



ISADORA GONÇALVES DA SILVA

**MOLÉCULAS SINALIZADORAS EM SEMENTES DE MILHO
PARA TOLERÂNCIA A ESTRESSES ABIÓTICOS**

**LAVRAS – MG
2024**

ISADORA GONÇALVES DA SILVA

**MOLÉCULAS SINALIZADORAS EM SEMENTES DE MILHO PARA
TOLERÂNCIA A ESTRESSES ABIÓTICOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, área de concentração em Grandes Culturas, para a obtenção do título de Doutora.

Prof. Dr. Renzo Garcia Von Pinho
Orientador

**LAVRAS -MG
2024**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Silva, Isadora Gonçalves da.

Moléculas sinalizadoras em sementes de milho para tolerância
a estresses abióticos / Isadora Gonçalves da Silva. - 2024.

109 p. : il.

Orientador(a): Renzo Garcia Von Pinho.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2024.
Bibliografia.

1. Enzima antioxidante. 2. Espécie reativa de oxigênio. 3.
Priming. I. Von Pinho, Renzo Garcia. II. Título.

ISADORA GONÇALVES DA SILVA

**MOLÉCULAS SINALIZADORAS EM SEMENTES DE MILHO PARA
TOLERÂNCIA A ESTRESSES ABIÓTICOS**

**SIGNALING MOLECULES IN MAIZE SEEDS FOR TOLERANCE TO ABIOTIC
STRESSES**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, área de concentração em Grandes Culturas, para a obtenção do título de Doutora.

APROVADA em 28 de março de 2024.

Prof (a). Dr (a). Heloisa Oliveira dos Santos	UFLA
Prof (a). Dr (a). Edila Vilela de Resende Von Pinho	UFLA
Prof. Dr. Delacyr da Silva Brandão Junior	UFMG
Prof (a). Dr (a). Thaísa Fernanda Oliveira	UFV

Prof. Dr. Renzo Garcia Von Pinho
Orientador

**LAVRAS -MG
2024**

*A Deus, por ouvir todas as minhas batalhas silenciosas que fizeram barulho no céu e me
concedido força para mudar o que era possível e resignação para aceitar o que não era
passível de mudança.*

*Aos meus pais, Rosivon e Maria, pelos valores transferidos e renúncia de suas vontades para
educar com amor seus filhos.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por proteger meu caminho e dar condições de enfrentar todas as dificuldades.

Aos meus pais, Maria e Rosivon, a quem dedico a tese e reforço nos agradecimentos, para demonstrar minha eterna gratidão. Sempre apoiaram meus sonhos, deram suporte e me colocaram em todas as suas orações. Obrigada pelo zelo, cuidado e amor.

Ao meu irmão, Filipe, por ser parceiro em todos os momentos.

Aos meus avós, Luzia e Sebastião, por demonstrar admiração pelas minhas escolhas e, portanto, motivar as minhas ações.

A meu orientador, Prof. Dr. Renzo Garcia Von Pinho, pela oportunidade de ser orientada por uma pessoa tão renomada, pela confiança depositada, instrução e apoio nas minhas decisões acadêmicas e profissionais.

A minha coorientadora, Profa. Dra. Heloisa Oliveira dos Santos, pelo suporte nas atividades acadêmicas, inclusão nos projetos adjacentes, ensinamentos e amizade, que me fizeram sentir ainda mais pertencente a Lavras.

Ao Prof. Dr. Adriano Teodoro Bruzi por ser solícito a minha entrada no grupo de pesquisa, pelos ensinamentos, dedicação e impulso na minha vida profissional.

A Universidade Federal de Lavras (UFLA) pela abertura de portas para um universo cheio de conhecimento, inovação, oportunidade e acolhimento.

Aos docentes do programa de Pós-Graduação em Fitotecnia pelo conhecimento transmitido e dedicação ao ensino.

Aos colegas e funcionários do Laboratório Central de Pesquisa em Sementes, pelo amparo durante a condução do experimento.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro.

Aos membros da banca de defesa, Edila Vilela de Resende Von Pinho, Delacyr da Silva Brandão Junior e Thaísa Fernanda Oliveira, pela disponibilidade, confiança e agregação de conhecimento ao trabalho.

Aos amigos mais antigos, por se manterem presentes e me acompanharem nos piores e melhores momentos.

Aos amigos conquistados em Lavras, Ana Maria, Antônio, Carlos, Thiago, Gisele, Márcio, Alisson, Josias, Thalita, Heloisa e Marília, pelos momentos leves, felizes e marcantes que tivemos.

A todos que contribuíram profissionalmente e pessoalmente para que meu curso de pós-graduação fosse concluído com êxito e satisfação.

MUITO OBRIGADA!

RESUMO GERAL

O estresse abiótico é uma preocupação crescente na produção de milho, com fatores como seca, salinidade e altas temperaturas, desafiando sua produtividade. Essas condições adversas desencadeiam a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs), que podem danificar as células vegetais. No entanto, as plantas possuem um sistema antioxidante robusto, composto por enzimas como catalase, peroxidases e superóxido dismutase, que atuam na neutralização das EROs. Este sistema pode ser ativado com o uso de técnicas de priming, como a imersão de sementes em soluções que ativam mecanismos de defesa. Essa abordagem representa, portanto, uma ferramenta viável para aumentar a produtividade agrícola e garantir a segurança alimentar em face dos desafios impostos pelas mudanças climáticas e outros fatores de estresse ambiental. O objetivo neste trabalho foi analisar a eficiência do condicionamento fisiológico de sementes na presença de moléculas sinalizadoras para a indução de tolerância a estresses abióticos, durante os processos de germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de milho, além de avaliar aspectos fisiológicos e bioquímicos das sementes nessas condições, durante o armazenamento. Foram realizados três experimentos, um em condição de estresse hídrico, salino e controle, e outro em condição de alta temperatura e controle, em delineamento inteiramente casualizado, e cinco épocas de armazenamento do tratamento de condicionamento aplicado previamente em sementes de milho sob quatro condições de germinação, com quatro repetições. Portanto, o primeiro ensaio foi realizado em esquema fatorial 6x3x3, sendo seis soluções condicionantes, três condições de estresse e três cultivares, o segundo, no fatorial 6x2x3, sendo seis soluções condicionantes, duas condições de estresse de germinação, três cultivares e o terceiro, no fatorial 5x4, sendo cinco épocas de armazenamento e quatro condições de germinação. As sementes foram submetidas ao condicionamento fisiológico em B.O.D. por 24 horas a 24 °C, em soluções aeradas de ácido indol-3-acético, melatonina, nitroprussiato de sódio, peróxido de hidrogênio e quitosana. Em seguida, as sementes foram submetidas aos testes fisiológicos nas condições de germinação propostas. Determinou-se: teor de água; germinação; primeira contagem da germinação; plântulas anormais; comprimento da raiz primária, comprimento de parte aérea, largura da raiz primária, comprimento total da plântula e a razão do comprimento da raiz pela parte aérea; extração de H₂O₂ e peroxidação lipídica; análise das enzimas superóxido dismutase, catalase e ascorbato peroxidase. As médias foram submetidas a análise de variância e, quando significativas, foram aplicados os testes de médias. O condicionamento fisiológico aprimora a qualidade fisiológica das sementes, mesmo em condição favorável ao desenvolvimento das plantas. O uso de peróxido de hidrogênio e ácido indol-3-acético como solução condicionante, proporciona melhor qualidade para as sementes de diferentes materiais genéticos de *Zea mays* L. sob estresse hídrico e salino. Bem como, o uso de ácido indol-3-acético e melatonina via condicionamento, foi eficiente sob estresse por alta temperatura. Sob essas condições, observou-se no geral, maior germinação e vigor, menor porcentagem de plântulas anormais, menor concentração de H₂O₂ e peroxidação lipídica e maior atividade das enzimas estudadas. O armazenamento prolongado das sementes condicionadas pode levar à deterioração de sua capacidade de germinação, um processo influenciado por diversos fatores, incluindo temperatura, umidade, condições de armazenamento e substâncias químicas utilizadas no condicionamento.

Palavras-chave: enzima antioxidante; espécie reativa de oxigênio; estresse abiótico; priming; *Zea mays* L.

ABSTRACT

Abiotic stress is a growing concern in maize production, with factors such as drought, salinity, and high temperatures challenging its productivity. These adverse conditions trigger the formation of reactive oxygen species (ROS), which can damage plant cells. However, plants possess a robust antioxidant system, composed of enzymes such as catalase, peroxidases, and superoxide dismutase, that act to neutralize ROS. This system can be activated using priming techniques, such as soaking seeds in solutions that activate defense mechanisms. This approach, therefore, represents a viable tool to increase agricultural productivity and ensure food security in the face of challenges imposed by climate change and other environmental stress factors. The objective of this study was to analyze the efficiency of seed physiological conditioning in the presence of signaling molecules for inducing tolerance to abiotic stresses during seed germination and maize seedling development, as well as to evaluate the physiological and biochemical aspects of seeds under these conditions during storage. Three experiments were conducted: one under water stress, saline, and control conditions; another under high-temperature and control conditions; and a third with five storage periods of pre-applied conditioning treatments on maize seeds under four germination conditions, with four replications. Therefore, the first experiment was conducted in a 6x3x3 factorial scheme, with six conditioning solutions, three stress conditions, and three cultivars; the second in a 6x2x3 factorial, with six conditioning solutions, two germination stress conditions, and three cultivars; and the third in a 5x4 factorial, with five storage periods and four germination conditions. The seeds were subjected to physiological conditioning in a B.O.D. at 24 °C for 24 hours in aerated solutions of indole-3-acetic acid, melatonin, sodium nitroprusside, hydrogen peroxide, and chitosan. Subsequently, the seeds were subjected to physiological tests under the proposed germination conditions. The following were determined: water content; germination; first germination count; abnormal seedlings; primary root length, shoot length, primary root width, total seedling length, and root-to-shoot length ratio; H₂O₂ extraction and lipid peroxidation; analysis of the enzymes superoxide dismutase, catalase, and ascorbate peroxidase. Means were subjected to analysis of variance, and when significant, mean tests were applied. Physiological conditioning improves the physiological quality of seeds, even under favorable conditions for plant development. The use of hydrogen peroxide and indole-3-acetic acid as conditioning solutions provides better quality for seeds of different *Zea mays* L. genetic materials under water and saline stress. Additionally, the use of indole-3-acetic acid and melatonin via conditioning was effective under high-temperature stress. Under these conditions, generally, higher germination and vigor, lower percentage of abnormal seedlings, lower H₂O₂ concentration and lipid peroxidation, and higher enzymatic activity were observed. Prolonged storage of conditioned seeds can lead to deterioration of their germination capacity, a process influenced by various factors, including temperature, humidity, storage conditions, and chemicals used in conditioning.

Key-words: antioxidant enzyme; reactive oxygen species; abiotic stress; priming; *Zea mays* L.

INDICADORES DE IMPACTO

A pesquisa sobre o uso de moléculas sinalizadoras, como peróxido de hidrogênio e quitosana, para o condicionamento de sementes de milho apresenta impactos potenciais para a agricultura sustentável, mas com limitações que precisam ser consideradas. Os benefícios observados, como o aumento do vigor, do crescimento da parte aérea e do desenvolvimento radicular, indicam que essa tecnologia pode contribuir para a produtividade agrícola e a segurança alimentar (ODS 2). No entanto, a redução da armazenabilidade das sementes condicionadas ao longo do tempo representa um desafio significativo. A deterioração da capacidade de germinação devido a fatores como temperatura, umidade e compostos químicos utilizados no condicionamento pode limitar a adoção dessa prática em larga escala. Assim, o impacto ambiental positivo da redução do uso de insumos agrícolas e a promoção de sistemas produtivos mais eficientes (ODS 12) ainda dependem de avanços na formulação e no manejo dessa tecnologia para garantir sua viabilidade a longo prazo. Do ponto de vista ambiental e econômico, a tecnologia de condicionamento de sementes pode contribuir para uma agricultura mais resiliente às mudanças climáticas (ODS 13), ao melhorar o estabelecimento inicial das plantas e reduzir perdas no campo. No entanto, como a armazenabilidade reduzida pode levar à necessidade de produção e distribuição contínua de sementes recém-condicionadas, há um risco de aumento do desperdício e dos custos operacionais. Isso pode afetar pequenos produtores, que dependem de sementes com maior longevidade para planejamento e sustentabilidade econômica. Culturalmente, a aceitação dessa tecnologia dependerá da sua confiabilidade e acessibilidade, pois agricultores tendem a adotar práticas que oferecem estabilidade e previsibilidade. Dessa forma, enquanto o uso de moléculas sinalizadoras para condicionamento de sementes apresenta um grande potencial para contribuir com a sustentabilidade agrícola e ambiental, sua aplicação prática ainda requer refinamentos para garantir benefícios diretos e duradouros.

IMPACT INDICATORS

The research on the use of signaling molecules, such as hydrogen peroxide and chitosan, for seed priming in maize presents potential impacts on sustainable agriculture but also limitations that must be considered. The observed benefits, such as increased vigor, shoot growth, and root development, indicate that this technology can contribute to agricultural productivity and food security (SDG 2). However, the reduced storability of primed seeds over time represents a significant challenge. The deterioration of germination capacity due to factors such as temperature, humidity, and chemical compounds used in priming may limit the widespread adoption of this practice. Thus, the positive environmental impact of reducing agricultural inputs and promoting more efficient production systems (SDG 12) still depends on advancements in formulation and management to ensure long-term viability. From an environmental and economic perspective, seed priming technology can contribute to more climate-resilient agriculture (SDG 13) by improving initial plant establishment and reducing field losses. However, since reduced storability may require continuous production and distribution of freshly primed seeds, there is a risk of increased waste and operational costs. This could affect small-scale farmers who rely on longer seed longevity for planning and economic sustainability. Culturally, the acceptance of this technology will depend on its reliability and accessibility, as farmers tend to adopt practices that offer stability and predictability. Therefore, while the use of signaling molecules for seed priming presents great potential to contribute to agricultural and environmental sustainability, its practical application still requires refinement to ensure direct and lasting benefits.

SUMÁRIO

	CAPÍTULO 1	12
1	INTRODUÇÃO GERAL	12
2	REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1	Aspectos gerais da cultura do milho	14
2.2	Estresses abióticos na cultura do milho	15
2.3	Condicionamento Fisiológico.....	17
2.3.1	Ácido indolacético.....	19
2.3.2	Melatonina.....	20
2.3.3	Óxido nítrico	21
2.3.4	Peróxido de hidrogênio	22
2.3.5	Quitosana.....	23
	REFERÊNCIAS.....	25
	CAPÍTULO 2	31
	ANÁLISE FISIOLÓGICA E BIOQUÍMICA DE SEMENTES DE MILHO	
	CONDICIONADAS E SUBMETIDAS A ESTRESSE HÍDRICO E SALINO	31
1	INTRODUÇÃO	33
2	MATERIAL E MÉTODOS	34
2.1	Análise fisiológica	34
2.2	Análise bioquímica	36
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4	CONCLUSÃO.....	55
	REFERÊNCIAS.....	56
	CAPÍTULO 3	59
	ANÁLISE FISIOLÓGICA E BIOQUÍMICA DE SEMENTES DE MILHO	
	CONDICIONADAS E SUBMETIDAS A ALTAS TEMPERATURAS.....	59
1	INTRODUÇÃO	61
2	MATERIAL E MÉTODOS	62
2.1	Análise fisiológica	62
2.2	Análise bioquímica	64
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	67
4	CONCLUSÃO.....	81
	REFERÊNCIAS.....	82
	CAPÍTULO 4	85

	DESEMPENHO FISIOLÓGICO DAS SEMENTES DE MILHO: IMPACTO DO CONDICIONAMENTO DURANTE O ARMAZENAMENTO	85
1	INTRODUÇÃO	87
2	MATERIAL E MÉTODOS	88
2.1	Análise fisiológica	88
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	91
4	CONCLUSÃO.....	106
	REFERÊNCIAS.....	107

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO GERAL

O milho (*Zea mays* L.) é a cultura mais cultivada globalmente, alcançando uma produção anual de aproximadamente 1,23 bilhões de toneladas, conforme dados de 2024 da USDA. Este cereal versátil é utilizado na produção de alimentos, incluindo aplicações industriais, além da utilização no setor energético (García-Lara; Serna-Saldivar, 2019).

A disseminação mundial do cultivo de milho tem levado essa cultura a se estabelecer em uma diversidade de ambientes, desde áreas áridas e marginais até locais altamente favoráveis ao seu desenvolvimento. Essa ampla adaptação do milho é fundamental para garantir a segurança alimentar em diferentes regiões do mundo, especialmente em países com condições edafoclimáticas variadas (Rafique; Abdin; Alam, 2020).

Assim, as questões relacionadas ao clima ganham ainda mais relevância no contexto agrícola, pois é previsto que as alterações climáticas aumentem tanto em intensidade quanto em frequência, representando um desafio adicional para a produção de milho (Salika; Riffat, 2021).

Os estresses abióticos podem retardar ou inibir o crescimento e desenvolvimento das plantas em diferentes estágios, devido às interações complexas entre aspectos fisiológicos e bioquímicos (Wang; Reiter; Chan, 2018). Alguns dos elementos-chave neste procedimento abarcam o desenvolvimento das sementes, o processo de germinação e a capacidade de sobrevivência das plântulas em locais adversos.

Para incrementar a germinação de sementes, melhorar a uniformidade de emergência de plântulas e desse modo, atenuar os danos causados por adversidades ambientais, as sementes podem ser submetidas aos tratamentos pré-germinativos (Masetto; Ribeiro; Rezende, 2013).

O condicionamento fisiológico ou priming de sementes é uma técnica pré-semeadura que promove um estado fisiológico mais favorável para a germinação eficaz. Esse processo controla a hidratação das sementes, dando início ao metabolismo durante os estágios iniciais da germinação, antes mesmo da protrusão radicular (Johnson; Puthur, 2021).

Foram desenvolvidos diversos métodos e agentes de priming para revitalizar o aprimoramento pré-germinativo de sementes e reduzir o impacto do estresse ambiental. Dentre eles, podemos destacar o priming hormonal e químico, como o tratamento com ácido indolacético (AIA), melatonina, óxido nítrico, peróxido de hidrogênio e quitosana (Lutts *et al.*, 2016).

Estes procedimentos induzem a tolerância a estresses abióticos em plantas através da capacidade de combater o estresse oxidativo via enzimas antioxidantes, ressaltando a

importância do entendimento dos mecanismos bioquímicos subjacentes à resposta do milho a diferentes condições ambientais (Souza *et al.*, 2014).

O aumento desproporcional na geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) compromete funções celulares e metabólicas essenciais, acarretando danos substanciais às proteínas, lipídios, carboidratos e DNA. Tais injúrias potenciais podem resultar no apoptose celular, impactando negativamente na integridade e funcionalidade dos tecidos (Cao *et al.*, 2019).

Muitas moléculas para prevenir o estresse oxidativo já foram extensivamente testadas em milho, conforme evidenciado por estudos anteriores (Ye *et al.*, 2016; Kaya; Akram; Ashraf, 2018; Turk, 2019; Iqbal *et al.*, 2020). No entanto, é importante ressaltar que há uma lacuna significativa de pesquisa em relação à associação dessas moléculas com a aplicação via condicionamento fisiológico.

Além disso, o uso de técnicas como o condicionamento fisiológico poderá se mostrar promissor na produção de híbridos de milho, ao melhorar a qualidade fisiológica das sementes de linhagens parentais, especialmente sob estresses abióticos. A aplicação dessa técnica pode vir a ser fundamental para otimizar o desempenho de genótipos de milho em condições adversas, favorecendo a emergência uniforme e o vigor inicial das plântulas, fatores essenciais para a obtenção de híbridos de alta produtividade no futuro.

À vista disso, é importante avaliar os benefícios do condicionamento fisiológico e a utilização de moléculas sinalizadoras em relação ao aumento da tolerância às diferentes condições de estresse abióticos, durante os processos de germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de milho. Além disso, por meio da pesquisa proposta será possível avaliar aspectos fisiológicos e bioquímicos envolvidos nos processos de condicionamento fisiológico e uso de moléculas sinalizadoras relacionadas aos diferentes tipos de estresse abiótico.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Aspectos gerais da cultura do milho

A cultura do milho (*Zea mays* L.) pertence à família Poaceae, subfamília Panicoideae, tribo Maydae e gênero *Zea*. O cereal é categorizado como uma planta C4, com características de espécie anual, baixo perfilhamento, postura ereta, alógama, monóica, anemófila e protândrica (Galvão; Borém; Pimentel, 2017).

A importância da semente de milho é evidenciada pela alta taxa de utilização no Brasil, que ocupa o primeiro lugar entre as espécies cultivadas, com uma média de 91% (ABRASEM, 2024). Essa informação é crucial, uma vez que o sucesso do processo de produção agrícola depende significativamente da seleção e qualidade das sementes utilizadas. O rendimento de uma lavoura de milho é influenciado tanto pelo potencial genético da semente quanto pelas condições ambientais e pelo manejo adequado no local de plantio (Cruz *et al.*, 2010).

Os avanços tecnológicos têm desempenhado um papel fundamental no desenvolvimento da agricultura de milho no Brasil, permitindo uma maior flexibilidade de cultivo em diversas regiões e sob diferentes condições edafoclimáticas (CONAB, 2016). Isso tem contribuído para a expansão da produção e a garantia da segurança alimentar, além de impulsionar o setor agroindustrial.

Por esses motivos, reforçado pela ampla utilidade, o milho é o cereal mais produzido globalmente. Além de desempenhar um papel direto na alimentação de seres humanos e animais, é possível gerar uma variedade de produtos, como bebidas, polímeros, combustíveis, entre outros (Miranda, 2018). Sua significativa contribuição para o setor agroindustrial desempenha um papel decisivo no desenvolvimento socioeconômico (Môro; Fritsche-Neto, 2017).

Segundo o United States Department of Agriculture - USDA (2024), os Estados Unidos e a China isoladamente respondem por 55% da produção mundial de milho. Se adicionarmos o Brasil e a União Europeia a essa equação, a proporção sobe para 70% da produção global. Além disso, outros países merecem destaque devido ao seu notável crescimento na produção, como Argentina, Índia, Ucrânia, México e Rússia.

De acordo com informações fornecidas pela Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB) em 2024, as projeções para a safra agrícola brasileira de 2023/24 alcançaram uma área destinada ao cultivo de 20,4 milhões de hectares, refletindo o contínuo crescimento e expansão do setor agrícola do país. Além disso, prevê-se uma produção total de aproximadamente 113,7 milhões de toneladas.

O Brasil, com sua vasta extensão territorial, continua a desempenhar um papel de destaque no cenário agrícola mundial, sendo reconhecido como um dos principais produtores e exportadores de alimentos do mundo (Artuzo *et al.*, 2018). Essas projeções para a safra 2023/24 refletem a contínua dedicação e inovação dos agricultores brasileiros, bem como o potencial inigualável do país para a produção agrícola em larga escala.

Para manter ou elevar os níveis de produção agrícola, é fundamental empregar ferramentas inovadoras que possibilitem a antecipação e a resolução eficaz de problemas. Uma dessas tecnologias-chave é o tratamento de sementes, que envolve a aplicação de fungicidas, inseticidas, micronutrientes, bioestimulantes e microrganismos benéficos. Esse método desempenha um papel crucial na proteção das culturas durante seus estágios iniciais de desenvolvimento, ajudando a garantir uma germinação saudável, o estabelecimento vigoroso das plântulas e a proteção contra pragas e doenças (Sharma *et al.*, 2015).

No contexto da produção de milho, o cruzamento de linhagens endogâmicas para gerar híbridos também é um processo essencial, no qual essas linhagens são cuidadosamente combinadas para incorporar características desejáveis, como resistência à seca. Durante todo o ciclo de produção, medidas rigorosas são implementadas para garantir a qualidade das sementes, incluindo a aplicação exógena de substâncias no campo de cultivo, assegurando assim a eficiência do processo e a proteção das plantas desde o início (Ali *et al.*, 2020).

Por meio da implementação de tecnologias avançadas, os agricultores brasileiros podem otimizar a eficiência de suas práticas agrícolas, maximizando assim a produtividade e a sustentabilidade de suas lavouras. Essas estratégias inovadoras não apenas contribuem para o sucesso econômico dos produtores, mas também fortalecem a posição do Brasil como um líder global no setor agrícola.

2.2 Estresses abióticos na cultura do milho

A produção de milho projetada para a safra 2023/24 sofreu uma quebra de 13,8% em comparação com a safra anterior (CONAB, 2024). Tal fato ocorre, porque a cultura do milho, assim como outras plantas, se desenvolve em ambientes com constantes mudanças, muitas vezes desfavoráveis para o seu crescimento. Análogo a isto, de tempos em tempos e particularmente este ano, o mundo está vivenciando os impactos do fenômeno El Niño.

O El Niño é um evento climático notável, caracterizado pelo aquecimento anômalo das águas superficiais do Oceano Pacífico e pela subsequente modificação dos padrões de circulação atmosférica em escala global. Desde junho de 2023, observa-se um padrão consistente de elevação das temperaturas da superfície do mar, especialmente notável na vasta

região equatorial do Oceano Pacífico, indicativo típico desse fenômeno. A intensidade atual do El Niño é avaliada como sendo forte, sugerindo potenciais impactos significativos nos sistemas climáticos em todo o mundo (ANA, 2024).

Devido às variações sazonais frequentes, particularmente em países tropicais, as plantas precisam ser tolerantes aos efeitos adversos, principalmente de alta temperatura e estresse hídrico. Além do mais, prevê-se que o impacto da alta temperatura aumente nos próximos anos, com o aquecimento global (Mathur; Sharma; Jajoo, 2018).

Os principais fatores ambientais abióticos que influenciam o crescimento das plantas incluem a luminosidade, a disponibilidade de água, os níveis de dióxido de carbono e oxigênio, a composição e a disponibilidade de nutrientes no solo, a temperatura e a presença de substâncias tóxicas (Taiz *et al.*, 2017).

No milho, o rendimento de grãos pode ser reduzido em até 101 kg ha⁻¹ dia⁻¹ quando a temperatura atinge aproximadamente 35 °C na fase de polinização e enchimento de grãos (Rahman *et al.*, 2013). Nos últimos anos, uma queda recorde na produção de milho foi relatada em muitas áreas de cultivo de milho do mundo devido ao estresse térmico (Van Der Velde; Wriedt; Bouraoui, 2010).

Contudo, nas condições meteorológicas brasileiras, o déficit hídrico é o maior responsável pela queda da produtividade de grãos das principais culturas (Pias *et al.*, 2017). O milho é sensível ao estresse hídrico, e sua perda de rendimento médio anual devido à seca é de cerca de 15% de seu rendimento potencial (Ziyomo; Bernardo, 2013).

Os problemas relacionados à seca estão aumentando devido às mudanças climáticas, e como resultado, as áreas que atualmente são grandes produtoras de grãos podem enfrentar uma queda drástica na produção causada pela falta de água ou má gestão de sua distribuição (Souza *et al.*, 2014).

Correlacionado com o estresse hídrico, a salinidade também limita seriamente o crescimento e a produtividade das plantas em todo o mundo (Shabala; Bose; Hedrich, 2014). O milho é uma cultura sensível ao sal, com o limite de tolerância de 1,02 %. O rendimento de grãos seria reduzido em 12% a cada 0,6 % de aumento na concentração de sal. A cultura mostra maior sensibilidade ao sal nos estágios de germinação e plântula (Zheng *et al.*, 2010).

Portanto, a fase inicial de desenvolvimento das plantas está intrinsecamente ligada a redes complexas de processos metabólicos, que regem o fluxo de energia e recursos dentro e entre as células. Um aspecto decisivo desse processo é a sensibilidade das enzimas metabólicas a diferentes faixas de temperatura, concentração de sais e disponibilidade de água. Isso pode resultar na inibição seletiva de certas enzimas, sem afetar outras na mesma via metabólica ou

em vias interligadas. Esse desacoplamento funcional das rotas metabólicas pode levar à acumulação de compostos intermediários, potencialmente convertidos em subprodutos tóxicos (Taiz *et al.*, 2017).

Espécies reativas de oxigênio (ERO) e espécies reativas de nitrogênio (ERN) constituem duas categorias de moléculas altamente reativas, cada uma contendo oxigênio e nitrogênio, respectivamente. Em situações de estresse, como exposição a condições ambientais adversas ou agressões bióticas, a produção excessiva de ERO/ERN pode resultar em estresse oxidativo. No entanto, é importante notar que, em concentrações adequadas, essas espécies também desempenham uma função crucial na sinalização do estresse, ativando respostas adaptativas e promovendo a sobrevivência da planta (Wang *et al.*, 2024).

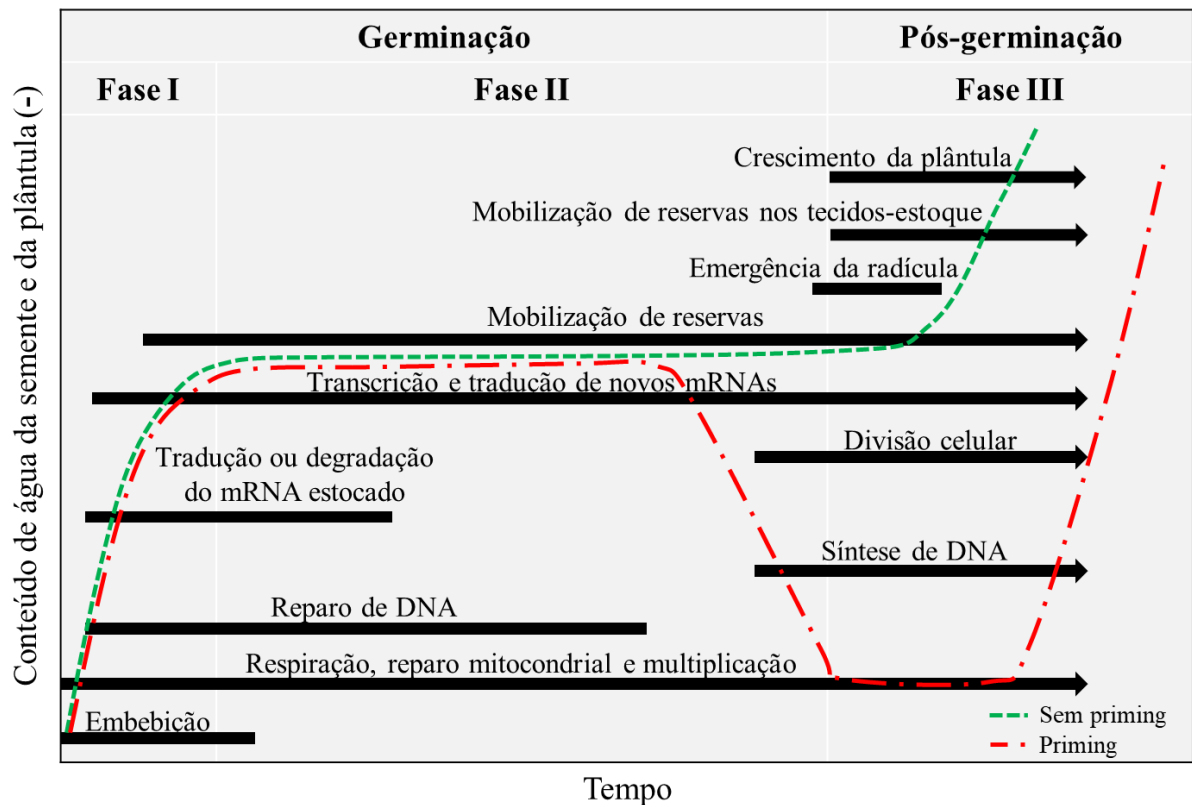
No contexto do estresse celular, um dos grupos intermediários mais prevalentes é o das espécies reativas de oxigênio (EROs), caracterizadas por sua alta reatividade devido à presença de ao menos um elétron desemparelhado em suas órbitas. Essas espécies têm a capacidade de reagir rapidamente com uma ampla gama de componentes celulares, oxidando-os. Entre esses componentes estão incluídas proteínas, DNA, RNA e lipídios. Nas células vegetais, as formas mais comuns de EROs incluem o superóxido, o oxigênio singlete, o peróxido de hidrogênio e os radicais hidroxila (Yu *et al.*, 2015, Taiz *et al.*, 2017).

Para reduzir os danos causados por EROs, desencadeados por variações climáticas extremas, o priming de sementes surge como alternativa na promoção de uma agricultura mais produtiva, sustentável e resiliente. Ao melhorar a germinação, estabelecimento e crescimento inicial das plantas, essa técnica oferece uma série de benefícios que podem ajudar os agricultores a enfrentarem os desafios crescentes associados às mudanças climáticas e à crescente demanda por alimento (Marthandan *et al.*, 2020).

2.3 Condicionamento Fisiológico

A germinação de sementes transcorre por três fases de absorção de água sob condições normais (Figura 1). A primeira fase corresponde à absorção rápida de água pelas sementes secas através do processo de embebição. A segunda fase é representada pela estagnação da absorção de água e ativação dos processos metabólicos, entre eles a transcrição e a tradução. No final desta etapa, o embrião se expande a ponto de a radícula emergir da casca da semente. Na fase três, observa-se o recomeço da absorção de água devido a uma diminuição no potencial hídrico conforme a plântula cresce, e as reservas de nutrientes armazenadas nas sementes são mobilizadas (Taiz *et al.*, 2017).

Figura 1 – Gráfico do conteúdo de água da semente e da plântula durante as fases de germinação e pós-germinação



Fonte: Adaptação de Taiz *et al.* (2017) e Lutts *et al.* (2016).

Considera-se que, até o término da Fase II, a germinação permanece como um processo reversível: as sementes têm a capacidade de serem desidratadas novamente e permanecerem viáveis durante o armazenamento, podendo reiniciar posteriormente o processo de germinação em condições adequadas (Lutts *et al.*, 2016).

O priming de sementes ou condicionamento fisiológico é uma técnica essencial de aprimoramento pré-germinativo que favorece uma germinação mais vigorosa e uniforme. Esse método regula meticulosamente os processos metabólicos nas fases iniciais de germinação, reduzindo o tempo de embebição, aumentando a produção de metabólitos, reparando o DNA danificado e regulando a osmose, especialmente sob condições de estresse (Hussain; Farooq; Lee, 2017, Hussain *et al.*, 2016).

Durante o processo de priming, a Fase I da germinação engloba a ativação da memória priming, a reparação de DNA e mitocôndrias, além da respiração e metabolismo energético. Também ocorre a sinalização ERO e antioxidante, transcrição e tradução de genes, iniciação do ciclo celular e indução de genes de resposta ao estresse, como LEA, DHY, AQP, e sinalização hormonal. A Fase II, por sua vez, corresponde à germinação, na qual a memória é acionada

após a segunda reidratação e ocorre a síntese de proteínas utilizando novo mRNA (Chen; Arora, 2013).

A utilização do priming de sementes é respaldada por evidências que demonstram seus benefícios em diversas culturas agrícolas, como cereais, leguminosas, hortifruti, entre outras (Samota *et al.*, 2017, Tabassum *et al.*, 2018, Sajjan; Dhanelappagol; Jolli, 2017, Pravisya; Jayaram, 2015).

Além dos aspectos relacionados ao desenvolvimento inicial das plântulas, o priming de sementes desempenha um papel fundamental na proteção contra o estresse oxidativo. Ao induzir atividade antioxidante e solubilização de proteínas de armazenamento, essa técnica minimiza a peroxidação lipídica, promovendo assim a viabilidade e o vigor das sementes sob condições desafiadoras (İşeri; Sahin; Haberal, 2014).

Diversas técnicas de condicionamento de sementes são amplamente utilizadas, categorizadas principalmente em métodos convencionais e avançados. Os métodos convencionais incluem hidrocondicionamento, osmondicionamento, condicionamento com nutrientes, condicionamento químico, bio-condicionamento e condicionamento com reguladores de crescimento de plantas. Por outro lado, os métodos avançados abrangem o nano-condicionamento e o condicionamento com agentes físicos (Waqas *et al.*, 2019).

É importante ressaltar que, para que haja sucesso, alguns fatores devem ser manuseados cuidadosamente como temperatura, luz, concentração da solução, período de duração do tratamento, o tipo de soluto a ser utilizado, o método e tempo de secagem após o condicionamento. Tais fatores variam consideravelmente dependendo da espécie que será trabalhada, do lote, das condições edafoclimáticas, do tamanho e tratamento que as sementes irão receber, desde a época de sua produção e ao longo de sua vida (Cardoso *et al.*, 2015).

Pensando nisso, vários agentes condicionantes podem ser utilizados no condicionamento fisiológico das sementes, dentre eles, ácido indolacético, melatonina, óxido nítrico, peróxido de hidrogênio e quitosana.

2.3.1 Ácido indolacético

As auxinas representam uma classe fundamental de hormônios vegetais, desempenhando papéis essenciais no crescimento e desenvolvimento das plantas. A primeira descrição desse fitormônio remonta ao livro "The Power of Movement in Plants", publicado por Charles Darwin e seu filho Francis Darwin em 1881 (Taiz *et al.*, 2017). Desde a sua descoberta, esses compostos têm sido objeto de intensa pesquisa, revelando a importância desde

a regulação da alongação celular, dominância apical até a formação de órgãos, como raízes e folhas (Spaepen; Vanderleyden, 2011).

Nas plantas superiores, o ácido indol-3-acético (AIA) destaca-se como uma das principais auxinas. A sua biossíntese tem sido extensivamente investigada ao longo dos anos, e embora algumas incertezas persistam, são sugeridas duas vias metabólicas distintas, uma dependente de triptofano (Trp) e outra independente de triptofano (Yue; Hu; Huang, 2014).

Na via dependente de Trp, o composto pode ser convertido em quatro principais compostos até a formação do ácido indolilacético. O ácido indol-3-pirúvico é o composto de maior relevância na reação de conversão, porém, o triptofano também pode dar origem a outros compostos, como a indol-3-acetamidahern, indol-3-acetaldoxima e triptamina (Figueiredo; Köhler, 2018, Feng *et al.*, 2019, Casanova-Sáez;; Mateo-Bonmatí; Ljung, 2021).

É notável que tanto as plantas quanto certos microrganismos, incluindo bactérias e fungos, sejam capazes de produzir AIA. Essa capacidade ressalta a importância desse composto não apenas para as plantas, mas também para as interações complexas que ocorrem nos ecossistemas (Limtong; Koowadjanakul, 2012).

A regulação do crescimento e desenvolvimento das plantas é fortemente influenciada pelos fitohormônios, como a auxina, que desempenha um papel crucial na formação de órgãos vegetais, incluindo embriões, raízes, folhas e flores. Esses hormônios interagem complexamente entre si, como no caso da relação entre auxina e citocinina, que determina o desenvolvimento de raízes versus brotos (Wu *et al.*, 2015, Do *et al.*, 2019).

Além disso, a transição da dormência para a germinação das sementes é controlada por uma rede molecular de genes, sendo influenciada por fatores ambientais como luz, temperatura e fitohormônios, como o ácido abscísico (ABA) e o ácido giberélico (GA). Estudos recentes têm destacado o papel emergente da auxina nesse processo de transição, ampliando nosso entendimento sobre os mecanismos que regulam a germinação das sementes (Finch-Savage; Footitt, 2017, Liu *et al.*, 2019).

2.3.2 Melatonina

A melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina), um derivado do triptofano, é uma molécula descrita como promotora de tolerância a estresses em plantas (Arnao; Hernández-Ruiz, 2014). Este hormônio atua como um neurotransmissor em mamíferos, porém sua presença e potencial papel nas plantas foi relatado recentemente (Wang *et al.*, 2016a; Wang *et al.*, 2016b).

A presença de melatonina é amplamente observada em diversas espécies vegetais, sendo detectada em raízes, sementes, folhas, bulbos e flores. A concentração de melatonina nas plantas é influenciada por fatores genéticos, ambientais, como fotoperíodo e temperatura, e estágios específicos de crescimento, refletindo a complexidade de sua regulação. É importante notar que a quantidade de melatonina pode variar significativamente entre diferentes cultivares de uma mesma espécie, destacando a diversidade intrínseca existente na produção desse hormônio nas plantas (Nawaz *et al.*, 2016).

Nas plantas, a melatonina está envolvida em múltiplos processos fisiológicos, incluindo crescimento e fotossíntese, ritmos biológicos, germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas, além da osmorregulação (Tan *et al.*, 2013). Sua síntese é induzida nos vegetais, quando estes estão expostos a estresses bióticos e abióticos, e tem um papel semelhante ao hormônio em várias espécies de plantas (Hardeland, 2016).

O modo de ação da melatonina é ativado quando ocorre interação com outros fitohormônios derivados do corismato, incluindo ácido indol-3-acético e ácido salicílico. Tendo como principal função a ativação do sistema antioxidante, a melatonina altera os níveis de expressão gênica de vários genes que atuam em diferentes mecanismos fisiológicos (Tan *et al.*, 2013; Galano; Tan; Reiter, 2011).

2.3.3 Óxido nítrico

Em 1959, um artigo pioneiro mencionou o uso de óxido nítrico (NO) na ciência das plantas ao descrever sua influência em sementes de capim rastejante (*Agrostis stolonifera* L.) em resposta à radiação. No entanto, desde então, o interesse no papel dos radicais de nitrogênio na regulação do crescimento e desenvolvimento das plantas permaneceu em grande parte estático (Sparman; Ehrenberg; Ehrenberg, 1959).

Foi somente em 1979 que a pesquisa avançou significativamente com a publicação de um estudo inovador conduzido por Klepper, que investigou a formação de NO em células vegetais, especificamente a liberação desse composto de folhas de soja tratadas com herbicida. A partir da década de 1990, testemunhou-se um aumento progressivo no número de publicações científicas dedicadas ao metabolismo e ao papel sinalizador do NO na biologia vegetal, marcando um renascimento do interesse e da compreensão dessa molécula importante.

Numerosos estudos destacaram a importância de diferentes gasotransmissores no desenvolvimento das plantas e em suas respostas aos estresses ambientais (Fang *et al.*, 2021). Entre esses compostos, o óxido nítrico (NO), também conhecido como monóxido de nitrogênio ou óxido de nitrogênio, é uma molécula radical livre contendo um elétron desemparelhado

($\cdot\text{NO}$), conferindo-lhe uma alta reatividade com outras espécies radicais e moléculas biológicas (Lancaster, 2015).

Sua bioquímica está intrinsecamente ligada à formação de uma variedade de moléculas conhecidas como espécies reativas de nitrogênio (RNS), amplamente estudadas devido ao seu papel em processos fisiológicos e patológicos nas plantas (Corpas *et al.*, 2019). Pode-se citar a formação de cátions nitrosônio (NO^+) e ânions nitroxila (NO^-), além de sua capacidade de interagir com moléculas contendo elétrons desemparelhados ou íons de metais de transição (Ciacka *et al.*, 2022).

O NO é gerado em diversos compartimentos subcelulares das plantas, incluindo cloroplastos, citosol, mitocôndrias e peroxissomos, demonstrando sua ampla distribuição. Desde as primeiras investigações sobre seu papel nas plantas, a biossíntese do NO tem sido objeto de intenso estudo, com múltiplas vias enzimáticas e não enzimáticas identificadas como responsáveis por sua produção. No entanto, a atividade dessas vias é altamente dependente do tipo de tecido vegetal, estágio de desenvolvimento da planta e condições ambientais (Astier; Gross; Durner, 2018).

2.3.4 Peróxido de hidrogênio

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é uma espécie reativa de oxigênio (ERO) não radical, assim como o oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) e radicais livres como o ânion superóxido (O_2^-) e o radical hidroxila ($\cdot\text{OH}$). Em contraste com outras EROs, o H_2O_2 é relativamente estável e sua concentração na folha da planta varia em torno de 1 μmol por grama de peso fresco em condições naturais. A produção de H_2O_2 em células vegetais ocorre através de diversas rotas, tanto enzimáticas quanto não enzimáticas, destacando seu papel essencial em processos redox e respostas ao estresse oxidativo (Smirnoff; Arnaud, 2019).

As espécies reativas de oxigênio são consideradas subprodutos inevitáveis do metabolismo aeróbico que têm acompanhado a vida na Terra desde o aparecimento de organismos fotossintéticos que envolvem oxigênio (Mittler *et al.*, 2011). Plantas superiores, portanto, evoluíram na presença de ERO e adquiriram vias dedicadas para se proteger da toxicidade, bem como para usar ROS como moléculas de sinalização (Mignolet - Spruyt *et al.*, 2016).

O peróxido de hidrogênio é um composto geralmente encontrado na planta, durante o ciclo de vida normal. No entanto, sabe-se que desempenha um papel vital na tolerância ao estresse, atuando como um mensageiro secundário quando seu nível se apresenta em baixa

concentração (Farooq *et al.*, 2017). Além disso, atua na sinalização da regulação de enzimas antioxidantes via sinalização ABA (Saxena; Srikanth; Chen, 2016).

Embora o papel do peróxido de hidrogênio na resposta fisiológica, sob condições de estresse, já tenha sido relatado (Saxena; Srikanth; Chen, 2016), a eficácia do H_2O_2 no desencadeamento da tolerância ao estresse em sementes ainda é inconclusiva. Uma ampla gama de concentrações de peróxido de hidrogênio já fora utilizada e os resultados variaram entre as espécies, bem como o método de aplicação. No entanto, nenhum dos trabalhos foi testada a aplicação via condicionamento fisiológico e posterior efeito em diferentes condições de estresse, como proposto neste estudo.

2.3.5 Quitosana

A quitina, um polímero abundante na natureza, superada apenas pela celulose, é composta por unidades de N-acetil-D-glucosamina ligadas linearmente por ligações β -(1-4). A quitosana, seu derivado, consiste em uma cadeia aleatória de unidades de N-acetil-D-glucosamina e D-glucosamina, unidas pelas mesmas ligações. A diferenciação entre quitina e quitosana se baseia no grau de acetilação (DA), sendo a quitina mais de 50% acetilada, enquanto a quitosana tem um percentual inferior a esse limite (Pandey; Verma; De, 2018).

A quitosana, embora menos comum na natureza em comparação com a quitina, pode ser encontrada em alguns fungos. As amostras comerciais de quitosana foram predominantemente produzidas por meio da desacetilação química da quitina extraída de fontes de crustáceos (Ghormade; pathan; Deshpande, 2017).

Nos últimos anos, a quitosana emergiu como um foco importante de estudos devido às suas propriedades versáteis e aplicáveis. Além de sua biocompatibilidade e capacidade de degradação, sua atividade antimicrobiana tem despertado interesse em diversas áreas. Da administração de medicamentos à proteção das plantas, a quitosana mostra-se promissora em diferentes frentes de pesquisa, oferecendo soluções inovadoras para desafios contemporâneos (Chouhan; Mandal, 2021).

A pesquisa científica tem revelado que a aplicação de quitosana durante o processo de germinação de sementes contribui para um notável incremento nos teores de pigmentos fotossintéticos, como clorofila a, clorofila b e clorofila total, além de aumentar a concentração de proteínas solúveis. Essas descobertas apontam para o potencial da quitosana como um agente promissor na promoção do desenvolvimento vegetal e na melhoria da qualidade das culturas agrícolas (Li *et al.*, 2019).

O priming de sementes surge como uma estratégia promissora para melhorar a germinação e o desenvolvimento inicial do milho, especialmente em condições de estresse abiótico. As diferentes abordagens de priming demonstram um potencial significativo em promover tolerância ao estresse e aumentar a produtividade das lavouras.

Com o contínuo avanço das pesquisas e o aprimoramento das técnicas, o uso de sementes tratadas pode se tornar uma ferramenta essencial para mitigar os efeitos das adversidades ambientais, contribuindo para a sustentabilidade e a eficiência na produção de milho.

REFERÊNCIAS

- ABRASEM. Estatísticas. **Associação Brasileira de Produtores de Sementes**, 2024. Disponível em: < <https://www.abrasem.com.br/estatisticas/#>. >. Acesso em: 18 fev. 2024.
- ALI, Aqib *et al.* Machine learning approach for the classification of corn seed using hybrid features. **International Journal of Food Properties**, v. 23, n. 1, p. 1110-1124, 2020.
- ANA. Painel El Niño 2023-2024. **Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico**, 2024. Disponível em: < <https://www.gov.br/ana/pt-br/sala-de-situacao/painel-el-nino/boletins/mensal/painel-el-nino-boletim-mensal-no-05-1.pdf/> >. Acesso em: 18 fev. 2024.
- ARNAO, Marino B.; HERNÁNDEZ-RUIZ, Josefa. Melatonin: plant growth regulator and/or biostimulator during stress?. **Trends in plant science**, v. 19, n. 12, p. 789-797, 2014.
- ARTUZO, Felipe Dalzotto *et al.* Gestão de custos na produção de milho e soja. **Revista Brasileira de Gestão de Negócios**, v. 20, n. 02, p. 273-294, 2018.
- ASTIER, Jeremy; GROSS, Inonge; DURNER, Jörg. Nitric oxide production in plants: an update. **Journal of Experimental Botany**, v. 69, n. 14, p. 3401-3411, 2018.
- CAO, Qingjun *et al.* Seed priming with melatonin improves the seed germination of waxy maize under chilling stress via promoting the antioxidant system and starch metabolism. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 15044, 2019.
- CARDOSO, Eliana Duarte *et al.* Qualidade fisiológica e composição química de sementes de *Brachiaria brizantha* em função do condicionamento osmótico. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 2, n. 2, p. 42-48, 2015.
- CASANOVA-SÁEZ, Rubén; MATEO-BONMATÍ, Eduardo; LJUNG, Karin. Auxin metabolism in plants. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 13, n. 3, p. a039867, 2021.
- CHEN, Keting; ARORA, Rajeev. Priming memory invokes seed stress-tolerance. **Environmental and experimental Botany**, v. 94, p. 33-45, 2013.
- CHOUHAN, Divya; MANDAL, Palash. Applications of chitosan and chitosan based metallic nanoparticles in agrosiences-A review. **International journal of biological macromolecules**, v. 166, p. 1554-1569, 2021.
- CIACKA, Katarzyna *et al.* Nitric oxide in seed biology. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 23, p. 14951, 2022.
- CONAB. Acompanhamento da safra brasileira: grãos – segundo levantamento safra 2016/2017. **Companhia Nacional de Abastecimento**, n. 2, 2016.
- CONAB. Acompanhamento da safra brasileira: grãos. **Companhia Nacional de Abastecimento**, v. 11, n. 5, p. 69-89, 2024. Disponível em: < <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos> >. Acesso em: 19 fev. 2024.
- CORPAS, Francisco J. *et al.* Nitric oxide and hydrogen sulfide in plants: which comes first?. **Journal of Experimental Botany**, v. 70, n. 17, p. 4391-4404, 2019.

CRUZ, José Carlos *et al.* Cultivo do Milho. **Embrapa**, Sistemas de Produção, n. 2, 6. ed., 2010. Disponível em: < <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/27037/1/Plantio.pdf> >. Acesso em: 08 jul. 2023.

DO, Bich Hang *et al.* Emerging functions of chromatin modifications in auxin biosynthesis in response to environmental alterations. **Plant Growth Regulation**, v. 87, p. 165-174, 2019.

FANG, Pingping *et al.* Plant gasotransmitters: light molecules interplaying with heavy metals. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 20, p. 31-53, 2021.

FAROOQ, Muhammad *et al.* Drought stress in grain legumes during reproduction and grain filling. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 203, n. 2, p. 81-102, 2017.

FENG, Jia *et al.* Reporter gene expression reveals precise auxin synthesis sites during fruit and root development in wild strawberry. **Journal of experimental botany**, v. 70, n. 2, p. 563-574, 2019.

FIGUEIREDO, Duarte D.; KÖHLER, Claudia. Auxin: a molecular trigger of seed development. **Genes & development**, v. 32, n. 7-8, p. 479-490, 2018.

FINCH-SAVAGE, William E.; FOOTITT, Steven. Seed dormancy cycling and the regulation of dormancy mechanisms to time germination in variable field environments. **Journal of experimental botany**, v. 68, n. 4, p. 843-856, 2017.

GALANO, Annia; TAN, Dun Xian; REITER, Russel J. Melatonin as a natural ally against oxidative stress: a physicochemical examination. **Journal of pineal research**, v. 51, n. 1, p. 1-16, 2011.

GALVÃO, João Carlos Cardoso; BORÉM, Aluizio; PIMENTEL, Marco Aurélio (Ed.). Milho: do plantio à colheita. **Editora UFV**, 382 p., 2017.

GARCÍA-LARA, Silverio; SERNA-SALDIVAR, Sergio O. Corn history and culture. **Corn**, p. 1-18, 2019.

GHORMADE, V.; PATHAN, E. K.; DESHPANDE, M. V. Can fungi compete with marine sources for chitosan production?. **International journal of biological macromolecules**, v. 104, p. 1415-1421, 2017.

HARDELAND, Rüdiger. Melatonin in plants—diversity of levels and multiplicity of functions. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 198, 2016.

HUSSAIN, M.; FAROOQ, M.; LEE, D.J. Evaluating the role of seed priming in improving drought tolerance of pigmented and non-pigmented rice. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 203, n. 4, p. 269-276, 2017.

HUSSAIN, Saddam *et al.* Physiological and biochemical mechanisms of seed priming-induced chilling tolerance in rice cultivars. **Frontiers in plant science**, v. 7, p. 116, 2016.

IQBAL, Muhammad Mazhar *et al.* Induction of heat tolerance in maize through exogenous application of salicylic acid, ascorbic acid and hydrogen peroxide in a field study. **Pakistan Journal of Agricultural Research**, v. 33, n. 3, p. 585-593, 2020.

İŞERI, Özlem Darcansoy; SAHIN, Feride İffet; HABERAL, Mehmet. Sodium chloride priming improves salinity response of tomato at seedling stage. **Journal of Plant Nutrition**, v. 37, n. 3, p. 374-392, 2014.

JOHNSON, Riya; PUTHUR, Jos T. Seed priming as a cost effective technique for developing plants with cross tolerance to salinity stress. **Plant physiology and biochemistry**, v. 162, p. 247-257, 2021.

KAYA, Cengiz; AKRAM, Nudrat Aisha; ASHRAF, Muhammad. Kinetin and indole acetic acid promote antioxidant defense system and reduce oxidative stress in maize (*Zea mays* L.) plants grown at boron toxicity. **Journal of plant growth regulation**, v. 37, p. 1258-1266, 2018.

KLEPPER, L. Nitric Oxide (NO) and nitrogen dioxide (NO₂) emissions from herbicide-treated soybean plants. **Atmospheric Environment**, v. 13, n. 4, p. 537–5421, 1979.

LANCASTER JR, Jack R. Nitric oxide: a brief overview of chemical and physical properties relevant to therapeutic applications. **Future Science OA**, v. 1, n. 1, 2015.

LI, Ruixin *et al.* Effects of chitosan nanoparticles on seed germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). **International journal of biological macromolecules**, v. 126, p. 91-100, 2019.

LIMTONG, Savitree; KOOWADJANAKUL, Nampueng. Yeasts from phylloplane and their capability to produce indole-3-acetic acid. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, p. 3323-3335, 2012.

LIU, Lei *et al.* A transcriptome analysis reveals a role for the indole GLS-linked auxin biosynthesis in secondary dormancy in rapeseed (*Brassica napus* L.). **BMC Plant Biology**, v. 19, p. 1-18, 2019.

LUTTS, Stanley *et al.* Seed priming: new comprehensive approaches for an old empirical technique. **New challenges in seed biology-basic and translational research driving seed technology**, v. 46, n. 10.5772, p. 64420, 2016.

MARTHANDAN, Vishvanathan *et al.* Seed priming: a feasible strategy to enhance drought tolerance in crop plants. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 21, p. 8258, 2020.

MASETTO, Tathiana Elisa; RIBEIRO, Dágon Manoel; REZENDE, Rodrigo Kelson Silva. Germinação de sementes de *Urochloa ruziziensis* em função da disponibilidade hídrica do substrato e teor de água das sementes. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 43, p. 385-391, 2013.

MATHUR, Sonal; SHARMA, Mahaveer P.; JAJOO, Anjana. Improved photosynthetic efficacy of maize (*Zea mays*) plants with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) under high temperature stress. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 180, p. 149-154, 2018.

MIGNOLET-SPRUYT, Lorin *et al.* Spreading the news: subcellular and organellar reactive oxygen species production and signalling. **Journal of experimental botany**, v. 67, n. 13, p. 3831-3844, 2016.

MIRANDA, R. A. Uma história de sucesso da civilização: **A Granja**, v. 74, n. 829., p. 24-27, 2018.

MITTLER, Ron *et al.* ROS signaling: the new wave?. **Trends in plant science**, v. 16, n. 6, p. 300-309, 2011.

MÔRO, Gustavo Vitti; FRITSCHÉ-NETO, Roberto. Importância e usos do milho no Brasil. In: GALVÃO, João Carlos Cardoso; BORÉM, Aluizio; PIMENTEL, Marco Aurélio (Ed.). Milho: do plantio à colheita. **Editora UFV**, p. 9-24, 2017.

NAWAZ, Muhammad A. *et al.* Melatonin: current status and future perspectives in plant science. **Frontiers in plant science**, v. 6, p. 1230, 2016.

PANDEY, Priyal; VERMA, M. Kumar; DE, Nirmal. Chitosan in agricultural context-A review. **Bull. Environ. Pharmacol. Life Sci**, v. 7, n. 4, p. 87-96, 2018.

PIAS, Osmar Henrique de Castro *et al.* Componentes de rendimento e produtividade de híbridos de milho em função de doses de NPK e de deficit hídrico em estádios fenológicos críticos. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 16, n. 4, p. 422-432, 2017.

PRAVISYA, P.; JAYARAM, K. M. Priming of *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench (okra) seeds with liquid phosphobacterium: An approach to mitigate drought stress. **Trop Plant Res**, v. 2, n. 3, p. 276-281, 2015.

RAFIQUE, Suphia; ABDIN, M. Z.; ALAM, Wasi. Response of combined abiotic stresses on maize (*Zea mays* L.) inbred lines and interaction among various stresses. **Maydica**, v. 64, n. 3, p. 8, 2020.

RAHMAN, Saleem Ur *et al.* Evaluation of maize hybrids for tolerance to high temperature stress in central Punjab. **J. Bioengr. Biotechnol**, v. 1, n. 1, p. 30-36, 2013.

SAJJAN, Ashok S.; DHANELAPPAGOL, M. S.; JOLLI, R. B. Seed quality enhancement through seed priming in pigeonpea [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.]. **Legume Research-An International Journal**, v. 40, n. 1, p. 173-177, 2017.

SALIKA, Ramazan; RIFFAT, John. Abiotic stress responses in maize: a review. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 43, n. 9, p. 130, 2021.

SAMOTA, Mahesh K. *et al.* Elicitor-induced biochemical and molecular manifestations to improve drought tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) through seed-priming. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 934, 2017.

SAXENA, Ina; SRIKANTH, Sandhya; CHEN, Zhong. Cross talk between H₂O₂ and interacting signal molecules under plant stress response. **Frontiers in plant science**, v. 7, p. 570, 2016.

SHABALA, Sergey; BOSE, Jayakumar; HEDRICH, Rainer. Salt bladders: do they matter?. **Trends in plant science**, v. 19, n. 11, p. 687-691, 2014.

SHARMA, K. K. *et al.* Seed treatments for sustainable agriculture-A review. **Journal of Applied and Natural Science**, v. 7, n. 1, p. 521-539, 2015.

SMIRNOFF, Nicholas; ARNAUD, Dominique. Hydrogen peroxide metabolism and functions in plants. **New phytologist**, v. 221, n. 3, p. 1197-1214, 2019.

SOUZA, Thiago Corrêa de *et al.* ABA application to maize hybrids contrasting for drought tolerance: changes in water parameters and in antioxidant enzyme activity. **Plant Growth Regulation**, v. 73, p. 205-217, 2014.

SPAEPEN, Stijn; VANDERLEYDEN, Jos. Auxin and plant-microbe interactions. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, v. 3, n. 4, p. a001438, 2011.

SPARRMAN, B.; EHRENBURG, L.; EHRENBURG, A. Scavenging of free radicals and radiation protection by nitric oxide in plant seeds. **ACTA CHEMICA SCANDINAVICA**, v. 13, n. 1, p. 199-200, 1959.

TABASSUM, Tahira *et al.* Terminal drought and seed priming improves drought tolerance in wheat. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 24, p. 845-856, 2018.

TAIZ, Lincoln *et al.* Fisiologia e desenvolvimento vegetal. **Artmed Editora**, 6. ed., 858 p., 2017.

TAN, Dun-Xian *et al.* Mitochondria and chloroplasts as the original sites of melatonin synthesis: a hypothesis related to melatonin's primary function and evolution in eukaryotes. **Journal of pineal research**, v. 54, n. 2, p. 127-138, 2013.

TURK, Hulya. Chitosan-induced enhanced expression and activation of alternative oxidase confer tolerance to salt stress in maize seedlings. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 141, p. 415-422, 2019.

USDA. Corn 2023: world production. 2024. **United States Department of Agriculture**, 2024. Disponível em: < <https://ipad.fas.usda.gov/cropexplorer/cropview/commodityView.aspx?cropid=0440000> >. Acesso em: 19 fev. 2024.

VAN DER VELDE, Marijn; WRIEDT, Gunter; BOURAOU, Fayçal. Estimating irrigation use and effects on maize yield during the 2003 heatwave in France. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 135, p. 90-97, 2010.

WANG, L. Y. *et al.* Exogenous melatonin improves growth and photosynthetic capacity of cucumber under salinity-induced stress. **Photosynthetica**, v. 54, p. 19-27, 2016a.

WANG, Lei *et al.* Melatonin as a key regulator in seed germination under abiotic stress. **Journal of Pineal Research**, v. 76, n. 1, p. e12937, 2024.

WANG, Qiannan *et al.* Melatonin regulates root meristem by repressing auxin synthesis and polar auxin transport in Arabidopsis. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 1882, 2016b.

WANG, Yanping; REITER, Russel J.; CHAN, Zhulong. Phytomelatonin: a universal abiotic stress regulator. **Journal of Experimental Botany**, v. 69, n. 5, p. 963-974, 2018.

WAQAS, Muhammad *et al.* Advances in the concept and methods of seed priming. **Priming and pretreatment of seeds and seedlings: Implication in plant stress tolerance and enhancing productivity in crop plants**, p. 11-41, 2019.

WU, Miin-Feng *et al.* Auxin-regulated chromatin switch directs acquisition of flower primordium founder fate. **elife**, v. 4, p. e09269, 2015.

YE, Jun *et al.* Melatonin increased maize (*Zea mays* L.) seedling drought tolerance by alleviating drought-induced photosynthetic inhibition and oxidative damage. **Acta physiologiae plantarum**, v. 38, n. 2, p. 48, 2016.

YU, Feng *et al.* Comparative proteomic analysis revealing the complex network associated with waterlogging stress in maize (*Zea mays* L.) seedling root cells. **Proteomics**, v. 15, n. 1, p. 135-147, 2015.

YUE, Jipei; HU, Xiangyang; HUANG, Jinling. Origin of plant auxin biosynthesis. **Trends in plant science**, v. 19, n. 12, p. 764-770, 2014.

ZHENG, S. Y. *et al.* Changes of physiological characteristics and yield of different salt-sensitive maize under salt stress. **Agric. Res. Arid. Areas**, v. 28, p. 109-112, 2010.

ZIYOMO, Cathrine; BERNARDO, Rex. Drought tolerance in maize: Indirect selection through secondary traits versus genomewide selection. **Crop Science**, v. 53, n. 4, p. 1269-1275, 2013.

CAPÍTULO 2

ANÁLISE FISIOLÓGICA E BIOQUÍMICA DE SEMENTES DE MILHO CONDICIONADAS E SUBMETIDAS A ESTRESSE HÍDRICO E SALINO

RESUMO

O estresse abiótico, como salinidade do solo e escassez de água, está entre as restrições que mais diminuem o rendimento dos cereais em todo o mundo. Estas restrições desencadeiam a produção de espécies reativas de oxigênio, que podem desestabilizar o equilíbrio redox das células. Neste contexto, o condicionamento fisiológico de sementes está se tornando cada vez mais popular na indução de tolerância ao estresse, devido à sua simplicidade, segurança e custo reduzido. Diante disso, o objetivo desse trabalho foi avaliar a eficiência do condicionamento fisiológico de sementes na presença de moléculas sinalizadoras para a indução de tolerância à deficiência hídrica e alta concentração de sais durante os processos de germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de milho, por meio de avaliações de características fisiológicas e atividade de enzimas. O delineamento foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, em esquema fatorial 6x3x3, sendo cinco soluções condicionantes e um tratamento sem condicionamento, duas condições de estresse e uma condição normal de germinação, utilizando três cultivares. As sementes dos três materiais foram condicionadas em soluções de ácido indolacético, melatonina, nitroprussiato de sódio, peróxido de hidrogênio e quitosana. Posteriormente, as sementes foram submetidas a diferentes condições de germinação: água destilada, solução de NaCl e PEG. Foram avaliados os teores de água, germinação, vigor, plântulas anormais, desenvolvimento de plântulas por análise de imagem, peroxidação lipídica, peróxido de hidrogênio e a atividade das enzimas do sistema antioxidante. As médias foram submetidas a análise de variância e, quando significativas, foram aplicados os testes de médias. Ao empregar peróxido de hidrogênio e ácido indol-3-acético como solução de condicionamento, percebe-se uma significativa melhoria na qualidade das sementes de milho sob estresse hídrico e salino. O condicionamento fisiológico das sementes, mesmo em cenários propícios ao crescimento das plantas, demonstra sua eficácia. Isso se traduz em um aumento da germinação e vigor das sementes, na diminuição de plântulas anormais, na redução da concentração de H_2O_2 e peroxidação lipídica, bem como no aumento da atividade enzimática. Portanto, essa abordagem se mostra vital para assegurar o estabelecimento da lavoura e impulsionar a produtividade agrícola frente aos desafios apresentados pelas mudanças climáticas e pela pressão ambiental.

Palavras-chave: ácido indolacético; melatonina; óxido nítrico; peróxido de hidrogênio; quitosana; *Zea mays* L.

ABSTRACT

Abiotic stress, such as soil salinity and water scarcity, is among the primary constraints that reduce cereal yields worldwide. These constraints trigger the production of reactive oxygen species, which can destabilize the redox balance of cells. In this context, seed priming is becoming increasingly popular for inducing stress tolerance due to its simplicity, safety, and low cost. Therefore, the objective of this study was to evaluate the efficiency of seed priming in the presence of signaling molecules for inducing tolerance to water deficiency and high salt concentration during seed germination and maize seedling development by evaluating physiological characteristics and enzyme activity. The design was completely randomized, with four replications, in a 6x3x3 factorial scheme, with five priming solutions and one non-priming treatment, two stress conditions, and one normal germination condition, using three cultivars. The seeds of the three materials were primed in solutions of indoleacetic acid, melatonin, sodium nitroprusside, hydrogen peroxide, and chitosan. Subsequently, the seeds were subjected to different germination conditions: distilled water, NaCl solution, and PEG. Water content, germination, vigor, abnormal seedlings, seedling development by image analysis, lipid peroxidation, hydrogen peroxide, and the activity of antioxidant system enzymes were evaluated. Means were subjected to analysis of variance, and when significant, mean tests were applied. When using hydrogen peroxide and indole-3-acetic acid as priming solutions, a significant improvement in the quality of maize seeds under water and salt stress was observed. Seed priming, even under favorable plant growth conditions, demonstrates its effectiveness. This translates into increased germination and seed vigor, reduced abnormal seedlings, decreased H₂O₂ concentration and lipid peroxidation, and increased enzyme activity. Therefore, this approach proves vital for ensuring crop establishment and boosting agricultural productivity in the face of challenges presented by climate change and environmental pressure.

Keywords: indoleacetic acid; melatonin; nitric oxide; hydrogen peroxide; chitosan; *Zea mays* L.

1 INTRODUÇÃO

As sementes enfrentam desafios consideráveis durante seu processo de germinação e estabelecimento. A capacidade de germinar sob condições desfavoráveis não apenas influencia a sobrevivência individual da planta, mas também sua capacidade de competir com outras espécies e se adaptar a ambientes variáveis. É essa plasticidade e resiliência que garantem a continuidade das comunidades vegetais em diversos ecossistemas (Khatami; Sedghi; Sharifi, 2015).

No caso específico do milho, os estresses abióticos exercem um impacto especialmente significativo em seu desenvolvimento. A escassez de água e salinidade do solo desviam a energia da planta dos processos de crescimento normais para mecanismos de defesa. Como consequência, ocorre uma redução notável no rendimento da cultura (Munns; Gilliam, 2015).

Os mecanismos de resposta das plantas à salinidade e à seca sugerem que ambos os estresses podem ser interpretados como uma privação de água. Essa informação destaca a importância da água para as plantas. A capacidade das plantas de enfrentar esses estresses está intrinsecamente ligada à sua habilidade de regular o equilíbrio hídrico e de adaptar seus processos fisiológicos às condições ambientais adversas (Aderaldo *et al.*, 2020).

Um dos principais efeitos dos estresses abióticos é a indução da produção de espécies reativas de oxigênio, que têm potencial para danificar os componentes celulares das plantas. Esse dano pode comprometer a integridade das membranas celulares, interferir na atividade de enzimas e até mesmo afetar o material genético das células, comprometendo assim o crescimento e o desenvolvimento saudável das plântulas (Yu *et al.*, 2015).

Diversas estratégias têm sido desenvolvidas para conferir tolerância a diferentes estresses, priorizando a simplicidade, economia e adoção pelos agricultores. Neste contexto, destaca-se o condicionamento fisiológico de sementes, um método eficaz que induz um estado fisiológico específico por meio de tratamentos pré-germinativos. Essa abordagem facilita a ativação rápida das respostas de defesa das plantas (Jisha; Vijayakumari; Puthur, 2013).

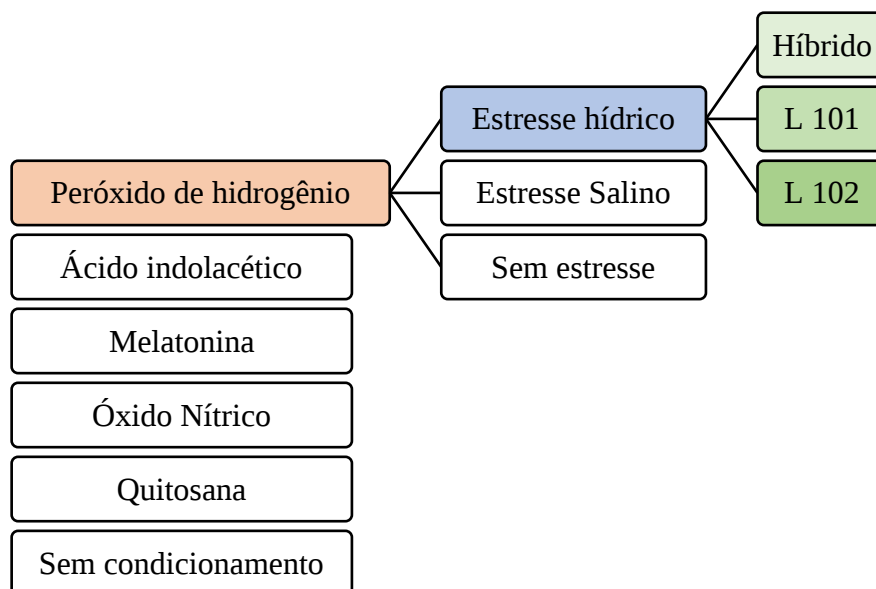
Diante disso, o objetivo desse trabalho foi avaliar a eficiência do condicionamento fisiológico de sementes na presença de moléculas sinalizadoras para a indução de tolerância à deficiência hídrica e alta concentração de sais durante os processos de germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de milho, por meio de avaliações de características fisiológicas e atividade de enzimas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram conduzidos no Laboratório Central de Pesquisa em Sementes (LCPS) do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras – MG em 2021. Foram utilizadas sementes de milho do híbrido GNHSEX2 e seus genitores, L101 e L102 pertencentes ao programa de melhoramento genético de milho da UFLA. As sementes foram adquiridas na safra 2017/2018 e armazenadas em câmara fria sob condições ótimas de umidade e temperatura até a montagem do experimento.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, em esquema fatorial $6 \times 3 \times 3$, sendo cinco soluções condicionantes e um tratamento sem condicionamento, duas condições de estresse e uma condição normal de germinação, três cultivares (Figura 1). As médias foram submetidas a análise de variância e, quando significativas, foram aplicados os testes de médias.

Figura 1 – Esquema fatorial utilizado no ensaio.



Fonte: Da autora (2024).

2.1 Análise fisiológica

A qualidade inicial dos lotes de sementes foi determinada por meio da avaliação do teor de água, pelo método da estufa a 105 °C e por testes de germinação e vigor, conforme estabelecido nas Regras para Análise de Sementes - RAS (Brasil, 2009).

Foi levantada a quantidade de sementes necessárias para a montagem dos testes. O peso de mil grãos de cada material foi aferido para distribuir de forma igualitária, aproximadamente

70 g de semente nos erlenmeyers contendo 400 mL de solução. Esses valores foram padronizados através de testes que verificaram o movimento das sementes, sem haver extravasamento da solução no erlenmeyer de 500 mL.

As sementes de milho foram lavadas em água corrente para eliminar o tratamento químico e não influenciar no condicionamento fisiológico. Depois dos preparos iniciais, as sementes foram submetidas ao processo de condicionamento, em soluções aeradas de ácido indolacético (0,1 mM), peróxido de hidrogênio (0,1 mM), quitosana (0,75 mM), melatonina (1mM) e solução doadora de óxido nítrico - nitroprussiato de sódio (0,1 mM), em BOD adaptada a temperatura de 24 °C, por período de 24 horas (Pallaoro *et al.*, 2016).

Após o condicionamento, as sementes foram lavadas em água corrente e o excesso de água foi removido em papel toalha. As sementes foram secadas por 48 horas, em estufa com circulação forçada de ar sem aquecimento. Após esse período, a estufa foi regulada para 25 °C e as sementes sem condicionamento também foram colocadas na estufa, a fim de uniformizar o teor de água entre as sementes de todos os tratamentos.

O teor de água das sementes foi avaliado novamente após o condicionamento fisiológico e após a secagem das sementes, pelo método da estufa a 105 °C (Brasil, 2009). Os resultados foram apresentados em porcentagem com base na massa úmida.

As sementes condicionadas e não condicionadas (controle), foram submetidas a diferentes condições de germinação: condição sem estresse (água destilada), condição de estresse salino (solução de NaCl, concentração de -0,8 MPa, equivalente a 10,472 g L⁻¹) (Araújo *et al.*, 2013) e condição de restrição hídrica (induzida por solução de polietilenoglicol 6000 (PEG) (-0,6 Mpa, equivalente a 223,66 g L⁻¹) (Abreu *et al.*, 2014).

No teste de germinação foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes. A semeadura foi realizada sobre duas folhas de papel germitest e sobrepostas com mais uma folha, as quais foram umedecidas com volume de solução contendo as referidas soluções, equivalente a 2,5 vezes o peso seco do papel. Permaneceram em germinador tipo Mangelsdorf regulado a temperatura de 25 °C, com luz contínua e a primeira contagem foi realizada aos 4 dias e a contagem final aos 7 dias após a semeadura juntamente com número de plântulas anormais (Brasil, 2009).

Para a análise de imagens de plântulas, foram utilizadas 25 sementes por tratamento. A semeadura foi realizada nas mesmas condições do teste de germinação. As imagens das plântulas foram obtidas aos 4 dias após a montagem do teste, equivalente ao período de primeira contagem de germinação para a cultura do milho (Brasil, 2009).

Para a captura das imagens foi utilizado o sistema GroundEye[®], versão S800, composto por um módulo de captação que possui uma bandeja de acrílico, uma câmera de alta resolução e um software integrado para avaliação. As plântulas foram retiradas do papel germitest e inseridas na bandeja do módulo de captação para a obtenção das imagens. Na etapa de configuração da análise foi utilizada a calibração da cor de fundo, índice de luminosidade, dimensão “a” e dimensão “b”. Depois da calibração da cor do fundo foi feita a análise das imagens e extraído valores de comprimento da raiz primária, comprimento de parte aérea, largura média da raiz primária, comprimento total da plântula e a razão do comprimento da raiz pelo comprimento da parte aérea.

2.2 Análise bioquímica

As plântulas da primeira contagem de germinação, descrito na metodologia acima, foram separadas e submetidas às análises bioquímicas. Para conservar os tecidos e paralisar as atividades metabólicas até o momento da extração enzimática, não prejudicando assim o resultado, as plântulas foram armazenadas em Deep Freezer sob -80 °C.

Para a extração das enzimas antioxidantes, 200 mg de massa fresca das plântulas foram macerados em nitrogênio líquido com uma pitada de polivinilpolipirrolidona (PVPP) e depositados em eppendorf. Foram homogeneizados em 1,5 mL do tampão de extração contendo 375 µL de fosfato de potássio (100 mM), 15 µL de EDTA (0,1 mM), 75 µL de ácido ascórbico (10 mM) e 1035 µL de água destilada. Os homogeneizados foram centrifugados a 10.000 rpm por 10 minutos, a 4 °C, coletando-se os sobrenadantes para as análises enzimáticas conforme apresentado por Biemelt, Keetman e Albrecht, (1998).

A atividade da enzima catalase (CAT) foi mensurada após pipetar 9 µL da amostra de trabalho na microplaca de microtitulação e adicionar como tampão de incubação, 90 µL de solução de fosfato de potássio (200 mM pH 7,0) e 72 µL de água. Foi adicionado 9 µL de solução de peróxido de hidrogênio (250 mM) pouco antes da leitura, com solução feita no dia, uma vez que, a reação foi iniciada pela adição do H₂O₂ ($\epsilon = 36 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). A atividade da CAT foi determinada pelo decréscimo dos valores em absorbância a 240 nm, a cada 15 segundos, por 3 minutos, monitorado pelo consumo de peróxido de hidrogênio (Havir; Mchale, 1987). Uma unidade de CAT é definida pela quantidade de enzima necessária para decompor 1 µmol min⁻¹ de H₂O₂.

A atividade da ascorbato peroxidase (APX) foi analisada pela adição de 9 µL da amostra de trabalho, 90 µL de fosfato de potássio (200 mM pH 7,0), 9 µL de ácido ascórbico (10 mM) e 63 µL de água. Sobre essa mistura foi adicionado 9 µL de peróxido de hidrogênio (2 mM) na

hora da leitura. 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 cada 15 segundos durante 3 minutos (Nakano; Asada, 1981). Uma unidade de APX é definida pela quantidade de enzima que oxida $1 \mu\text{mol min}^{-1}$ de ácido ascórbico.

A atuação da superóxido dismutase (SOD) foi determinada pela capacidade de a enzima inibir a redução fotoquímica do tetrazólio nitroazul (NBT), proposta por Giannopolitis e Ries (1977). Para tal, 10 μL da amostra de trabalho foi pipetado na microplaca de microtitulação e adicionado 190 μL do tampão de incubação, contendo 100 μL de fosfato de potássio (100 mM pH 7,0), 40 μL de metionina (70 mM), 3 μL de EDTA (10 mM), 30 μL de água, 15 μL de NBT (1 mM) e 2 μL de riboflavina (0,2 mM). Sendo os dois últimos reagentes adicionados no escuro e em seguida, a placa foi colocada em câmara de iluminação com lâmpada fluorescente de 20W por 7 minutos e as leituras realizadas a 560 nm no Elisa. Uma unidade de SOD é definida pela quantidade de enzima que inibe 50% da taxa de redução do NBT.

Para a extração de H_2O_2 e peroxidação lipídica, 200 mg de massa fresca das plântulas foram macerados em nitrogênio líquido com uma pitada de polivinilpolipirrolidona (PVPP). Foram transferidos para eppendorf e homogeneizados em 1,5 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 0,1%. Os homogeneizados foram centrifugados a 10000 rpm por 15 minutos, a 4 °C e, posteriormente, o sobrenadante coletado para realização das análises (Baryl et al., 2000).

A avaliação da peroxidação lipídica foi realizada mediante a quantificação do malondialdeído (MDA), que é produzido pela reação de ácido tiobarbitúrico (TBA) conforme método TBARS proposto por Buege (1978). Do eppendorf de extração, foi retirada uma alíquota de 125 μL da amostra de trabalho e pipetada em triplicata em outros eppendorfs. Foram adicionados 250 μL do meio de reação de ácido tiobarbitúrico 0,5% (TBA) e ácido tricloroacético 10% (TCA). A mistura foi aquecida em banho-maria a 95 °C durante 30 minutos e depois rapidamente resfriada em um banho de gelo para paralisar a reação. Posteriormente, foram pipetados 180 μL do composto em microplaca de microtitulação e feita a leitura de absorbância a 535 nm e a 600 nm. A concentração do MDA foi calculada utilizando o coeficiente de extinção de $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Para a quantificação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) uma alíquota de 45 μL do sobrenadante da amostra de trabalho foram adicionados, com 45 μL do tampão fosfato de potássio (10 mM pH 7,0) e 90 μL de iodeto de potássio (1 M). Depois, realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 390 nm. A concentração de peróxido de hidrogênio é expressa em $\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2 \text{ g}^{-1}$ de massa fresca (Velikova; Yordanov; Edreva, 2000).

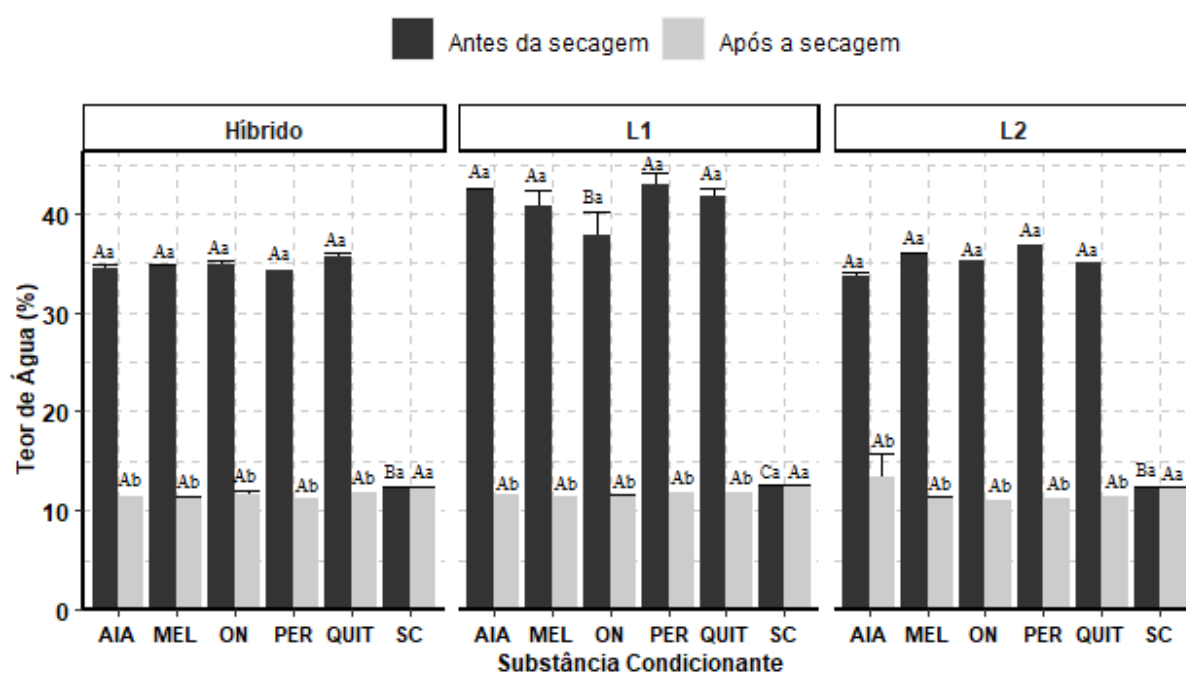
Para as análises enzimáticas, foi utilizado o mesmo delineamento e esquema, porém com três repetições. Ressalta-se que cada repetição foi feita em duplicata durante as análises.

A análise estatística dos resultados foi realizada pelo software R[®], as médias foram submetidas à análise de variância e, quando significativas, aplicou-se teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise inicial de dados, houve interação estatística entre as soluções condicionantes, os materiais testados e a presença ou ausência de secagem das sementes (Figura 2). Após o condicionamento fisiológico, observou-se um aumento médio de três vezes no teor de água em comparação com o controle (SC). As sementes embeberam, aproximadamente, a mesma quantidade de solução por material. No entanto, a linhagem 1 (L1) embebeu mais água que o híbrido e a linhagem 2 (L2). Além disso, para este material, as sementes condicionadas com óxido nítrico (ON) se diferiram das demais.

Figura 2 – Teor de água de sementes de três materiais de milho (Híbrido, L1 e L2), submetidos ao condicionamento fisiológico nas soluções de ácido indolacético (AIA), melatonina (MEL), óxido nítrico (ON), peróxido de hidrogênio (PER), quitosana (QUIT) e sem condicionante (SC), antes e após a secagem. Lavras, 2024.



Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes e minúscula entre condições de secagem, (dentro de um mesmo material), não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

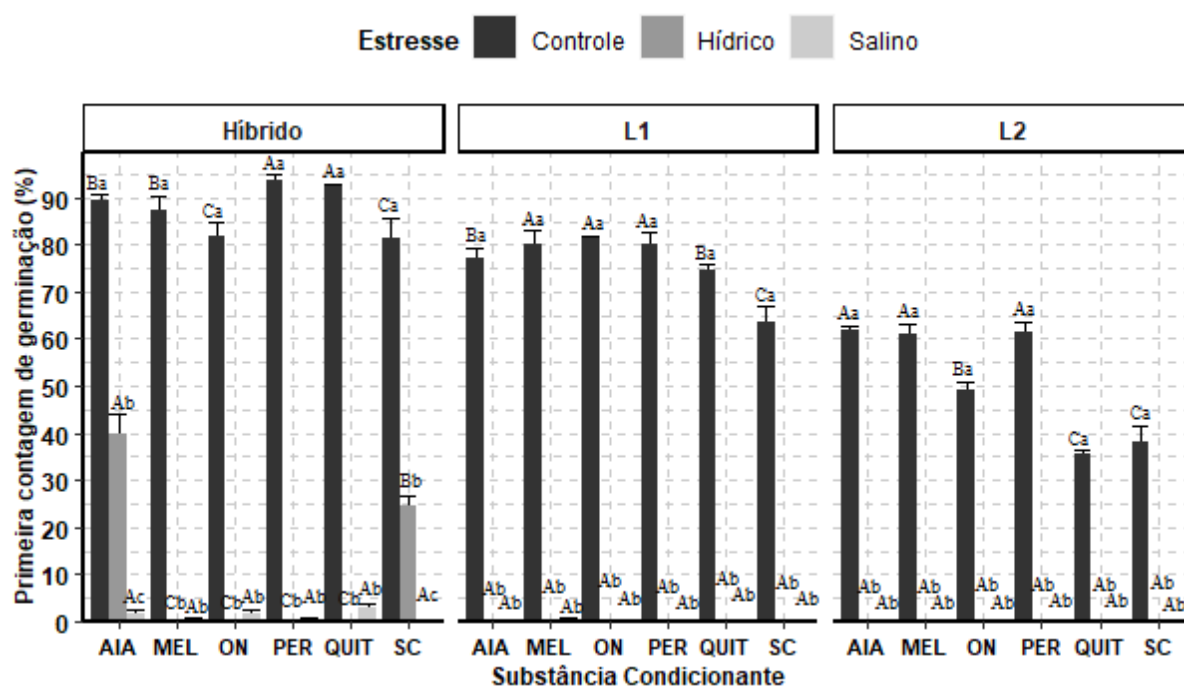
Fonte: Da autora (2024).

O condicionamento fisiológico permite que até mesmo as sementes menos vigorosas atinjam atividade metabólica adequada para germinação. Durante esse processo, a embebição das sementes permite que elas absorvam água e alcancem um equilíbrio com o potencial hídrico estabelecido pelo agente condicionante, nivelando diferenças de vigor. Uma vez atingido este

equilíbrio, as sementes podem ser secas para alcançar umidade ideal para armazenamento. Essa estabilização do teor de umidade mantém a ativação metabólica adquirida durante a embebição, sem perder as vantagens do processo de condicionamento (Bonome *et al.*, 2017; Wojtyla *et al.*, 2016).

Os dados de vigor foram analisados considerando a primeira contagem de germinação aos quatro dias, conforme mostrado na Figura 3, evidenciando as disparidades entre os fatores em análise. Em condições desprovidas de estresse, o híbrido exibiu um vigor superior em relação às linhagens, sendo que a L1 apresentou o segundo melhor desempenho.

Figura 3 – Porcentagem de germinação na primeira contagem de germinação de sementes de três materiais de milho (Híbrido, L1 e L2), submetidos ao condicionamento fisiológico nas soluções de ácido indolacético (AIA), melatonina (MEL), óxido nítrico (ON), peróxido de hidrogênio (PER), quitosana (QUIT) e sem condicionante (SC), e analisados em condição normal (controle), restrição hídrica e salina. Lavras, 2024.



Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes e minúscula entre condições estressantes, (dentro de um mesmo material), não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2024).

As substâncias mantiveram ou melhoraram as condições de vigor dos lotes de sementes em comparação com tratamento sem condicionante (SC), principalmente o PER, com bons resultados em todos os materiais. Todavia, os estresses afetaram negativamente o vigor de todos

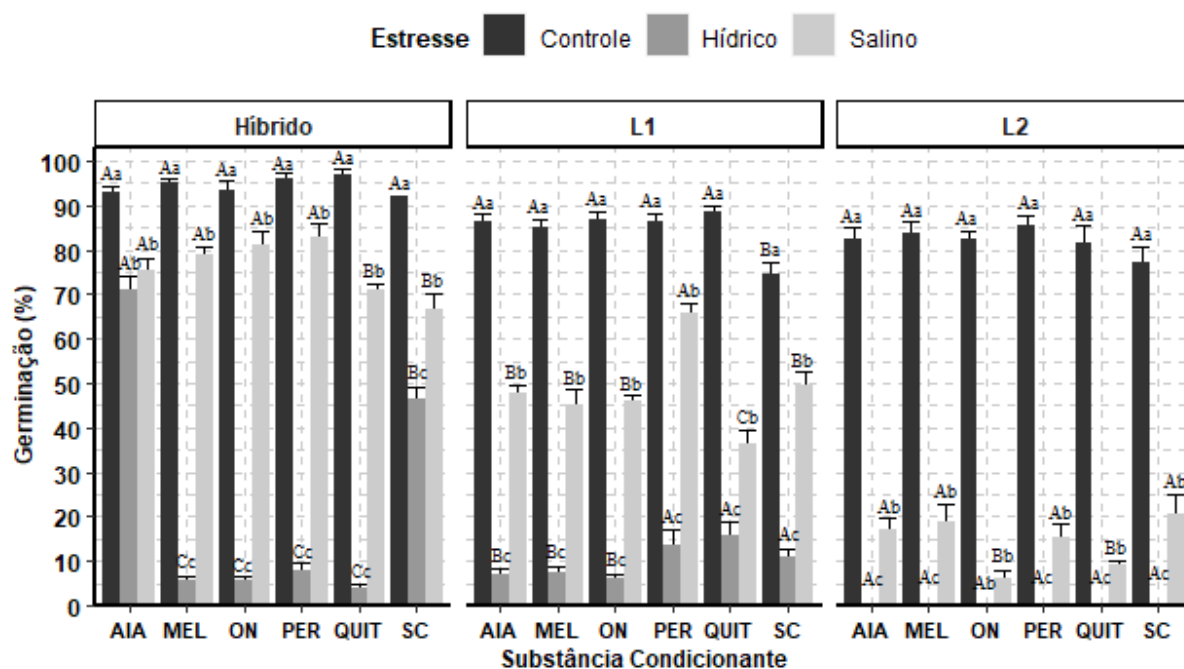
os materiais. O ácido indolacético (AIA) foi o melhor condicionante para a condição de déficit hídrico no híbrido.

Os resultados obtidos estão alinhados com os estudos conduzidos por Abbasi *et al.* (2015) e Liu *et al.* (2016), os quais descreveram que o estresse provocou uma diminuição significativa no vigor das plantas de milho e algodão. Essa concordância é também destacada por Faoq *et al.* (2015), que sugeriram que a redução do vigor da planta em resposta ao estresse salino pode ser atribuída à diminuição do potencial osmótico ou à presença de íons tóxicos no ambiente.

O condicionamento com fitohormônios é reconhecido como uma estratégia eficaz para atenuar os estresses. O ácido indol-3-acético (AIA), por exemplo, estimula a divisão celular, as atividades fotossintéticas e a translocação de carboidratos, resultando na promoção da formação de raízes laterais, no estímulo à floração e no estabelecimento robusto do estande (Rhaman *et al.*, 2020).

A mesma tendência dos resultados de vigor em relação ao controle foi observada para germinação (Figura 4). No que diz respeito ao híbrido, o AIA confirmou ser a melhor substância a ser utilizada em condições de restrição hídrica. Além disso, as substâncias ajudaram na amenização dos danos causados pela condição de estresse salino, com exceção da QUIT. Para L1, as substâncias empregaram efeito positivo na germinação em comparação com o SC na condição de controle e o PER mitigou parcialmente os efeitos do estresse salino nas sementes.

Figura 4 – Porcentagem de germinação de sementes de três materiais de milho (Híbrido, L1 e L2), submetidos ao condicionamento fisiológico nas soluções de ácido indolacético (AIA), melatonina (MEL), óxido nítrico (ON), peróxido de hidrogênio (PER), quitosana (QUIT) e sem condicionante (SC), e analisados em condição normal (controle), restrição hídrica e salina. Lavras, 2024.



Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes e minúscula entre condições estressantes, (dentro de um mesmo material), não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2024).

Os estudos realizados por Iqbal e Ashraf (2013) demonstraram que o priming de sementes com AIA e precursores mostrou ser eficaz na redução das perdas de rendimento de grãos e na taxa de assimilação em resposta ao estresse salino em variedades de trigo de primavera.

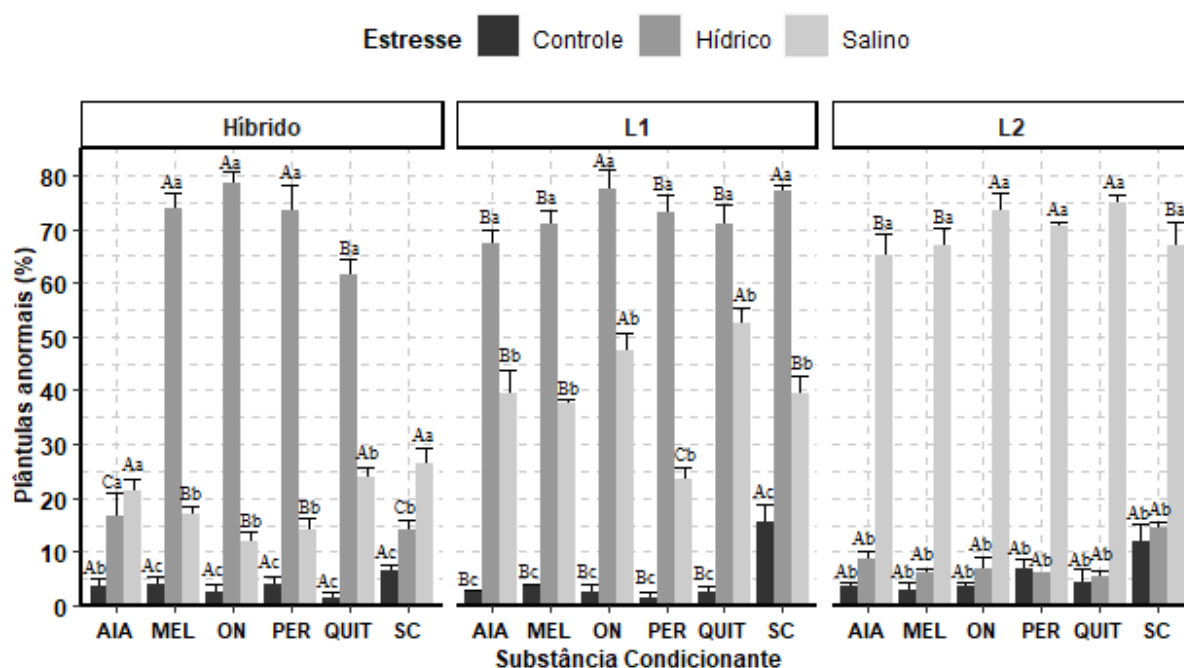
O AIA sintetizado por microrganismos também têm demonstrado efeitos na fisiologia de sementes, onde a inoculação de sementes de milho com a cepa *Mixta theicola* SAR isolada das raízes de *Solenostemma argel* (Hayne), obteve um impacto significativo na germinação e vigor das sementes, no alongamento das raízes, bem como nas biomassas frescas e secas (Hagaggi; Mohamed, 2020).

Além do destaque do AIA, podemos observar os benefícios do condicionamento com PER. O papel do peróxido de hidrogênio como sinalizador é crucial em processos vegetais, incluindo adaptação ao estresse, defesa antioxidante, comportamento estomático, produção de fitoalexinas, regulação do ciclo celular e fotossíntese. Estudos recentes destacam que o priming

com H_2O_2 pode aumentar a tolerância ao estresse abiótico durante a germinação de sementes, regulando a desintoxicação de espécies reativas de oxigênio (EROs) e influenciando múltiplas vias de resposta ao estresse e expressão gênica (Hossain *et al.*, 2015).

Paralelamente, os resultados de plântulas anormais seguem o inverso da última figura. Analisando os materiais, o híbrido apresentou a menor taxa de plântulas anormais para o estresse salino e a L2 exibiu esta tendência para o estresse hídrico, neste caso, devido a morte das sementes (Figura 5).

Figura 5 – Porcentagem de plântulas anormais de três materiais de milho (Híbrido, L1 e L2), submetidos ao condicionamento fisiológico nas soluções de ácido indolacético (AIA), melatonina (MEL), óxido nítrico (ON), peróxido de hidrogênio (PER), quitosana (QUIT) e sem condicionante (SC), e analisados em condição normal (controle), restrição hídrica e salina. Lavras, 2024.



Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes e minúscula entre condições estressantes, (dentro de um mesmo material), não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2024).

As moléculas de MEL, ON e PER propiciaram a redução de estruturas essenciais danificadas e deformadas em condições de estresse salino no híbrido. A L1 foi o material que mais obteve resultados satisfatórios com a aplicação das substâncias condicionantes. Houve benefício unânime para o controle e destaque do PER perante o estresse salino.

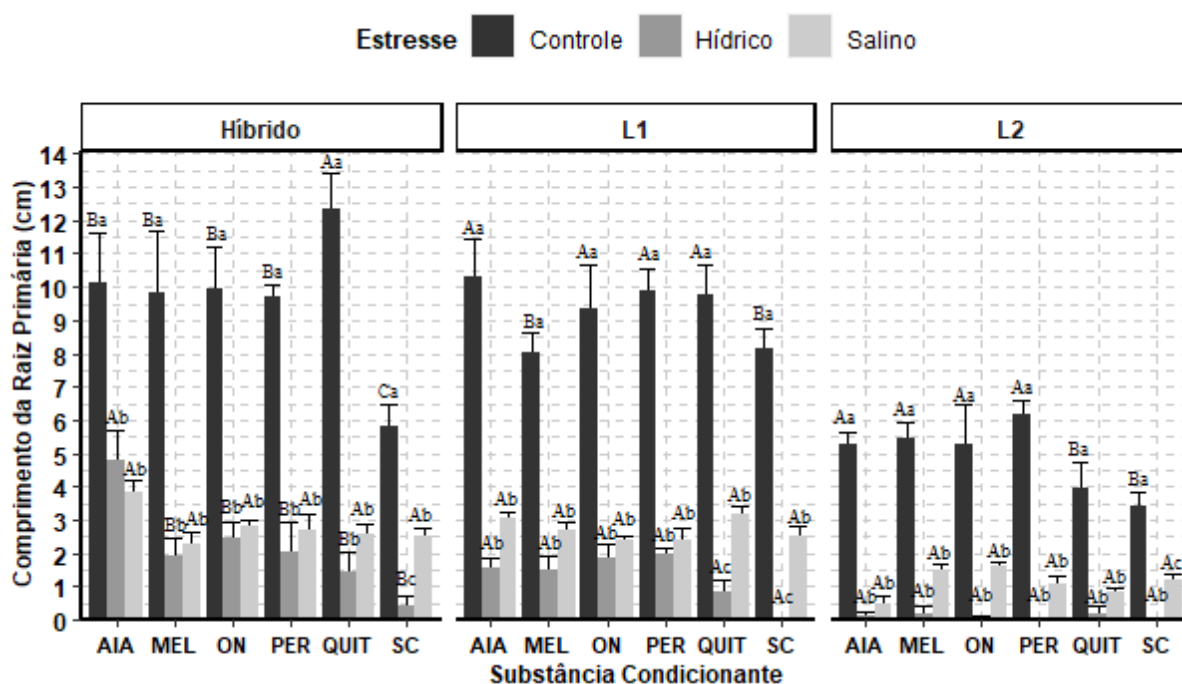
As espécies de plantas, o tipo e concentração do agente condicionante e a duração da imersão, são fatores que afetam os efeitos do priming. Além disso, a qualidade inicial da

semente é um fator determinante para os resultados do condicionamento fisiológico (Eshkab; Harris, 2020).

Su *et al.* (2021) observaram que não houve benefícios significativos com o priming nas sementes de milho, especialmente as de baixo vigor. A investigação revelou que o mecanismo subjacente às respostas ao priming varia conforme o nível de vigor, sugerindo que a qualidade fisiológica inicial e as condições de tratamento podem afetar a eficácia do condicionamento em sementes de milho.

Correlacionando os dados de germinação com os outros atributos avaliados, denota-se a convergência de resultados. O híbrido e L1 apresentaram maiores estruturas morfológicas em comparação com a L2. A restrição hídrica e o excesso de sal afetaram o desenvolvimento da raiz primária.

Figura 6 – Comprimento da raiz primária de três materiais de milho (Híbrido, L1 e L2), submetidos ao condicionamento fisiológico nas soluções de ácido indolacético (AIA), melatonina (MEL), óxido nítrico (ON), peróxido de hidrogênio (PER), quitosana (QUIT) e sem condicionante (SC), e analisados em condição normal (controle), restrição hídrica e salina. Lavras, 2024.



Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes e minúscula entre condições estressantes, (dentro de um mesmo material), não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2024).

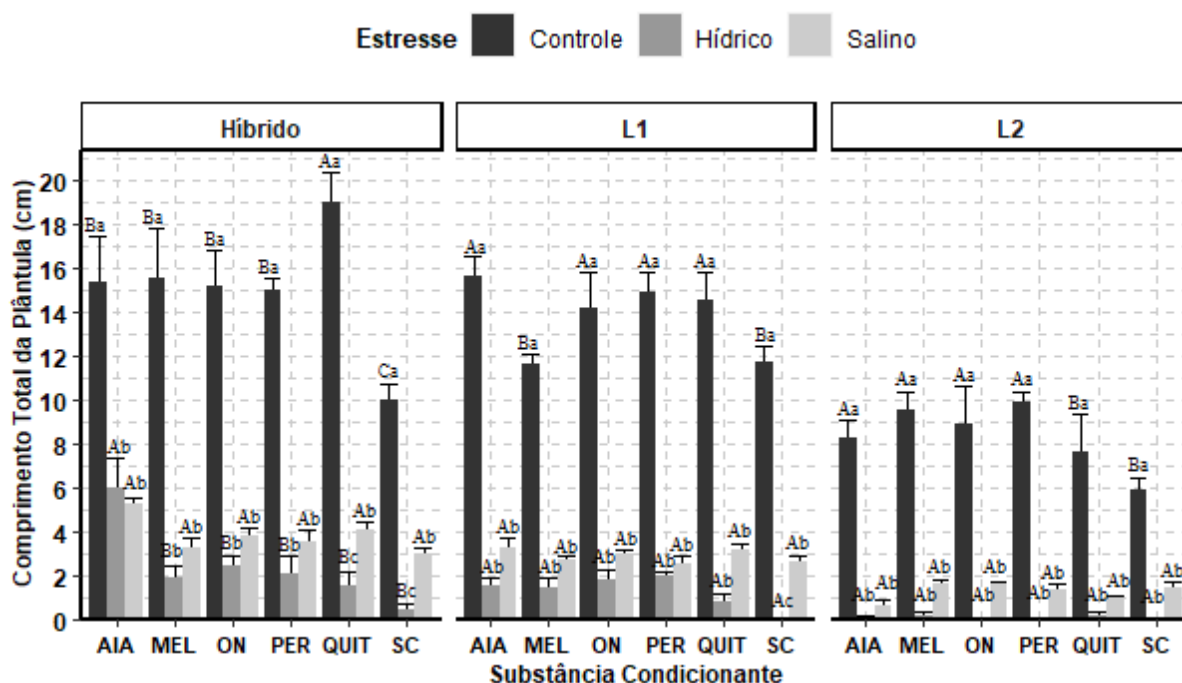
A salinidade tem o potencial de impactar a germinação das sementes e as partes morfológicas das plantas devido a dois principais mecanismos. Primeiramente, ela pode reduzir o potencial osmótico em torno da semente, dificultando a absorção de água. Além disso, a presença de íons como Na^+ e Cl^- pode exercer efeitos tóxicos diretos sobre as sementes durante o processo de germinação (Jisha; Vijayakumari; Puthur, 2013).

Para o híbrido, as moléculas proporcionaram diferenças positivas na ausência de estresse, principalmente a QUIT. Com a exposição das sementes ao estresse hídrico, pôde-se verificar bons resultados com o uso de AIA. As moléculas também melhoraram os aspectos morfológicos das linhagens para o controle, com ressalva da MEL na L1 e QUIT na L2.

De acordo com Khatami, Sedghi e Sharifi, (2015), a deficiência hídrica afetou as características fisiológicas do milho. Porém, o priming hormonal em condições de seca moderada e o osmopriming em situações de seca severa destacaram-se como os tratamentos mais eficazes para melhorar os atributos das sementes, incluindo volume da radícula.

Os resultados observados corroboram com a disposição apresentada na figura 7, fortalecendo o equilíbrio entre o desenvolvimento da raiz e da parte aérea da planta. O estudo de Vibhuti, Bargali e Bargali (2015) destacou que o estresse hídrico teve um impacto significativo na altura das plantas de várias variedades de arroz. Tanto o crescimento da parte aérea quanto o desenvolvimento das raízes foram afetados, com comprimentos máximos observados em condições controladas e mínimos em níveis mais elevados de estresse hídrico.

Figura 7 – Comprimento total da plântula de três materiais de milho (Híbrido, L1 e L2), submetidos ao condicionamento fisiológico nas soluções de ácido indolacético (AIA), melatonina (MEL), óxido nítrico (ON), peróxido de hidrogênio (PER), quitosana (QUIT) e sem condicionante (SC), e analisados em condição normal (controle), restrição hídrica e salina. Lavras, 2024.



Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes e minúscula entre condições estressantes, (dentro de um mesmo material), não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2024).

Os componentes, comprimento do coleóptilo e largura da raiz primária, não apresentaram interação tripla dos fatores. Logo, foi analisada a interação significativa entre material e estresse, e condicionamento e estresse (Tabela 1). Os estresses exerceram impacto sobre esses caracteres, com o comprimento do coleóptilo sendo beneficiado pelo incremento de substâncias durante o condicionamento sob condições normais de germinação, destacando-se a resposta superior do híbrido.

Na condição de estresse hídrico, o ácido indolacético (AIA) destacou-se na largura das raízes. Entretanto, no estresse salino, os valores de ON e PER não apresentaram diferenças significativas em relação ao controle. Observou-se também que o híbrido demonstrou um desempenho superior nesse caráter, evidenciando sua adaptabilidade em condições adversas.

Tabela 1 – Comprimento do coleóptilo e largura da raiz primária de três materiais de milho (Híbrido, L1 e L2), submetidos ao condicionamento fisiológico nas soluções de ácido indolacético (AIA), melatonina (MEL), óxido nítrico (ON), peróxido de hidrogênio (PER), quitosana (QUIT) e sem condicionante (SC), e analisados em condição normal (controle), restrição hídrica e salina. Lavras, 2024.

Substância	Coleóptilo			Largura da Raiz		
	Controle	Hídrico	Salino	Controle	Hídrico	Salino
AIA	4,5 Aa	0,4 Ab	0,63 Ab	0,1 Aa	0,1 Ba	0,1 Ba
MEL	4,5 Aa	0,0 Ab	0,34 Ab	0,1 Aa	0,0 Cb	0,1 Ba
ON	4,6 Aa	0,0 Ac	0,55 Ab	0,1 Aa	0,0 Bb	0,1 Aa
PER	4,7 Aa	0,0 Ab	0,50 Ab	0,1 Aa	0,0 Bb	0,1 Aa
QUIT	5,0 Aa	0,0 Ab	0,53 Ab	0,2 Aa	0,0 Cb	0,1 Ba
SC	3,4 Ba	0,0 Ab	0,27 Ab	0,1 Aa	0,0 Cb	0,1 Ba
Híbrido	5,4 Aa	0,2 Ac	1,03 Ab	0,2 Aa	0,0 Ba	0,2 Aa
L1	4,5 Ba	0,0 Ab	0,25 Bb	0,2 Aa	0,0 Cb	0,1 Bb
L2	3,4 Ca	0,0 Ab	0,12 Bb	0,1 Ab	0,0 Cb	0,0 Bc
CV (%)	41,7			56,8		

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes ou material e minúscula entre condições estressantes, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2024).

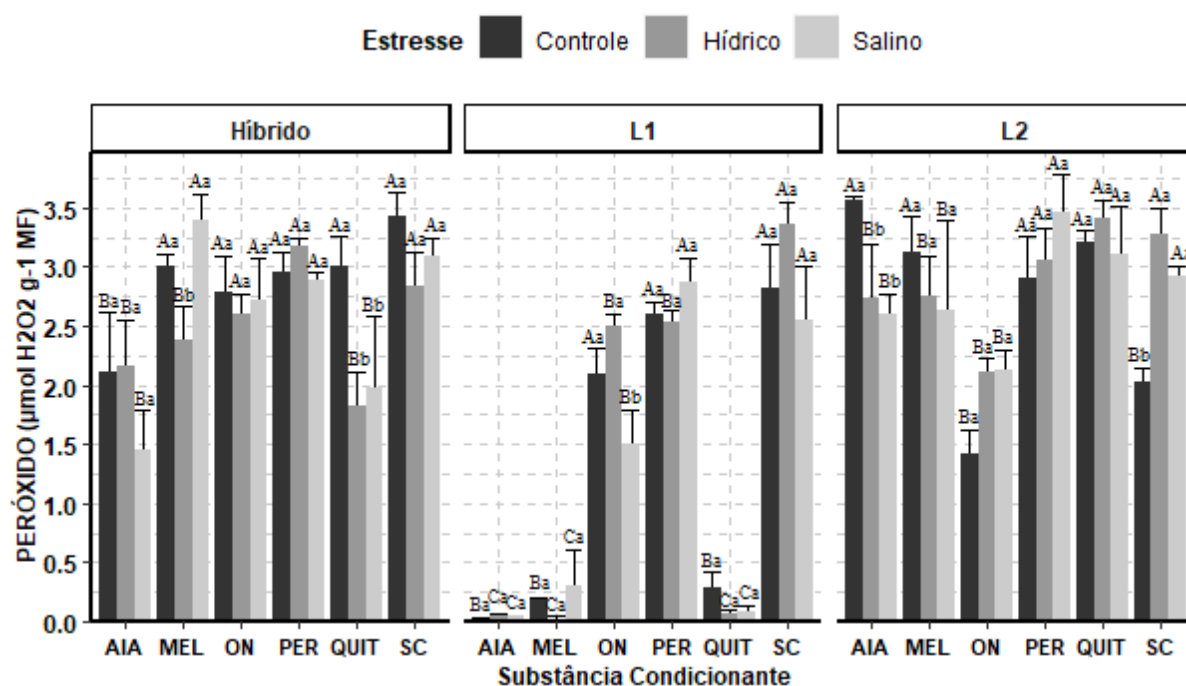
Adhikari, Olorunwa e Barickman (2022) também encontraram implicações eficazes nos valores de massa fresca e seca dos cotilédones, hipocótilos e radículas de alface, com o uso do hidrocondicionamento. A justificativa da resposta positiva do método mesmo sob estresse salino é explicada pelo efeito estimulador do priming na mediação da divisão celular no estágio inicial de germinação. Esse processo contribui para a redução da produção de espécies reativas de oxigênio, amenizando os efeitos do estresse oxidativo sobre as plantas.

O acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs) nas plantas, como o radical hidroxila ($\bullet\text{OH}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e ânion superóxido ($\text{O}_2 \bullet^-$), representa um dos principais indicadores fisiológicos do estresse abiótico. A elevada concentração dessas espécies reativas tem efeitos prejudiciais sobre a estrutura e função celular. Além disso, a presença aumentada de malondialdeído (MDA) nos tecidos vegetais, resultante da peroxidação lipídica, em ambientes secos e salinos, indica danos oxidativos que comprometem a integridade das membranas celulares (Demidchik *et al.*, 2014; Shah *et al.*, 2021).

Ao investigar a quantificação do peróxido de hidrogênio nas plântulas advindas do teste de germinação, observou-se que a L1 foi o material que mais respondeu ao condicionamento fisiológico (Figura 8). É importante ressaltar que as sementes da L2 já apresentavam sinais de deterioração antes dos ensaios, o que influenciou nos resultados obtidos neste estudo. Essa

constatação destaca a importância da qualidade inicial das sementes no sucesso do condicionamento fisiológico e no desenvolvimento das plântulas.

Figura 8 – Quantificação de peróxido de hidrogênio em plântulas de três materiais de milho (Híbrido, L1 e L2), submetidos ao condicionamento fisiológico nas soluções de ácido indolacético (AIA), melatonina (MEL), óxido nítrico (ON), peróxido de hidrogênio (PER), quitosana (QUIT) e sem condicionante (SC), e analisados em condição normal (controle), restrição hídrica e salina. Lavras, 2024.



Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes e minúscula entre condições estressantes, (dentro de um mesmo material), não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2024).

À medida que as sementes envelhecem, sua vitalidade diminui gradualmente, tornando-as mais vulneráveis ao estresse durante o processo de germinação, que engloba a fase entre a embebição e a emergência da radícula. Em alguns casos, a oxidação dos tecidos está elevada e a atividade enzimática está reduzida devido à deterioração das sementes, resultando na ineficácia dos mecanismos de defesa (Bewley *et al.*, 2013).

O AIA e MEL propiciaram redução do nível de peróxido nas plântulas dos três materiais, em pelo menos uma condição de germinação. O uso de ON se destacou na L2, assim como a QUIT cumpriu seu papel, quando agregada as sementes do híbrido e L1.

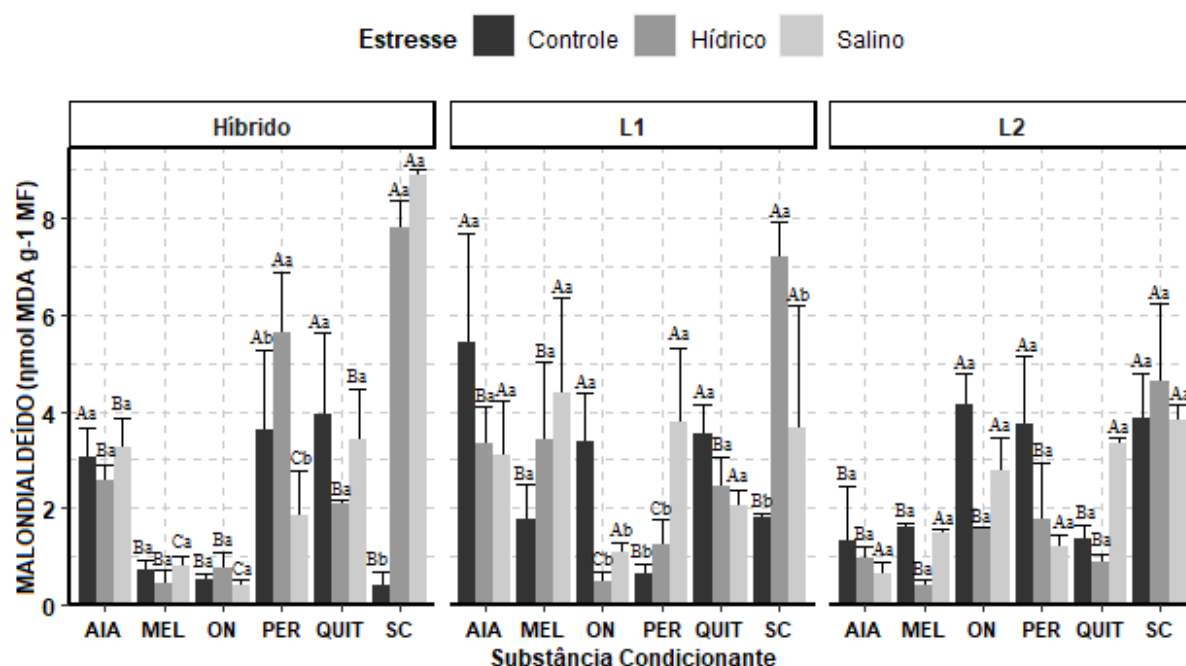
Em condições experimentais, Chen *et al.* (2018) demonstraram uma significativa inibição da indução do conteúdo endógeno de H₂O₂ desencadeado pela melatonina. Esta

observação foi realizada através de análise de fluorescência e espectrofotometria, destacando o papel desses compostos na regulação dos níveis de H_2O_2 em resposta à melatonina.

Após a análise do componente prejudicial peróxido de hidrogênio, a quantificação de malondialdeído revelou que os estresses prejudicaram a integridade da membrana na ausência de condicionamento, demonstrado pelo aumento de MDA, mas as substâncias aplicadas conseguiram atenuar esses efeitos adversos.

No híbrido, todas as moléculas ajudaram a evitar o estresse oxidativo, principalmente MEL e ON. Na L1, o ON e PER cumpriram com seus papéis perante o estresse hídrico. Por fim, a L2 também obteve vantagens com a utilização das moléculas aplicadas no estresse hídrico (Figura 9).

Figura 9 – Quantificação de malondialdeído em plântulas de três materiais de milho (Híbrido, L1 e L2), submetidos ao condicionamento fisiológico nas soluções de ácido indolacético (AIA), melatonina (MEL), óxido nítrico (ON), peróxido de hidrogênio (PER), quitosana (QUIT) e sem condicionante (SC), e analisados em condição normal (controle), restrição hídrica e salina. Lavras, 2024.



Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes e minúscula entre condições estressantes, (dentro de um mesmo material), não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

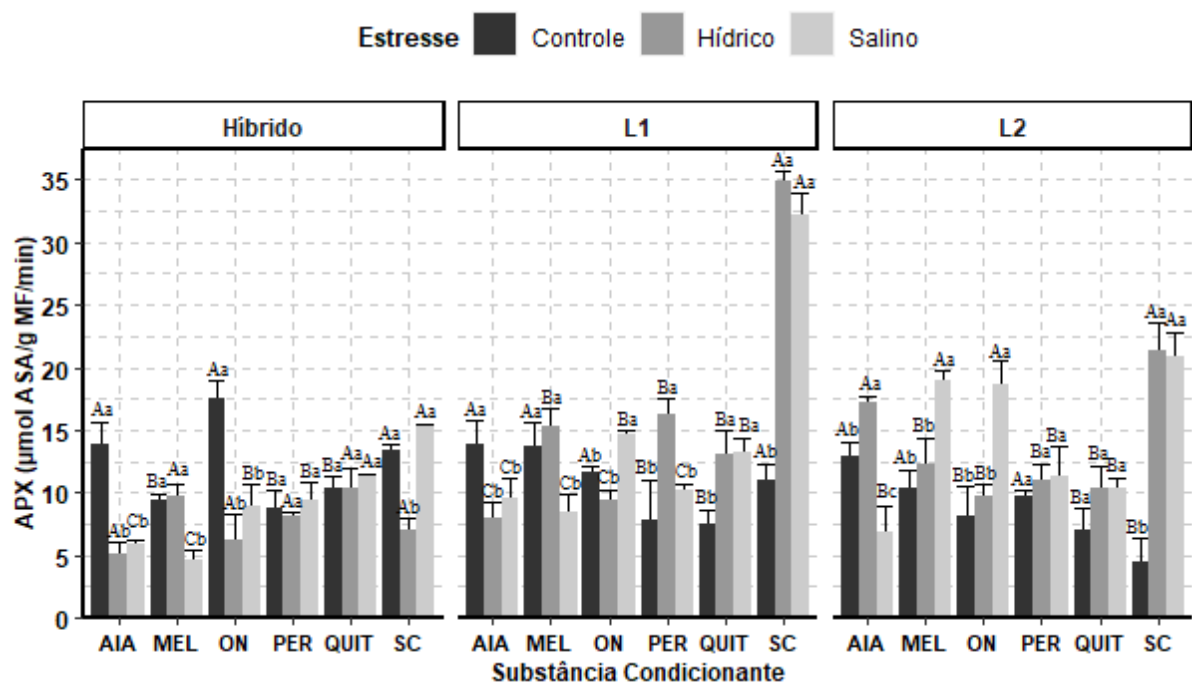
Fonte: Da autora (2024).

A presença de peróxido de hidrogênio e malondialdeído reduziu comumente no híbrido associado ao AIA, MEL e QUIT no estresse hídrico. Em L1, também foi evidenciado no controle com MEL. Em L2, no estresse hídrico com AIA, MEL e ON (Figura 8 e 9).

Lalarukh e Shahbaz (2020) observaram discrepâncias na quantificação de MDA e H_2O_2 entre as variedades de girassol tratadas com α -Tocoferol (vitamina E), tanto em condições de estresse salino quanto em condições não estressadas. Essas diferenças destacam a complexidade das respostas antioxidantes das plantas, que podem variar significativamente dependendo das condições ambientais e dos tratamentos aplicados.

O aumento acentuado de ascorbato peroxidase nas condições de estresse, sem a utilização de priming, demonstra que, ao ser submetida a uma condição instável, a planta procura ferramentas para enfrentar as adversidades (Figura 10).

Figura 10 – Quantificação de ascorbato peroxidase em plântulas de três materiais de milho (Híbrido, L1 e L2), submetidos ao condicionamento fisiológico nas soluções de ácido indolacético (AIA), melatonina (MEL), óxido nítrico (ON), peróxido de hidrogênio (PER), quitosana (QUIT) e sem condicionante (SC), e analisados em condição normal (controle), restrição hídrica e salina. Lavras, 2024.



Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes e minúscula entre condições estressantes, (dentro de um mesmo material), não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2024).

A combinação das figuras anteriores com os dados encontrados para APX, confirma a expressão da enzima na linhagem 1 tratada com AIA, MEL e ON, e na linhagem 2 tratada com AIA, MEL e PER, ambas na condição normal. Este efeito combinado evidencia que a presença da APX nos tratamentos reduziu os níveis de peróxido de hidrogênio e malondialdeído.

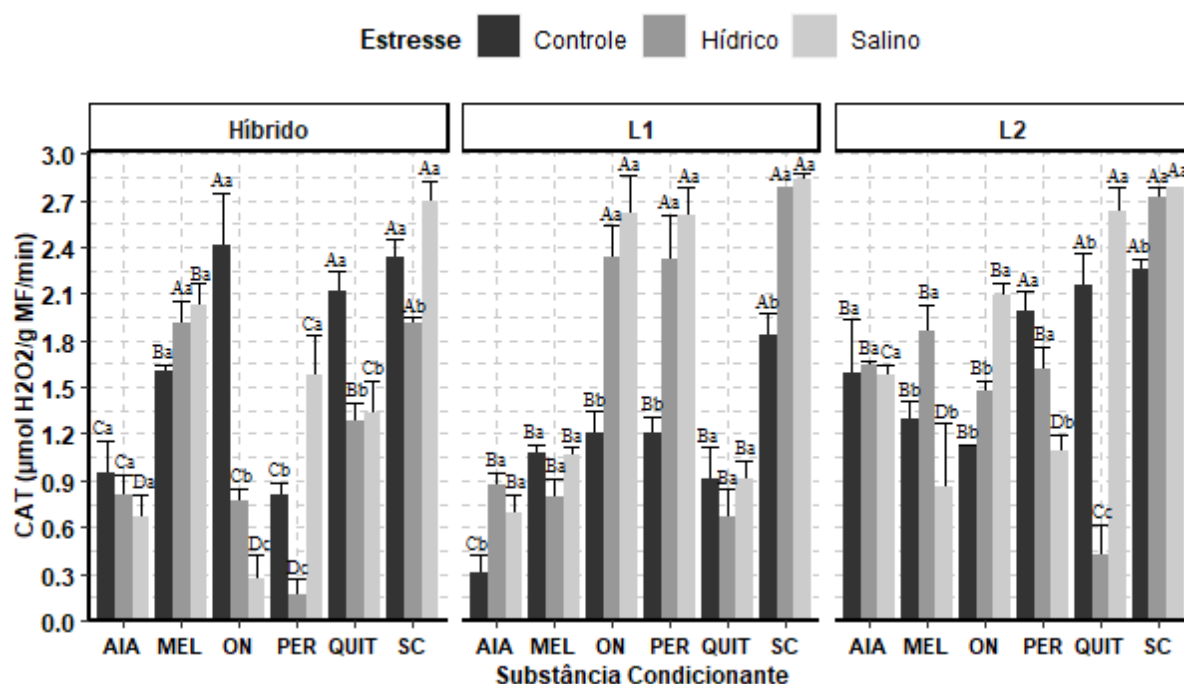
Os benefícios foram encontrados no teste de germinação, comprimento da raiz primária e comprimento total da planta. Também houve favorecimento da L2 tratada com MEL e submetida ao estresse salino. Existiram outros aspectos positivos da APX, mas não corroboram com os dados encontrados acima.

Em uma pesquisa conduzida por Saedipour (2016), foi observado que a aplicação exógena de AIA resultou em um aumento na atividade do ácido ascórbico e da ascorbato oxidase em plantas submetidas a estresse salino. O ácido ascórbico é um elemento fundamental no ciclo ascorbato-glutationa, desempenhando um papel de proteção contra espécies reativas de oxigênio (EROs).

A APX é comum em organismos fotossintéticos. Em contraste com os animais, onde o ascorbato tem um papel secundário na remoção de H_2O_2 , as plantas podem acumular altas concentrações de ascorbato nos tecidos fotossintéticos. Ela possui várias isoformas e estão presentes em todos os compartimentos subcelulares. Estudos mostram que a superexpressão de peroxidases, especialmente APX, pode aumentar a resistência ao estresse em plantas (Maruta *et al.*, 2016, Smirnoff; Arnaud, 2019).

Assim como a APX, o pico da catalase nas condições de estresse, sem a utilização de priming, é um sinal fisiológico instantâneo da planta que ativa seu sistema antioxidante para se defender (Figura 11).

Figura 11 – Quantificação de catalase em plântulas de três materiais de milho (Híbrido, L1 e L2), submetidos ao condicionamento fisiológico nas soluções de ácido indolacético (AIA), melatonina (MEL), óxido nítrico (ON), peróxido de hidrogênio (PER), quitosana (QUIT) e sem condicionante (SC), e analisados em condição normal (controle), restrição hídrica e salina. Lavras, 2024.



Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes e minúscula entre condições estressantes, (dentro de um mesmo material), não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2024).

Associando as informações das figuras anteriores com os dados encontrados para CAT, houve a expressão da enzima com o tratamento de QUIT no híbrido em condição normal, na linhagem 1 com PER sob estresse hídrico e salino, e na linhagem 2 com PER sob controle. Os benefícios foram encontrados no teste de germinação, comprimento da raiz primária e comprimento total da planta. Existiram outros aspectos positivos da CAT, mas não corroboram com os dados encontrados acima.

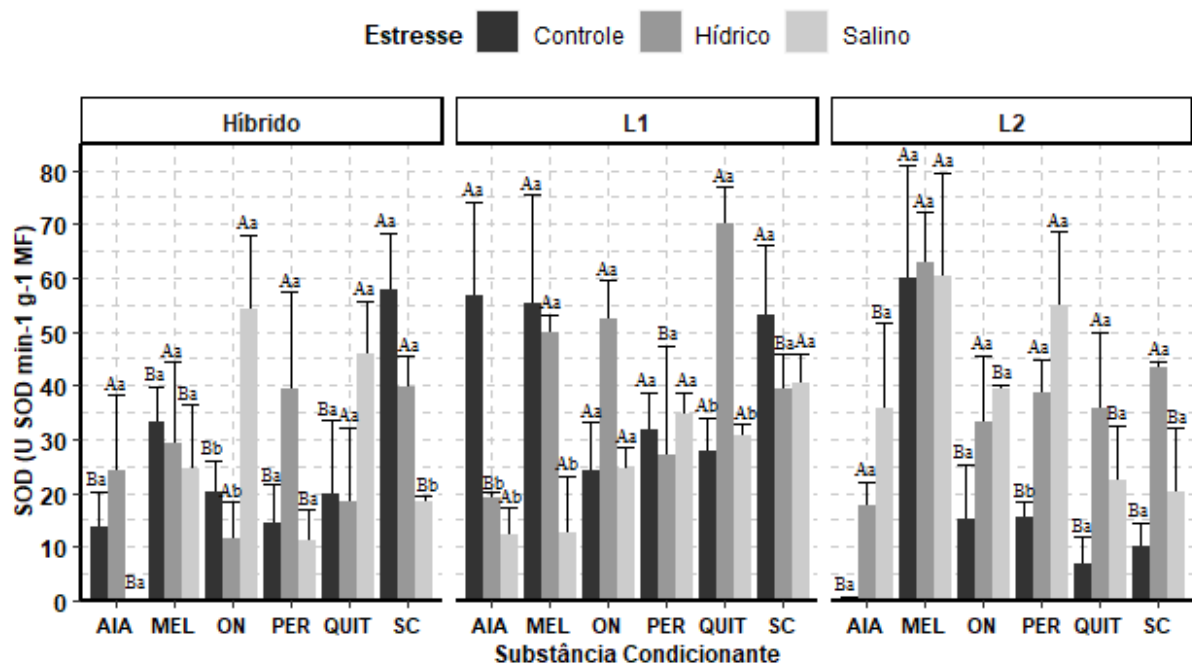
A catalase é abundantemente encontrada nos peroxissomas. Esta alta concentração pode ser necessária devido à baixa afinidade da catalase pelo H_2O_2 . No entanto, a catalase é ideal para a remoção eficiente de grandes quantidades de espécies reativas de oxigênio sem perturbar o estado redox celular, destacando seu papel crucial na proteção contra danos oxidativos e na manutenção do equilíbrio redox intracelular (Smirnoff; Arnaud, 2019).

A enzima superóxido dismutase (SOD) desempenha um papel crucial como a primeira linha de defesa contra o estresse oxidativo, convertendo o ânion superóxido em H_2O_2 . Estudos

em glicófitas revelaram uma correlação variável entre o estresse salino e a atividade da SOD, demonstrando a complexidade das respostas das plantas ao estresse e a importância da regulação das enzimas antioxidantes para a sua adaptação (Srinieng; Saisavoey; Karnchanatat, 2015).

Nesta pesquisa, houve a expressão da enzima SOD no tratamento com ON no híbrido em condição de estresse salino e na linhagem 1 com QUIT sob estresse hídrico. Da mesma forma, na linhagem 2 com MEL na condição controle e, MEL e PER sob estresse salino. Os benefícios foram encontrados no teste de germinação, comprimento da raiz primária e comprimento total da planta. Existiram outros aspectos positivos da SOD, mas não corroboram com os dados encontrados acima (Figura 12).

Figura 12 – Quantificação de superóxido dismutase em plântulas de três materiais de milho (Híbrido, L1 e L2), submetidos ao condicionamento fisiológico nas soluções de ácido indolacético (AIA), melatonina (MEL), óxido nítrico (ON), peróxido de hidrogênio (PER), quitosana (QUIT) e sem condicionante (SC), e analisados em condição normal (controle), restrição hídrica e salina. Lavras, 2024.



Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes e minúscula entre condições estressantes, (dentro de um mesmo material), não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2024).

O uso do condicionamento de sementes com substâncias sinalizadoras oferece a possibilidade de promover uma germinação e estabelecimento de plântulas sincronizadas,

rápidas e flexíveis, resultando em maior resistência a vários estresses e uma maior capacidade de sobrevivência das plantas em ambientes desafiadores. Este estudo confirmou a eficácia da técnica e sugere novas oportunidades para pesquisas adicionais na área.

4 CONCLUSÃO

A utilização de peróxido de hidrogênio e ácido indol-3-acético via condicionamento fisiológico resulta em um significativo incremento na qualidade fisiológica das sementes de milho, submetidas ao estresse hídrico e salino.

O condicionamento fisiológico das sementes, mesmo em condições favoráveis ao crescimento das plantas, apresenta maior uniformidade dos parâmetros germinativos.

O condicionamento fisiológico de sementes de milho, na presença de moléculas sinalizadoras para a indução de tolerância à deficiência hídrica e alta concentração de sais, é eficiente em promover a taxa e a velocidade de germinação, o desenvolvimento de plântulas, assim como a diminuição de plântulas anormais, da concentração de H_2O_2 e da peroxidação lipídica, além de aumentar a atividade enzimática antioxidante.

Não existe um método padrão específico de priming que possa ser universalmente recomendado para todas as espécies e variedades, com níveis diferentes de qualidade das sementes. No entanto, o condicionamento fisiológico oferece uma oportunidade acessível, econômica e tecnicamente simples para aprimorar consideravelmente o desempenho das culturas.

REFERÊNCIAS

- ABBASI, Ghulam Hasan *et al.* Morpho-physiological and micrographic characterization of maize hybrids under NaCl and Cd stress. **Plant Growth Regulation**, v. 75, p. 115-122, 2015.
- ABREU, Viviane Maria de *et al.* Physiological performance and expression of isozymes in maize seeds subjected to water stress. **Journal of Seed Science**, v. 36, p. 40-47, 2014.
- ADERALDO, Francisco Ícaro Carvalho *et al.* Efeitos combinados da seca e da salinidade no crescimento de plantas de mulungu (*Erythrina Velutina* Wild). **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 3, n. 3, p. 2732-2740, 2020.
- ADHIKARI, Bikash; OLORUNWA, Omolayo J.; BARICKMAN, T. Casey. Seed priming enhances seed germination and morphological traits of *Lactuca sativa* L. under Salt Stress. **Seeds**, v. 1, n. 2, p. 74-86, 2022.
- ARAÚJO, Marlon Lima *et al.* Avaliação do Efeito do stress salino sobre o desenvolvimento inicial de rúcula. **Ensaios e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde**, v. 17, n. 6, 2013.
- BARYLA, A. *et al.* Evaluation of lipid peroxidation as a toxicity bioassay for plants exposed to copper. **Environmental Pollution**, v. 109, n. 1, p. 131-135, 2000.
- BEWLEY, J.D. *et al.* Seeds: physiology of development, germination and dormancy. **Springer**, 3. ed., 2013.
- BIEMELT, Sophia; KEETMAN, Ulrich; ALBRECHT, Gerd. Re-aeration following hypoxia or anoxia leads to activation of the antioxidative defense system in roots of wheat seedlings. **Plant Physiology**, v. 116, n. 2, p. 651-658, 1998.
- BONOME, L.T da S. *et al.* Osmoconditioning of *Urochloa brizantha* seeds to reduce pelleting negative effects. **Brazilian Journal of Agriculture**, v. 92, n. 2, p. 87-100, 2017.
- BRASIL. Regras para análise de sementes. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, 399 p., 2009.
- BUEGE, J.A. Microsomal lipid peroxidation. **Methods in enzymology**, v.52, p. 302-310, 1978.
- CHEN, Ziping *et al.* Hydrogen peroxide acts downstream of melatonin to induce lateral root formation. **Annals of botany**, v. 121, n. 6, p. 1127-1136, 2018.
- DEMIDCHIK, Vadim *et al.* Stress-induced electrolyte leakage: the role of K⁺-permeable channels and involvement in programmed cell death and metabolic adjustment. **Journal of experimental botany**, v. 65, n. 5, p. 1259-1270, 2014.
- ESHKAB, Ibrahim Ahmed; HARRIS, Philip J.C. Seed priming: Factors affecting efficacy. **International Review of Basic and Applied Sciences**, v. 8, n. 4, p. 31-52, 2020.
- FAROOQ, Muhammad *et al.* Salt stress in maize: effects, resistance mechanisms, and management. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 35, p. 461-481, 2015.

GIANNOPOLITIS, Constantine N.; RIES, Stanley K. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. **Plant physiology**, v. 59, n. 2, p. 309-314, 1977.

HAGAGGI, Noura Sh A.; MOHAMED, Amal AA. Enhancement of *Zea mays* (L.) growth performance using indole acetic acid producing endophyte *Mixta theicola* isolated from *Solenostemma argel* (Hayne). **South African Journal of Botany**, v. 134, p. 64-71, 2020.

HAVIR, Evelyn A.; MCHALE, Neil A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant physiology**, v. 84, n. 2, p. 450-455, 1987.

HOSSAIN, Mohammad A. *et al.* Hydrogen peroxide priming modulates abiotic oxidative stress tolerance: insights from ROS detoxification and scavenging. **Frontiers in plant science**, v. 6, p. 420, 2015.

IQBAL, Muhammad; ASHRAF, Muhammad. Salt tolerance and regulation of gas exchange and hormonal homeostasis by auxin-priming in wheat. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, p. 1210-1219, 2013.

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

KHATAMI, Seyyedeh Roghayyeh; SEDGHI, Mohammad; SHARIFI, Raouf Seyed. Influence of priming on the physiological traits of corn seed germination under drought stress. **Annales of West University of Timisoara. Series of Biology**, v. 18, n. 1, p. 1, 2015.

LALARUKH, Irfana; SHAHBAZ, Muhammad. Response of antioxidants and lipid peroxidation to exogenous application of alpha-tocopherol in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under salt stress. **Pak. J. Bot**, v. 52, n. 1, p. 75-83, 2020.

LIU, Shenglin *et al.* Indigenous arbuscular mycorrhizal fungi can alleviate salt stress and promote growth of cotton and maize in saline fields. **Plant and Soil**, v. 398, p. 195-206, 2016.

MARUTA, Takanori *et al.* Diversity and evolution of ascorbate peroxidase functions in chloroplasts: more than just a classical antioxidant enzyme?. **Plant and Cell Physiology**, v. 57, n. 7, p. 1377-1386, 2016.

MUNNS, Rana; GILLIHAM, Matthew. Salinity tolerance of crops—what is the cost?. **New phytologist**, v. 208, n. 3, p. 668-673, 2015.

NAKANO, Yoshiyuki; ASADA, Kozi. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and cell physiology**, v. 22, n. 5, p. 867-880, 1981.

PALLAORO, Dryelle Sifuentes *et al.* Priming corn seeds with plant growth regulator. **Journal of Seed Science**, v. 38, n. 03, p. 227-232, 2016.

RHAMAN, Mohammad Saidur *et al.* Seed priming with phytohormones: An effective approach for the mitigation of abiotic stress. **Plants**, v. 10, n. 1, p. 37, 2020.

SAEDIPOUR, Saeed. Role of exogenous application of auxin on antioxidant enzyme activities in rice under salt stress. **Journal of Plant Physiology and Breeding**, v. 6, n. 2, p. 49-61, 2016.

SHAH, Tariq *et al.* Seed priming with titanium dioxide nanoparticles enhances seed vigor, leaf water status, and antioxidant enzyme activities in maize (*Zea mays* L.) under salinity stress. **Journal of King Saud University-Science**, v. 33, n. 1, p. 101207, 2021.

SMIRNOFF, Nicholas; ARNAUD, Dominique. Hydrogen peroxide metabolism and functions in plants. **New phytologist**, v. 221, n. 3, p. 1197-1214, 2019.

SU, Yingchun *et al.* Germination characteristics of maize seeds with high and low-vigour levels in response to on-farm seed priming. **Seed Science and Technology**, v. 49, n. 2, p. 125-134, 2021.

VELIKOVA, V.; YORDANOV, I.; EDREVA, A. J. P. S. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. **Plant science**, v. 151, n. 1, p. 59-66, 2000.

VIBHUTI, Charu Shahi; BARGALI, Kiran; BARGALI, S. S. Seed germination and seedling growth parameters of rice (*Oryza sativa* L.) varieties as affected by salt and water stress. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, v. 85, n. 1, p. 102-108, 2015.

WOJTYLA, Łukasz *et al.* Different modes of hydrogen peroxide action during seed germination. **Frontiers in plant science**, v. 7, p. 66, 2016.

YU, Feng *et al.* Comparative proteomic analysis revealing the complex network associated with waterlogging stress in maize (*Zea mays* L.) seedling root cells. **Proteomics**, v. 15, n. 1, p. 135-147, 2015.

CAPÍTULO 3

ANÁLISE FISIOLÓGICA E BIOQUÍMICA DE SEMENTES DE MILHO CONDICIONADAS E SUBMETIDAS A ALTAS TEMPERATURAS

RESUMO

A germinação e o estabelecimento da cultura do milho são altamente afetados pelas condições ambientais, com destaque para a temperatura. Em resposta ao estresse térmico, as plantas podem gerar espécies reativas de oxigênio (ERO). Para contrabalançar os efeitos negativos da produção de ERO, as plantas utilizam diversos mecanismos antioxidantes. Esses mecanismos podem ser ativados não apenas internamente, mas também por substâncias externas. Neste contexto, o uso de técnicas de condicionamento, com moléculas ativadoras do sistema de defesa da planta, oferece uma solução promissora para mitigar o efeito do estresse térmico. Diante disso, o objetivo desse trabalho foi avaliar a eficiência do condicionamento fisiológico de sementes na presença de moléculas sinalizadoras para a indução de tolerância à altas temperaturas durante os processos de germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de milho, por meio de avaliações de características fisiológicas e atividade de enzimas. O delineamento foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições, em esquema fatorial 6x2x3, sendo cinco soluções condicionantes e um tratamento sem condicionamento, uma condição de estresse e uma condição normal de germinação, três cultivares. As sementes dos três materiais foram condicionadas em soluções de ácido indolacético, melatonina, nitroprussiato de sódio, peróxido de hidrogênio e quitosana. Posteriormente, as sementes foram submetidas a diferentes condições de germinação: água destilada, solução de NaCl e PEG. Foram avaliados os teores de água, germinação, vigor, plântulas anormais, desenvolvimento de plântulas por análise de imagem, peroxidação lipídica, peróxido de hidrogênio e a atividade das enzimas do sistema antioxidante. As médias foram submetidas a análise de variância e, quando significativas, foram aplicados os testes de médias. A utilização de ácido indol-3-acético e melatonina via condicionamento mostrou-se altamente eficaz em situações de estresse por alta temperatura. Essa estratégia resultou em uma maior germinação e vigor das plantas, além de uma redução na porcentagem de plântulas anormais, na concentração de H₂O₂ e na peroxidação lipídica, e em um aumento da atividade enzimática. Essa estratégia surge como uma ferramenta eficaz, simples e acessível para impulsionar a produtividade agrícola diante dos desafios das mudanças climáticas e outros estresses ambientais.

Palavras-chave: estresse térmico; enzimas antioxidantes; peroxidação lipídica; *Zea mays* L.

PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL ANALYSIS OF CORN SEEDS CONDITIONED AND SUBMITTED TO HIGH TEMPERATURES

SUMMARY

The germination and establishment of corn crops are highly influenced by environmental conditions, with temperature being a critical factor. In response to thermal stress, plants can produce reactive oxygen species (ROS). To counteract the negative effects of ROS production, plants employ various antioxidant mechanisms. These mechanisms can be activated not only internally but also by external substances. In this context, the use of conditioning techniques with molecules that activate the plant's defense system offers a promising solution to mitigate the effects of thermal stress. Thus, the objective of this study was to evaluate the efficiency of physiological seed conditioning in the presence of signaling molecules to induce heat tolerance during corn seed germination and seedling development by assessing physiological characteristics and enzyme activity. The experimental design was completely randomized, with four replications, in a 6x2x3 factorial scheme, comprising five conditioning solutions and one treatment without conditioning, one stress condition, and one normal germination condition, and three cultivars. The seeds of the three materials were conditioned in solutions of indoleacetic acid, melatonin, sodium nitroprusside, hydrogen peroxide, and chitosan. Subsequently, the seeds were subjected to different germination conditions: distilled water, NaCl solution, and PEG. Water content, germination, vigor, abnormal seedlings, seedling development by image analysis, lipid peroxidation, hydrogen peroxide content, and antioxidant enzyme activity were evaluated. The means were subjected to analysis of variance, and when significant, means tests were applied. The use of indole-3-acetic acid and melatonin via conditioning proved highly effective in high-temperature stress situations. This strategy resulted in higher germination and vigor of the plants, a reduction in the percentage of abnormal seedlings, H₂O₂ concentration, and lipid peroxidation, and an increase in enzymatic activity. This strategy emerges as an effective, simple, and accessible tool to boost agricultural productivity in the face of climate change challenges and other environmental stresses.

Keywords: heat stress; antioxidant enzymes; lipid peroxidation; *Zea mays* L.

1 INTRODUÇÃO

A germinação das sementes é um evento fisiológico complexo que envolve a absorção de água, a quebra de substâncias armazenadas, a respiração para o metabolismo energético, a síntese de moléculas de mRNA e a manutenção das mitocôndrias (Bewley *et al.*, 2013). Esses eventos coordenados são essenciais para o sucesso da germinação e o subsequente crescimento das plântulas.

Durante as fases iniciais do desenvolvimento das plantas, o estresse térmico pode limitar a velocidade de diversos processos fisiológicos e metabólicos. Os danos causados por altas temperaturas nas culturas estão principalmente associados à indução de estresse oxidativo e produção de espécies reativas de oxigênio (Cao *et al.*, 2019).

Os extremos climáticos, tais como ondas de calor intensas, têm o potencial de causar danos significativos às lavouras. Esses eventos podem comprometer seriamente os meios de subsistência dos produtores agrícolas e afetar a segurança alimentar das comunidades em escala global (Vogel *et al.*, 2019). É fundamental desenvolver medidas de adaptação e mitigação para enfrentar esses desafios e garantir a resiliência do sistema alimentar perante as mudanças climáticas.

Nesse cenário, surge a técnica de condicionamento fisiológico de sementes, que visa melhorar a qualidade fisiológica das sementes por meio de tratamentos específicos, como hidratação ou exposição a substâncias químicas. Esses procedimentos são aplicados antes do armazenamento ou da semeadura, propondo acelerar a germinação, uniformizar o estabelecimento das plântulas e a aumentar a tolerância das sementes a condições adversas (Ashraf *et al.*, 2018).

Diversos métodos de condicionamento de sementes foram desenvolvidos para revitalizar as sementes e mitigar o estresse ambiental, incluindo técnicas como o hidrocondicionamento, osmocondicionamento, halo-priming, biopriming, nutripriming, condicionamento de matriz sólida e priming hormonal com reguladores de crescimento vegetal. Todos esses métodos têm o potencial de reduzir os danos causados pela peroxidação lipídica, estimulando o sistema antioxidante das plantas (Lutts *et al.*, 2016, Bhowmick, 2018).

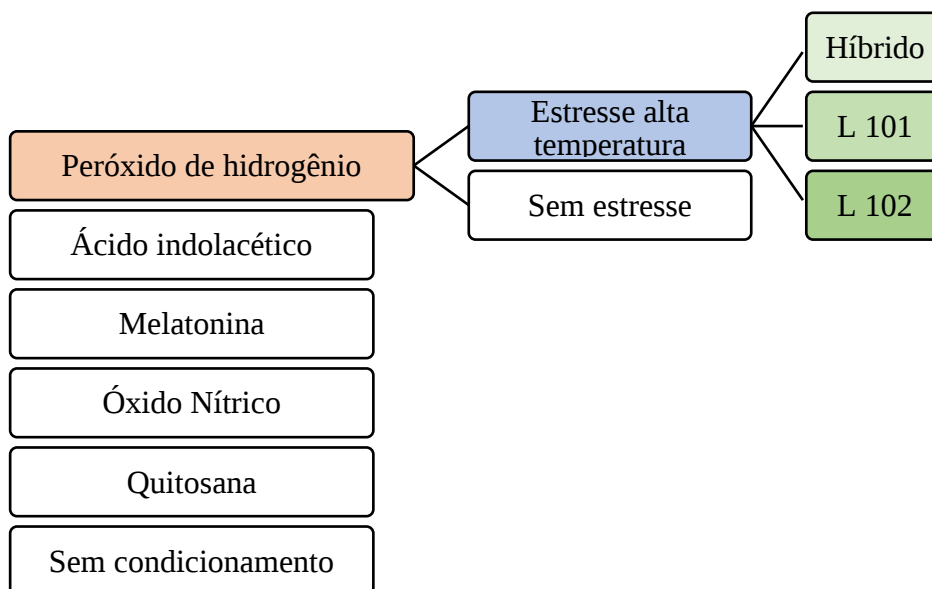
Diante disso, o objetivo desse trabalho foi avaliar a eficiência do condicionamento fisiológico de sementes na presença de moléculas sinalizadoras para a indução de tolerância à altas temperaturas durante os processos de germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de milho, por meio de avaliações de características fisiológicas e atividade de enzimas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram conduzidos no Laboratório Central de Pesquisa em Sementes (LCPS) do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras – MG em 2021. Foram utilizadas sementes de milho do híbrido GNHSEX2 e seus genitores, L101 e L102 pertencentes ao programa de melhoramento genético de milho da UFLA. As sementes foram adquiridas na safra 2017/2018 e armazenadas em câmara fria sob condições ótimas de umidade e temperatura até a montagem do experimento.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, em esquema fatorial $6 \times 2 \times 3$, sendo cinco soluções condicionantes e um tratamento sem condicionamento, uma condição de estresse e uma condição normal de germinação, três cultivares (Figura 1). As médias foram submetidas a análise de variância e, quando significativas, foram aplicados os testes de médias.

Figura 1 – Esquema fatorial utilizado no ensaio.



Fonte: Da autora (2024).

2.1 Análise fisiológica

A qualidade inicial dos lotes de sementes foi determinada por meio da avaliação do teor de água, pelo método da estufa a 105 °C (Brasil, 2009) e por testes de germinação e vigor, conforme estabelecido na RAS.

Foi levantada a quantidade de sementes necessárias para a montagem dos testes. O peso de mil grãos de cada material foi aferido para distribuir de forma igualitária, aproximadamente

70 g de semente nos erlenmeyers contendo 400 mL de solução. Esses valores foram padronizados através de testes que verificaram o movimento das sementes, sem haver extravasamento da solução no erlenmeyer de 500 mL.

As sementes de milho foram lavadas em água corrente para eliminar o tratamento químico e não influenciar no condicionamento fisiológico. Depois dos preparos iniciais, as sementes foram submetidas ao processo de condicionamento, em soluções aeradas de ácido indolacético (0,1 mM), peróxido de hidrogênio (0,1 mM), quitosana (0,75 mM), melatonina (1 mM) e solução doadora de óxido nítrico - nitroprussiato de sódio (0,1 mM), em B.O.D. adaptada a temperatura de 24 °C, por período de 24 horas (Pallaoro *et al.*, 2016).

Após o condicionamento, as sementes foram lavadas em água corrente e o excesso de água foi removido em papel toalha. As sementes foram secadas por 48 horas, em estufa com circulação forçada de ar sem aquecimento. Após esse período, a estufa foi regulada para 25 °C e as sementes sem condicionamento também foram colocadas na estufa, a fim de uniformizar o teor de água entre as sementes de todos os tratamentos.

O teor de água das sementes foi avaliado novamente após o condicionamento fisiológico e após a secagem das sementes, pelo método da estufa a 105 °C (Brasil, 2009). Os resultados foram apresentados em porcentagem com base na massa úmida.

As sementes foram submetidas ao teste de germinação em condição controlada. A semeadura foi realizada com quatro repetições de 50 sementes. Cada repetição foi semeada sobre duas folhas de papel germitest e sobrepostas com mais uma folha, as quais foram umedecidas com volume de água destilada, equivalente a 2,5 vezes o peso seco do papel (Brasil, 2009).

As sementes submetidas a condição normal de germinação, permaneceram em germinador tipo Mangelsdorf regulado a temperatura de 25 °C, com luz contínua. As sementes avaliadas na condição de alta temperatura, ficaram em câmaras tipo B.O.D. em temperatura de 38-25 °C, com fotoperíodo de 8-16 horas, respectivamente, para simular condição de campo em alta temperatura. A primeira contagem foi realizada aos 4 dias e a contagem final aos 7 dias após a semeadura juntamente com número de plântulas anormais (Brasil, 2009).

Para a análise de imagens de plântulas, foram utilizadas 25 sementes por tratamento. A semeadura foi realizada nas mesmas condições do teste de germinação. As imagens das plântulas foram obtidas aos 4 dias após a montagem do teste, equivalente ao período de primeira contagem de germinação para a cultura do milho (Brasil, 2009).

Para a captura das imagens foi utilizado o sistema GroundEye[®], versão S800, composto por um módulo de captação que possui uma bandeja de acrílico, uma câmera de alta resolução

e um software integrado para avaliação. As plântulas foram retiradas do papel germitest e inseridas na bandeja do módulo de captação para a obtenção das imagens. Na etapa de configuração da análise foi utilizada a calibração da cor de fundo, índice de luminosidade, dimensão “a” e dimensão “b”. Depois da calibração da cor do fundo foi feita a análise das imagens e extraído valores de comprimento da raiz primária, comprimento de parte aérea, largura média da raiz primária, comprimento total da plântula e a razão do comprimento da raiz pelo comprimento da parte aérea.

2.2 Análise bioquímica

As plântulas da primeira contagem de germinação, descrito na metodologia acima, foram separadas e submetidas às análises bioquímicas. Para conservar os tecidos e paralisar as atividades metabólicas até o momento da extração enzimática, não prejudicando assim o resultado, as plântulas foram armazenadas em Deep Freezer sob -80 °C.

Para a extração das enzimas antioxidantes, 200 mg de massa fresca das plântulas foram macerados em nitrogênio líquido com uma pitada de polivinilpolipirrolidona (PVPP) e depositados em eppendorf. Foram homogeneizados em 1,5mL do tampão de extração contendo 375 µL de fosfato de potássio (100 mM), 15 µL de EDTA (0,1 mM), 75 µL de ácido ascórbico (10 mM) e 1035 µL de água destilada. Os homogeneizados foram centrifugados a 10.000 rpm por 10 minutos, a 4 °C, coletando-se os sobrenadantes para as análises enzimáticas conforme apresentado por Biemelt, Keetman e Albrecht (1998).

A atividade da enzima catalase (CAT) foi mensurada após pipetar 9 µL da amostra de trabalho na microplaca de microtitulação e adicionar como tampão de incubação, 90 µL de solução de fosfato de potássio (200 mM pH 7,0) e 72 µL de água. Foi adicionado 9 µL de solução de peróxido de hidrogênio (250 mM) pouco antes da leitura, com solução feita no dia, uma vez que, a reação foi iniciada pela adição do H_2O_2 ($\epsilon = 36 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). A atividade da CAT foi determinada pelo decréscimo dos valores em absorbância a 240 nm, a cada 15 segundos, por 3 minutos, monitorado pelo consumo de peróxido de hidrogênio (Havir; Mchale, 1987). Uma unidade de CAT é definida pela quantidade de enzima necessária para decompor $1 \mu\text{mol min}^{-1}$ de H_2O_2 .

A atividade da ascorbato peroxidase (APX) foi analisada pela adição de 9 µL da amostra de trabalho, 90 µL de fosfato de potássio (200 mM pH 7,0), 9µL de ácido ascórbico (10 mM) e 63 µL de água. Sobre essa mistura foi adicionado 9 µL de peróxido de hidrogênio (2 mM) na hora da leitura. 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 cada 15 segundos durante 3 minutos

(Nakano; Asada, 1981). Uma unidade de APX é definida pela quantidade de enzima que oxida $1 \mu\text{mol min}^{-1}$ de ácido ascórbico.

A atuação da superóxido dismutase (SOD) foi determinada pela capacidade de a enzima inibir a redução fotoquímica do tetrazolio nitroazul (NBT), proposta por Giannopolitis e Ries (1977). Para tal, $10 \mu\text{L}$ da amostra de trabalho foi pipetado na microplaca de microtitulação e adicionado $190 \mu\text{L}$ do tampão de incubação, contendo $100 \mu\text{L}$ de fosfato de potássio (100 mM pH 7,0), $40 \mu\text{L}$ de metionina (70 mM), $3 \mu\text{L}$ de EDTA (10 mM), $30 \mu\text{L}$ de água, $15 \mu\text{L}$ de NBT (1 mM) e $2 \mu\text{L}$ de riboflavina ($0,2 \text{ mM}$). Sendo os dois últimos reagentes adicionados no escuro e em seguida, a placa foi colocada em câmara de iluminação com lâmpada fluorescente de 20 W por 7 minutos e as leituras realizadas a 560 nm no Elisa. Uma unidade de SOD é definida pela quantidade de enzima que inibe 50% da taxa de redução do NBT.

Para a extração de H_2O_2 e peroxidação lipídica, 200 mg de massa fresca das plântulas foram macerados em nitrogênio líquido com uma pitada de polivinilpolipirrolidona (PVPP). Foram transferidos para eppendorf e homogeneizados em $1,5 \text{ mL}$ de ácido tricloroacético (TCA) a $0,1\%$. Os homogeneizados foram centrifugados a 10000 rpm por 15 minutos, a 4°C e, posteriormente, o sobrenadante coletado para realização das análises (Barylá *et al.*, 2000).

A avaliação da peroxidação lipídica foi realizada mediante a quantificação do malondialdeído (MDA), que é produzido pela reação de ácido tiobarbitúrico (TBA) conforme método TBARS proposto por Buege (1978). Do eppendorf de extração, foi retirada uma alíquota de $125 \mu\text{L}$ da amostra de trabalho e pipetada em triplicata em outros eppendorfs. Foram adicionados $250 \mu\text{L}$ do meio de reação de ácido tiobarbitúrico $0,5\%$ (TBA) e ácido tricloroacético 10% (TCA). A mistura foi aquecida em banho-maria a 95°C durante 30 minutos e depois rapidamente resfriada em um banho de gelo para paralisar a reação. Posteriormente, foram pipetados $180 \mu\text{L}$ do composto em microplaca de microtitulação e feita a leitura de absorbância a 535 nm e a 600 nm . A concentração do MDA foi calculada utilizando o coeficiente de extinção de $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Para a quantificação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) uma alíquota de $45 \mu\text{L}$ do sobrenadante da amostra de trabalho foram adicionados, com $45 \mu\text{L}$ do tampão fosfato de potássio (10 mM à pH 7,0) e $90 \mu\text{L}$ de iodeto de potássio (1 M). Depois, realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 390 nm . A concentração de peróxido de hidrogênio é expressa em $\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2 \text{ g}^{-1}$ de massa fresca (Velikova; Yordanov; Edreva, 2000).

Para as análises enzimáticas, foi utilizado o mesmo delineamento e esquema, porém com três repetições. Ressalta-se que cada repetição foi feita em duplicata durante as análises.

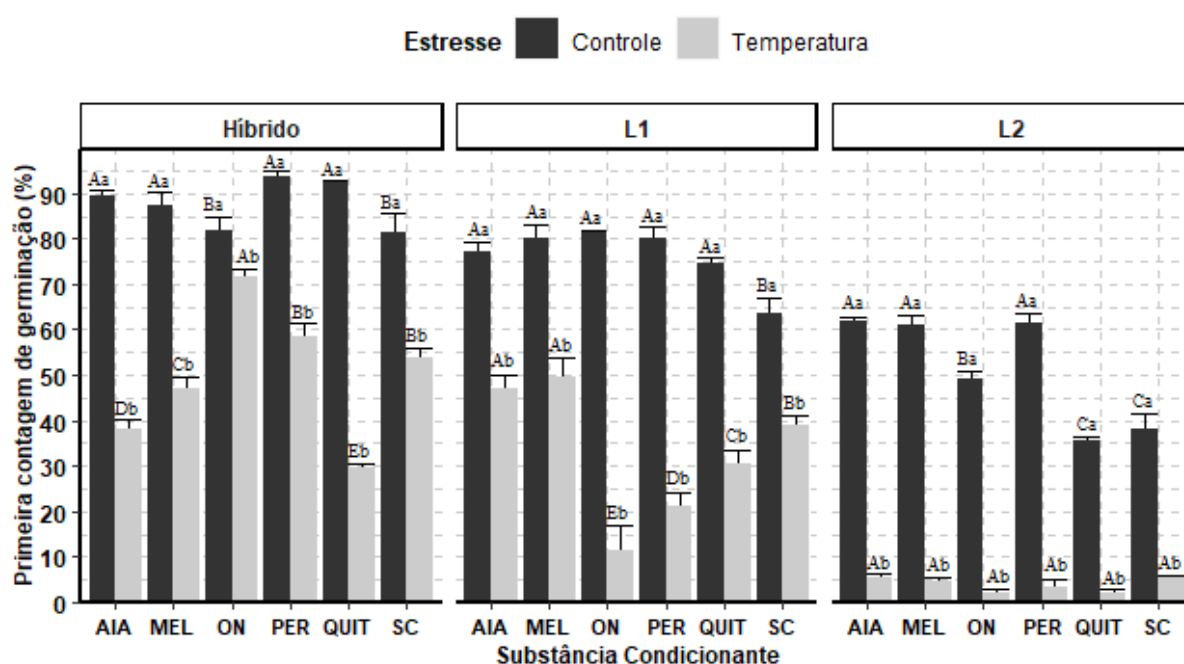
A análise estatística dos resultados foi realizada pelo software R[®], as médias foram submetidas à análise de variância e, quando significativas, aplicou-se teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise do teor de água das sementes não foi abordada neste capítulo, pois essa informação foi discutida na Figura 1 do capítulo anterior. Após o condicionamento, as sementes foram submetidas à análise do teor de água e, em seguida, foram separadas para os diferentes testes realizados.

Os resultados do vigor foram analisados com base na primeira contagem de germinação feita aos quatro dias, conforme ilustrado na Figura 2, revelando variações significativas entre os diferentes fatores examinados. Em linhas gerais, ficou evidente que o híbrido se mostrou mais vigoroso em comparação com as linhagens, ao passo que a L1 exibiu o segundo melhor desempenho.

Figura 2 – Porcentagem da primeira contagem de germinação de sementes de três materiais de milho (Híbrido, L1 e L2), submetidos ao condicionamento fisiológico nas soluções de ácido indolacético (AIA), melatonina (MEL), óxido nítrico (ON), peróxido de hidrogênio (PER), quitosana (QUIT) e sem condicionante (SC), e analisados em condição normal (controle) e alta temperatura. Lavras, 2024.



Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes e minúscula entre condições estressantes, (dentro de um mesmo material), não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2024).

As substâncias analisadas mantiveram ou aprimoraram as condições de vigor dos lotes de sementes em comparação com os tratamentos sem condicionante (SC), destacando-se

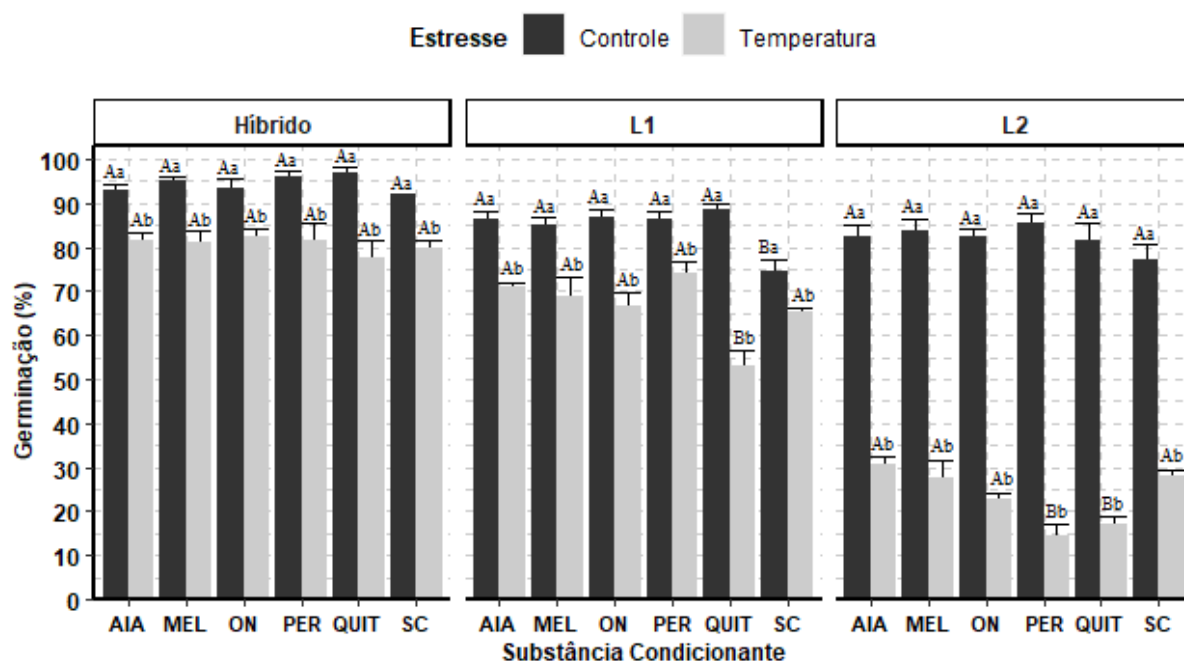
principalmente o ácido indolacético (AIA), a melatonina (MEL) e o peróxido de hidrogênio (PER), com resultados positivos observados em todos os materiais. No entanto, os estresses exerceram um impacto negativo no vigor de todos os materiais. O óxido nítrico (ON) demonstrou ser o condicionante mais eficaz para a condição de alta temperatura no híbrido. O AIA e MEL foram os melhores condicionantes para a condição de alta temperatura na linhagem 1 (L1).

Em concordância com os resultados obtidos, foi constatado no estudo de Mao *et al.* (2018) um efeito protetor ao aplicar 0,05 mM de óxido nítrico em sementes de aveia expostas ao envelhecimento acelerado, evidenciado pela melhoria do vigor das sementes e pelo aumento da capacidade de eliminação de H_2O_2 nas mitocôndrias.

Além do ON, os efeitos positivos da aplicação de AIA podem ser vistos em diferentes tecidos. Em cevada, a regulação da expressão dos genes YUC2 e YUC6 é crucial para o desenvolvimento normal das anteras. Sob altas temperaturas, a inibição desses genes leva a uma diminuição local nos níveis de auxina endógena, resultando em esterilidade masculina. No entanto, estudos mostraram que a aplicação exógena de ácido indol-3-acético pode efetivamente resgatar a esterilidade masculina na espécie (Sakata *et al.*, 2010).

Os resultados de germinação seguiram a mesma tendência observada nos resultados de vigor em relação ao controle (Figura 3). No que diz respeito a L1, as substâncias empregaram efeito positivo na germinação das sementes em condição normal. Na condição de alta temperatura, a porcentagem de germinação com o uso das moléculas se comportou equivalente ao SC, com exceção da QUIT, que não manteve uma boa germinação.

Figura 3 – Porcentagem de germinação de sementes de três materiais de milho (Híbrido, L1 e L2), submetidos ao condicionamento fisiológico nas soluções de ácido indolacético (AIA), melatonina (MEL), óxido nítrico (ON), peróxido de hidrogênio (PER), quitosana (QUIT) e sem condicionante (SC), e analisados em condição normal (controle) e alta temperatura. Lavras, 2024.



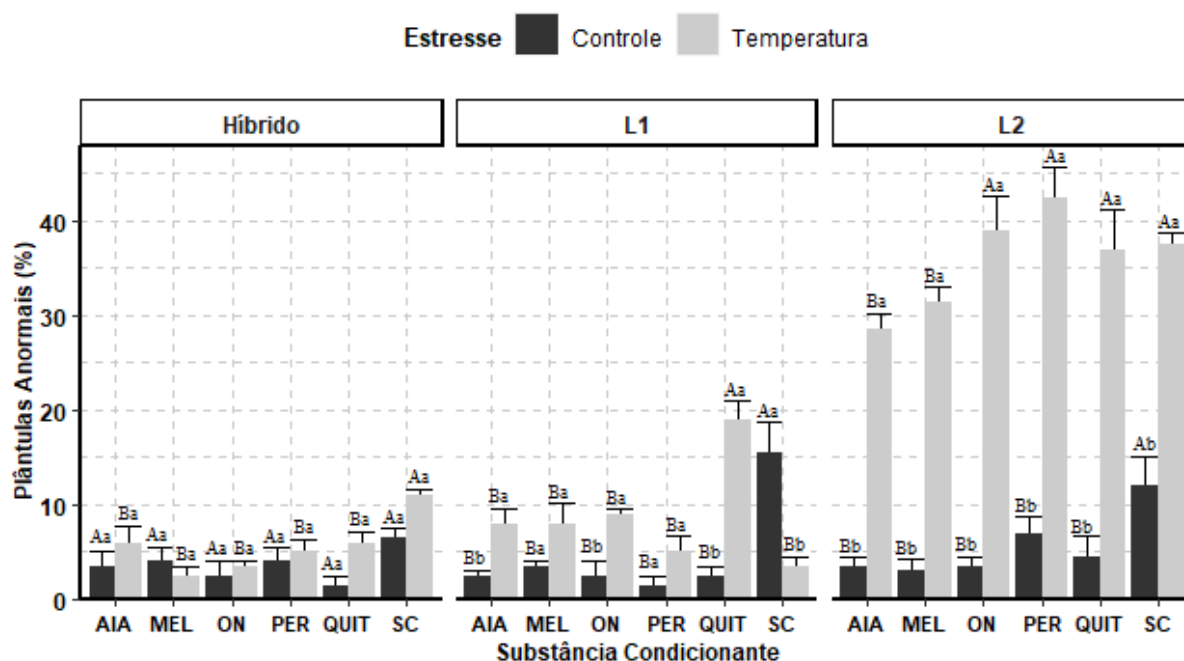
Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes e minúscula entre condições estressantes, (dentro de um mesmo material), não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2024).

No estudo conduzido por Batista *et al.* (2016) com *Brachiaria brizantha*, foi observado que sementes condicionadas com KNO_3 e $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ exibem maior tolerância em condições adversas, como alta umidade e temperatura, resultando em um alto índice de germinação. Esses resultados destacam o potencial do condicionamento de sementes frente às altas temperaturas.

Por outro lado, os dados relativos às plântulas anormais demonstram um cenário inverso ao observado na figura anterior. Ao avaliar os diferentes materiais, constatou-se que o híbrido registrou a menor incidência de plântulas anormais sob estresse de alta temperatura, sendo que a aplicação das substâncias contribuiu para a redução de estruturas danificadas e deformadas em comparação com o tratamento SC (Figura 4).

Figura 4 – Porcentagem de plântulas anormais de três materiais de milho (Híbrido, L1 e L2), submetidos ao condicionamento fisiológico nas soluções de ácido indolacético (AIA), melatonina (MEL), óxido nítrico (ON), peróxido de hidrogênio (PER), quitosana (QUIT) e sem condicionante (SC), e analisados em condição normal (controle) e alta temperatura. Lavras, 2024.



Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes e minúscula entre condições estressantes, (dentro de um mesmo material), não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2024).

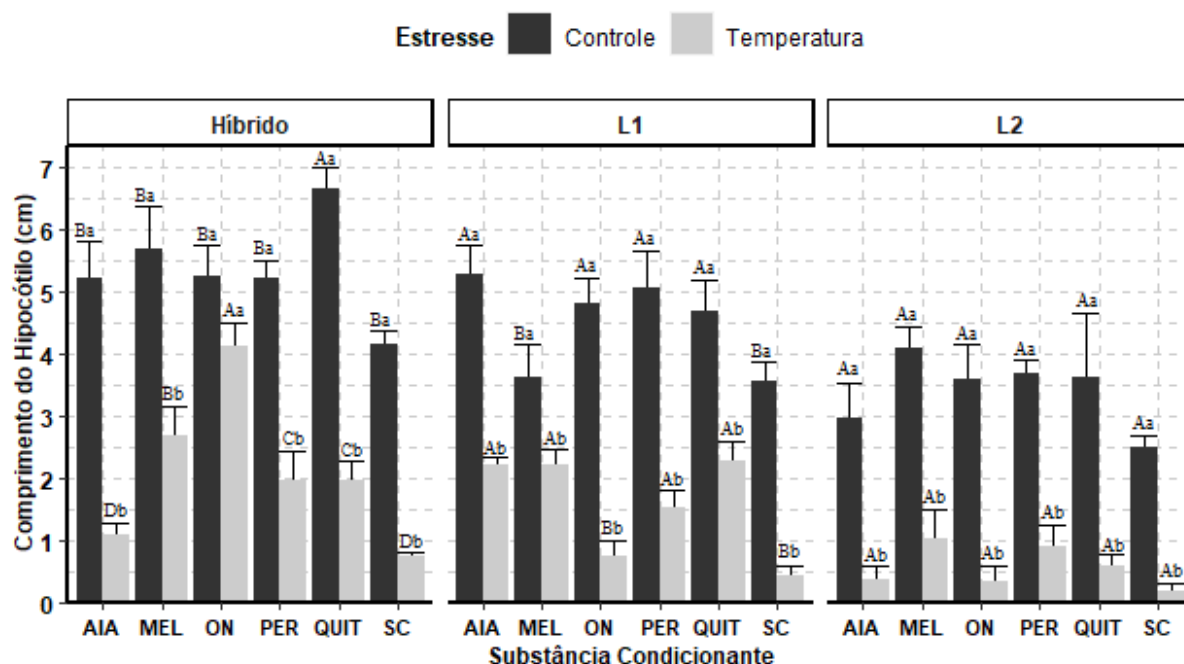
Na análise das linhagens 1 e 2, observou-se que o controle alcançou resultados satisfatórios com a aplicação das substâncias condicionantes. Notavelmente, na linhagem 2, as moléculas de AIA e MEL sobressaíram em relação a esse atributo específico, evidenciando sua eficácia como agentes condicionantes nesse contexto experimental.

As temperaturas abaixo ou acima do ótimo durante a germinação afetam principalmente, sementes de menor vigor, resultando em atraso na emergência das plântulas. Essas condições adversas interferem nos processos metabólicos e no desenvolvimento inicial das sementes, impactando negativamente seu potencial de germinação e resultando em plântulas anormais (Carvalho; Nakagawa, 2012).

Desse modo, ao considerar a relação entre os dados de vigor e o comprimento do coleóptilo, observa-se uma concordância nos resultados obtidos. Tanto o híbrido quanto a linhagem L1 apresentaram estruturas morfológicas de maior tamanho em comparação com a

L2. Ademais, os estresses ambientais impactam negativamente o desenvolvimento do coleóptilo, como evidenciado na Figura 5.

Figura 5 – Comprimento do coleóptilo de três materiais de milho (Híbrido, L1 e L2), submetidos ao condicionamento fisiológico nas soluções de ácido indolacético (AIA), melatonina (MEL), óxido nítrico (ON), peróxido de hidrogênio (PER), quitosana (QUIT) e sem condicionante (SC), e analisados em condição normal (controle) e alta temperatura. Lavras, 2024.



Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes e minúscula entre condições estressantes, (dentro de um mesmo material), não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

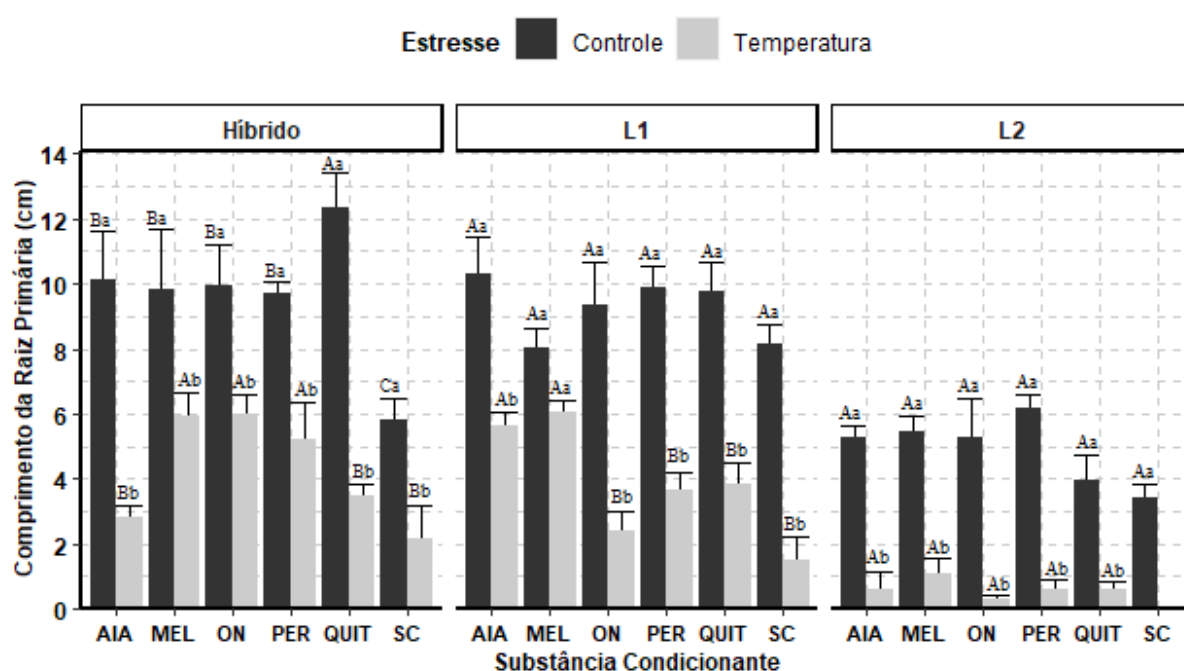
Fonte: Da autora (2024).

Na análise comparativa, observou-se que o híbrido manifestou uma resposta mais favorável diante da aplicação de QUIT no controle e ON no contexto de estresse por alta temperatura. Por sua vez, a linhagem L1 obteve significativos benefícios com a utilização das substâncias condicionantes, exceto nos casos de MEL no controle e ON no estresse por alta temperatura, onde seu desempenho foi menos destacado.

O processo germinativo de sementes expostas a temperaturas elevadas resulta em embebição, no entanto, o crescimento inicial do embrião e o estabelecimento das plântulas sofrem impactos negativos (Akter; Islam, 2017). Estudos conduzidos por Marini *et al.* (2012) constataram uma diminuição no comprimento tanto da parte aérea quanto das raízes das plântulas de arroz submetidas a altas temperaturas.

Os dados apresentados nas figuras 5 e 6 revelam uma correlação significativa em vários aspectos. Em sementes do híbrido, a QUIT se sobressaiu na condição de controle e além do ON, a MEL e o PER se destacaram na condição de estresse. Na L1, o AIA e MEL continuaram fornecendo bons resultados em contraste com SC.

Figura 6 – Comprimento da raiz primária de três materiais de milho (Híbrido, L1 e L2), submetidos ao condicionamento fisiológico nas soluções de ácido indolacético (AIA), melatonina (MEL), óxido nítrico (ON), peróxido de hidrogênio (PER), quitosana (QUIT) e sem condicionante (SC), e analisados em condição normal (controle) e alta temperatura. Lavras, 2024.



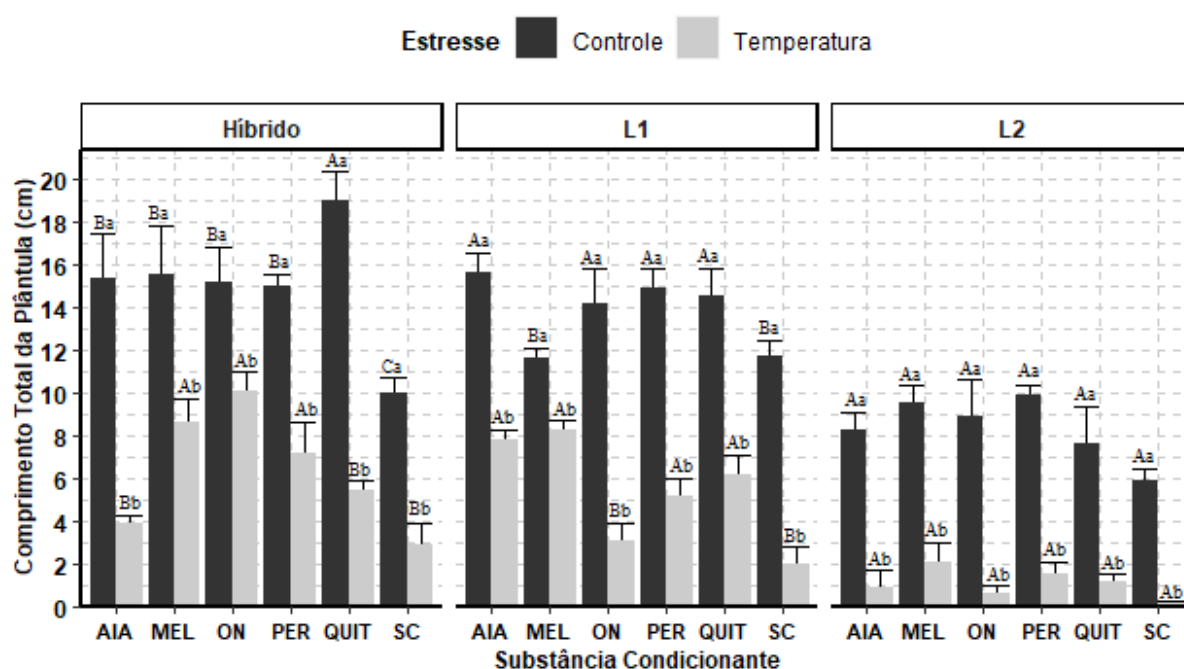
Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes e minúscula entre condições estressantes, (dentro de um mesmo material), não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2024).

A formação de raízes laterais é uma estratégia das plantas de adaptação diante de condições desfavoráveis sendo altamente regulada por processos intrínsecos, ambientais e hormonais. A auxina desempenha um papel crucial, ativando a divisão celular assimétrica das células para promover o desenvolvimento das raízes laterais (Ivanchenko et al., 2010. Estudos indicam que a melatonina pode influenciar a formação de raízes laterais em *Arabidopsis* de maneira independente da sinalização de auxina (Ivanchenko; Napsucialy-Mendivil; Dubrovsky, 2010; Pelagio-Flores *et al.*, 2012).

Os resultados do comprimento total da plântula refletem a mesma distribuição mostrada no comprimento do coleóptilo, destacando a manutenção do equilíbrio entre o desenvolvimento da raiz e da parte aérea (Figura 7).

Figura 7 – Comprimento total da plântula de três materiais de milho (Híbrido, L1 e L2), submetidos ao condicionamento fisiológico nas soluções de ácido indolacético (AIA), melatonina (MEL), óxido nítrico (ON), peróxido de hidrogênio (PER), quitosana (QUIT) e sem condicionante (SC), e analisados em condição normal (controle) e alta temperatura. Lavras, 2024.



Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes e minúscula entre condições estressantes, (dentro de um mesmo material), não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2024).

A análise dos resultados de largura de raiz e razão raiz/coleóptilo, conforme apresentados na Tabela 1, revelou a ausência de uma interação tripla entre os fatores estudados. Em vez disso, foi observada uma interação significativa entre o material e o estresse, bem como entre o condicionamento e o estresse, especialmente em relação à largura da raiz.

Além disso, a interação entre o material e o estresse foi relevante para a razão raiz/coleóptilo. Apesar do impacto dos estressores no desenvolvimento da largura da raiz, as substâncias condicionantes demonstraram influência sobre esse caráter. Destaca-se que tanto o híbrido quanto a linhagem L1 exibiram os melhores valores nas características analisadas.

Tabela 1 – Largura da raiz primária e razão raiz: coleóptilo de três materiais de milho (Híbrido, L1 e L2), submetidos ao condicionamento fisiológico nas soluções de ácido indolacético (AIA), melatonina (MEL), óxido nítrico (ON), peróxido de hidrogênio (PER), quitosana (QUIT) e sem condicionante (SC), e analisados em condição normal (controle), restrição hídrica e salina. Lavras, 2024.

Substância	Largura da raiz		Razão raiz / coleóptilo	
	Controle	Temperatura	Controle	Temperatura
AIA	0,14 Aa	0,12 Aa	Aa	Aa
MEL	0,14 Aa	0,11 Aa	Aa	Aa
ON	0,13 Aa	0,10 Ab	Aa	Aa
PER	0,14 Aa	0,11 Ab	Aa	Aa
QUIT	0,15 Aa	0,12 Aa	Aa	Aa
SC	0,14 Aa	0,04 Bb	Aa	Aa
Híbrido	0,15 Aa	0,14 Aa	1,78 Bb	2,38 Aa
L1	0,15 Aa	0,12 Ab	2,15 Aa	2,48 Aa
L2	0,12 Ba	0,04 Bb	1,42 Ba	0,51 Bb
CV (%)	35,04		57,11	

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes ou material e minúscula entre condições estressantes, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2024).

Explorando agora a vertente da análise bioquímica, não se constatou a presença de uma interação tripla entre os fatores estudados para a variável peróxido de hidrogênio. Em vez disso, foi direcionado o foco para a investigação da interação significativa entre o material das amostras e o condicionamento a que foram submetidas, bem como entre o condicionamento e o estresse (Tabela 2).

Níveis elevados de espécies reativas de oxigênio (EROs) podem desencadear o estresse oxidativo, no entanto, em níveis adequados, podem ser benéficos para o processo de germinação de sementes. As EROs desempenham um papel crucial na quebra da dormência das sementes e na indução da germinação, possivelmente através da promoção da produção de ácido giberélico (GA) e da modificação de proteínas de reserva (Mittler, 2017).

Tabela 2 – Quantificação de peróxido de hidrogênio de três materiais de milho (Híbrido, L1 e L2), submetidos ao condicionamento fisiológico nas soluções de ácido indolacético (AIA), melatonina (MEL), óxido nítrico (ON), peróxido de hidrogênio (PER), quitosana (QUIT) e sem condicionante (SC), e analisados em condição normal (controle), restrição hídrica e salina. Lavras, 2024.

Substância	Híbrido	L1	L2	Controle	Temperatura
AIA	1,77 Bb	0,07 Cc	3,41 Aa	1,90 Ba	1,60 Ca
MEL	2,84 Aa	0,14 Cb	2,78 Aa	2,11 Ba	1,73 Cb
ON	3,10 Aa	2,37 Bb	2,08 Bb	2,10 Bb	2,93 Aa
PER	2,81 Aa	2,22 Bb	3,15 Aa	2,81 Aa	2,63 Aa
QUIT	3,08 Aa	0,23 Cb	3,17 Aa	2,17 Ba	2,15 Ba
SC	3,23 Aa	2,93 Aa	2,27 Bb	2,76 Aa	2,86 Aa
CV (%)	16,52				

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes e minúscula entre material ou condições estressantes, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2024).

Ao analisar a medição do peróxido de hidrogênio, foi observado que o material L1 foi o mais responsivo ao condicionamento fisiológico. Por outro lado, as sementes da L2 já apresentavam sinais iniciais de deterioração antes da realização dos ensaios, o que influenciou nos resultados obtidos neste estudo.

Com o envelhecimento, a vitalidade das sementes diminui progressivamente, tornando-as mais suscetíveis ao estresse durante a germinação. Em muitos casos, a oxidação dos tecidos se eleva e a atividade enzimática diminui devido à deterioração das sementes, levando à ineficácia dos mecanismos de defesa (Bewley *et al.*, 2013).

O AIA proporcionou redução do nível de peróxido nas plântulas do híbrido e L1, nas duas condições de germinação. Além disso, na L1 a MEL e a QUIT responderam melhor que as outras substâncias, o que também foi observado na L2 com ON. Pelas condições propostas, a MEL, ON e QUIT cumpriram seu papel quando submetidas a condição normal de germinação e MEL submetida ao estresse de temperatura.

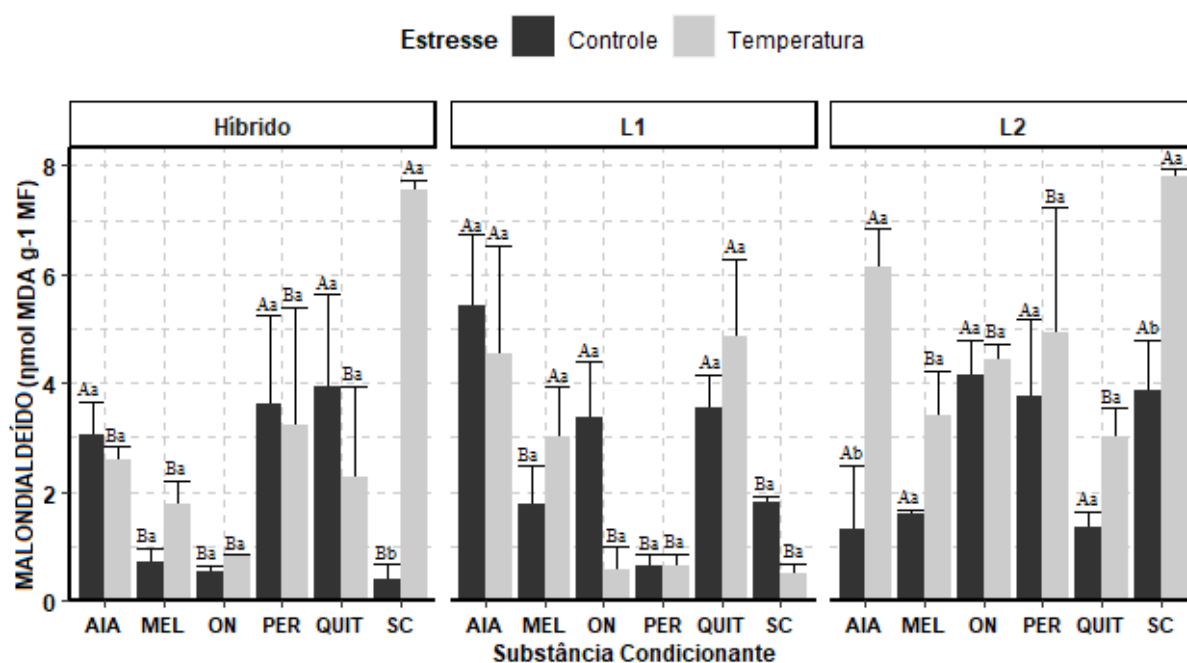
As taxas de acumulação de H_2O_2 em peroxissomos e cloroplastos são significativamente maiores do que nas mitocôndrias, chegando a ser de 30 a 100 vezes mais elevadas. A formação de espécies reativas de oxigênio nas mitocôndrias não é tão afetada pela luz. No entanto, a atividade dos sistemas de transporte de elétrons pode ser afetada pela luz, alterando a atividade da oxidase alternativa. Essas oxidases influenciam a geração de espécies reativas de oxigênio e são cruciais para a sobrevivência celular sob estresse (Hossain *et al.*, 2015).

A melatonina desempenha um papel significativo na eliminação de espécies reativas de oxigênio e é regulada por mudanças ambientais. O triptofano é essencial como precursor da biossíntese da melatonina. Além disso, a melatonina sintetizada exerce uma ampla gama de funções no crescimento das plantas, incluindo melhoria da germinação, controle do período de floração, tamanho do grão e retardamento da senescência (Rajora *et al.*, 2022).

Os estresses influenciaram a degradação da membrana no tratamento SC, mas certas substâncias foram capazes de atenuar esses efeitos adversos. Farouk (2011) notou uma diminuição na produção de MDA e H_2O_2 com a aplicação exógena de ácido ascórbico e α -Toc em plantas de trigo.

Neste trabalho, todas as moléculas contribuíram para prevenir o estresse oxidativo decorrente de altas temperaturas no híbrido. Da mesma forma, em L2, houve benefícios com o uso das moléculas aplicadas, exceto no caso de AIA (Figura 8).

Figura 8 – Quantificação de malondialdeído em plântulas de três materiais de milho (Híbrido, L1 e L2), submetidos ao condicionamento fisiológico nas soluções de ácido indolacético (AIA), melatonina (MEL), óxido nítrico (ON), peróxido de hidrogênio (PER), quitosana (QUIT) e sem condicionante (SC), e analisados em condição normal (controle), restrição hídrica e salina. Lavras, 2024.



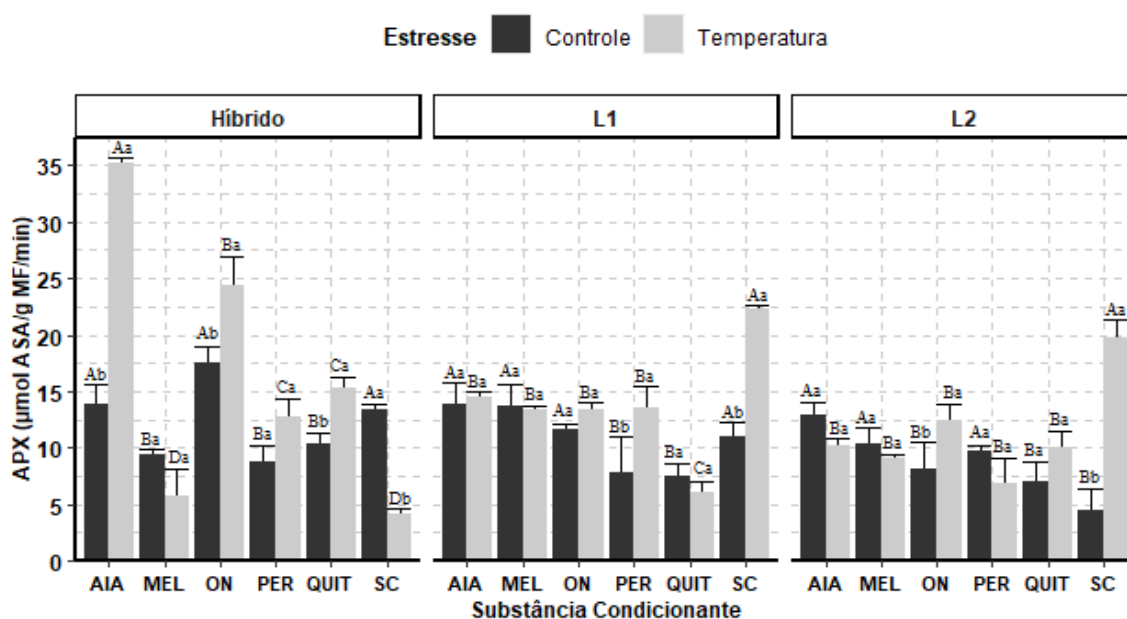
Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes e minúscula entre condições estressantes, (dentro de um mesmo material), não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2024).

O aumento de espécies reativas de oxigênio e peroxidação lipídica deve ser contrabalançado pelo sistema antioxidante da semente para manter as EROs em níveis adequados durante a transmissão do sinal. A associação desses fatores é notável, e as sementes condicionadas apresentam um aumento na atividade de enzimas antioxidantes devido à ativação pelos EROs, o que contribui para a promoção da germinação de sementes (Chandrasekaran *et al.*, 2020).

O aumento da atividade da ascorbato peroxidase em condições de estresse, na ausência de priming, indica que quando a planta é exposta a condições instáveis, ela busca mecanismos para lidar com as adversidades (Figura 9). O AIA foi a substância que mais ativou a atividade da APX nos tratamentos.

Figura 9 – Quantificação de ascorbato peroxidase em plântulas de três materiais de milho (Híbrido, L1 e L2), submetidos ao condicionamento fisiológico nas soluções de ácido indolacético (AIA), melatonina (MEL), óxido nítrico (ON), peróxido de hidrogênio (PER), quitosana (QUIT) e sem condicionante (SC), e analisados em condição normal (controle), restrição hídrica e salina. Lavras, 2024.



Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes e minúscula entre condições estressantes, (dentro de um mesmo material), não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2024).

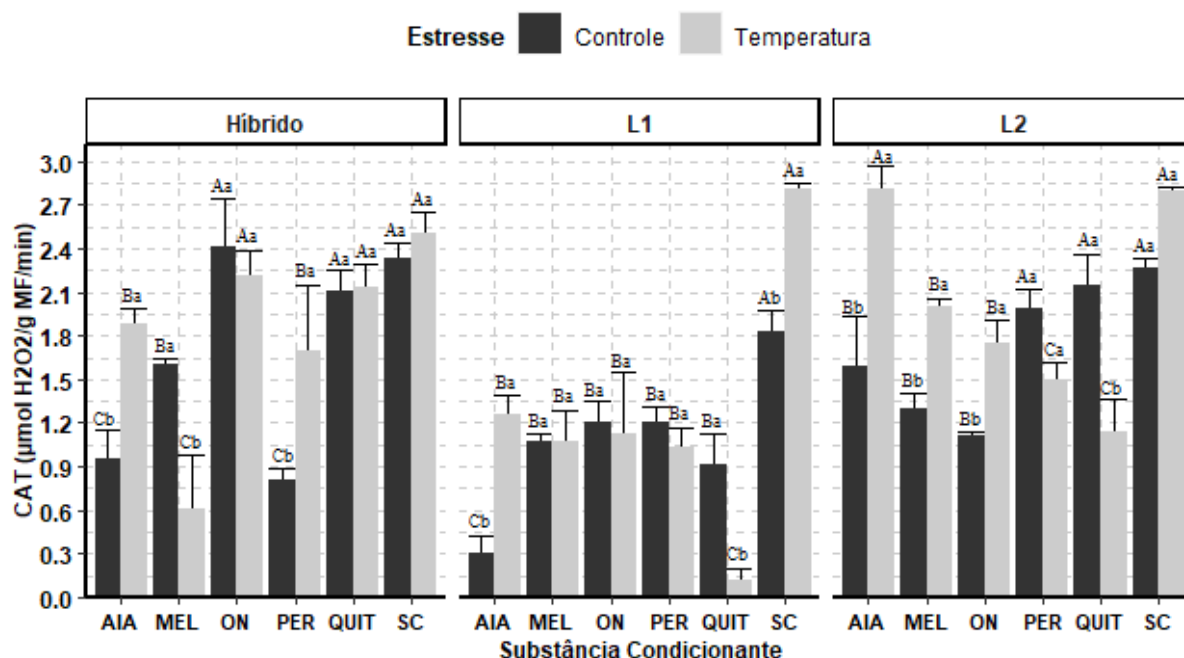
A combinação do teste de germinação, comprimento do coleóptilo e raiz primária e comprimento total da planta, com os dados encontrados para APX, confirma a expressão da enzima no híbrido tratado com AIA, na L1 tratada com AIA, MEL e ON e na linhagem 2 tratada

com AIA, MEL e PER, ambas na condição normal. Outros aspectos positivos da ascorbato peroxidase foram identificados, porém, eles não se alinham com os dados mencionados anteriormente.

As ascorbato peroxidases (APXs) estão presentes em diferentes compartimentos subcelulares, como cloroplastos, mitocôndrias, peroxissomos e citosol, onde atuam como defesa antioxidante (Jardim-Messeder *et al.*, 2018). Nos cloroplastos, são responsáveis por eliminar o H_2O_2 utilizando NADPH e o transporte de elétrons fotossintético via ferredoxina como redutor final. Estudos mais detalhados revelam que a expressão das APXs é induzida pelo H_2O_2 e também é regulada por outras condições que resultam em aumento deste, como alta luminosidade e temperaturas extremas (Smirnoff; Arnaud, 2019).

Da mesma forma que a ascorbato peroxidase, o aumento da atividade da catalase em condições de estresse, sem a aplicação de priming, representa um sinal fisiológico imediato da planta, ativando seu sistema antioxidante como mecanismo de defesa (Figura 10).

Figura 10 – Quantificação de catalase em plântulas de três materiais de milho (Híbrido, L1 e L2), submetidos ao condicionamento fisiológico nas soluções de ácido indolacético (AIA), melatonina (MEL), óxido nítrico (ON), peróxido de hidrogênio (PER), quitosana (QUIT) e sem condicionante (SC), e analisados em condição normal (controle), restrição hídrica e salina. Lavras, 2024.



Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes e minúscula entre condições estressantes, (dentro de um mesmo material), não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

As catalases com taxas de renovação mais altas são capazes de converter aproximadamente 6 milhões de moléculas de peróxido de hidrogênio em água e oxigênio por minuto utilizando apenas uma molécula de CAT. Esse alto poder de conversão destaca a eficácia e a importância da catalase na neutralização do peróxido de hidrogênio, ajudando a proteger as células contra danos oxidativos (Gill; Tuteja, 2010).

Ao relacionar os resultados do teste de germinação, comprimento do coleóptilo e da raiz primária, e comprimento total da planta com os dados da catalase, foi observada a expressão da enzima com o tratamento de QUIT no híbrido sob condições normais e com ON na condição de estresse. Na linhagem 2, a expressão foi observada com PER sob condições de controle. Embora tenham sido identificados outros aspectos positivos da catalase, estes não se alinham com os dados mencionados anteriormente.

Um sistema antioxidante, que inclui elementos tanto enzimáticos quanto não enzimáticos, desempenha um papel crucial na mitigação dos efeitos nocivos das espécies reativas de oxigênio (ERO). Portanto, alguns resultados poderiam ser explicados pelo sistema antioxidante não enzimático (Shah *et al.*, 2021).

O estudo realizado por Hidangmayum *et al.* (2023) revela que tanto o condicionamento de sementes quanto à aplicação foliar de quitosana em genótipos de feijão resultaram em melhorias significativas em todos os parâmetros estudados. Essa melhoria foi observada por meio do aumento das enzimas antioxidantes como SOD, CAT e APX em plantas submetidas a estresse hídrico.

Além da quitosana, o ON pode ser amplamente utilizado para ativação do sistema antioxidante por poder reagir com ácidos nucleicos, proteínas e lipídios, e sua fácil difusão através de membranas biológicas contribui para sua atividade e alcance (Ciacka *et al.*, 2022).

Por fim, ao analisar a última enzima estudada, a interação tripla dos fatores para a variável superóxido dismutase não foi identificada. Portanto, foi analisada a interação significativa entre material versus estresse, e o feito simples do fator condicionamento. Os maiores valores de SOD foram encontrados para a L1 no controle e para a MEL dentre as substâncias condicionantes (Tabela 3).

A superóxido dismutase (SOD) é amplamente presente e representa um antioxidante enzimático intracelular muito eficaz, fornecendo a primeira linha de defesa contra os efeitos tóxicos de altos níveis de espécies reativas de oxigênio e contribuindo para a melhoria da tolerância ao estresse das plantas (Dai *et al.*, 2017). No estudo de Shah *et al.* (2021), tanto o nano-priming quanto o hidro-priming demonstraram aumentar a atividade da SOD tanto em condições normais quanto sob estresse.

Tabela 3 – Quantificação de superóxido dismutase de três materiais de milho (Híbrido, L1 e L2), submetidos ao condicionamento fisiológico nas soluções de ácido indolacético (AIA), melatonina (MEL), óxido nítrico (ON), peróxido de hidrogênio (PER), quitosana (QUIT) e sem condicionante (SC), e analisados em condição normal (controle), restrição hídrica e salina. Lavras, 2024.

Substância	Híbrido		L1		L2		Média
	Controle	Temp	Controle	Temp	Controle	Temp	
AIA	13,80	13,22	56,78	12,33	0,49	15,45	18,68 B
MEL	33,40	21,70	55,21	7,90	60,07	15,92	32,37 A
ON	20,16	13,59	24,08	19,42	15,03	11,87	17,36 B
PER	14,52	8,27	31,63	12,45	15,55	7,89	15,05 B
QUIT	19,68	13,63	27,93	15,77	7,00	19,73	17,29 B
SC	57,68	22,95	52,99	44,86	9,93	38,79	37,87 A
Média	26,54 Ba	15,56 Aa	41,44 Aa	18,79 Ab	18,01 Ba	18,28 Aa	
CV (%)	76,77						

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na coluna entre soluções condicionantes, maiúscula na linha entre materiais dentro de estresse e minúscula na linha entre condições estressantes, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2024).

As moléculas sinalizadoras podem agir em conjunto para mitigar os efeitos das condições adversas. A melatonina é uma dessas moléculas associadas à germinação de sementes sob estresse. Análises de sequenciamento de RNA revelaram sua associação com os fitohormônios ABA, GA e auxina. Estudos adicionais mostraram uma interação complexa, onde ABA e melatonina sinergizam para inibir a germinação, enquanto GA e auxina antagonizam esse efeito, evidenciando a complexidade das respostas das plantas ao estresse (Lv *et al.*, 2021).

À vista disso, para compreender com precisão as funções das substâncias utilizadas no condicionamento fisiológico e sua dosagem na regulação da germinação de sementes, são necessários estudos futuros que investiguem mais os mecanismos moleculares e fisiológicos. O conhecimento adquirido até o momento abre caminho para essas descobertas e contribui para avanços significativos na agricultura e na compreensão dos processos de germinação das sementes sob condições adversas.

4 CONCLUSÃO

A utilização de peróxido de hidrogênio e ácido indol-3-acético via condicionamento fisiológico resulta em significativo incremento na qualidade fisiológica das sementes de milho, submetidas à altas temperaturas.

O condicionamento fisiológico das sementes, mesmo em condições favoráveis ao crescimento das plantas, apresenta maior uniformidade dos parâmetros germinativos.

O condicionamento fisiológico de sementes de milho, na presença de moléculas sinalizadoras para a indução de tolerância à altas temperaturas, é eficiente em promover a taxa e a velocidade de germinação, o desenvolvimento de plântulas, assim como a diminuição de plântulas anormais, da concentração de H_2O_2 e da peroxidação lipídica, além de aumentar a atividade das enzimas antioxidantes, catalase, ascorbato peroxidase, superóxido dismutase.

As enzimas antioxidantes têm o papel de preservar as sementes contra o estresse oxidativo e podem ser ativadas por diferentes agentes condicionantes.

A técnica de priming surge como uma ferramenta promissora, simples e acessível para impulsionar a produtividade agrícola diante dos desafios das mudanças climáticas e outros estresses ambientais.

REFERÊNCIAS

- AKTER, Nurunnaher; ISLAM, M. Rafiqul. Heat stress effects and management in wheat. A review. **Agronomy for sustainable development**, v. 37, p. 1-17, 2017.
- ASHRAF, Muhammad Arslan *et al.* Recent advances in abiotic stress tolerance of plants through chemical priming: an overview. **Advances in seed priming**, p. 51-79, 2018.
- BARYLA, A. *et al.* Evaluation of lipid peroxidation as a toxicity bioassay for plants exposed to copper. **Environmental Pollution**, v. 109, n. 1, p. 131-135, 2000.
- BATISTA, Thiago Barbosa *et al.* Priming and stress under high humidity and temperature on the physiological quality of *Brachiaria brizantha* cv. MG-5 seeds. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 38, p. 123-127, 2016.
- BEWLEY, J. D. *et al.* **Seeds: physiology of development, germination and dormancy.** Springer, 3. ed., 2013.
- BHOWMICK, Malay K. Seed priming: a low-cost technology for resource-poor farmers in improving pulse productivity. *In*: RAKSHIT, A.; SINGH, H. B. **Advances in seed priming.** Springer, p. 187-208, 2018.
- BIEMELT, Sophia; KEETMAN, Ulrich; ALBRECHT, Gerd. Re-aeration following hypoxia or anoxia leads to activation of the antioxidative defense system in roots of wheat seedlings. **Plant Physiology**, v. 116, n. 2, p. 651-658, 1998.
- BRASIL. Regras para análise de sementes. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, 399 p., 2009.
- BUEGE, J.A. Microsomal lipid peroxidation. **Methods in enzymology**, v.52, p. 302-310, 1978.
- CAO, Qingjun *et al.* Seed priming with melatonin improves the seed germination of waxy maize under chilling stress via promoting the antioxidant system and starch metabolism. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 15044, 2019.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. Sementes: ciência, tecnologia e produção. **FUNEP**, 5. ed., 590 p., 2012.
- CHANDRASEKARAN, Umashankar *et al.* Are there unidentified factors involved in the germination of nanoprimered seeds?. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 832, 2020.
- CIACKA, Katarzyna *et al.* Nitric oxide in seed biology. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 23, p. 14951, 2022.
- DAI, Ling-Yan *et al.* Seed priming mitigates the effects of saline-alkali stress in soybean seedlings. **Chilean journal of agricultural research**, v. 77, n. 2, p. 118-125, 2017.
- FAROUK, S. Ascorbic acid and α -tocopherol minimize saltinduced wheat leaf senescence. **Journal of Stress Physiology & Biochemistry**, v. 7, n. 3, p. 58-79, 2011.

GIANNOPOLITIS, Constantine N.; RIES, Stanley K. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. **Plant physiology**, v. 59, n. 2, p. 309-314, 1977.

GILL, Sarvajeet Singh; TUTEJA, Narendra. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant physiology and biochemistry**, v. 48, n. 12, p. 909-930, 2010.

HAVIR, Evelyn A.; MCHALE, Neil A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant physiology**, v. 84, n. 2, p. 450-455, 1987.

HIDANGMAYUM, Akash *et al.* Seed priming and foliar application of chitosan ameliorate drought stress responses in mungbean genotypes through modulation of morpho-physiological attributes and increased antioxidative defense mechanism. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 42, n. 10, p. 6137-6154, 2023.

HOSSAIN, Mohammad A. *et al.* Hydrogen peroxide priming modulates abiotic oxidative stress tolerance: insights from ROS detoxification and scavenging. **Frontiers in plant science**, v. 6, p. 420, 2015.

IVANCHENKO, Maria G.; NAPSUCIALY-MENDIVIL, Selene; DUBROVSKY, Joseph G. Auxin-induced inhibition of lateral root initiation contributes to root system shaping in *Arabidopsis thaliana*. **The Plant Journal**, v. 64, n. 5, p. 740-752, 2010.

JARDIM-MESSEDER, Douglas *et al.* Thylakoidal APX modulates hydrogen peroxide content and stomatal closure in rice (*Oryza sativa* L.). **Environmental and experimental botany**, v. 150, p. 46-56, 2018.

LUTTS, Stanley *et al.* Seed priming: new comprehensive approaches for an old empirical technique. In: ARAUJO, S.; BALESTRAZZI, A. New challenges in seed biology-basic and translational research driving seed technology. **Intech**, v. 46, n. 10.5772, p. 1-46, 2016.

LV, Yan *et al.* Melatonin inhibits seed germination by crosstalk with abscisic acid, gibberellin, and auxin in *Arabidopsis*. **Journal of pineal research**, v. 70, n. 4, p. e12736, 2021.

MAO, Chunli *et al.* Nitric oxide regulates seedling growth and mitochondrial responses in aged oat seeds. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 4, p. 1052, 2018.

MARINI, Patrícia *et al.* Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de arroz submetidas ao estresse térmico. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, p. 722-730, 2012.

MITTLER, Ron. ROS are good. **Trends in plant science**, v. 22, n. 1, p. 11-19, 2017.

NAKANO, Yoshiyuki; ASADA, Kozi. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and cell physiology**, v. 22, n. 5, p. 867-880, 1981.

PALLAORO, Dryelle Sifuentes *et al.* Priming corn seeds with plant growth regulator. **Journal of Seed Science**, v. 38, n. 03, p. 227-232, 2016.

PELAGIO-FLORES, Ramón *et al.* Melatonin regulates *Arabidopsis* root system architecture likely acting independently of auxin signaling. **Journal of Pineal Research**, v. 53, n. 3, p. 279-288, 2012.

RAJORA, Nitika *et al.* Seed priming with melatonin: A promising approach to combat abiotic stress in plants. **Plant Stress**, v. 4, p. 100071, 2022.

SAKATA, Tadashi *et al.* Auxins reverse plant male sterility caused by high temperatures. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 19, p. 8569-8574, 2010.

SHAH, Tariq *et al.* Seed priming with titanium dioxide nanoparticles enhances seed vigor, leaf water status, and antioxidant enzyme activities in maize (*Zea mays* L.) under salinity stress. **Journal of King Saud University-Science**, v. 33, n. 1, p. 101207, 2021.

SMIRNOFF, Nicholas; ARNAUD, Dominique. Hydrogen peroxide metabolism and functions in plants. **New phytologist**, v. 221, n. 3, p. 1197-1214, 2019.

VELIKOVA, V.; YORDANOV, I.; EDREVA, A. J. P. S. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. **Plant science**, v. 151, n. 1, p. 59-66, 2000.

VOGEL, Elisabeth *et al.* The effects of climate extremes on global agricultural yields. **Environmental Research Letters**, v. 14, n. 5, p. 054010, 2019.

CAPÍTULO 4

DESEMPENHO FISIOLÓGICO DAS SEMENTES DE MILHO: IMPACTO DO CONDICIONAMENTO DURANTE O ARMAZENAMENTO

RESUMO

A redução da produtividade devido ao estresse abiótico é uma preocupação significativa na agricultura. O priming, uma técnica de pré-condicionamento das sementes, tem emergido como uma solução promissora para mitigar os efeitos ambientais adversos. O condicionamento das sementes visa melhorar a germinação e o crescimento das plantas. No entanto, o armazenamento prolongado das sementes pode reduzir a eficácia desse tratamento devido à deterioração natural ao longo do tempo. Portanto, é importante considerar o tempo e as condições de armazenamento para garantir que a semente condicionada mantenha sua viabilidade e potencial germinativo por períodos prolongados. Desse modo, objetivou-se com o presente trabalho avaliar os efeitos de períodos de armazenamento na eficácia do tratamento de condicionamento aplicado previamente em sementes de milho sob diferentes condições de germinação. Portanto, visou-se verificar a possibilidade de armazenamento de sementes de milho previamente acondicionadas. O experimento foi conduzido no Laboratório Central de Pesquisa em Sementes da Universidade Federal de Lavras em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. Foram avaliadas isoladamente sementes condicionadas com três substâncias sinalizadoras, sendo elas, peróxido de hidrogênio, nitroprussiato de sódio e quitosana. Utilizou-se esquema fatorial 5x4, representando cinco épocas de armazenamento e quatro condições de germinação. Foi avaliada a primeira contagem, germinação, número de plântulas anormais, comprimento do coleóptilo e comprimento da raiz primária. A análise estatística dos dados foi realizada pelo software R[®]. As médias foram submetidas à análise de variância e, quando significativas, aplicou-se teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. O peróxido de hidrogênio e a quitosana aplicados às sementes imediatamente antes da semeadura, demonstraram benefícios, promovendo vigor, comprimento da parte aérea e radicular. No entanto, durante a análise dos períodos de armazenamento, o óxido nítrico apresentou uma diminuição menos acentuada na vitalidade das sementes condicionadas. É crucial destacar que o armazenamento prolongado das sementes condicionadas pode levar à deterioração de sua capacidade de germinação, um processo influenciado por diversos fatores, incluindo temperatura, umidade, condições de armazenamento e substâncias químicas utilizadas no condicionamento. Esses aspectos destacam a relevância de práticas adequadas de conservação e estudos mais aprofundados para garantir a qualidade e a viabilidade das sementes ao longo do tempo.

Palavras-chave: armazenabilidade; deterioração; estresse abiótico; priming; secagem; *Zea mays* L.

PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL ANALYSIS OF CORN SEEDS CONDITIONED AND SUBMITTED TO HIGH TEMPERATURES

SUMMARY

The reduction in productivity due to abiotic stress is a significant concern in agriculture. Priming, a seed pre-conditioning technique, has emerged as a promising solution to mitigate adverse environmental effects. Seed conditioning aims to enhance germination and plant growth. However, prolonged seed storage can reduce the efficacy of this treatment due to natural deterioration over time. Therefore, it is important to consider storage time and conditions to ensure that conditioned seeds maintain their viability and germination potential over extended periods. This study aimed to evaluate the effects of storage periods on the efficacy of previously applied conditioning treatments on corn seeds under different germination conditions. Thus, it sought to verify the possibility of storing pre-conditioned corn seeds. The experiment was conducted at the Central Seed Research Laboratory of the Federal University of Lavras in a completely randomized design with four replications. Seeds conditioned with three signaling substances - hydrogen peroxide, sodium nitroprusside, and chitosan- were evaluated separately. A 5x4 factorial scheme was used, representing five storage periods and four germination conditions. First count, germination, number of abnormal seedlings, coleoptile length, and primary root length were assessed. Statistical analysis of the data was performed using R[®] software. Means were subjected to analysis of variance, and when significant, the Scott-Knott test was applied at a 5% probability level. Hydrogen peroxide and chitosan applied to seeds immediately before sowing demonstrated benefits by promoting vigor and the length of both the aerial part and the roots. However, during the storage period analysis, nitric oxide showed a less pronounced decrease in the vitality of conditioned seeds. It is crucial to highlight that prolonged storage of conditioned seeds can lead to deterioration in their germination capacity, a process influenced by various factors, including temperature, humidity, storage conditions, and the chemical substances used in conditioning. These aspects underscore the importance of appropriate conservation practices and further studies to ensure seed quality and viability over time.

Keywords: storability; deterioration; abiotic stress; priming; drying; *Zea mays* L.

1 INTRODUÇÃO

No cenário da agricultura global, o processo de estabelecimento de culturas inicia-se com a semeadura, sendo este o ponto de partida fundamental para o desenvolvimento das plantas no campo. A habilidade de as mudas se estabelecerem com sucesso é um marco, pois influencia diretamente a produtividade agrícola. A importância da qualidade das sementes para a produção agrícola e segurança alimentar frente às alterações climáticas encontra respaldo em diversos estudos científicos (Finch-Savage; Bassel, 2016).

O avanço no entendimento do vigor, maturação e deterioração das sementes tem sido fundamental para a agricultura moderna, permitindo o desenvolvimento de abordagens mais eficazes na conservação e no manejo dessas importantes estruturas vegetais (Marcos Filho, 2015). Nesse contexto, o estudo das técnicas de priming surge como uma ferramenta promissora, e compreender o seu efeito no armazenamento de sementes pode representar um passo significativo na melhoria da qualidade e da longevidade das sementes.

A longevidade das sementes é caracterizada pela sua capacidade de permanecer viável após o armazenamento em condições secas. Alguns agricultores tradicionalmente reservam parte de sua produção agrícola, como sementes, para o plantio na próxima estação, muitas vezes armazenadas em ambientes desfavoráveis (Kumar *et al.*, 2021).

Ao longo do armazenamento, as sementes estão expostas a danos oxidativos induzidos por espécies reativas de oxigênio (EROs). A extensão da deterioração durante as condições de armazenamento varia de acordo com as características do tipo de semente. Esses danos têm impacto significativo na viabilidade e no vigor das sementes ao longo do período de armazenamento (Kurek; Plitta-Michalak; Ratajczak, 2019).

No contexto do condicionamento de sementes, é fundamental cessar o tratamento de hidratação antes que a tolerância à dessecação seja comprometida. Isso permite que as sementes sejam submetidas à secagem adequada, preparando-as para atividades de armazenamento, distribuição e plantio subsequentes (Bose *et al.*, 2018).

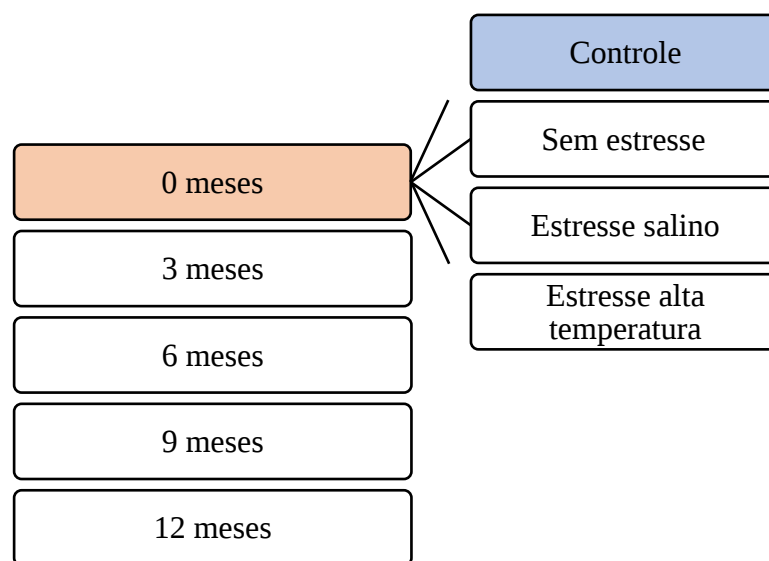
Desse modo, objetivou-se com o presente trabalho avaliar os efeitos de períodos de armazenamento na eficácia do tratamento de condicionamento aplicado previamente em sementes de milho sob diferentes condições de germinação. Portanto, visou-se verificar a possibilidade de armazenamento de sementes de milho previamente acondicionadas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram conduzidos no Laboratório Central de Pesquisa em Sementes (LCPS) do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras – MG, em 2021 e 2022. Foram utilizadas sementes de milho do híbrido GNHSEX2, pertencente ao programa de melhoramento genético de milho da UFLA. As sementes foram adquiridas na safra 2017/2018 e armazenadas em câmara fria sob condições ótimas de umidade e temperatura até montagem do experimento.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. Foram avaliadas isoladamente sementes condicionadas com três substâncias sinalizadoras, sendo elas, peróxido de hidrogênio, nitroprussiato de sódio e quitosana. Utilizou-se esquema fatorial 5x4, representando cinco épocas de armazenamento e quatro condições de germinação, sendo a condição controle feita sem aplicação de substância e submetida a germinação na condição normal (Figura 1).

Figura 1 – Esquema fatorial utilizado no ensaio.



Fonte: Da autora (2024).

2.1 Análise fisiológica

A qualidade inicial dos lotes de sementes foi determinada por meio da avaliação do teor de água, pelo método da estufa a 105 °C (Brasil, 2009) e por testes de germinação e vigor, conforme estabelecido na RAS.

Para a instalação dos testes, as sementes de milho foram lavadas em água corrente para eliminar o tratamento químico e não influenciar no condicionamento fisiológico. Através do

peso de mil grãos do híbrido foi depositado, aproximadamente 70 g de semente nos erlenmeyers contendo 400 mL de solução. Esses valores foram padronizados através de testes que verificaram o movimento das sementes, sem haver extravasamento da solução no erlenmeyer de 500 mL.

Depois dos preparos iniciais, as sementes foram submetidas ao processo de condicionamento, em soluções aeradas de peróxido de hidrogênio (0,1 mM), solução doadora de óxido nítrico - nitroprussiato de sódio (0,1 mM) e quitosana (0,75 mM), em BOD adaptada a temperatura de 24°C, por período de 24 horas (Pallaoro *et al.*, 2016).

Após o condicionamento, as sementes foram lavadas em água corrente e o excesso de água foi removido em papel toalha. As sementes foram secadas por 48 horas, em estufa com circulação forçada de ar sem aquecimento. Após esse período, a estufa foi regulada para 25 °C e as sementes sem condicionamento também foram colocadas na estufa, a fim de uniformizar o teor de água entre as sementes de todos os tratamentos. O processo durou até as sementes atingirem aproximadamente 12% de umidade.

Posteriormente, as sementes de cada tratamento foram acondicionadas em embalagem permeável de papel kraft duplo (80 g.saco⁻¹ aproximadamente). As sementes, nas suas respectivas embalagens, foram mantidas em câmara fria, com temperatura controlada de 10 a 12 °C e umidade de 40 a 50%. A qualidade das sementes foi avaliada em cinco períodos de armazenamento (0, 3, 6, 9 e 12 meses).

Em cada período de armazenamento, as sementes foram submetidas ao teste de germinação em condição controlada. A semeadura foi realizada com quatro repetições de 50 sementes. Cada repetição foi semeada sobre duas folhas de papel germitest e sobrepostas com mais uma folha, as quais foram umedecidas com volume de água destilada, equivalente a 2,5 vezes o peso seco do papel (Brasil, 2009).

As sementes submetidas à germinação na condição normal (controle e sem estresse) e de salinidade, permaneceram em germinador tipo Mangelsdorf regulado a temperatura de 25 °C, com luz contínua. As sementes avaliadas na condição de alta temperatura, ficaram em câmaras tipo B.O.D. em temperatura de 38-25 °C, com fotoperíodo de 8-16 horas, respectivamente, para simular condição de campo em alta temperatura. A primeira contagem foi realizada aos 4 dias e a contagem final aos 7 dias após a semeadura juntamente com número de plântulas anormais (Brasil, 2009).

Para a análise de imagens de plântulas, foram utilizadas 25 sementes por tratamento. A semeadura foi realizada nas mesmas condições do teste de germinação. As imagens das

plântulas foram obtidas aos 4 dias após a montagem do teste, equivalente ao período de primeira contagem de germinação para a cultura do milho (Brasil, 2009).

Para a captura das imagens foi utilizado o sistema GroundEye[®], versão S800, composto por um módulo de captação que possui uma bandeja de acrílico, uma câmera de alta resolução e um software integrado para avaliação. As plântulas foram retiradas do papel germitest e inseridas na bandeja do módulo de captação para a obtenção das imagens. Na etapa de configuração da análise foi utilizada a calibração da cor de fundo, índice de luminosidade, dimensão “a” e dimensão “b”. Depois da calibração da cor do fundo foi feita a análise das imagens e extraído valores de comprimento da raiz primária, comprimento de parte aérea, largura média da raiz primária, comprimento total da plântula e a razão do comprimento da raiz pelo comprimento da parte aérea.

A análise estatística dos dados foi realizada pelo software R[®]. As médias foram submetidas à análise de variância e, quando significativas, aplicou-se teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

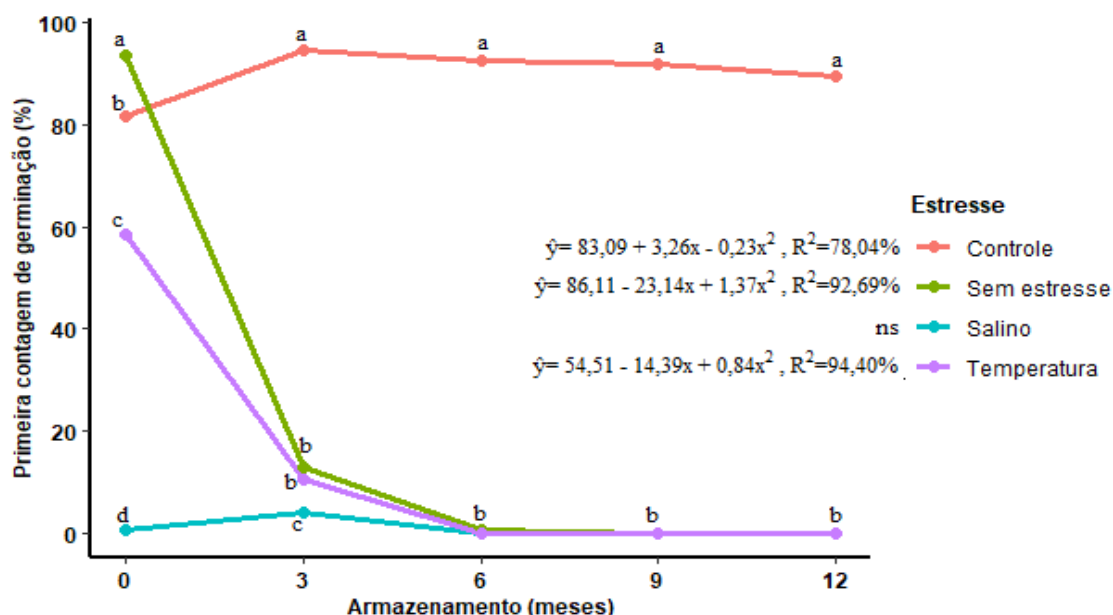
Durante todas as avaliações realizadas, foi observada uma resposta significativa no desempenho fisiológico das sementes, ao comparar as diferentes épocas de armazenamento e as condições de germinação, bem como a interação entre esses fatores.

Ao desdobrar a interação do tipo de estresse em cada nível de armazenamento foi proposto o teste de Scott-Knott para comparar as médias. O desdobramento inverso, armazenamento dentro de cada nível de estresse, retorna modelos polinomiais de regressão, que foram selecionados com base no coeficiente de determinação (R^2) e p valor do efeito do modelo.

Quanto maior o coeficiente de determinação (R^2), mais o modelo é capaz de explicar a variação dos dados, indicando um ajuste mais preciso à amostra analisada. Esse índice revela a eficácia do modelo em capturar e descrever a relação entre as variáveis (Chein, 2019). No geral, os modelos explicaram muito bem a variação dos dados.

A semente sem condicionamento e submetida a condição normal de germinação (controle) manteve os níveis de vigor acima de 80% durante os cinco períodos de armazenamento (Figuras 2, 3 e 4).

Figura 2 – Porcentagem da primeira contagem de germinação (vigor) de sementes submetidas ao condicionamento com peróxido de hidrogênio e avaliadas em cinco épocas de armazenamento e quatro condições de germinação. Lavras, 2024.



Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. ns: não significativo.

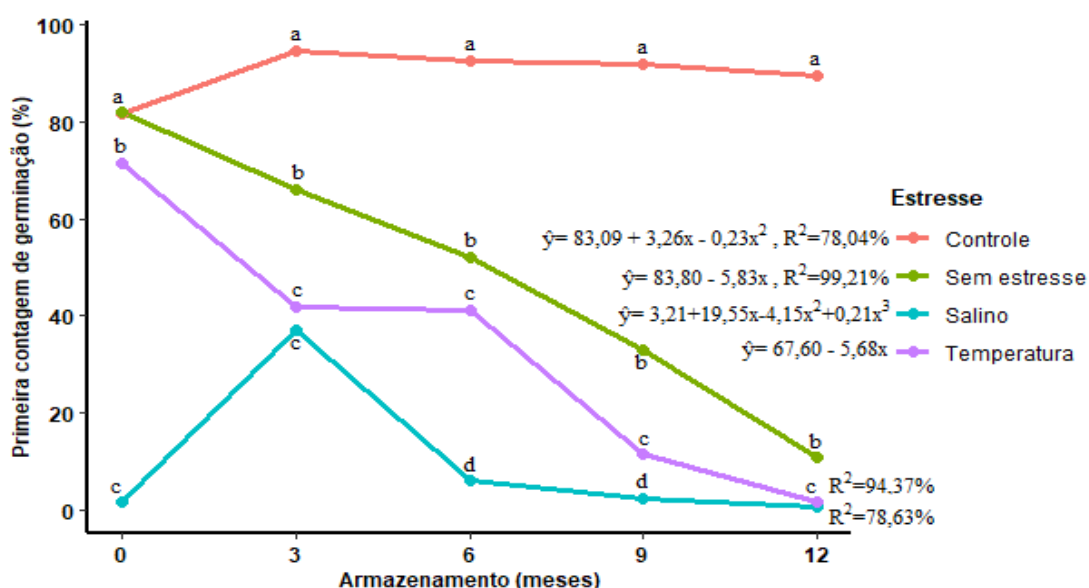
Fonte: Da autora (2024).

Entretanto, o armazenamento das sementes condicionadas favoreceu a redução de vigor das sementes, principalmente para o PER. A embalagem que guardava as sementes tratadas com PER foi acidentalmente rasgada e o ocorrido pode ter influenciado no resultado encontrado (Figura 2).

No que diz respeito à aplicação de nitroprussiato de sódio, a condição de alta temperatura e condição normal de germinação demonstraram um decréscimo linear quando o tempo de armazenamento foi aumentando. Na situação de estresse salino, o efeito do priming não foi eficiente em nenhuma época de armazenamento (Figura 3).

De acordo com Rivera *et al.* (2011), em experimentos com milho doce, a imersão das sementes em uma solução de ácido giberélico resultou em melhorias significativas na viabilidade e no vigor, mantendo-se eficaz até os 60 dias de armazenamento. Com o passar do tempo de armazenamento, o ácido giberélico perde gradualmente sua eficácia em melhorar o desempenho das sementes.

Figura 3 – Porcentagem da primeira contagem de germinação (vigor) de sementes submetidas ao condicionamento com nitroprussiato de sódio e avaliadas em cinco épocas de armazenamento e quatro condições de germinação. Lavras, 2024.



Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

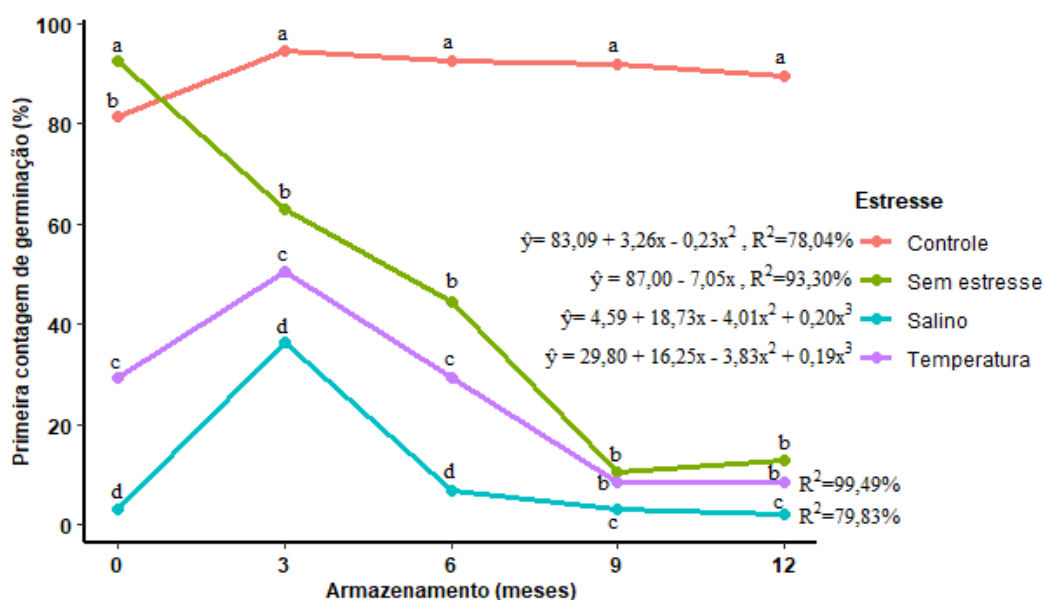
Fonte: Da autora (2024).

A utilização de priming com os agentes PER e QUIT sobre as sementes em condição sem estresse, seguida pela imediata semeadura, demonstrou trazer vantagens substanciais para o vigor das sementes em contraste com o controle (Figuras 2 e 4).

Além do mais, o tratamento com quitosana ativou uma memória de defesa antioxidante das sementes após três meses de armazenamento, quando submetidas aos estresses abióticos (Figura 4).

O priming é uma técnica empregada na agricultura para otimizar a fase inicial do cultivo, beneficiando a sementeira, a germinação e o desenvolvimento das plântulas sob diversas condições de campo. O condicionamento consiste em modificar o vigor e/ou o estado fisiológico das sementes para melhor estabelecimento das plantas (Bose *et al.*, 2018).

Figura 4 – Porcentagem da primeira contagem de germinação (vigor) de sementes submetidas ao condicionamento com quitosana e avaliadas em cinco épocas de armazenamento e quatro condições de germinação. Lavras, 2024.



Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

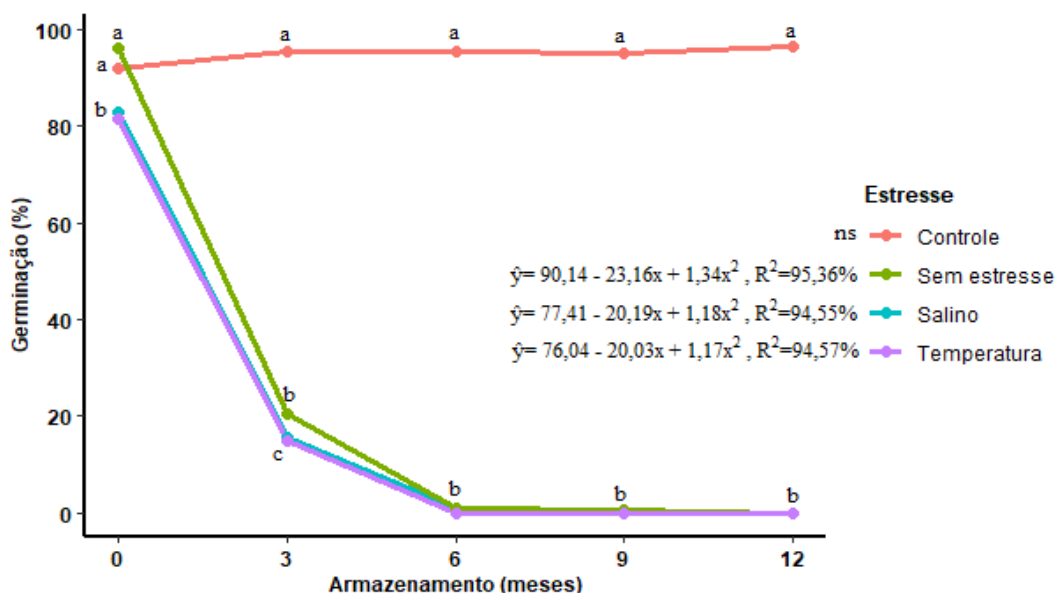
Fonte: Da autora (2024).

As sementes condicionadas com PER e submetidas aos estresses, tiveram uma germinação acima de 80% no estágio inicial do teste (Figura 5), apesar do atraso na germinação visto na figura 2. No entanto, o comportamento subsequente referente aos 3, 6, 9 e 12 meses de armazenamento foi o mesmo da primeira contagem de germinação, mostrando um decréscimo na porcentagem de germinação das sementes.

O armazenamento de sementes pode levar à perda de sua capacidade de germinação ao longo do tempo, devido à oxidação dos lipídios presentes nas reservas de armazenamento e nas membranas celulares. Esse processo de deterioração é influenciado por fatores como temperatura, umidade e tempo de armazenamento, sendo essencial o controle adequado dessas

condições para preservar a viabilidade das sementes por períodos mais longos (Kaewnaree *et al.*, 2011; Oenel *et al.*, 2017).

Figura 5 – Porcentagem de germinação de sementes submetidas ao condicionamento com peróxido de hidrogênio e avaliadas em cinco épocas de armazenamento e quatro condições de germinação. Lavras, 2024.



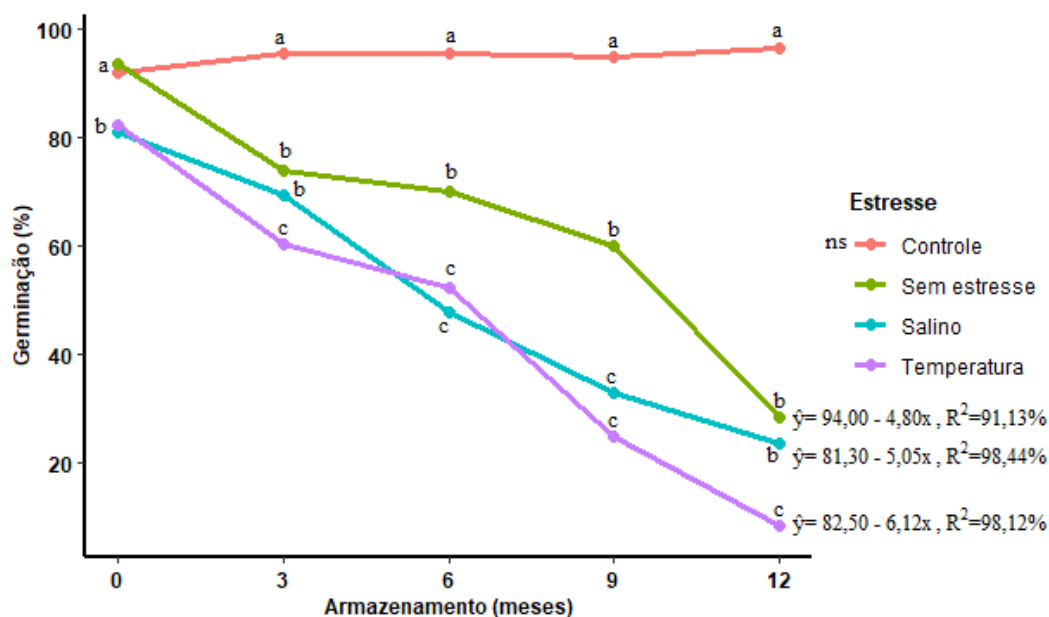
Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. ns: não significativo.

Fonte: Da autora (2024).

Ao analisar a taxa de germinação de sementes condicionadas com as outras substâncias avaliadas, pode-se concluir que, o uso de nitroprussiato retornou maiores valores de germinação do que a quitosana (Figuras 6 e 7).

É amplamente reconhecido que o óxido nítrico desempenha um papel fundamental em processos fisiológicos, exercendo uma função protetora direta nas células ao formar peroxinitrito e também agindo como uma molécula sinalizadora para induzir a tolerância ao estresse. Além disso, estudos demonstram que o NO tem a capacidade de aumentar o conteúdo de ácido abscísico (ABA) e induzir o fechamento dos estômatos, contribuindo para a regulação do equilíbrio hídrico (Liu *et al.*, 2014; Dinler; Antoniou; Fotopoulos, 2014).

Figura 6 – Porcentagem de germinação de sementes submetidas ao condicionamento com nitroprussiato de sódio e avaliadas em cinco épocas de armazenamento e quatro condições de germinação. Lavras, 2024.



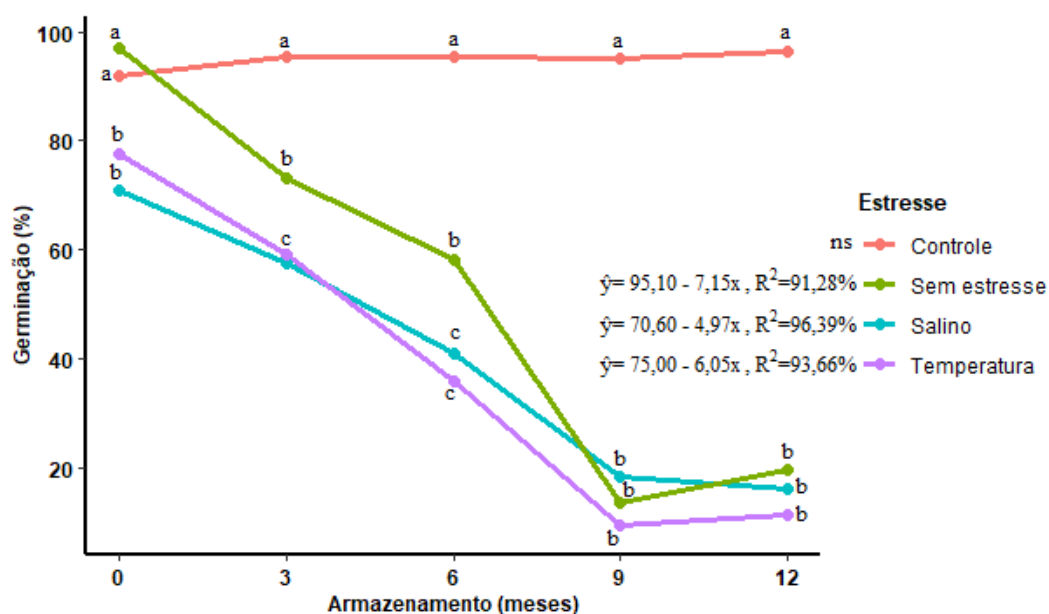
Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. ns: não significativo.

Fonte: Da autora (2024).

Observações sobre a porcentagem de germinação revelam uma influência direta e semelhante dos tratamentos ON e QUIT sobre o processo germinativo ao longo do período de avaliação. A análise desses dados evidencia uma tendência consistente de redução da característica, mantendo-se em uma taxa constante à medida que o tempo transcorre (Figuras 6 e 7).

No estudo realizado por Chiu, Chen e Sung (2002), as sementes de milho doce condicionadas em matriz sólida foram submetidas a diferentes temperaturas de armazenamento ao longo de até 12 meses. Os resultados revelaram que o priming proporcionou melhorias significativas na germinação das sementes, reduzindo a peroxidação lipídica e aumentando as atividades antioxidantes. No entanto, observou-se uma diminuição na longevidade das sementes preparadas a 20 °C quando armazenadas a 25 °C por um período de 12 meses.

Figura 7 – Porcentagem de germinação de sementes submetidas ao condicionamento com quitosana e avaliadas em cinco épocas de armazenamento e quatro condições de germinação. Lavras, 2024.



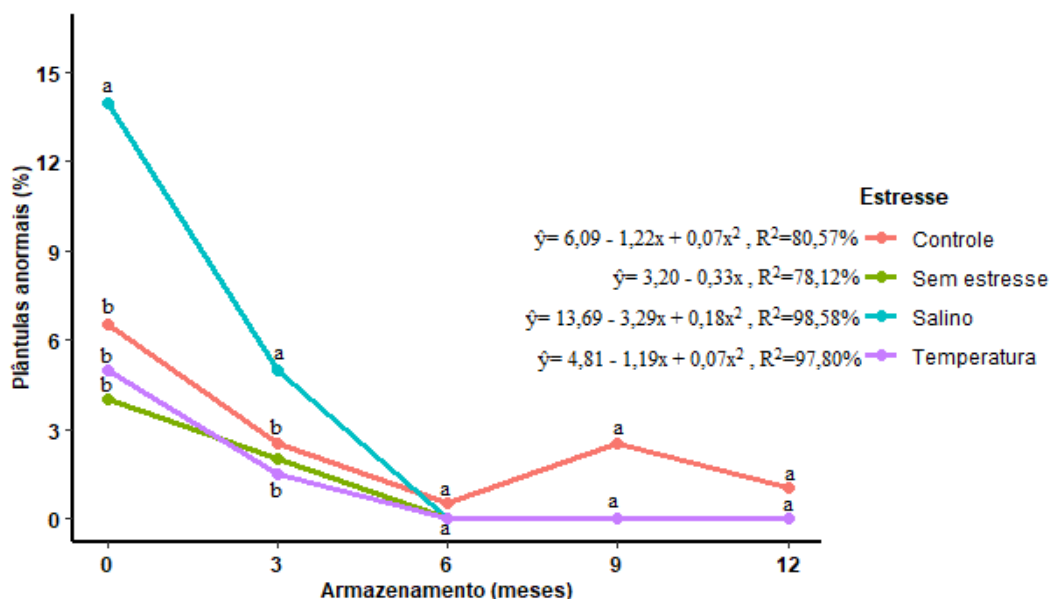
Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. ns: não significativo.

Fonte: Da autora (2024).

Os estresses abióticos e também o tempo de armazenamento de sementes condicionadas podem influenciar a porcentagem de plântulas anormais. Além disso, o estresse salino proporcionou o maior número de plântulas anormais, mesmo com o uso dos diferentes agentes condicionantes, conforme visto nas figuras 8, 9 e 10.

A salinidade do solo pode impactar a germinação das sementes ao criar um potencial osmótico extremamente baixos ao redor das sementes, dificultando a absorção de água. Além disso, os efeitos tóxicos dos íons Na^+ e Cl^- podem afetar negativamente as sementes em germinação e desenvolvimento de plântula (Jisha; Vijayakumari; Puthur, 2013).

Figura 8 – Porcentagem de plântulas anormais advindas de sementes submetidas ao condicionamento com peróxido de hidrogênio e avaliadas em cinco épocas de armazenamento e quatro condições de germinação. Lavras, 2024.

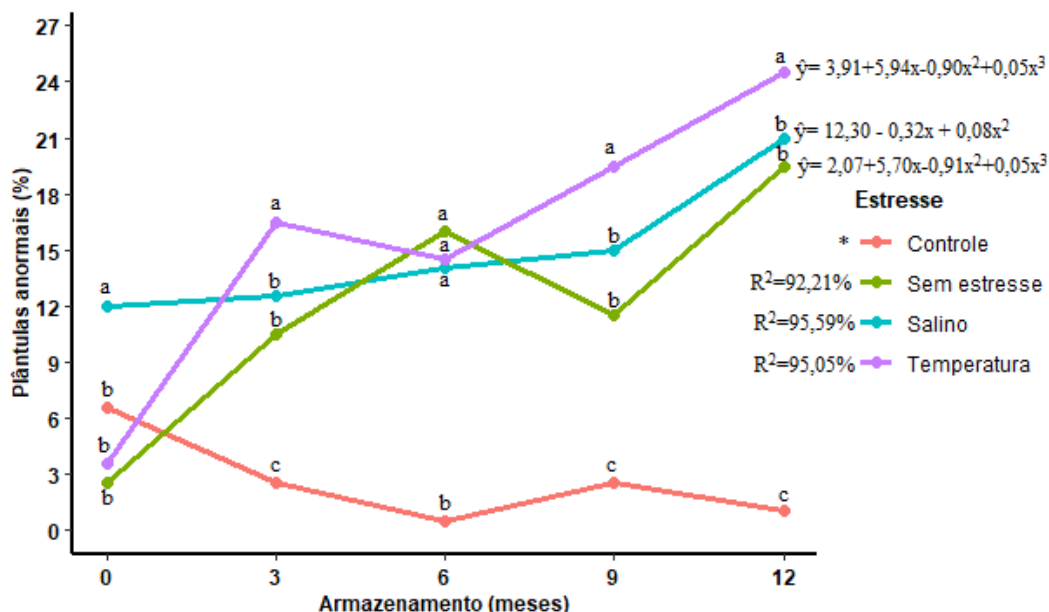


Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2024).

Verificou-se um aumento significativo na taxa de plântulas anormais em resposta ao armazenamento das sementes tratadas com nitroprussiato de sódio. Este fenômeno indica uma deterioração progressiva da qualidade das sementes ao longo do tempo de armazenamento. Os dados obtidos com a aplicação de nitroprussiato de sódio apresentaram características distintas em relação às outras moléculas investigadas, evidenciando uma taxa de mortalidade de sementes significativamente menor quando essa substância foi utilizada (Figura 9).

Figura 9 – Porcentagem de plântulas anormais advindas de sementes submetidas ao condicionamento com nitroprussiato de sódio e avaliadas em cinco épocas de armazenamento e quatro condições de germinação. Lavras, 2024.



Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.
*Significativo a 5% de probabilidade, porém nenhum modelo de regressão se ajusta.

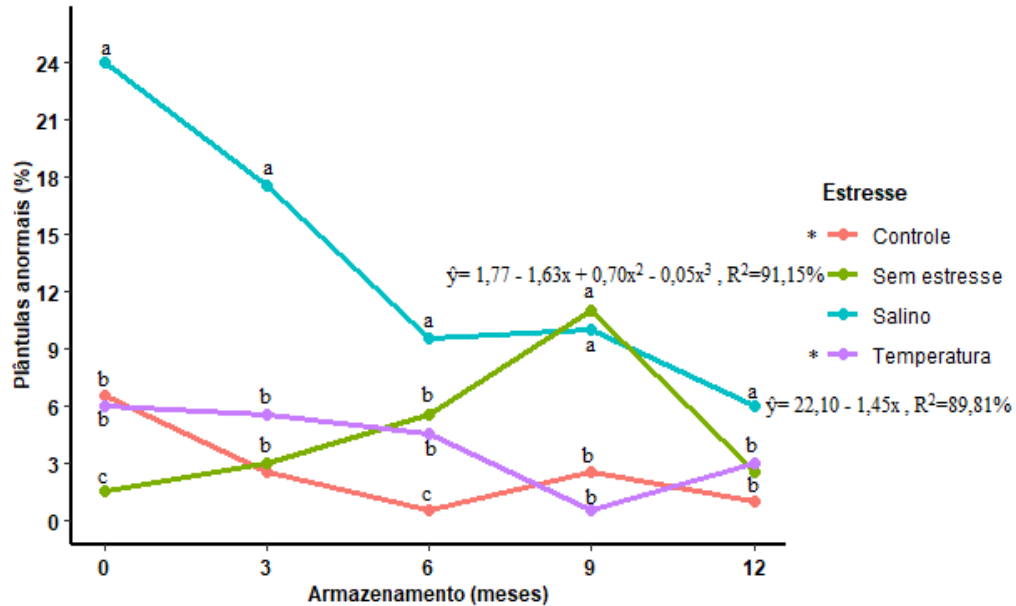
Fonte: Da autora (2024).

Um resultado promissor foi a redução na porcentagem de plântulas atípicas com a utilização do sinalizador quitosana, na condição sem estresse em comparação com o controle (Figura 10).

O condicionamento de sementes, revela-se como uma estratégia para aprimorar a resposta adaptativa das células aos estresses ambientais, particularmente no que se refere à integridade do DNA. Os estudos demonstram que o priming pode também desencadear a ativação de proteínas sinalizadoras específicas e fatores de transcrição. Esses eventos molecularmente coordenados contribuem para uma resposta de tolerância ao estresse por mais tempo (Louis; Dhankher; Puthur, 2023).

Em situações em que os processos de reparo são menos eficientes do que a ocorrência de danos oxidativos, é possível notar a presença de plântulas anormais e, em casos mais graves, a morte das sementes. Este último cenário foi particularmente evidenciado nos tratamentos com os agentes PER e QUIT, em que os maiores períodos de armazenamento resultaram em uma deterioração significativa da viabilidade das sementes (Figuras 8 e 10).

Figura 10 – Porcentagem de plântulas anormais advindas de sementes submetidas ao condicionamento com quitosana e avaliadas em cinco épocas de armazenamento e quatro condições de germinação. Lavras, 2024.



Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. ns: não significativo. *Significativo a 5% de probabilidade, porém nenhum modelo de regressão se ajusta.

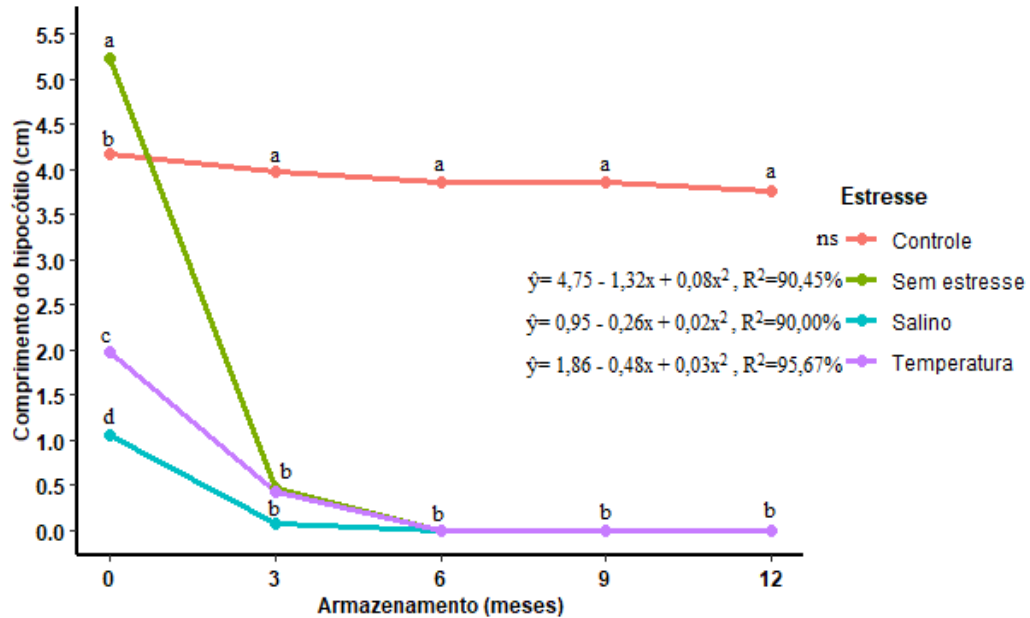
Fonte: Da autora (2024).

Em estudo conduzido por Oliveira *et al.* (2014), observou-se também que a germinação de sementes de milho doce em substrato com polietileno glicol 6000 e cloreto de potássio está associada a um aumento na ocorrência de plântulas anormais, especialmente com a redução do potencial osmótico do meio de cultura.

Ao examinar os componentes morfológicos das plantas, como o comprimento da parte aérea e da raiz, constata-se uma coerência nos resultados quando comparados com os dados do teste de germinação.

A análise gráfica do comprimento da parte aérea de sementes tratadas com PER revelou uma tendência semelhante àquela observada na primeira contagem de germinação, conforme ilustrado na Figura 2. Esse resultado sugere uma relação direta entre o desenvolvimento do coleótilo das plântulas e o vigor das sementes (Figura 11).

Figura 11 – Comprimento do coleóptilo advindo de sementes submetidas ao condicionamento com peróxido de hidrogênio e avaliadas em cinco épocas de armazenamento e quatro condições de germinação. Lavras, 2024.



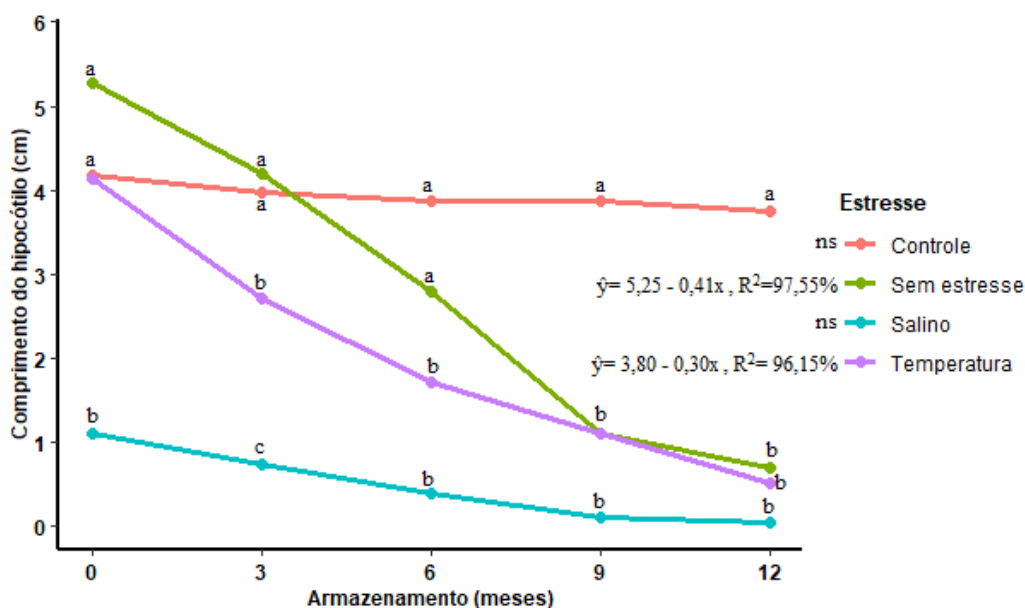
Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. ns: não significativo.

Fonte: Da autora (2024).

O comprimento da parte aérea das sementes de milho tratadas com nitroprussiato de sódio diminuiu à medida que cresceram os níveis de armazenamento (Figura 12), contudo, a redução foi mais acentuada quando se utilizou o PER, em relação ao ON e QUIT.

O estudo realizado por Pallaoro *et al.* (2016) demonstra que o hidrocondicionamento das sementes de milho, independentemente do uso de reguladores vegetais, compromete sua resistência durante o armazenamento.

Figura 12 – Comprimento do coleóptilo advindo de sementes submetidas ao condicionamento com nitroprussiato de sódio e avaliadas em cinco épocas de armazenamento e quatro condições de germinação. Lavras, 2024.

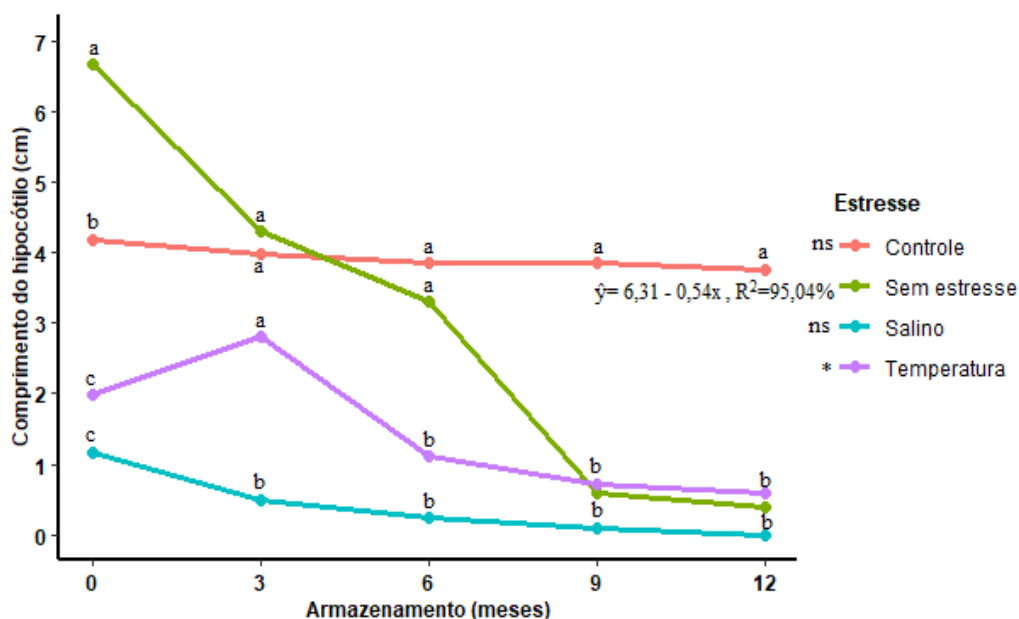


Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. ns: não significativo.

Fonte: Da autora (2024).

Foi constatado que a grande parte dos tipos de estresse resulta na diminuição da absorção de água pelas sementes durante o processo de germinação. Adicionalmente, a reduzida disponibilidade de água nos tecidos demonstra influenciar significativamente o alongamento celular, exercendo assim um impacto considerável no crescimento do embrião e na subsequente emergência das mudas (Bose *et al.*, 2018).

Figura 13 – Comprimento do coleóptilo advindo de sementes submetidas ao condicionamento com quitosana e avaliadas em cinco épocas de armazenamento e quatro condições de germinação. Lavras, 2024.



Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. ns: não significativo. *Significativo a 5% de probabilidade, porém nenhum modelo de regressão se ajusta.

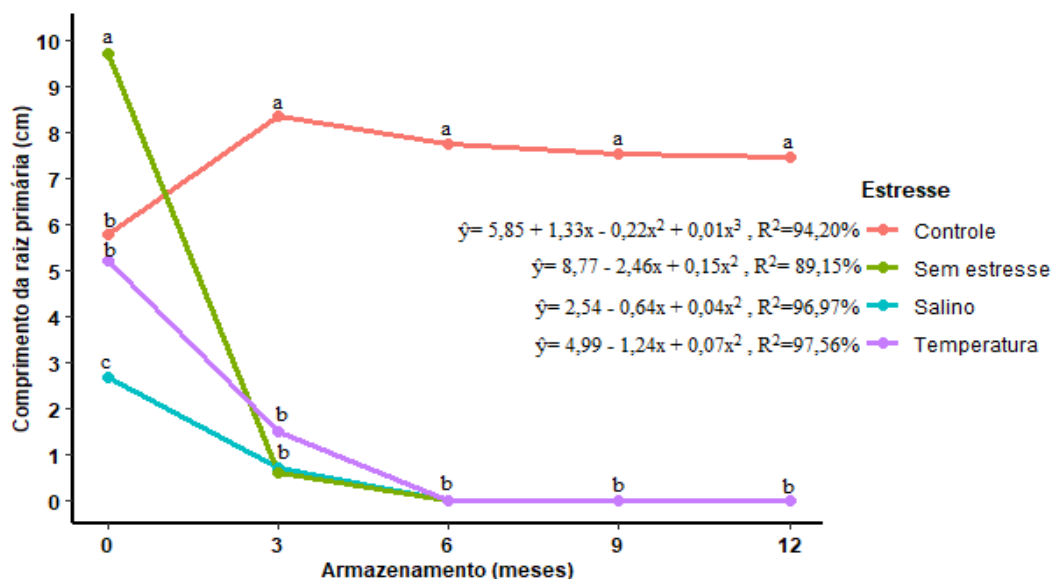
Fonte: Da autora (2024).

A análise de regressão dos dados de comprimento da parte aérea em função das épocas de armazenamento propiciou resposta quadrática para PER e linear para ON e QUIT, na condição sem estresse, com ponto de mínima no 12º mês de armazenamento.

O comprimento da parte aérea advindo de sementes submetidas ao condicionamento com peróxido de hidrogênio diminuiu em 98,5% do período de 0 para 3 meses de armazenamento (Figura 11). Para a substância nitroprussiato de sódio, a redução do parâmetro durante o armazenamento foi de 23,4; 46,8; 70,3 e 93,7%. Para a quitosana, a redução durante os meses de avaliação foi de 25,7; 51,3; 77,0 e 100%.

Em concordância com as conclusões de Wang *et al.* (2018), a análise dos parâmetros de crescimento de plântulas de arroz sujeitas a condições de armazenamento em temperatura ambiente por 15 dias demonstrou uma redução significativa. Houve uma diminuição notável no comprimento e peso fresco da raiz, assim como no comprimento e peso fresco da parte aérea das mudas de arroz.

Figura 14 – Comprimento da raiz primária advinda de sementes submetidas ao condicionamento com peróxido de hidrogênio e avaliadas em cinco épocas de armazenamento e quatro condições de germinação. Lavras, 2024.

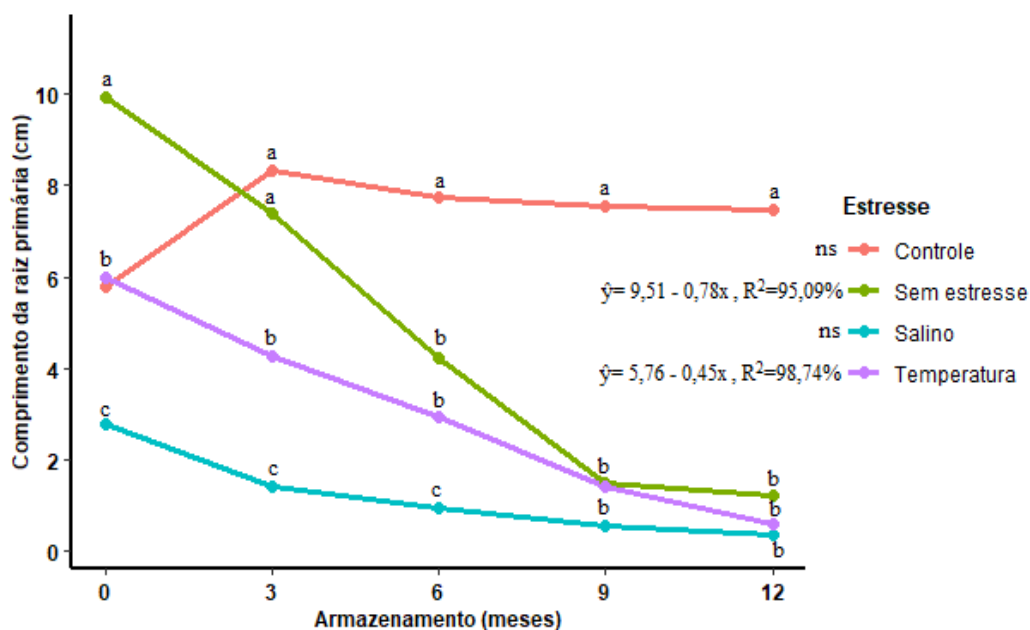


Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2024).

A pesquisa de Hussain *et al.* (2015) verificou que o armazenamento de sementes condicionadas de arroz a 25 °C acarretou efeitos significativamente prejudiciais sobre a germinação e o crescimento inicial das plântulas. Observou-se que o armazenamento das sementes por 210 dias a 25 °C resultou em uma redução acentuada na atividade da α -amilase e nos níveis de açúcares solúveis totais em cultivares de arroz.

Figura 15 – Comprimento da raiz primária advinda de sementes submetidas ao condicionamento com nitroprussiato de sódio e avaliadas em cinco épocas de armazenamento e quatro condições de germinação. Lavras, 2024.



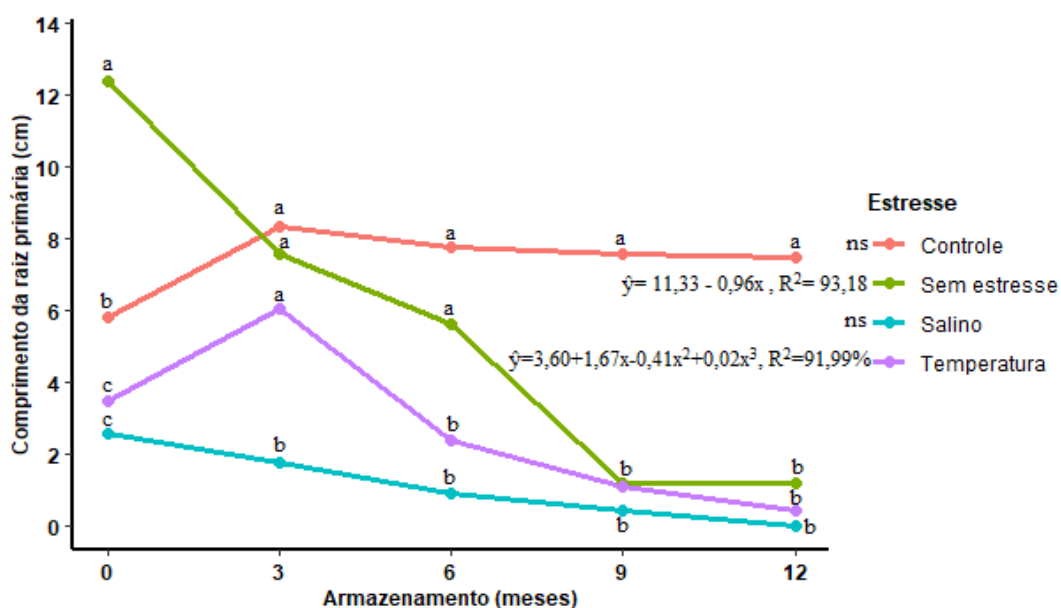
Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. ns: não significativo.

Fonte: Da autora (2024).

Após uma análise dos gráficos, constatou-se que o comprimento da parte aérea e o comprimento da raiz exibiram padrões estatisticamente semelhantes. Essa observação sugere uma estreita associação entre o desenvolvimento da parte aérea e o crescimento radicular das plantas avaliadas.

Em contrapartida, Oliveira *et al.* (2014), constata-se que, em situações de estresse, o crescimento da parte aérea apresenta uma sensibilidade superior à do crescimento radicular. Essa constatação ressalta uma diferenciação na sensibilidade dos órgãos das plantas frente a condições adversas, sugerindo uma alocação diferenciada de recursos em resposta ao estresse.

Figura 16 – Comprimento da raiz primária advinda de sementes submetidas ao condicionamento com quitosana e avaliadas em cinco épocas de armazenamento e quatro condições de germinação. Lavras, 2024.



Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. ns: não significativo.

Fonte: Da autora (2024).

A adoção comercial do condicionamento de sementes enfrenta desafios significativos, entre eles a longevidade das sementes após processos convencionais de condicionamento, especialmente em condições de armazenamento ambientais (Farooq *et al.*, 2019).

Superar esses desafios requer investimentos em pesquisa e desenvolvimento, visando otimizar os métodos de condicionamento e identificar soluções eficazes de embalagem para garantir a viabilidade e o vigor das sementes ao longo do tempo. Essas medidas são essenciais para promover a adoção generalizada do condicionamento de sementes e seu potencial impacto positivo na agricultura e na segurança alimentar.

4 CONCLUSÃO

Sementes condicionadas imediatamente antes da semeadura, tanto com o peróxido de hidrogênio quanto com a quitosana apresentam benefícios significativos por meio do vigor, comprimento da parte aérea e radicular.

Ao longo dos períodos de armazenamento analisados, apresenta redução da armazenabilidade das sementes condicionadas.

O armazenamento prolongado de sementes condicionadas pode resultar na deterioração de sua capacidade de germinação ao longo do tempo. Esse processo de perda de viabilidade pode ser influenciado por diversos fatores, como temperatura, umidade, condições de armazenamento e compostos químicos utilizados durante o processo de condicionamento.

REFERÊNCIAS

- BOSE, Bandana *et al.* Impact of seed priming on the modulation of physico-chemical and molecular processes during germination, growth, and development of crops. **Advances in seed priming**, p. 23-40, 2018.
- BRASIL. Regras para análise de sementes. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, 399 p., 2009.
- CHEIN, Flávia. Introdução aos modelos de regressão linear: um passo inicial para compreensão da econometria como uma ferramenta de avaliação de políticas públicas. **Enap**, 76 p., 2019.
- CHIU, K. Y.; CHEN, C. L.; SUNG, J. M. Effect of priming temperature on storability of primed sh-2 sweet corn seed. **Crop Science**, v. 42, n. 6, p. 1996-2003, 2002.
- DINLER, Burcu Seckin; ANTONIOU, Chrystalla; FOTOPOULOS, Vasileios. Interplay between GST and nitric oxide in the early response of soybean (*Glycine max* L.) plants to salinity stress. **Journal of Plant Physiology**, v. 171, n. 18, p. 1740-1747, 2014.
- FAROOQ, Muhammad *et al.* Seed priming in field crops: potential benefits, adoption and challenges. **Crop and Pasture Science**, v. 70, n. 9, p. 731-771, 2019.
- FINCH-SAVAGE, William E.; BASSEL, George W. Seed vigour and crop establishment: extending performance beyond adaptation. **Journal of experimental botany**, v. 67, n. 3, p. 567-591, 2016.
- HUSSAIN, Saddam *et al.* Benefits of rice seed priming are offset permanently by prolonged storage and the storage conditions. **Scientific reports**, v. 5, n. 1, p. 8101, 2015.
- JISHA, K. C.; VIJAYAKUMARI, K.; PUTHUR, Jos T. Seed priming for abiotic stress tolerance: an overview. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 35, p. 1381-1396, 2013.
- KAERNAREE, P. *et al.* Effect of accelerated aging process on seed quality and biochemical changes in sweet pepper (*Capsicum annuum* Linn.) **Biotechnology**, v. 10, n. 2, p. 175-182, 2011.
- KUMAR, S. P. Jeevan *et al.* Implications of reactive oxygen and nitrogen species in seed physiology for sustainable crop productivity under changing climate conditions. **Current Plant Biology**, v. 26, p. 100197, 2021.
- KUREK, Katarzyna; PLITTA-MICHALAK, Beata; RATAJCZAK, Ewelina. Reactive oxygen species as potential drivers of the seed aging process. **Plants**, v. 8, n. 6, p. 174, 2019.
- LIU, Shuang *et al.* Effects of foliar applications of nitric oxide and salicylic acid on salt-induced changes in photosynthesis and antioxidative metabolism of cotton seedlings. **Plant Growth Regulation**, v. 73, p. 67-78, 2014.
- LOUIS, Noble; DHANKHER, Om Parkash; PUTHUR, Jos T. Seed priming can enhance and retain stress tolerance in ensuing generations by inducing epigenetic changes and trans-generational memory. **Physiologia Plantarum**, v. 175, n. 2, p. e13881, 2023.

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

OENEL, Ayla *et al.* Enzymatic and non-enzymatic mechanisms contribute to lipid oxidation during seed aging. **Plant and Cell Physiology**, v. 58, n. 5, p. 925-933, 2017.

OLIVEIRA, Eliege A. de P. *et al.* Potencial osmótico do substrato na germinação de sementes e desenvolvimento inicial de plântulas de milho doce. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 9, n. 4, p. 477-482, 2014.

PALLAORO, Dryelle Sifuentes *et al.* Priming corn seeds with plant growth regulator. **Journal of Seed Science**, v. 38, n. 03, p. 227-232, 2016.

RIVERA, Antonio Ariel Canedo *et al.* Efeito do ácido giberélico na qualidade fisiológica de sementes redondas de milho doce, sob diferentes condições de armazenamento. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 10, n. 3, p. 247-256, 2011.

WANG, Weiqin *et al.* The effect of storage condition and duration on the deterioration of primed rice seeds. **Frontiers in plant science**, v. 9, p. 172, 2018.