processos de germinação, enraizamento, florescimento, frutificação e senescência, visando maior rendimento das plantas cultivadas (Silva, 2018). Na América Latina, esse mercado tem crescido 14% ao ano (Peruchini; Rupollo, 2020) e segundo dados da European Biostimulants Industry Council – EBIC, o Brasil e Argentina são os países na qual concentra-se esse mercado (Ebic, 2021).

A aplicação de bioestimulantes nas plantas as leva a um melhor aproveitamento de nutrientes em seus tecidos, com alterações metabólicas benéficas ao vegetal. A partir disso, a procura pelos bioestimulantes se tornou foco de interesse científico (Nardi *et al*, 2016), refletindo em uma tendência de crescimento para o setor agropecuário sustentável. A utilização de bioestimulantes na agricultura vêm se mostrando como uma tecnologia de alto potencial no aumento da produtividade das culturas, em especial, a do milho (*Zea mays* L.) (Silva, 2018).

O milho é uma cultura de alta relevância econômica e social para o mundo, sendo cultivado em diversos países do planeta, servindo como alimentação humana, animal

e na geração de biocombustível (Contini *et al*, 2019). Essa commodity apresenta características de estudo bastante atrativas, de modo que oferece base para avanços futuros (Silva Pinheiro *et al*, 2021), se tornando um alimento básico com produção total superando o trigo e o arroz (Rehman *et al*, 2021). No território brasileiro, essa cultura tem maior concentração nas regiões Centro Oeste, Sul e Sudeste, respectivamente (Eicholz *et al*, 2020). Com todo esse potencial agrícola, o estresse ou restrição hídrica pode comprometer a cultura do milho, devido à sua alta demanda de água.

Dentre todos os fatores abióticos, o déficit hídrico é o principal fator do ambiente que limita o crescimento e a produtividade das culturas agrícolas (Chaves; Flexas; Pinheiro, 2009). Segundo Meireles *et al* (2010) a disponibilidade de água nos últimos anos foi gravemente afetada devido ao aumento das áreas irrigadas, resultando num cenário cada vez mais frequente de escassez hídrica. Dada a importância da água para o melhor desenvolvimento das culturas torna-se imprescindível estudos que compreendam as respostas fisiológicas das plantas em função da variação de disponibilidade hídrica (Chavarria *et al*, 2015), neste caso, o milho. E, além de compreender suas respostas fisiológicas ao estresse, procurar alternativas que mitiguem as respostas negativas, através dos bioestimulantes.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ZEA MAYS L.

O milho (*Zea mays* L.) começou sua jornada há cerca de 10.000 anos em algum lugar da Mesoamérica e é o grande responsável pelo início da agricultura formal e pelo estabelecimento de sociedades primitivas (García-Lara; Serna-Saldivar, 2019). Hoje sua produção é difundida por todo o mundo, graças às diferentes cultivares que possibilitam o cultivo nos mais diferentes ambientes, seja nas terras frias do hemisfério norte, até locais elevados, acima de 3600 metros do nível do mar (Barros; Calado, 2014).

Considerado um dos principais cereais do mundo, o milho fornece vários produtos que são largamente utilizados para a alimentação humana e alimentação animal, também é bastante utilizado para fornecer matérias-primas para a indústria, principalmente em função da quantidade e qualidade das reservas acumuladas que o mesmo possui em seus grãos (Alves *et al*, 2015). Recentemente ganhou importância como matéria-prima industrial para a produção de biocombustíveis, compostos químicos, pseudoplásticos e outros materiais (García-Lara; Serna-Saldivar, 2019). Encontra-se como um dos cereais de destaque, categorizado como uma *commodity* (Fao, 2021) apresentando grande importância econômica mundial e notoriedade agrícola (Muimba- Kankolongo, 2018).

A cultura do milho apresenta alta demanda por água, necessitando de 250 a 500 mm de água por ciclo, apresenta sensibilidade ao estresse hídrico provocado pela baixa disponibilidade de água no solo, principalmente no período crítico, que inicia no florescimento e vai até o enchimento dos grãos (Hernández *et al*, 2015). Para manter os níveis de produtividade altos, batendo recordes anuais de produção, o milho necessita de grandes quantidades de nitrogênio (N) no seu cultivo e desenvolvimento (Caires; Milla, 2016). No entanto, frente a alguns estresses abióticos, a produtividade pode ser afetada, como é o caso do estresse hídrico. A ocorrência de estresse hídrico causa muitos danos na cultura do milho, como a redução da produtividade, altura das plantas e diâmetro dos colmos, além da redução na fotossíntese causada pelo decréscimo na expansão celular e pelos danos causados no aparato fotossintético (Guimarães; Rocha; Paternian, 2019).

2.2 ESTRESSE HÍDRICO

De acordo com estimativas do Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas (Stocker *et al*, 2014) o Brasil terá um aumento de 2 a 7 °C em sua temperatura até o ano de 2100, apresentando maior variabilidade nos cenários de precipitação, com tendências regionalizadas de aumento dos extremos máximos e mínimos de temperatura. Com o aumento da temperatura, há a possibilidade da diminuição do regime de chuvas, impactando diretamente na distribuição de água no solo. A água é um recurso de extrema importância para o desenvolvimento das plantas, pois atua em vários processos fisiológicos, dentre eles o processo fotoquímico da fotossíntese, no transporte e absorção de nutrientes, sendo, portanto, um recurso indispensável para o desenvolvimento dos vegetais e está presente desde os primórdios da agricultura (Campos *et al*, 2021).

O déficit hídrico consiste na falta de água no solo, ocasionando redução na absorção de água e nutrientes pelo sistema radicular, podendo causar prejuízos à planta. O termo comumente é definido como um fator externo, que exerce uma influência negativa sobre as plantas. Assim, o déficit hídrico pode ser descrito como todo o conteúdo de água de um tecido ou célula que está abaixo do conteúdo de água mínimo exibido quando a planta apresenta-se no estado de maior hidratação (Taiz; Zeiger, 2009).

O déficit hídrico tem sido considerado um dos principais fatores a reduzir a produtividade e a produção agrícola (Almeida *et al*, 2017). Em ambientes tropicais, variações climáticas, afetam diversas culturas, particularmente o milho. Compreender as respostas fisiológicas diante de fatores ambientais como a falta de água no solo, proporciona um fator essencial para avaliar e minimizar os problemas no cultivo e entender sobre o desenvolvimento da planta mediante ao estresse, sua produção e adaptações (Campos *et al*, 2021). O déficit hídrico ocorrido nos estádios iniciais das culturas de milho, pode ocasionar um decréscimo na turgescência celular, diminuição da expansão celular, redução na germinação, plantas desuniformes, entre outros efeitos negativos (Monterle *et al*, 2008). A germinação, a pré floração e o enchimento de grãos, são etapas cruciais para determinação da produtividade da cultura do milho, ou seja, o estresse hídrico disposto sobre estas etapas pode causar perdas irreparáveis na cultura (Bermagashi *et al*, 2006).

Nesse contexto, torna-se importante o uso de produtos que ajudem as plantas a ter maior tolerância à seca, uma vez que a disponibilidade de água interfere no desenvolvimento e no crescimento de plantas, na germinação das sementes, no processo de macroesporogênese e microesporogênese, e na maturação das sementes e frutos (Taiz;

Zeiger, 2013). Os bioestimulantes podem ser uma alternativa para auxiliar as plantas em condições de estresse hídrico.

2.3 BIOESTIMULANTES

Dentre as novas tecnologias utilizadas que buscam incrementar a produtividade, o uso de bioestimulantes vem obtendo grande destaque. A aplicação é fácil, podendo ser ministradas tanto em aplicações no solo, aplicações foliares e no tratamento de sementes (Dourado Neto *et al*, 2014). A utilização de substâncias com ação bioestimulantes se torna uma opção viável para contribuição na mitigação dos efeitos negativos que prejudica o ciclo da cultura, principalmente pelos agentes abióticos (Silva *et al*, 2021).

Bioestimulantes são misturas de reguladores de crescimento vegetal compostos por um ou mais componentes químicos como, aminoácidos, nutrientes e vitaminas que favorecem a expressão do potencial genético das plantas, promovem um equilíbrio hormonal e estimulam o desenvolvimento radicular (Carmo *et al*, 2021). São produtos naturais ou sintéticos que podem ser aplicados diretamente sobre as plantas, ou no tratamento de sementes, no propósito de alterar seus processos vitais, com a finalidade de aumentar a produção e a qualidade (Silva *et al*, 2018). Quando os bioestimulantes são aplicados exógenamente podem possuir ação semelhante aos dos grupos de hormônios vegetais, auxinas, gibelina e citocininas, que são os principais hormônios vegetais de uso exógeno (Taiz; Zeiger, 2009).

O uso de bioestimulantes demonstram importância por apresentarem uma abordagem inovadora, modificando e regulando os processos fisiológicos das plantas, por intermédio do estímulo do crescimento, aumento da produção da cultura e minimização de estresses gerados pelo ambiente em que estão inseridas (Silva *et al*, 2021), além de promoverem a diminuição dos impactos negativos à agricultura (Duarte *et al*, 2021). O conhecimento sobre seus potenciais efeitos vem se abrangendo cada vez mais, de modo a esclarecer seus benefícios (Da Silva *et al*, 2023). A utilização de bioestimulantes na agricultura vêm se mostrando como uma tecnologia de alto potencial no aumento da produtividade das culturas, em especial, a do milho (Silva, 2018).

2.4 PUTRESCINA

As poliaminas (putrescina, espermidina, espermina e cadaverina) ocorrem

naturalmente em plantas (Monteiro *et al*, 2014). O interesse pelas poliaminas se deve ao fato de elas apresentarem vias metabólicas interconectadas com diferentes rotas envolvidas na formação de moléculas e metabólitos relevantes para sinalizar as respostas das plantas ao estresse (Fariduddin *et al*, 2013). Os relatos indicam que, sob condições de estresse, o conteúdo de poliaminas endógenas em algumas plantas podem diminuir. Dessa forma, o uso de poliaminas exógenas, em especial da putrescina, pode atenuar os efeitos de vários tipos de estresse nas plantas e aumentar a tolerância das culturas (Hussain *et al*, 2011; Gupta *et al*, 2013; Kotakis *et al*, 2014).

A putrescina é uma poliamina resultante da decomposição de aminoácidos importantes para o crescimento e diferenciação das plantas, a arginina, ornitina e agmatina. Devido à sua natureza policatiônica, a putrescina pode unir-se e estabilizar polímeros ricos em cargas negativas, fosfolipídios e proteínas (Hussain *et al*, 2011). Plantas que passam por algum tipo de estresse ambiental, principalmente o déficit hídrico, tendem a apresentar alto teor de putrescina. A presença desse composto em condições de estresse hídrico faz com que as plantas tolerem e regulem mais facilmente a perda de água devido à necessidade de proteger a célula contra danos irreversíveis e, também, estocar componentes que poderão ser utilizados posteriormente (Larcher, 2000). Acredita-se que a biossíntese de poliaminas, especialmente a de putrescina, pode melhorar a tolerância abiótica ao estresse das plantas (Hussain *et al*, 2011).

Em estudo realizado por El-Beltagi *et al* (2024) verificou-se que a aplicação foliar de putrescina reduziu drasticamente esses efeitos negativos, melhorando os pigmentos fotossintéticos, o conteúdo relativo de água e as atividades de defesa antioxidante enzimática. A putrescina também está relacionada ao aumento nas atividades de enzimas antioxidantes para reduzir o acúmulo de EROs sob estresse hídrico (Hamid *et al*, 2018). A pulverização foliar combinada de silício e putrescina na fase reprodutiva pode ser uma estratégia eficaz para aumentar o rendimento do milho em áreas propensas à seca (El-Beltagi *et al*, 2024).

2.5 S-NITROSOGLUTATIONA

O óxido nítrico é uma molécula sinalizadora redox pequena que está envolvida em um vasto número de processos fisiológicos nas plantas. Ela está associada ao crescimento, germinação, fotossíntese e senescência foliar podendo ser benéfico,

prejudicial ou insignificante para as plantas, dependente da dose (Nabi *et al*, 2019). A aplicação exógena de óxido nítrico em concentrações 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 óxido nítrico com glutatona na presença de oxigênio, sendo uma reserva móvel útil de óxido nítrico bioativo com maior meia-vida em células vegetais, além de decomposição espontânea (Corpas *et al*, 2019). Esta forma de armazenamento e transporte é importante para sua ação sinalizadora, realizando transferências do mesmo para proteínas (Lancaster, 2017; Lindermayr, 2018). A S-nitrosoglutationa libera espontaneamente o óxido nítrico pela dissociação da glutatona (GSH), sem efeitos prejudiciais aos vegetais ($\text{GSNO} \rightleftharpoons \text{NO} + \text{GSH}$) (Manjunatha *et al*, 2012; Mukherjee *et al*, 2019).

Em plantas de milho sob seca, verificou-se que o óxido nítrico exógeno promove a redução dos danos oxidativos em função da manutenção e do adicional aumento da atividade de enzimas antioxidantes envolvidas no processo de déficit, bem como melhorarias no status hídrico e no conteúdo de clorofila (An *et al*, 2019; Majeed *et al*, 2018), além de ter incrementado o desempenho fotossintético e reduzido o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs) (Shao *et al*, 2018).

3 ARTIGO

COMO A PUTRESCINA E A S-NITROSOGLUTATIONA (GSNO) ATUA NA MITIGAÇÃO DO DÉFICIT HÍDRICO NO CRESCIMENTO INICIAL DE PLÂNTULAS DE MILHO?

Resumo

O milho é o cereal mais cultivado em todo o mundo e esta cultura apresenta grande sensibilidade a estresses abióticos, principalmente ao déficit hídrico, responsável por grandes danos no crescimento e perdas na produtividade ao longo do tempo. O desenvolvimento de tecnologias que mitiguem a falta de água se torna essencial para manutenção da produção agrícola brasileira e mundial. Com isso, o uso de bioestimulantes pode ser uma alternativa para auxiliar as plantas na superação de estresses abióticos, uma vez que atuam como incremento hormonal e nutricional. A partir da problemática que o déficit hídrico causa na cultura do milho e o quanto isso impacta no setor agrícola, o presente trabalho tem como hipótese que a aplicação exógena da poliamina putrescina e S-nitrosoglutationa mitigam os efeitos do déficit hídrico no crescimento inicial em plantas em milho. O objetivo consistiu em avaliar as características biométricas, fisiológicas e bioquímicas do milho com aplicação de S- nitrosoglutationa e putrescina sob déficit hídrico. Foi realizado experimento através de caixas gerbox e copos plásticos, com duração de dez dias, utilizando controle irrigado, controle de estresse hídrico de 40% e 20% de capacidade de campo e estresse hídrico com a mesma capacidade de campo associada ao uso dos bioestimulantes. Posteriormente foram realizadas análises biométricas, fluorescência da clorofila, quantificação de açúcares totais, açúcares redutores, amido, aminoácidos, proteína, prolina, peroxidação lipídica, peróxido de hidrogênio, enzimas antioxidantes e morfologia radicular. Notou-se que, ambos os bioestimulantes testados trazem benefícios para a cultura do milho. A partir disso, conclui-se que a putrescina foi mais atuante na parte radicular e a S- nitrosoglutationa na parte foliar. Mais testes deverão ser realizados para observar se esse padrão mantém-se ao longo de todos os estádios fenológicos da cultura, visto que o presente estudo propôs a estudar o crescimento inicial.

Palavras-chave: *Zea mays* L.; seca; commodity; bioestimulantes.

INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays L.*) é o cereal mais cultivado em todo o mundo, sendo uma das principais commodities para a agricultura brasileira. Esta cultura apresenta grande sensibilidade a estresses abióticos, principalmente ao déficit hídrico, responsável por grandes danos no crescimento e perdas na produtividade ao longo do tempo. Para se desenvolver normalmente, as plantas de milho necessitam de 60% de água da capacidade de campo total do solo, de acordo com Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

O crescimento das plantas de milho nas fases iniciais pode ser facilmente afetado por condições anormais dos componentes químicos e físicos do meio (estresses abióticos), os quais impactam não só o campo, mas a sociedade como um todo. O aumento do aquecimento global estimado para as próximas décadas e junto a ele o aumento de áreas com déficit hídrico são questões preocupantes para todo o setor do agronegócio. O desenvolvimento de cultivares mais tolerantes a períodos de déficit hídrico e de tecnologias que mitiguem a falta de água se torna essencial para manutenção da produção agrícola brasileira e mundial (AMENU, 2017).

A redução da expansão celular é o primeiro efeito do déficit hídrico e dependendo do grau, podendo limitar a divisão celular (FERRARI et al, 2015). A deficiência hídrica afeta o crescimento e desenvolvimento das plantas, causando decréscimo do índice de área foliar, enrolamento das folhas, redução da área de absorção da radiação fotossinteticamente ativa da planta e aceleração na taxa de senescência (BIANCHI et al, 2016). Ademais, a fase vegetativa do milho é altamente suscetível ao déficit hídrico devido à necessidade neste período do uso de carboidrato para a alta demanda do crescimento das folhas e raízes.

Novas tecnologias aliadas ao manejo adequado vêm sendo utilizadas para aumentar a produtividade das culturas. O uso de bioestimulantes vem ganhando grande destaque nesse campo, visto que se trata de substâncias naturais ou sintéticas que podem ser aplicadas em sementes, plantas ou solo e provocam alterações dos processos vitais e estruturais, a fim de aumentar a produtividade (DOURADO NETO et al, 2014). Essa pode ser uma alternativa para auxiliar as plantas na superação de estresses abióticos, uma vez que atuam como incremento hormonal e nutricional (OLIVEIRA et al, 2016). O conhecimento através de pesquisas e a utilização de bioestimulantes em culturas agrícolas vem ganhando um espaço cada vez maior na contenção dos problemas causados pelo estresse abiótico.

Uma alternativa de bioestimulante é o uso de doadores de óxido nítrico (NO) como a S-nitrosoglutationa (GSNO), que atua nas plantas como um regulador de crescimento e desenvolvimento (AMÂNCIO, 2022). Outra importante classe de moléculas que também

podem ser usadas como bioestimulantes são as poliaminas, por apresentarem características como regulação de crescimento, adaptação ao estresse, proteção contra patógenos, armazenamento de nitrogênio e sinalização celular (LUNA- ESQUIVEL et al, 2014).

As poliaminas ocorrem naturalmente em plantas, contudo, a aplicação exógena pode proporcionar benefícios nas plantas sob condições ambientais adversas, que são proteção contra estresse oxidativo, manutenção da estabilidade de membranas, regulação da expressão gênica e aumento da tolerância ao estresse (MONTEIRO et al, 2014). Elas são importantes para a sobrevivência e adaptação das plantas em ambientes estressados. O interesse pelas poliaminas se deve ao fato de elas apresentarem vias metabólicas interconectadas com diferentes rotas envolvidas na formação de moléculas e metabólitos relevantes para o processo de respostas das plantas ao estresse (FARIDUDDIN *et al*, 2013; FILIPPOU et al, 2014).

A partir da problemática que o déficit hídrico causa na cultura do milho e o quanto isso impacta no setor agrícola, o presente trabalho tem como hipótese que a aplicação exógena da poliamina putrescina e GSNO mitigam os efeitos deletérios do déficit hídrico no crescimento inicial em plantas em milho. O objetivo consistiu em avaliar as características biométricas, fisiológicas e bioquímicas do milho com aplicação de GSNO e putrescina sob déficit hídrico.

MATERIAL E MÉTODOS

Condições de cultivo e delineamento experimental

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Biotecnologia Ambiental e Genotoxicidade, localizado na Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL-MG, *Campus* Alfenas, no estado de Minas Gerais, Brasil, altitude de 818 m, coordenadas geográficas 21° 42' 06''S 45° 94' 86''W. Utilizou-se o híbrido de milho BRS 1040, sensível à seca desenvolvido pelo programa de melhoramento de milho da Embrapa Milho e Sorgo.

Para atender os objetivos do trabalho, foram realizados dois experimentos, um em caixa gerbox e outro em copos de 700 mL com os mesmos tratamentos. O copo não limita o desenvolvimento radicular, o que é primordial para as avaliações da morfologia da raiz e a caixa gerbox possibilita um maior número de plantas.

O delineamento experimental para os experimentos foi o inteiramente casualizado (DIC), com sete tratamentos, sendo eles: Controle com 60% da capacidade de campo (c.c.) irrigado, déficit hídrico com 40% c.c. irrigado, déficit hídrico com 20% c.c. irrigado, déficit hídrico com 40% c.c. + putrescina, déficit hídrico com 20% c.c. + putrescina, déficit hídrico com 40% c.c. + GSNO, déficit hídrico com 20% c.c. + GSNO, com quatro repetições por tratamento utilizando

as gerbox e oito repetições por tratamento utilizando os copos.

Inicialmente 500 sementes passaram por assepsia com hipoclorito de sódio 2% por 10 minutos e posteriormente foram lavadas três vezes com água destilada. Após isso, as sementes foram semeadas nas caixas plásticas do tipo gerbox transparentes, preenchidas com 450 gramas de areia previamente peneirada e secada à 100 °C. Também foram preenchidos com 950 gramas de areia peneirada e seca os copos transparentes envoltos com papel alumínio. A areia utilizada foi a média lavada, sem nenhum tipo de tratamento feito anteriormente, apenas peneirada e seca. Foram semeadas dez sementes por gerbox e cinco sementes por copo. Os experimentos foram realizados durante dez dias em incubadora BOD (biochemical oxygen demand) 411FPD, marca Ethik (Ethiktechnology, Brasil) sob fotoperíodo de doze horas de luz e temperatura de 30 °C.

Para determinação da quantidade de água necessária para umedecer o substrato antes do plantio, foi feito um cálculo através do peso de areia seca (quantidade suficiente para preencher o recipiente utilizado). Esta quantidade de areia foi colocada em um filtro de papel e adicionada uma quantidade de água destilada já conhecida. Passados quinze minutos, tempo necessário para que o excesso de água seja drenado, este volume de água foi usado para o cálculo através da diferença da quantidade de água que ficou retida na areia (100%) (BRASIL, 2009). A partir disso foi calculada 20%, 40% e 60% da capacidade de retenção de água em cada recipiente, seguindo a metodologia descrita nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009) na qual consta que a cultura de milho necessita de 60% de capacidade de campo de solo úmido para germinação.

Ao decorrer de cada experimento, foi realizado um desbaste nas caixas em que foi verificada a emergência de mais de cinco plântulas. Nos copos, foi também realizado o desbaste, deixando apenas duas plântulas. As caixas e os copos foram pesados diariamente para reposição de água destilada até que atingisse o peso inicial registrado. No 5º dia de experimento, foi realizada uma aplicação foliar em todos os tratamentos, através de um borrifador convencional de 5µL 5mL⁻¹ de putrescina, S- nitrosoglutationa (GSNO) ou água destilada, correspondente ao tratamento realizado anteriormente. As concentrações utilizadas dos bioestimulantes (putrescina e GSNO) nos tratamentos foram de 100 µM e anteriormente não foi realizado nenhum tipo de adubação no milho.

Análises biométricas

O crescimento foi monitorado por dez dias, com observações realizadas e anotadas a cada 24 horas. As medições foram realizadas em todas as plantas após os dez dias de semeadura, sendo o comprimento da raiz principal e da parte aérea medidos com uma régua e o diâmetro

do caule através de paquímetro digital. Também foi determinada a massa fresca total da parte aérea e da parte radicular da planta de cada tratamento testado através de balança analítica modelo AY220, marca Marte. Posteriormente esse material foi congelado em biofreezer para realização das análises bioquímicas.

Fluorescência da clorofila

As avaliações da fluorescência da clorofila foram efetuadas utilizando-se o equipamento FluorCam FC 800-C (Photon Systems Instruments, República Tcheca). As leituras foram efetuadas na epiderme adaxial das folhas em estágio V2 (segunda folha totalmente expandida), realizadas em todas as plantas das 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 $7000 \mu\text{m}^2 \text{ s}^{-1}$. 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 (ROHÁCEK, 2002). A fluorescência constante (F_s) foi obtida e em seguida outro pulso de luz saturante 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 ou YII = $(F_m_Lss - F_t_Lss)/F_m_Lss$ (VAN KOOTEN; SNEL 1990).

Quantificação de açúcares totais, açúcares redutores e amido

Amostras de 200 mg congeladas após o final do experimento da parte aérea e das raízes, de todas as repetições e todos os tratamentos, foram maceradas e homogeneizadas sob banho de gelo com 2 mL de solução de metanol/clorofórmio/água (12:5:3, v v v), incubadas em eppendorf e deixadas sob repouso em temperatura ambiente por 24 h. Em seguida, foram centrifugadas a 3000 rpm por 30 minutos a 4 °C. Posteriormente, o sobrenadante foi coletado e acrescido de solução de clorofórmio e água (4:1:1,5, v v v) de acordo com o volume retirado anteriormente. Para a análise dos açúcares totais, açúcares redutores e aminoácidos foram utilizados a fase aquosa, já para o amido foi utilizado o precipitado da centrifugação.

O conteúdo de açúcares totais foi determinado por meio de alíquotas da fase aquosa obtida, misturadas a água totalizando 1 mL e misturadas a 2 mL do reagente de antrona (20 mg de antrona, 500 µL de água e 10 mL de H₂SO₄ concentrado). As amostras foram agitadas e posteriormente aquecidas a 100 °C por 5 min. A absorbância foi determinada em 620 nm e a quantificação feita com base em curva padrão de glicose 0,01% (YEMM; WILLIS, 1954).

Para a análise dos açúcares redutores foi utilizado o método descrito por Miller (1959). Uma alíquota da fase aquosa e água destilada, totalizando 750 µL, foi acrescentada a 500 µL de uma solução composta por 10 mL de NaOH 2N, 0,5 g de ácido dinitro-3,5-salicílico (DNS) e 15 g de tartarato de sódio e potássio. As amostras foram agitadas e depois aquecidas em banho maria a 100 °C por 5 minutos. Em temperatura ambiente, adicionou-se 3750 µL de água destilada e a leitura da absorbância foi realizada em 540 nm. A quantificação foi realizada com base em curva padrão de glicose 1%.

O conteúdo de amido foi determinado com o precipitado obtido da extração dos metabólitos primários e foi adicionado 1 mL de ácido perclórico 30 %. As amostras foram agitadas por 10 min. A partir da solução obtida foi determinado o teor de amido pela reação com antrona, mesmo método dos açúcares totais (MCCREADY *et al*, 1950).

Quantificação de aminoácidos, prolina e proteína

O conteúdo total de aminoácidos foi determinado de acordo com Yemm e Cocking (1955). Amostras de 200 mg congeladas após o final do experimento da parte aérea e das raízes, de todas as repetições e todos os tratamentos, foram maceradas, homogeneizadas e centrifugadas. Alíquotas dos extratos foram adicionadas a água destilada totalizando 1 mL. Posteriormente 1,7 mL dos seguintes reagentes foram adicionados: tampão citrato de sódio 0,2 M pH 5 (0,5mL), ninhidrina 5 % em meticelossolve (0,2 mL) e KCN 2 % em metilcelossolve (1 mL). Essa mistura foi submetida a agitação e aquecida a 100 °C por 20 min. Após o resfriamento a temperatura ambiente, 1,3 mL de etanol 60 % foi adicionado às amostras e a absorbância determinada a 570 nm. Foi realizada a quantificação com base em curva padrão de glicina.

Para a extração e quantificação da prolina, utilizou-se o método de Bates (1973), na qual 100 mg do material vegetal (congelado após o final do experimento) parte aérea e raízes, de todas as repetições e todos os tratamentos, foi macerado com 5 mL de ácido sulfosalicílico 3%, agitado em temperatura ambiente por 60 minutos e em seguida, centrifugado por mais sete minutos. Foi coletado 2 mL da amostra, adicionado 2 mL de ninhidrina ácida e 2 mL de ácido acético. Essa mistura foi submetida a agitação e aquecida a 100 °C por 60 minutos. Após o

resfriamento em banho de gelo, foi adicionado 2 mL de tolueno e agitado até o tolueno reagir com a amostra, obtendo uma coloração rosada. O sobrenadante foi coletado e a absorvância determinada a 520 nm. A quantificação foi realizada com base em curva padrão de prolina.

A extração de proteína dos materiais vegetais consistiu em 300 mg de material da parte aérea e raízes, congelados ao final do experimento, mais 1200 uL de tampão fosfato de potássio 50 mM, contendo: EDTA 1 mM, fluoreto de fenilmetanosulfonil (PMSF) 1 mM e ascorbato 5 mM. Centrifugou-se a 4° C por 10 minutos e coletou-se o sobrenadante. Uma alíquota do material foi submetida ao método de Bradford (1976), em ELISA a 595 nm utilizando-se o BSA como padrão.

Peroxidação lipídica e peróxido de hidrogênio

Para a realização da peroxidação lipídica utilizou-se o método adaptado de Batist *et al* (2006), na qual foi macerado e homogeneizado 100 mg de amostra da parte aérea e raiz, congelados ao final do experimento, com 2 mL de ácido tricloroacético 0,01 % (TCA). Em seguida, foi centrifugado a 10.000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi coletado (0,4 mL) e adicionado 1,6 mL de ácido-2-tiobarbitúrico 0,5% (TBA), totalizando 2 mL. O material foi aquecido à 95 °C por 30 minutos. Após resfriamento sob banho de gelo foi centrifugado novamente e a absorvância foi determinada a 600 nm e 532 nm.

O conteúdo de peróxido de hidrogênio foi determinado utilizando a metodologia descrita por Gay *et al* (2009), com algumas modificações. Para extração, utilizou-se 300 mg de material vegetal congelado ao final do experimento, macerou-se e foi acrescentado metanol na proporção de 1:5 (mg μL^{-1}). Após isso, foi centrifugado por 5 minutos. Uma alíquota do sobrenadante (100 μL) foi misturada com 500 μL de sulfato de ferro 1mM, 200 μL de ácido sulfúrico 250 mM e deixado no escuro por 5 minutos. Após isso, 100 μL de xilenol laranja 1mM foi adicionado e misturado, deixando-se mais uma vez no escuro por 20 minutos. A absorvância da reação foi mensurada a 560 nm.

Enzimas Antioxidantes

As amostras vegetais de todos os tratamentos e repetições, da parte aérea e raízes, congeladas ao final do experimento (300 mg) foram homogeneizadas em 4 volumes de tampão fosfato de potássio 50 mM (ph 7,5) contendo: EDTA 1mM, fluoreto de fenilmetanosulfonil (PMSF) 1 mM e ascorbato 5 mM. Centrifugou-se a 4° C por 10 minutos e coletou-se o sobrenadante, na qual foi utilizado para as estimativas das atividades enzimáticas.

A atividade da ascorbato peroxidase (APX) foi determinada pela diminuição da

absorbância do ascorbato ($\epsilon = 2,8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) a 290 nm. A mistura de reação foi formada por tampão fosfato de potássio 50 mM pH 7,0, ácido ascórbico 5 mM, peróxido de hidrogênio 5 mM e diferentes volumes do extrato enzimático. A reação foi iniciada pela adição do peróxido de hidrogênio. Os resultados foram expressos em mmol de ascorbato consumido $\text{mg}^{-1} \text{ proteína min}^{-1}$.

A atividade da catalase (CAT) foi determinada pelo consumo de peróxido de hidrogênio, acompanhado pela queda da absorbância a 240 nm. A mistura de reação foi formada por tampão fosfato de potássio 50 mM pH 7,0, peróxido de hidrogênio 40 mM e diferentes volumes do extrato enzimático. A reação foi iniciada pela adição do peróxido de hidrogênio ($\epsilon = 36 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Os resultados foram expressos em μmol de peróxido de hidrogênio consumido $\text{mg}^{-1} \text{ proteína min}^{-1}$.

A atividade do guaiacol peroxidase (GPOX) foi determinada através do acompanhamento da mudança de absorbância a 470 nm causada pela redução do guaiacol ($\epsilon = 26,6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). A mistura de reação foi formada por tampão fosfato de potássio 100 mM pH 6,5, guaiacol 60 mM, peróxido de hidrogênio 1% e diferentes concentrações do extrato enzimático. Os resultados foram expressos em mmol de peróxido de hidrogênio consumido $\text{mg}^{-1} \text{ proteína min}^{-1}$.

A atividade da superóxido dismutase (SOD) foi determinada através da sua capacidade de inibir a redução fotoquímica do cloreto de azul nitrotetrazólio (NBT). A mistura de reação foi formada de tampão fosfato de potássio 50 mM pH 7,8, EDTA 10 mM, L-metionina 70 mM, NBT 1 mM, riboflavina 0,2 mM e a amostra. A reação foi iniciada pela adição de riboflavina e a absorbância foi determinada a 560 nm após 7 minutos de incubação a temperatura ambiente sob luz contínua. Uma unidade de SOD foi definida pela quantidade de enzima que inibe 50% da taxa de redução do NBT.

Morfologia radicular

Para a análise da morfologia do sistema radicular foi utilizado o sistema de análise de imagens WinRhizo Pro 2007^a (Regent Instruments, Sainte-Foy, QC, Canadá) acoplado a um scanner profissional (Epson, Expression 10000 XL, Epson America, Inc., USA) equipado com unidade de luz adicional (TPU). Após a finalização do experimento utilizando copos plásticos transparentes, envoltos com papel alumínio, as raízes foram lavadas e armazenadas sob álcool 70% até fazer-se a leitura morfológica no software WinRhizo. A utilização de copos plásticos para essa análise foi importante para não haver a limitação do crescimento das raízes, o que poderia ocorrer se fossem utilizadas as caixas gerbox, devido seu tamanho. Foram determinadas

as seguintes características: comprimento (cm), área de superficial (cm^2), diâmetro médio (mm) e volume radicular (cm^3). Em seguida as raízes foram armazenadas em sacos de papel e transportadas para uma estufa de circulação forçada de ar a $65\text{ }^\circ\text{C}$ até a obtenção de massa constante. Outros atributos envolvendo dados morfológicos e de massa seca foram realizados: comprimento específico de raiz (SRL cm g^{-1}), espessura de raiz (RF cm cm^3), razão raiz/parte aérea (g g^{-1}) e densidade média da raiz (RMDe g cm^{-3}) (MARQUES *et al*, 2023). Na análise morfológica, utilizou-se duas plantas por repetição, sendo oito repetições e sete tratamentos.

Análise estatística

Para todas as variáveis analisadas foram calculadas as médias e o \pm desvio padrão (SD). Para a análise estatística dos resultados, foi utilizada a análise de variância (ANAVA) e o teste de comparação de médias Scott Knott, a 0,05% de significância ($p \leq 0.05$), no programa Sisvar versão 5.6 (Universidade Federal de Lavras, Lavras, Brasil).

RESULTADOS

Aos dez dias após a semeadura, as plantas de milho do tratamento de déficit hídrico 40 % cc com aplicação de putrescina e as plantas do controle irrigado apresentaram a mesma altura ($p < 0,05$) (Figura 1^a). O diâmetro das plantas de milho não apresentou diferença significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$) (Figura 1B). No comprimento radicular, a aplicação de putrescina e GSNO com déficit hídrico de 40% cc aumentaram o comprimento de raiz semelhante ao controle irrigado ($p < 0,05$) (Figura 1C).

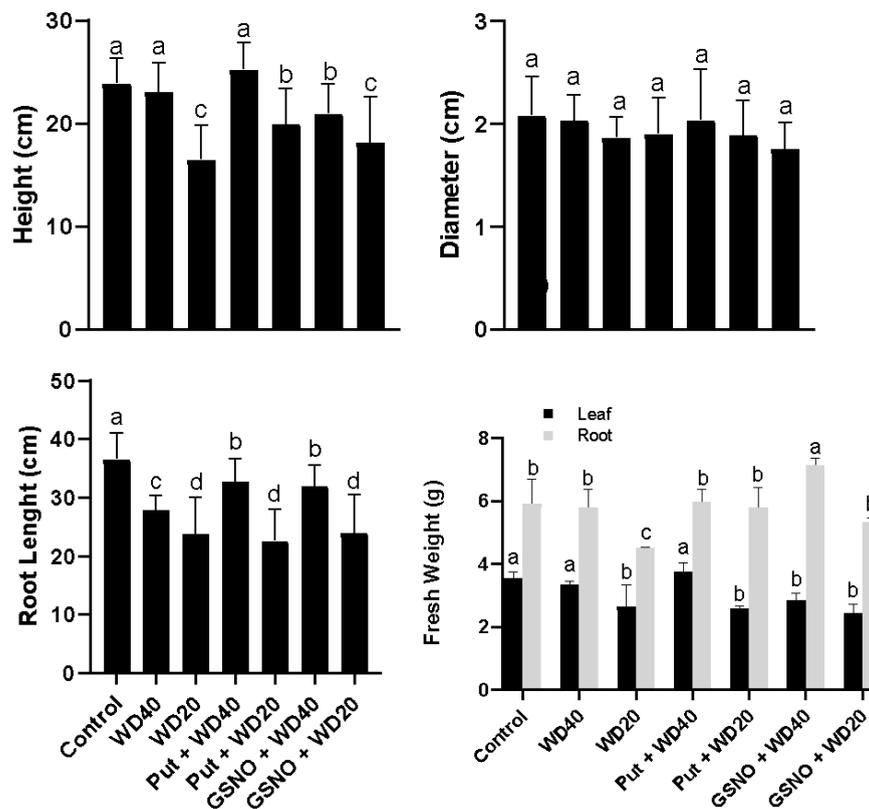


Figura 1: Análise biométrica de altura (a), diâmetro (b), comprimento de raiz (c) e massa fresca (d) de milho sensível a seca (BRS 1040) submetidos ao déficit hídrico e a aplicação de S-nitrosoglutathione (GSNO) e putrescina (Put) à 100 μ M. Médias seguidas por mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade ($p \leq 0.05$). Cada valor indica a média do tratamento \pm SD.

Em relação a massa fresca da folha, o tratamento com putrescina associado ao déficit hídrico de 40% cc se igualou estatisticamente com o controle irrigado. Já na massa fresca da raiz houve uma maior variação em comparação a massa fresca da folha ($p < 0,05$) (Figura 1D). O tratamento que mais se sobressaiu foi o GSNO com déficit hídrico de 40% cc. Pode-se perceber também que o controle de déficit hídrico de 20% cc, sendo o mais severo, apresentou a menor massa fresca de raiz (Figura 1D).

Para os dados de fluorescência, nota-se que o quenching fotoquímico (QP) e o rendimento quântico efetivo do fotossistema II (YII) não apresentaram resultados significativos entre os tratamentos ($p < 0,05$) (Figura 2AC). No quenching não fotoquímico (NPQ), o controle, o déficit hídrico de 40% cc e a putrescina associada ao mesmo déficit hídrico apresentaram valores maiores que os outros tratamentos ($p < 0,05$) (Figura 2B).

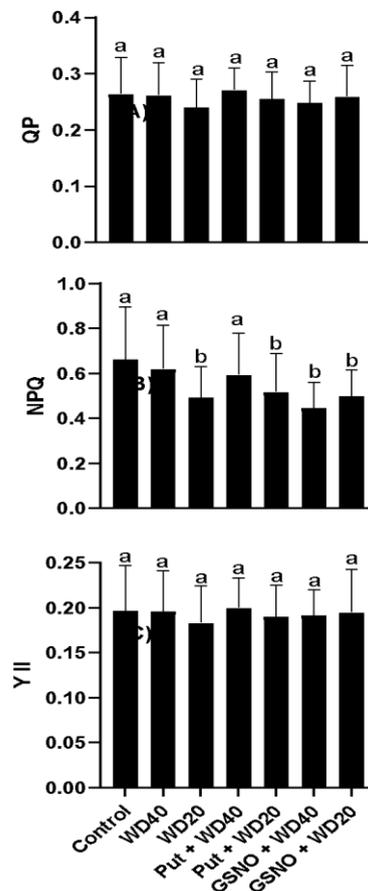


Figura 2: Análise da fluorescência compreendendo quenching fotoquímico (QP) (a), quenching não fotoquímico (NPQ) (b) e rendimento quântico efetivo do fotossistema II (YII) (c) de milho sensível a seca (BRS 1040) submetidos ao déficit hídrico e a aplicação de S-nitrosoglutationa (GSNO) e putrescina (Put) à 100 μ M. Médias seguidas por mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade ($p \leq 0.05$). Cada valor indica a média do tratamento \pm SD.

Quantificando os açúcares totais os tratamentos putrescina e GSNO, ambos sob déficit hídrico de 40% cc se destacaram ($p < 0,05$), sendo a putrescina atuando nas raízes e o GSNO atuando nas folhas (Figura 3^a). Para a análise dos açúcares redutores, a putrescina sob déficit hídrico de 20% cc obteve maior conteúdo de açúcar nas raízes, já nas folhas a putrescina sob déficit hídrico de 40% cc obteve menos, junto ao controle para o mesmo estresse ($p < 0,05$) (Figura 3B). Em relação ao amido presente nas folhas, o GSNO com déficit hídrico de 20% cc possuiu o maior conteúdo de amido entre os tratamentos ($p < 0,05$) (Figura 3C). Nas raízes, observou-se que todos os tratamentos sob estresse hídrico de 40% cc se comportam semelhantemente, compreendendo valores abaixo do controle com déficit ($p < 0,05$) (Figura 3C).

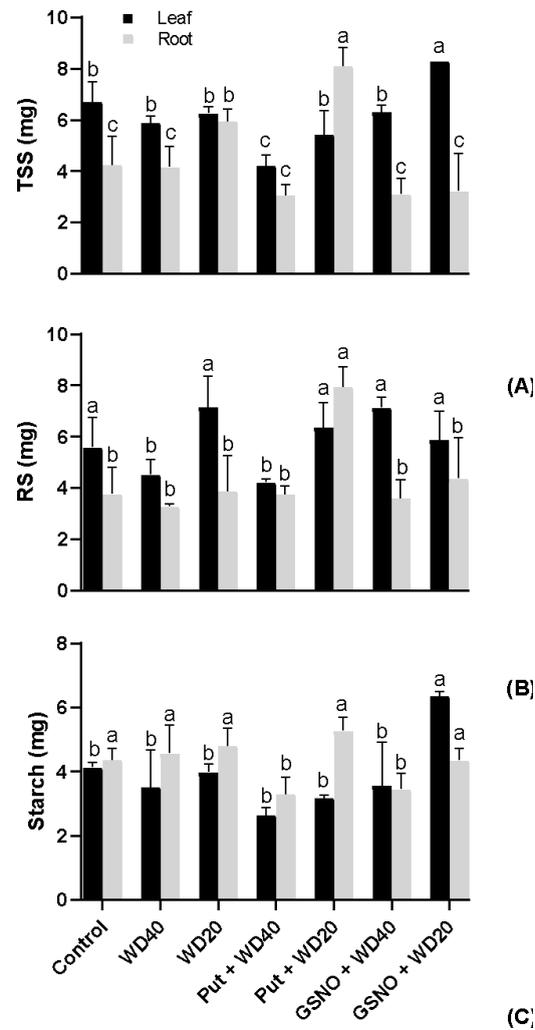


Figura 3: Conteúdo de açúcares solúveis totais (TSS) (a), açúcares redutores (RS) (b), e amido (c) de milho sensível a seca (BRS 1040) submetidos ao déficit hídrico e a aplicação de S-nitrosoglutationa (GSNO) e putrescina (Put) à 100 μ M. Médias seguidas por mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade ($p \leq 0.05$). Cada valor indica a média do tratamento \pm SD.

Em relação a análise da peroxidação lipídica pode-se observar que há maior concentração na folha do que na raiz (Tabela 1). No controle de ambas as variáveis, folha e raiz, observa-se que a peroxidação lipídica é pequena, sendo maior apenas no déficit hídrico de 40% cc na folha e no déficit hídrico de 20% cc na raiz ($p < 0,05$) (Tabela 1). No peróxido de hidrogênio, na folha não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos e o controle ($p < 0,05$) (Tabela 1). Na raiz, todos os tratamentos tiveram resultados semelhantes com controle irrigado, apenas os controles com déficit hídrico obtiveram resultados inferiores (Tabela 1).

Tabela 1: Conteúdo de peroxidação lipídica, peróxido de hidrogênio, prolina, proteína e aminoácidos totais de milho sensível a seca (BRS 1040) submetidos ao déficit hídrico e a aplicação de S-nitrosoglutationa (GSNO) e putrescina (Put) à 100 µM. Médias seguidas por mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade ($p \leq 0.05$). Cada valor indica a média do tratamento \pm SD.

| Trataments | Lipid peroxidation | | Hydrogen peroxide | | Proline | | Protein | | AA | |
|--------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|-------------------------|------------------------|
| | Leaf | Root | Leaf | Root | Leaf | Root | Leaf | Root | Leaf | Root |
| Control | 1,75 \pm 0,46 C | 2,31 \pm 0,89 b | 11,64 \pm 1,09 a | 3,03 \pm 0,90 A | 32,49 \pm 2,65 A | 30,57 \pm 2,79 a | 4,98 \pm 0,84 b | 0,92 \pm 0,28 C | 115,64 \pm 12,77 c | 45,03 \pm 15,80 A |
| WD40 | 12,76 \pm 0,15 a | 1,77 \pm 1,41 b | 13,34 \pm 1,47 a | 2,26 \pm 0,83 B | 30,84 \pm 1,46 A | 30,54 \pm 2,60 a | 4,46 \pm 0,90 b | 0,68 \pm 0,24 C | 170,54 \pm 15,39 b | 58,59 \pm 22,39 A |
| WD20 | 4,73 \pm 1,26 B | 7,48 \pm 0,75 a | 13,77 \pm 2,32 a | 2,04 \pm 0,81 B | 30,49 \pm 2,46 A | 30,46 \pm 2,14 a | 4,78 \pm 0,55 b | 0,71 \pm 0,12 C | 109,38 \pm 19,91 c | 66,85 \pm 20,33 A |
| Put + WD40 | 1,37 \pm 0,21 C | 0,45 \pm 0,31 c | 12,60 \pm 0,99 a | 3,55 \pm 0,59 A | 30,78 \pm 1,49 A | 30,73 \pm 2,60 a | 3,77 \pm 0,61 c | 0,71 \pm 0,16 C | 166,65 \pm 10,79 b | 52,70 \pm 8,26 A |
| Put + WD20 | 1,30 \pm 0,39 C | 0,38 \pm 0,17 c | 12,97 \pm 1,17 a | 3,62 \pm 0,63 A | 33,66 \pm 3,09 A | 29,67 \pm 1,66 a | 5,88 \pm 0,44 a | 1,03 \pm 0,27 B | 133,49 \pm 17,78 c | 73,82 \pm 8,12 A |
| GSNO + WD40 | 1,49 \pm 0,21 C | 0,35 \pm 0,19 c | 13,69 \pm 1,33 a | 3,42 \pm 0,51 A | 32,10 \pm 1,24 A | 30,22 \pm 0,93 a | 3,26 \pm 0,30 c | 1,35 \pm 0,35 A | 218,71 \pm 35,37 a | 61,77 \pm 31,30 A |
| GSNO + WD20 | 1,23 \pm 0,50 C | 0,27 \pm 0,24 c | 11,87 \pm 1,91 a | 2,82 \pm 0,82 A | 31,82 \pm 2,22 A | 31,66 \pm 3,46 a | 5,14 \pm 0,37 b | 0,72 \pm 0,13 C | 128,27 \pm 23,55 c | 61,91 \pm 11,59 A |

No conteúdo de prolina, em ambas as variáveis não se obteve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) (Tabela 1). Para o conteúdo de proteína, o tratamento com a putrescina sob déficit hídrico de 20% cc possuiu maiores resultados nas folhas e o GSNO sob déficit hídrico de 40% cc, maiores resultados de proteínas nas raízes ($p < 0,05$) (Tabela 1). A quantificação dos aminoácidos, observa-se que, de maneira geral, os aminoácidos foram superiores na folha em relação às raízes (Tabela 1). Dentre os aminoácidos, o tratamento com GSNO sob déficit hídrico de 40% cc possui maior conteúdo de aminoácidos na folha do que quando comparados com o outro tratamento sob mesma condição hídrica ($p < 0,05$). Para as raízes, estatisticamente, não se possui diferenças entre os tratamentos e os controles ($p < 0,05$) (Tabela 1).

Já na atividade enzimática nota-se que, na superóxido dismutase (SOD) presente nas folhas, os tratamentos com putrescina e GSNO ambos sob déficit hídrico de 40% cc obtiveram maior atividade, comparados ao controle ($p < 0,05$) (Figura 4^a). Já nas raízes a putrescina com déficit hídrico de 20% e o GSNO de 40%, obtiveram menor atividade ($p < 0,05$) (Figura 4^a). Na ascorbato peroxidase (APX), o GSNO em ambos os déficits foi destaque dos resultados na folha. Já nas raízes, ambos os tratamentos sob déficit hídrico de 40% cc se destacaram ($p < 0,05$) (Figura 4B). Em relação ao guaiacol peroxidase, a maior atividade enzimática da GPX na folha foi no tratamento com GSNO + WD40, enquanto na raiz, esse mesmo tratamento foi o menor, ambos comparados ao controle irrigado ($p < 0,05$) (Figura 4C). Para a catalase (CAT), nos tratamentos com putrescina e GSNO, ambos sob déficit hídrico de 20% cc a atividade da catalase foi maior nas folhas ($p < 0,05$) (Figura 4D). A putrescina sob déficit hídrico de 40% cc e 20% cc mais o GSNO sob 40% cc foram os tratamentos com maior atividade no parâmetro raiz ($p < 0,05$) (Figura 4D).

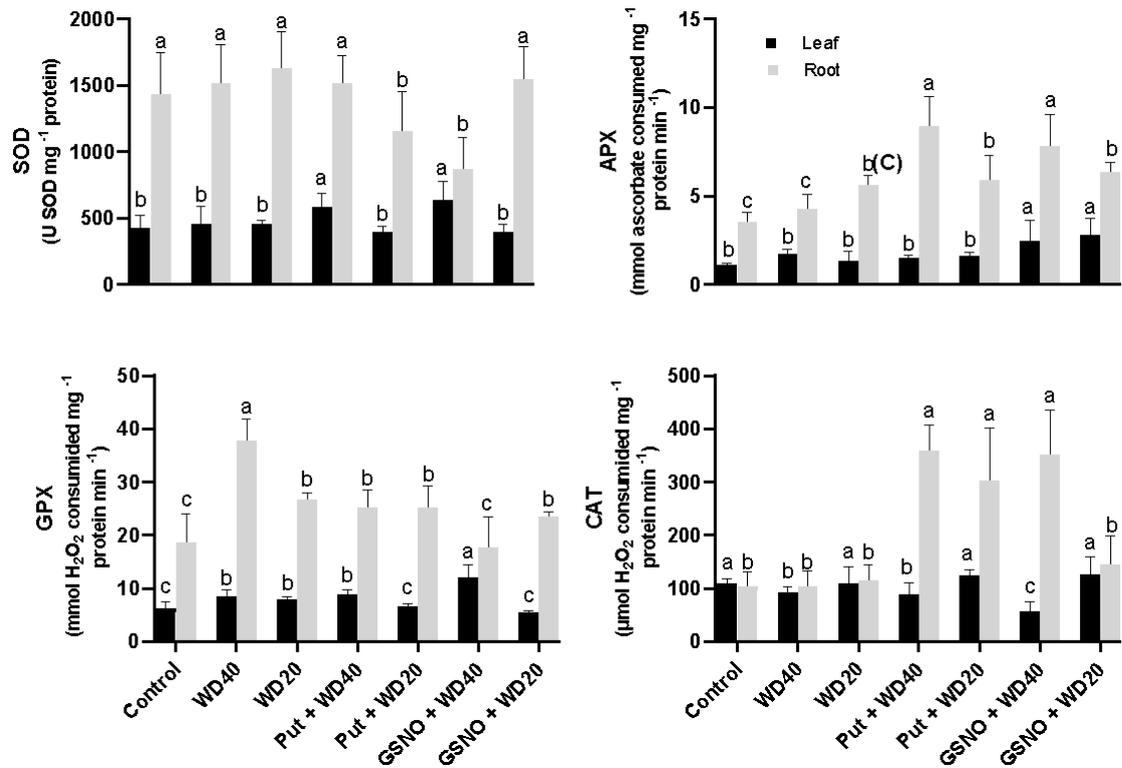


Figura 4: Quantificação da atividade das enzimas antioxidantes, sendo superóxido dismutase (SOD) (a), ascorbato peroxidase (APX) (b), guaiacol peroxidase (GPX) (c), e catalase (CAT) (d) de milho sensível a seca (BRS 1040) submetidos ao déficit hídrico e a aplicação de *S*-nitrosoglutationa (GSNO) e putrescina (Put) à 100 μ M. Médias seguidas por mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade ($p \leq 0.05$). Cada valor indica a média do tratamento \pm SD.

Analisando a morfologia radicular (Figura 5), nota-se que a putrescina atuou no déficit hídrico de 40% cc, tanto no comprimento (Figura 5^a) quanto no volume radicular (Figura 5D). No diâmetro radicular (Figura 5C), observa-se que as raízes associadas ao déficit hídrico de 20% cc. E as tratadas com GSNO, possuem um diâmetro maior que as raízes do controle e demais tratamentos, podendo inferir que são menores e mais grossas ($p < 0,05$). Na área superficial radicular (Figura 5B), o tratamento com GSNO + 40% cc obteve a menor área superficial que os demais tratamentos e controles ($p < 0,05$).

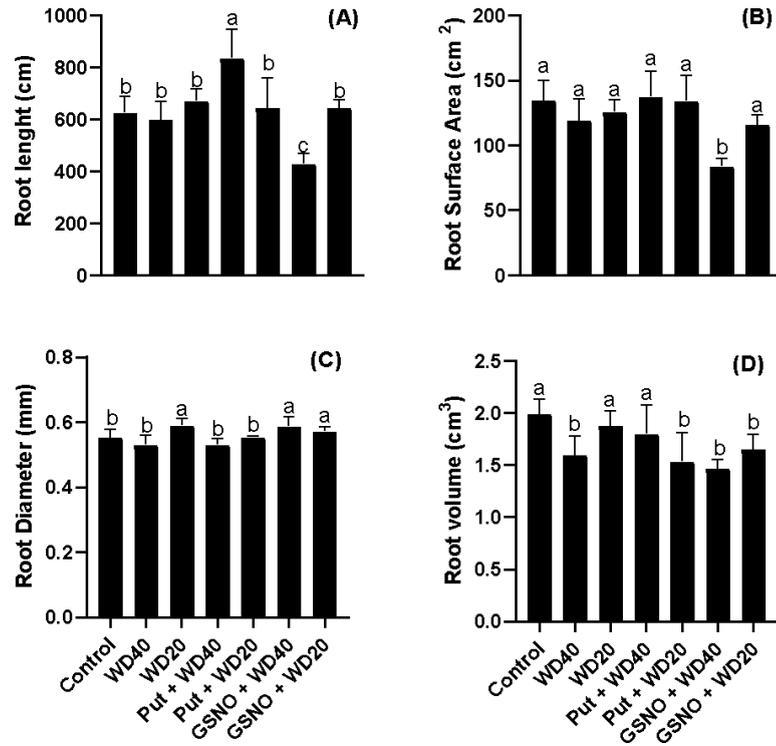


Figura 5: Conteúdo da análise morfológica da raiz de comprimento (a), área superficial (b), diâmetro (c) e volume (d) de milho sensível a seca (BRS 1040) submetidos ao déficit hídrico e a aplicação de S-nitrosoglutathione (GSNO) e putrescina (Put) à 100 μ M. Médias seguidas por mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade ($p \leq 0.05$). Cada valor indica a média do tratamento \pm SD.

Nos atributos morfológicos radiculares, podemos notar novamente a ação da putrescina nas raízes. No comprimento específico da raiz (SRL) (Figura 6^a) o tratamento com putrescina sob déficit hídrico de 40% cc obteve maior destaque, comparando-o com os outros tratamentos e os controles ($p < 0,05$). Na espessura de raiz (RF), ambos os tratamentos, putrescina e GSNO sob déficit hídrico de 20% cc, contaram com raízes mais finas ($p < 0,05$) (Figura 6B). Com a densidade média da raiz (RMDe), observa-se que ambos os déficits hídricos, 40 e 20% cc, possuem raízes mais densas que o controle e os tratamentos realizados ($p < 0,05$) (Figura 6C). Por fim, na razão raiz/parte aérea, os tratamentos de putrescina e GSNO ambos sob déficit de 40% cc contaram com valores maiores do que o controle e os outros déficits ($p < 0,05$) (Figura 6D).

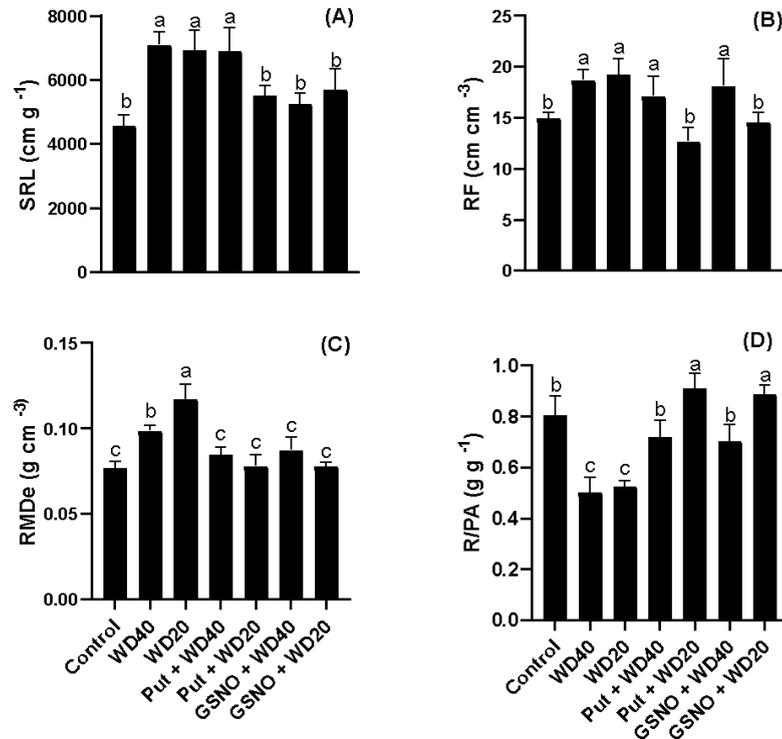


Figura 6: Conteúdo de atributos morfológicos radiculares de comprimento específico da raiz (SRL) (a), espessura de raiz (RF) (b), densidade média da raiz (RMDe) (c), e razão raiz/parte aérea (d) (d) de milho sensível a seca (BRS 1040) submetidos ao déficit hídrico e a aplicação de S-nitrosoglutathione (GSNO) e putrescina (Put) à 100 μ M. Médias seguidas por mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade ($p \leq 0.05$). Cada valor indica a média do tratamento \pm SD.

DISCUSSÃO

O déficit hídrico reduz o crescimento das plantas, sendo esta uma resposta imediata ao estresse (JUNIOR *et al.*, 2018). As plantas de milho submetidas ao déficit hídrico limitaram o crescimento da parte aérea, resultando em uma menor altura quando comparado às plantas sob irrigação. Assim, é possível observar que quanto maior o déficit hídrico, menor é o crescimento em altura das plantas. Tal acontecimento demonstra que, a escassez hídrica limita os processos de divisão e a expansão celular, com células menos túrgidas (SHAHZAD *et al.*, 2023), refletindo em plantas menores. A limitação causada pelo déficit hídrico também pode ser observada com a menor massa fresca da parte aérea nos tratamentos mais estressados. Esta variação pode ser justificada devido à menor disponibilidade de água nas plantas na proporção que se eleva o estresse hídrico (VAZ DE MELO *et al.*, 2012).

A putrescina associada ao estresse hídrico de 40% cc obteve resultados semelhantes

às plantas irrigadas (controle) quando comparado à altura das plantas. Na massa fresca, a putrescina atuou somente na folha e o GSNO somente na raiz, ambos no estresse de 40% cc, comparadas ao controle irrigado. Tal acontecimento notado na altura e na massa fresca da raiz é possivelmente devido às propriedades de estimulação e regulação induzidas pelas poliaminas (BIONDI *et al*, 2022). Contudo, no diâmetro do caule, os tratamentos não apresentaram diferenças significativas, provavelmente, pelo fato do período de avaliação ser relativamente pequeno, necessitando de um tempo maior para averiguar os efeitos deletérios na morfologia externa. Sendo este, contudo, um importante resultado, pois, caules mais espessos e rígidos podem evitar problemas nas plantas sob estresse, como o acamamento (CONCEIÇÃO *et al*, 2018).

Com a aplicação de putrescina e do doador de NO (GSNO) observa-se que o comprimento da raiz do milho sob déficit hídrico de 40% cc foi estatisticamente superior às plantas controle com déficit hídrico. Ambos bioestimulantes contribuíram para maior expansão do sistema radicular, indicando que a utilização dos mesmos é uma alternativa para mitigação quando há pouca água disponível no substrato/solo. Em condições de déficit hídrico há uma maior expansão das raízes, pois, o conteúdo de água no solo é extremamente determinante na taxa de crescimento das raízes do milho (GOMES *et al*, 2018). Desta forma, as plantas ativam mecanismos para tentar minimizar esses efeitos, sendo um deles o aumento do sistema radicular, buscando água em camadas mais profundas do solo (GOMES *et al*, 2018). Além disso, a aplicação de putrescina e GSNO no tratamento com estresse à 40% cc, estimulou o crescimento radicular, reforçando a ação das poliaminas como uma classe de reguladores de crescimento em plantas (XU *et al*, 2014).

Ao avaliar a fisiologia, pode-se observar que as plantas absorveram mais energia luminosa do que necessária e dissiparam esse excesso na forma de calor. O quenching fotoquímico (QP) indica a capacidade fotoquímica do fotossistema II e corresponde à fração de centros de reação do fotossistema II abertos (LI *et al*, 2014), representando a dissipação da fluorescência da clorofila associada às reações fotoquímicas. O quenching não fotoquímico (NPQ) reflete a ativação dos processos não fotoquímicos de emissão da fluorescência da clorofila, levando principalmente à dissipação de energia não radiativa (ROHÁČEK, 2002), energia perdida na forma principalmente de calor. Mesmo sob déficit hídrico intenso, as plantas mantiveram os valores do QP elevados, não gerando nenhuma diferença estatística entre as plantas controles e os demais tratamentos.

Ademais, Souza *et al* (2022) demonstraram coletivamente que a modulação de NPQ e reações à luz é uma estratégia viável para aumentar o rendimento da cultura. Portanto, este resultado indica que as plantas podem ser menos susceptíveis ao estresse hídrico. A partir disso, pode-se inferir, também, que as plantas ainda tiveram outros mecanismos, como o fechamento estomático, para proteger contra a perda de água, impedindo qualquer possível dano no mesmo.

Poliaminas podem auxiliar no acúmulo de amido nas raízes, aumentando a resistência ao estresse hídrico pela redução do potencial osmótico da célula (CHIMENTI *et al*, 2006; FAROOQ *et al*, 2009). Tal tendência foi observada nas raízes com os tratamentos de putrescina e GSNO, ambos sob estresse hídrico de 20% cc. O acúmulo de açúcares, assim como o amido, também é uma estratégia de sobrevivência da planta para manter um potencial hídrico interno favorável (BUTT *et al*, 2017). Na raiz, esse aumento ocorreu no tratamento de putrescina associada ao déficit hídrico de 20% cc, possivelmente para proteger os processos celulares para crescimento da mesma em busca de água. Já na folha, o GSNO associado ao déficit hídrico de 20% cc quantificou uma maior quantidade de açúcar. Sendo este, um componente central da transdução de sinal dependente de NO durante condições adversas, transportando NO e suas porções para outras células e tecidos próximos, onde pode ser eliminado pela catálise de GSNOR (GSNO reductase) em GSH (glutationa) e NH₃ (amônia), reduzindo a concentração de NO (LINDERMAYR, 2017).

Analisando a quantificação de aminoácidos pode notar-se um aumento na quantidade de aminoácidos nas folhas com a aplicação do GSNO em relação ao controle irrigado. Em relação às raízes, não houveram diferenças significativas estatisticamente na comparação entre o controle irrigado. De acordo com Yang *et al* (2019), o aumento da quantidade de aminoácidos pode estar relacionado com a aceleração ou retardo da degradação proteica. Durante o período de estresse, alguns metabólitos de nitrogênio tendem a aumentar nos tecidos vegetais e a assimilação de nitrogênio é reduzida nessa condição, fazendo com que a planta reaproveite os aminoácidos para se adaptar às adversidades abióticas (GUIRRA *et al*, 2022).

O aminoácido prolina é o soluto compatível mais estudado, em razão de sua sensibilidade de resposta a condições de estresse (ASHRAF *et al*, 2011). Embora haja abundante literatura sobre o acúmulo de prolina, em plantas sob vários tipos de estresse, não se sabe ao certo se esse acúmulo sempre ocorre (ASHRAF *et al*, 2011; SZÁBADOS *et al*, 2011). No experimento conduzido, apesar de haver estresse hídrico com capacidade

de campo de 40% e 20%, não constatou-se alterações nos níveis de prolina nas raízes e nas folhas, podendo ser devido a curta duração do experimento e/ou idade das plantas.

O acúmulo de proteínas pode favorecer a integridade de membranas, proporcionando sobrevivência celular (DAWOOD; EL-AWADI, 2015). Tal acontecimento foi notado durante os tratamentos realizados, sendo através da putrescina nas folhas e da GSNO nas raízes. Estes resultados de aumento do conteúdo protéico sob estresse em milho, também foram encontrados por Ashraf *et al* (2018). As plantas utilizam diferentes mecanismos de adaptação sob diferentes condições de estresse abiótico. Inclusive, tem-se observado uma correlação entre conteúdo de amido e proteína, de modo que, quando o conteúdo de amido é alto, o teor de proteína é menor. Sendo assim, sob condições de estresse hídrico, onde o amido é reduzido, os níveis de proteínas aumentam significativamente (AHMADI; BAKER, 2001).

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) pode ser gerado no metabolismo das plantas por via enzimática direta e, indireta por oxidases como NADPH oxidase que produz o ânion superóxido, dismutado a H_2O_2 pela superóxido dismutase (BARBOSA *et al*, 2014). Outros processos fisiológicos também contribuem para a formação do H_2O_2 celular, tais como: a transferência de elétrons em cloroplastos e mitocôndrias e na oxidação do glicolato nos peroxissomas (NIU & LIAO, 2016; KHAN *et al*, 2018). Em condições normais, o peróxido de hidrogênio produzido em diferentes partes da planta, medeia vários processos fisiológicos durante todas as fases de desenvolvimento das plantas como: carbonilação de proteínas específicas e ativação de enzimas chave durante a germinação de sementes (BARBA-ESPIN *et al*, 2011; ISHIBASHI *et al*, 2017), aceleração do crescimento de raízes primárias e laterais (HERNANDEZ-BARRERA *et al*, 2015) e fechamento estomático (GE *et al*, 2015).

Por outro lado, em condições desfavoráveis provocadas por estresses abióticos, diferentes estudos apontam o papel central do H_2O_2 nas vias de sinalização melhorando as respostas das plantas em condições de seca (ISHIBASHI *et al*, 2011), salinidade (BAGHERI *et al*, 2019) e encharcamento (ANDRADE *et al*, 2018). Concomitante aos resultados, os controles estressados da raiz obtiveram uma quantificação menor de H_2O_2 , portanto, nesse estudo ele atuou como sinalizador de estresse, mostrando possivelmente que os bioestimulantes utilizados (putrescina e GSNO) agiram como possíveis mitigadores de estresse hídrico. O limiar de resposta entre sinalizador e causador de danos, depende da

quantidade de H₂O₂ intracelular, que em baixas concentrações atua como uma molécula de sinalização (SIES, 2017; CERNY *et al*, 2018).

A peroxidação lipídica é um processo metabólico que ocorre em condições naturais (CHICONATO *et al*, 2017), onde os ácidos graxos insaturados, principais componentes das membranas, são susceptíveis à peroxidação. Sua fase inicial inclui redução incompleta do O₂, formando as espécies reativas de oxigênio (EROs) (DEMIDCHIK, 2015). Peróxidos lipídicos são marcadores de estresse oxidativo e constituem bons indicadores para avaliar a sensibilidade de uma planta a uma condição de estresse (HERZOG *et al*, 2016). Em muitas situações o estresse não se manifesta na biometria da planta, mas sim no metabolismo. Isso é particularmente relevante no desenvolvimento inicial e tais afirmativas podem justificar o que aconteceu no experimento com milho BRS 1040. Os maiores valores de peroxidação lipídica obtidos na folha e na raiz, respectivamente, foram os controles estressados de 40% cc e 20% cc sem nenhum tipo de tratamento adicional indicando estresse oxidativo. A aplicação de putrescina e do GSNO reduziu a peroxidação, evidenciando o efeito benéfico de acordo com os autores supracitados.

Possivelmente, a redução da peroxidação lipídica faça paralelo a ausência de diferença nos testes de fluorescência no QP e YII. Desta forma, provavelmente os tratamentos utilizados limitaram a peroxidação lipídica, favorecendo a taxa fotossintética e impedindo de comprometer a integridade das membranas. Assim, a utilização de poliaminas como a putrescina, estão associados à regulação da atividade enzimática, divisão celular e estabilidade de membranas (CHEN *et al*, 2019), fato que pode ser observado neste trabalho. Além disso, há uma grande correlação entre a peroxidação lipídica com a atividade de enzimas antioxidantes, a qual relaciona o aumento da atividade de enzimas antioxidantes como mecanismo de defesa, degradando espécies reativas de oxigênio e favorecendo a diminuição da peroxidação lipídica (CARVALHO & NETO, 2016).

A manutenção de níveis apropriados de EROs pode representar uma resposta de sobrevivência, já que a superprodução dessas em plantas sob condições de estresse é um fenômeno comum (AKRAM, SHAFIQ & ASHRAF, 2017). O NO interage com as EROs de várias maneiras e pode desempenhar uma função antioxidante, como a modulação pelo NO da formação de superóxido e a inibição da peroxidação lipídica (CARVALHO & NETO, 2016). O estresse hídrico é uma importante restrição ambiental à produtividade e ao desempenho das culturas, e a compreensão dos processos celulares que melhoram as consequências do stress hídrico e conservam a água é claramente importante. A aplicação

de doadores de NO diminui as aberturas estomáticas reduzindo a transpiração em diversas espécies, sendo provável que o NO não atue sozinho, mas interaja com outras moléculas sinalizadoras, como o H₂O₂, para efetuar o fechamento estomático (VIEIRA *et al*, 2010).

Nas enzimas antioxidantes, a quantificação de SOD foi maior nos controles das raízes, visto que, analisando os resultados de peroxidação lipídica, nota-se que nesses mesmos tratamentos a peroxidação foi baixa. Nos estresses de 20% cc, os bioestimulantes não foram efetivos na redução dos efeitos de estresse das EROs, pois a peroxidação lipídica foi alta e a SOD não foi ativada. De acordo com Elkelish *et al* (2019), SOD é a primeira linha de defesa contra ROS e também inibe a produção de radicais OH⁻, levando a menor peroxidação lipídica (EL-ESAWI *et al*, 2019) que é catalisado pela peroxidase e catalase (CAT) para produzir água e dióxigênio (MANSOOR *et al*, 2022). Na avaliação da APX e no peróxido de hidrogênio, observa-se a relação na quantificação, onde com maior índice de APX e menor de peróxido de hidrogênio. O ácido ascórbico é um eliminador de ROS eficaz devido à sua capacidade de produzir processos enzimáticos e não enzimáticos que regulam o H₂O₂ e preservam as membranas celulares através da eliminação de radicais livres (AKRAM, SHAFIQ & ASHRAF, 2017), ele catalisa a decomposição do peróxido de hidrogênio em água, utilizando o ascorbato como doador de elétrons.

Ao analisar a morfologia radicular, observa-se que a putrescina associada ao déficit hídrico de 40% de c.c. agiu no comprimento e volume radicular, corroborando com uma das suas características que consiste em ser regulador de crescimento (MONTEIRO *et al*, 2014). Com maior comprimento e volume radicular pode-se explorar melhor o solo, penetrando em camadas mais profundas em busca de água e nutrientes e em caso de déficit hídrico, essa planta está em maior vantagem do que uma planta que apresenta menor sistema radicular (TRACHSEL *et al*, 2009). Em relação ao diâmetro, nos estresses de 40% e 20% c.c tratados com GSNO observou-se raízes mais finas. As raízes finas desempenham grande importância na absorção de água e nutrientes, de modo que as plantas que as possuem em maior quantidade expressam maior vigor (MAGALHÃES, 2021), pois, aumenta-se sua superfície de contato com o solo.

Nas características morfológicas também destaca-se a atuação da putrescina no SRL (comprimento específico de raiz) e RF (espessura de raiz). Na razão raiz/parte aérea (R/PA) é nítido a ação dos bioestimulantes nas raízes, pois no estresse mais severo (20% de c.c.), tanto a putrescina quanto o GSNO, a razão foi maior do que no controle irrigado, indicando raízes maiores. A eficiência de absorção dos nutrientes varia na razão direta do

comprimento e da espessura das raízes porque esses atributos influenciam a superfície de absorção (HORN et al, 2006). A SRL reflete em uma maior exploração e aquisição de água e nutrientes no solo por unidade de carbono investido (BOUMA *et al*, 2011), fato observado nos controles estressados. Raízes com elevadas quantidades de massa morta e fibrosa (densidade de tecido da raiz (RMDe) é uma característica muito comum em plantas inseridas em condições de estresse (CRUZ *et al*, 2021), corroborando com os resultados encontrados neste trabalho, onde os controles estressados possuem estatisticamente os maiores valores.

De maneira geral, a putrescina pôde influenciar diretamente nas respostas ou na mitigação dos efeitos do estresse hídrico nas plantas de milho testadas, o que pode ser explicado devido a ela ser atuante direta no controle da perda de água nas plantas. Além da putrescina, também se testou o GSNO, na qual diversas pesquisas mostram que a manipulação dos níveis endógenos de NO, principalmente através de doadores exógenos têm demonstrado um imenso efeito na tolerância das plantas em vários estresses, inclusive no déficit hídrico.

CONCLUSÃO

O presente trabalho demonstrou que a putrescina foi mais atuante na parte radicular e o GSNO na parte foliar das plântulas estudadas. Ambos podem ser benéficos para serem utilizados como bioestimulantes em milho sob déficit hídrico. A aplicação foliar dos bioestimulantes possivelmente evitou que a parte foliar sofresse danos mais severos por conta do déficit hídrico imposto, de 20% e 40% de capacidade de campo. Já a aplicação dos bioestimulantes no solo possivelmente favoreceu um maior desenvolvimento radicular.

REFERÊNCIAS

AKRAM, N. A.; SHAFIQ, F.; ASHRAF, M.. Ácido ascórbico – um potencial eliminador de oxidantes e seu papel no desenvolvimento das plantas e na tolerância ao estresse abiótico. **Fronteiras na ciência das plantas**, p. 613, 2017.

AHMADI, A.; BAKER, D. A. The effect of water stress on the activities of key regulatory enzymes of the sucrose to starch pathway in wheat. **Plant Growth Regulation**, v. 35, n. 1, p. 81-91, 2001.

AMÂNCIO, V. O. *Et al* Óxido nítrico como mitigador de estresses em plantas. **Biomassa: recursos, aplicações e tecnologias em pesquisas**, v. 1, 2022.

ANDRADE, C.A.; SOUZA, K.R.D.; OLIVEIRA, S.M.; SILVA, D.M.; ALVES, J. D. Hydrogen peroxide promotes the tolerance of soybeans to waterlogging. **Scientia Horticulturae**, v. 232, p. 40-45, 2018

ASHRAF, M.A.; AKBAR, A.; PARVEEN, A.; RASHEED, R.; HUSSAIN, I.; IQBAL, M. Phenological application of selenium differentially improves growth, oxidative defense and ion 67 homeostasis in maize under salinity stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.123, p. 268- 280, 2018.

ASHRAF, M.; AKRAM, N.A.; ALQURAINY, F.; FOOLAD, M.R. Drought tolerance: roles of organic osmolytes, growth regulators, and mineral nutrients. **Advances in Agronomy**, v.111, p.249-296, 2011.

BAGHERI, M.; GHOLAMI, M.; BANINASAB, B. Hydrogen peroxide-induced salt tolerance in relation to antioxidant systems in pistachio seedlings. **Scientia Horticulturae** v. 243, p. 207-213, 2019.

BATES, L. S; WALDREN, RP a; TEARE, ID Determinação rápida de prolina livre para estudos de estresse hídrico. **Planta e solo**, v. 39, pág. 205-207, 1973.

BARBA-ESPÍN, G.; HERNÁNDEZ, J.A.; DIAZ-VIVANCOS, P. Role of H₂O₂ in pea seed germination. **Plant signaling & behavior**, v. 7, p. 193-195, 2012.

BARBOSA, Marta Ribeiro *et al* Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural** , v. 44, pág. 453-460, 2014.

BIANCHI, Leandro; GERMINO, Gabriel Henrique; DE ALMEIDA SILVA, Marcelo. Adaptação das plantas ao déficit hídrico. **Acta iguazu**, v. 5, n. 4, p. 15-32, 2016.

BIONDI, S. *et al* The polyamine “multiverse” and stress mitigation in crops: A case study with seed priming in quinoa. **Scientia Horticulturae**, [s.l.] v. 304, n. June, p. 16, 2022.

BRADFORD, M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. **Analytical Biochemistry** 72(1-2):248-54, 1976.

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para Análise de Sementes**. [s.l.] p. 399, 2009.

BUTT, Y. N. *et al* Drought tolerance in plants: a review. **Research & Reviews: Journal of Ecology and Environmental Sciences**, Hyderabad, v. 5, n. 4, p. 19-28, oct. 2017.

CARVALHO, V.; NETO, A. A. C. Espécies reativas de oxigênio em plantas. **Laboratório de Ensino de Botânica**, v. 161, 2016.

ČERNÝ, M.; HABÁNOVÁ, H.; BERKA, M.; LUKLOVÁ, M.; BRZOBOHATÝ, B. Hydrogen Peroxide: Its Role in Plant Biology and Crosstalk with Signalling Networks. **International journal of molecular sciences**, 19:9:2812, 2018.

CHEN, Dandan e cols. Função da poliamina nas plantas: metabolismo, regulação do desenvolvimento e papéis nas respostas ao estresse abiótico. **Frontiers in plant science**, v. 9, p. 1945, 2019.

CHICONATO, D. A. *Et al* Peroxidação lipídica em plantas jovens de cana-de-açúcar submetidas ao estresse salino. **Holos Environment**, 2017.

CHIMENTI, C. A.; MARCANTONIO, M.; HALL, A. J. **Divergent selection for osmotic adjustment results in improved drought tolerance in maize (*Zea mays* L.) in both early growth and flowering phases**. *Field Crops Research*, v. 95, n. 2-3, p. 305-315, 2006.

CRUZ, N. T. *Et al* Fatores que afetam as características morfogênicas e estruturais de plantas forrageiras. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 7, p., 2021.

CONCEIÇÃO, C. G. Da, *et al* Desenvolvimento vegetativo do feijoeiro irrigado com diferentes lâminas. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada-RBAI**, v. 12, n. 2, 2018.

DAWOOD, M.G.; EL-AWADI, M.E. Alleviation of salinity stress on *Vicia faba* L. Plants via seed priming with melatonin. **Acta Biológica Colombiana** v. 20, p. 223-235, 2015.

DEMIDCHIK, V. Mechanisms of oxidative stress in plants: From classical chemistry to cell biology. **Environmental and Experimental Botany**, v. 109, p. 212-228, 2015.

DE SOUZA, A. P. *et al* Soybean photosynthesis and crop yield are improved by accelerating recovery from photoprotection. **Science**, v. 377, n. 6608, p. 851-854, 2022.

DOURADO NETO, Durval *et al* Ação de bioestimulante no desempenho agrônômico de milho e feijão. **Biosci. J.(Online)**, p. 371-379, 2014.

ELKELISH, A. A. *Et al* O selênio protege as mudas de trigo contra danos oxidativos mediados pelo estresse salino, regulando positivamente o metabolismo de antioxidantes e osmólitos. **Fisiologia e Bioquímica Vegetal**, v. 137, p. 144-153, 2019.

EL-ESAWI, M. A. *Et al* *Azospirillum lipoferum* FK1 confere melhor tolerância ao sal no grão de bico (*Cicer arietinum* L.) através da modulação de osmólitos, maquinaria antioxidante e expressão de genes relacionados ao estresse. **Botânica Ambiental e Experimental**, v. 159, p. 55-65, 2019.

FAROOQ, M.; WAHID, A., KOBAYASHI, N., FUJITA, D. BASRA, S. M. A. **Plant drought stress: effects, mechanisms and management**. Sustainable agriculture. Springer, Dordrecht, p. 153-188, 2009.

FERRARI, E.; DA PAZ, A.; DA SILVA, A.C. Déficit hídrico e altas temperaturas no metabolismo da soja em semeaduras antecipadas. **Nativa**, v. 3, n. 1, p. 67-77, 2015.

GAY, C.; COLLINS, J.; GEBICKI, J. M. Determination of hydroperoxides by the ferric-xylenol orange method. Peroxides by the ferric-xylenol orange method. **Redox**, v. 21, p. 781 – 790, 1999.

GE, X.M.; CAI, H.L.; LEI, X.; ZOU, X.; YUE, M.E.; HE, J.M. A proteína G heterotrimérica medeia o fechamento estomático induzido por etileno via síntese de peróxido de hidrogênio em Arabidopsis. **Plant J**, v. 82, p. 138-150, 2015.

GOMES, C. A. *Et al* Aplicação de ácido salicílico como atenuador dos efeitos de déficit hídrico no milho. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, v. 4, n. 3, p. 0359-0363, 2018.

GUIRRA, B. S.; SILVA, J. A.; LEAL, C. C. P.; TORRES, S. B.; SILVA, J. E. S. B. Da; GUIRRA, K. S.; PEREIRA, K. T. O. Crescimento e metabolismo de mudas de *Pityrocarpa moniliformis* Benth. Sob déficit hídrico. **Ciência Florestal**, [S. L.], v. 32, n. 2, p. 923–938, 2022.

HERNÁNDEZ-BARRERA, A.; VELARDE-BUENDÍA, A.; ZEPEDA, I.; SANCHEZ, F.; QUINTO, C.; SÁNCHEZ-LOPEZ, R.; CARDENAS, L. Hyper, a hydrogen peroxide sensor, indicates the sensitivity of the Arabidopsis root elongation zone to aluminum treatment. **Sensors**, v. 15, p. 855-867, 2015.

HERZOG M, STRIKER GG, COLMER TD, PEDERSEN O. Mechanisms of waterlogging tolerance in wheat – a review of root and shoot physiology. **Plant, Cell and Environment**, v. 39, p. 1068- 1086, 2016.

HORN, D. *Et al* Parâmetros cinéticos e morfológicos da absorção de nutrientes em cultivares de milho com variabilidade genética contrastante. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, p. 77-85, 2006.

ISHIBASHI, Y.; YAMAGUCHI, H.; YUASA, T.; IWAYA-INOUE, M.; ARIMA, S.; ZHENG, S. H. Hydrogen peroxide spraying alleviates drought stress in soybean plants. **Journal of plant physiology**, v. 168, p. 1562-1567, 2011.

ISHIBASHI, Y.; AOKI, N.; KASA, S.; SAKAMOTO, M.; KAI, K.; TOMOKIYO, R.; WATABE, G.; YUASA, T.; IWAYA-INOUE, M. The interrelationship between abscisic acid and reactive oxygen species plays a key role in barley seed dormancy and germination. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 275, 2017.

JÚNIOR, G. Do N. A. *Et al* Estresse hídrico em plantas forrageiras: Uma revisão. **Pubvet**, v. 13, p. 148, 2018.

KHAN, T.A.; YUSUF, M.; FARIDUDDIN, Q. Hydrogen peroxide in regulation of plant metabolism: Signalling and its effect under abiotic stress. **Photosynthetica**, p. 1-12, 2018.

LI, M. *et al* Genetic engineering of glycine betaine biosynthesis reduces heat-enhanced photoinhibition by enhancing antioxidative defense and alleviating lipid peroxidation in tomato. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 32, p.42-51, 2014.

LINDERMAYR, C. Crosstalk between reactive oxygen species and nitric oxide in plants: key role of S-nitrosoglutathione reductase. **Free Radical Biology and Medicine** 122: 110–115, 2017.

LUNA-ESQUIVEL, Edith Nohemí *et al* Poliaminas como indicadores de estrés en plantas. **Revista Chapingo. Serie horticultura**, v. 20, n. 3, p. 283-295, 2014.

FILIPPOU, Panagiota *et al* O metabolismo da prolina e das espécies reativas de oxigênio/nitrogênio está envolvido na resposta tolerante das espécies de plantas invasoras *Ailanthus altissima* à seca e à salinidade. **Botânica Ambiental e Experimental**, v. 97, p. 1-10, 2014.

MAGALHÃES, W. B. Sistema radicular e suas interações com o desenvolvimento e nutrição do cafeeiro, [S.I.] 2021.

MARQUES, D. M., Magalhães, P. C., Marriel, I. E., Júnior, C. C. G., Silva, A. B., Silva, N. T. A., Souza, T. C. *Azospirillum* Brasilense Reduces the Effects of Water Stress and Increases Maize Yield in Irrigated Areas with High Soil Nitrogen Doses. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2023.

MANSOOR, S.; ALI WANI, O.; LONE, J.K.; MANHAS, S.; KOUR, N.; ALAM, P.; AHMAD, A.; AHMAD, P. Reactive Oxygen Species in Plants: From Source to Sink. **Antioxidants**, v. 11, p. 225, 2022.

MCCREADY, R. M. *et al* Determination of Starch and Amylose in Vegetables. **Analytical Chemistry**, v. 22, n. 9, p. 1156–1158, 1 set. 1950.

MILLER, G.L. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426–428, 1959.

MONTEIRO, J. G. *Et al* Crescimento e conteúdo de prolina em plântulas de guandu submetidas a estresse osmótico e à putrescina exógena. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 49, p. 18-25, 2014.

NEILL, S. J.; DESIKAN, R.; HANCOCK, J. T. Nitric oxide signalling in plants. **New Phytologist**, v. 159, n. 1, p. 11-35, 2003.

NIU, L.; LIAO, W. Hydrogen peroxide signaling in plant development and abiotic responses: crosstalk with nitric oxide and calcium. **Frontiers in plant science**, v. 7, p. 230, 2016.

OLIVEIRA, F. De A. De, *et al* Uso de bioestimulante como agente amenizador do estresse salino na cultura do milho pipoca. **Revista Ciência Agronômica**, v. 47, p. 307- 315, 2016.

ROHÁČEK, K. Chlorophyll fluorescence parameters: the definitions, photosynthetic meaning, and mutual relationships. **Photosynthetica**, v. 40, n. 01, p. 13-29, 2002.

SHAHZAD, A., GUL, H., AHSAN, M. *et al* Comparative Genetic Evaluation of Maize Inbred Lines at Seedling and Maturity Stages Under Drought Stress. **J Plant Growth Regul**, v. 42, p. 989–1005, 2023.

SIES, H. Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule in physiological oxidative stress: oxidative eustress. **Redox biology**, v. 11, p. 613-619, 2017

SZÁBADOS, L.; KOVACS, H.; ZILBERSTEIN, A.; BOUCHEREAU, A. Plants in extreme environments: importance of protective compounds in stress tolerance.

TRACHSEL S *et al*, Mapping of QTLs for lateral and axile root growth of tropical maize. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 119, p. 1413–1424, 2009.

TURKAN, I (Ed.). Plant responses to drought and salinity stress: developments in a postgenomic Era. London: **Elsevier**, p.105-150. (Advances in botanical research, 57), 2011.

VAN KOOTEN O, SNEL J. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. *Photosynthesis Research* v.25, p. 147-150, 1990.

VAZ DE MELO, A.; SANTOS, L. D. T.; FINOTO, E. L.; DIAS, D. C. F. S.; ALVARENGA, E. M. Germinação e vigor de sementes de milho-pipoca submetidas ao estresse térmico e hídrico. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 28, n. 5, p. 687-695, 2012.

VIEIRA, E. L. *Et al* **Manual de fisiologia vegetal**. Edufma, 2010.

XU, Lu *et al* Effects of polyamines on hormones contents and the relationship with the flower bud differentiation in chrysanthemum. **Plant Physiol J**, v. 50, n. 8, p. 1195-1202, 2014.

YANG, X. *et al*. Targeted control of chloroplast quality to improve plant acclimation: from protein import to degradation. **Frontiers in Plant Science**, [s. l.], v. 20, p. 1-8, jul. 2019.

YEMM, E.M.; COCKING, E.C. Estimation of amino acids by ninhydrin. **Analyst**, v.80, p.209-213, 1955.

YEMM, E. W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. **Biochemical Journal**, v. 57, n. 3, p. 508–514, 1 jul. 1954.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho conclui que, ambos os bioestimulantes testados trazem benefícios para a cultura do milho, sendo, a putrescina atuante mais na parte radicular e o GSNO na parte foliar. Mais testes deverão ser realizados para observar se esse padrão mantém-se ao longo de todos os estádios fenológicos da cultura, visto que o presente estudo propôs a estudar apenas o crescimento inicial.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. C. S. *et al.* Produtividade e eficiência de uso da água em milho cultivado com diferentes estratégias de manejo hídrico. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, Fortaleza, v. 11, n. 3, p. 1148-1457, 2017.
- ALVES, B. M. *et al.* Divergência genética de milho transgênico em relação à produtividade de grãos e da qualidade nutricional. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 45, n. 5, p. 884-891, 2015.
- AN, Z. F. *et al.* Production of nitric oxide and phosphatidic acid is involved in activation of plasma membrane h⁺-atpase in maize root tips in simulated drought stress. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 66, n. 1, p. 50-8, 2019.
- ARAÚJO, L. L. M. *et al.* Ação de bioestimulantes em cultivares comerciais de soja na região norte do Vale do Araguaia- MT. **PesquisAgro**, v. 4, n. 1, p. 3-21, 2021.
- BARROS, J. F.; CALADO, J. G. **A cultura do milho**. Évora: Universidade de Évora, 2014. Disponível em: <https://dspace.uevora.pt/rdpc/bitstream/10174/10804/1/Sebenta- milho.pdf>. Acesso em: 09 jan. 2024.
- BERGAMASCHI, H. *et al.* Deficit hídrico e produtividade na cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Porto Alegre, v. 41, n. 2, p. 243-249, fev. 2006.
- CAIRES, E. F.; MILLA, R. Adubação nitrogenada em cobertura para o cultivo de milho com alto potencial produtivo em sistema de plantio direto de longa duração. **Bragantia**, v. 75, n. 1, p. 87-95, 2016.
- CAMPOS, A. J. de M.; SANTOS, S. M.; NACARATH, I. R. F. F. Estresse hídrico em plantas: uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 15, p.e 311101523155-e311101523155, 2021.
- CARMO, M. A. P. do *et al.* Bioestimulantes aplicados em sementes e plantas de milho doces sob condições de estresse abiótico. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 3, p. 31727-31741, 2021.
- 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, 2019.
- CHAVARRIA, G. *et al.* Restrição fotossintética de plantas de soja sob variação de disponibilidade hídrica. **Ciência Rural**, Santa Maria - RS, v. 45, n. 8, p. 1387-1393, 2015.
- CHAVES, M. M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annals of Botany**, Oxford, v. 103, n. 4, p. 551-560, 2009.
- CONTINI, E. *et al.* **Milho**: caracterização e desafios tecnológicos. Brasília: Embrapa, 2019. (Desafios do Agronegócio Brasileiro, v. 2).

DA SILVA, J. H. B. *et al.* Uso de bioestimulantes na cultura do milho (*Zea mays* L.): uma revisão. **Scientific Electronic Archives**, v. 16, n. 5, 2023.

DOURADO NETO, D. *et al.* Ação de bioestimulante no desempenho agrônômico de milho e feijão. **Bioscience Journal**, Uberlândia-MG, v. 30, p. 371-379. 2014.

DUARTE, J. P.; RUFF, O. J.; SANTOS, C. L. R. Inoculação de milho com inoculante à base de *Azospirillum brasilense* sob doses de nitrogênio em solo arenoso. **Scientific Electronic Archives**, v. 14, n. 8, 2021.

EL-BELTAGI, H.S. *et al.* Sole and combined foliar application of silicon and putrescine alleviates the negative effects of drought stress in maize by modulating the morpho-physiological and antioxidant defence mechanisms. **Plant Soil Environ.**, v. 70, . 1, p. 26- 39, 2024.

THE EUROPEAN BIOSTIMULANTS INDUSTRY COUNCIL. **Economic overview of the biostimulants sector in Europe**. Antwerp: EBIC, 2017. Disponível em: <http://www.biostimulants.eu/2013/04/2013-overview-of-the-european-biostimulants-market>. Acesso em: 20 jan. 2024.

FARIDUDDIN, Q. *et al.* Polyamines: potent modulators of plant responses to stress. **Journal of Plant Interactions**, v. 8, p. 1-16, 2013.

FILIPPOU, P.; ANTONIOU, C.; FOTOPOULOS, V. The nitric oxide donor sodium nitroprusside regulates polyamine and proline metabolism in leaves of *Medicago truncatula* plants. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 56, p. 172-183, 2013.

GARCÍA-LARA, S.; SERNA-SALDIVAR, S. O. Corn history and culture. **Corn: Chemistry and Technology**, v. 3, p. 1–18, 2019.

GUIMARÃES, P. S.; ROCHA, D. S.; PATERNIANI, M. E. A. G. Z. Conteúdo de carboidrato foliar em híbridos de milho submetidos à restrição hídrica. **Evidência**, Joacaba, v. 19, n. 2, p. 93-112, 2019.

GUPTA, K.; DEY, A.; GUPTA, B. Plant polyamines in abiotic stress responses. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 35, p. 2015-2036, 2013.

HAMID M., GHORBANPOUR M., BRESTIC M. Exogenous putrescine changes redox regulations and essential oil constituents in field-grown *Thymus vulgaris* L. under well-watered and drought stress conditions. **Industrial Crops and Products**, p. 119–132, 2018.

HERNÁNDEZ, M. *et al.* Maize water use efficiency and evapotranspiration response to N supply under contrasting soil water availability. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 178, n. 1, p. 8-15, 2015.

HUSSAIN, S.S. *et al.* Polyamines: natural and engineered abiotic and biotic stress tolerance in plants. **Biotechnology Advances**, v. 29, p. 300311, 2011.

KOTAKIS, C. *et al.* Putrescine, a fastacting switch for tolerance against osmotic stress. **Journal of Plant Physiology**, v. 171, p. 48-51, 2014.

KOVALSKI, A. R. Avaliação do desempenho agrônômico de diferentes cultivares de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) com uso de bioestimulantes e herbicida hormonal. **PesquisAgro**, v. 3, n. 1, p. 4-23, 2020.

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

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RIMA, 2000.

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

MAJEED, S. *et al.* Effect of exogenous nitric oxide on sulfur and nitrate assimilation pathway enzymes in maize (*Zea mays* L.) under drought stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 40, n. 12, p. 1–14, 2018.

MANJUNATHA, G., LOKESH, V., NEELWARNE, B. Óxido nítrico no amadurecimento de frutas: tendências e oportunidades. **Biotechnology Advances**, v. 28, p. 489–499, 2012.

MEIRELES, A. C. M. *et al.* A new proposal of the classification of irrigation water. **Ciência Agrônômica**, Fortaleza - CE, v. 41, n. 3, p. 349 - 357, 2010.

MONTEIRO, J. G. *et al.* Crescimento e conteúdo de prolina em plântulas de guandu submetidas a estresse osmótico e à putrescina exógena. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, p. 18-25, 2014.

MUIMBA-KANKOLONGO, A. **Food crop production by smallholder farmers in Southern Africa**, [S.l]: Academic Press, 2018. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?hl=ptBR&lr=&id=2yk0DwAAQBAJ&oi=fnd&pg=P1&dq=muimbakankolongo+&ots=I6pXWFzd9H&sig=y5fiY1kDaviHg6E31ACGq32FA#v=onepage&q=muimba-kankolongo&f=false>. Acesso em: 4 nov. 2023.

MUKHERJEE, S. Recent advancements in the mechanism of nitric oxide signaling associated with hydrogen sulfide and melatonin crosstalk during ethylene-induced fruit ripening in plants. **Nitric Oxide**, v. 82, p. 25-34, 2019.

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, 2019.

NARDI, S. *et al.* Plant biostimulants: physiological responses induced by protein hydrolyzed-based products and humic substances in plant metabolism. **Scientia Agricola**, v. 73, p. 18-23, 2016.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA ALIMENTAÇÃO E AGRICULTURA. **World food and agriculture – statistical yearbook 2021**. Rome: FAO, 2021. v. 274. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673659918203>. Acesso em: 23 de jun. 2023.

PERUCHINI, M.; RUPOLLO, C. Uso de bioestimulantes na cultura da soja. **Anais de Agronomia**, [S.l.], v. 1, n. 1, p. 203 - 215, dec. 2020. Disponível em: <https://uceff.edu.br/anais/index.php/agronomia/article/view/336>. Acesso em: 17 jan. 2024.

REHMAN, F. U. *et al.* Seed-borne fungal diseases of maize (*Zea mays* L.): A review. **Agrinula: Jurnal Agroteknologi Dan Perkebunan**, v. 4, n. 1, p. 43-60, 2021.

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**, v. 73, p. 22-38, 2018.

SHAO, R. *et al.* Proteomics analysis reveals that nitric oxide regulates photosynthesis of maize seedlings under water deficiency. **Nitric Oxide - Biology and Chemistry**, v. 81, p. 46–56, 2018.

SILVA, T. A. P. Uso de biofertilizantes (extrato de algas – *Ascophyllum nodosum*) na cultura do milho. **Informativo Técnico Nortox**, v. 5, p. 1-4, 2018.

SILVA, A. M. P.; OLIVEIRA, G. P.; NERES, D. C. C.; Germinação e vigor de sementes de soja submetidas ao tratamentos com substancias bioativas. **Caderno de Publicação Univag**, n. 8, 2018.

SILVA, C. M. *et al.* Bioestimulantes na agricultura. **Pesquisas em Ciências Agrárias**, v. 2, p. 39-51, 2021.

SILVA PINHEIRO, L. *et al.* Análise de trilha dos atributos físicos de milho (*Zea mays* L.) em sistema de cultivo convencional. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 1, 2021.

STADNIK M. J.; ASTOLFI P.; FREITAS M. B. Bioestimulantes: uma perspectiva global e desafios para a américa latina. *In: SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO SOBRE BIOESTIMULANTES NA AGRICULTURA*, 1., 2017, Florianópolis. [Anais...] Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2017. p. 18-23.

STOCKER, T. *et al.* **Climate change 2013: The physical science basis**. Working group I contribution to the IPCC Fifth assessment report: Cambridge: Cambridge University Press. 1535p, 2014. Acesso em: 23 nov. 2023.

TAIZ, E.; ZEIGER, L. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

TAIZ, E.; ZEIGER, L. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.