



ARTHUR TAVARES SILVA

**USO DE MOLÉCULAS SINALIZADORAS PARA INDUÇÃO DE
TOLERÂNCIA A ESTRESSES ABIÓTICOS EM MILHO**

LAVRAS – MG

2021

ARTHUR TAVARES SILVA

**USO DE MOLÉCULAS SINALIZADORAS PARA INDUÇÃO DE
TOLERÂNCIA A ESTRESSES ABIÓTICOS EM MILHO**

Monografia apresentada à
Universidade Federal de Lavras, como
parte das exigências do Curso de
Agronomia, para a obtenção do título de
Bacharel.

Prof. Dra. Heloísa Oliveira dos Santos
Orientadora

Ma. Isadora Gonçalves da Silva
Coorientadora

**LAVRAS – MG
2021**

ARTHUR TAVARES SILVA

**USO DE MOLÉCULAS SINALIZADORAS PARA INDUÇÃO DE TOLERÂNCIA
ESTRESSES ABIÓTICOS EM MILHO**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Agronomia, para a obtenção do título de Bacharel.

APROVADA em 23 de abril de 2020.

Heloísa Oliveira dos Santos

UFLA

Isadora Gonçalves da Silva

UFLA

Márcio Antônio Pereira do Carmo

UFLA

Profa. Dra. Heloísa Oliveira dos Santos
Orientadora

Ma. Isadora Gonçalves da Silva
Coorientadora

**LAVRAS- MG
2021**

AGRADECIMENTOS

Primeiramente quero agradecer a Deus pela saúde e força que me deste para a realização deste trabalho.

À minha mãe Quélida, e ao meu pai Max, por terem me incentivado, me apoiado e dado todo o suporte necessário para fazer o curso de Agronomia.

Aos meus irmãos Guilherme e Enzo, por terem sempre compartilhado suas emoções comigo, mesmo estando distante de todos.

À Luciana, que me deu carinho, amor e força para continuar a lutar pelos meus objetivos e desejos.

À Universidade Federal de Lavras, que me deu toda uma estrutura para que me tornar um bom profissional.

À minha orientadora Professora Doutora Heloisa Oliveira dos Santos, pela oportunidade de trabalhar com ela, e ter me passado seus conhecimentos técnicos, sua amizade, e dedicado seu tempo para realização desse trabalho.

À coorientadora Isadora, pelo conhecimento passado, e pela ajuda nas realizações deste trabalho.

A todos os amigos que me apoiaram nas minhas decisões, e aos meus amigos que eu criei na universidade que vou levar para o resto da vida.

RESUMO

O milho possui grande importância econômica no Brasil, e com isso há a necessidade de buscar ferramentas para melhorar as condições de cultivo no campo e mitigar os impactos e estresses abióticos que nele possa ocorrer. O uso de moléculas indutoras de tolerância ao estresse de cádmio e salino através do condicionamento fisiológico de sementes, surge como uma ferramenta para superar tais estresses que possam ser observados na lavoura, buscando estabelecer uma melhor germinação e uma adequada população de plantas finais nascidas, e consequentemente uma maior produtividade em sua área. Diante do exposto buscou-se com o presente trabalho identificar possíveis moléculas que possam induzir a tolerância ao estresse de cádmio e salino em sementes de milho. Foram utilizadas as sementes das linhagens L101, L102 e seus genitores GNHSEX2 pertencente ao Programa de Melhoramento de Milho da Universidade Federal de Lavras. As moléculas usadas foram a quitosana, melatonina, ácido indolacético, peróxido de hidrogênio e óxido nítrico. As análises de germinação foram feitas no 4º e no 7º dia após a montagem do experimento, sendo analisado a germinação de plântulas normais e anormais. Com base nos dados foi possível concluir que algumas moléculas apresentaram resultados possíveis de serem utilizadas para a indução de tolerância a estresses abióticos, podendo apresentar melhorias na qualidade fisiológica e uma maior germinação da semente de milho. O peróxido de hidrogênio foi a substância condicionante que melhor proporcionou uma maior taxa de germinação nas sementes.

Palavras-chave: Sinalização bioquímica, Espécies reativas de oxigênio, *Zea mays*

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	6
REFERENCIAL TEÓRICO	8
2.1 – Importância econômica da cultura do milho no Brasil	8
2.2 – Estresses abióticos na cultura do milho	9
2.3 - Efeito protetivo de moléculas condicionantes em sementes	10
MATERIAL E MÉTODOS	14
RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
CONCLUSÕES	23
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, de acordo com dados da Conab para a cultura do milho na safra 2020/2021, tem-se uma projeção de produção total de 108.965,6 milhões de toneladas e produtividade de 5.526 kg por hectare nos 19.717,5 mil hectares destinados ao cultivo da cultura, apresentando uma variação de 6,2% em relação à safra 2019/2020 (CONAB, 2021).

A ocorrência de estresses bióticos e abióticos durante o ciclo da cultura podem afetar de forma negativa a produção final da mesma, se fazendo fundamental a mitigação de tais condições adversas, sejam por meio do manejo de pragas e doenças, considerados estresses bióticos, e do excesso de cádmio e salinidade, que são estresses abióticos (GALON et al., 2010). O estresse causado pelo excesso de sais nas plantas apresenta inúmeros fatores que podem limitar estas plantas no estágio de emergência e desenvolvimento da cultura (ALMEIDA, 2010). E quando expostas a altas concentrações de cádmio, as plantas podem apresentar redução do comprimento das raízes e da parte aérea, branqueamento das folhas, alterações ultraestruturais dos cloroplastos e diminuição da atividade fotossintética como resultado a não tolerância deste estresse (RASCIO et al., 1993).

Desta forma, o uso de moléculas que conferem efeito protetivo às sementes no condicionamento fisiológico torna-se uma opção para auxiliar na diminuição dos impactos causados pela ocorrência de estresses abióticos melhorando a qualidade fisiológica das sementes. (BRADFORD, 1986). A melatonina, ácido indol acético (AIA), óxido nítrico, peróxido de hidrogênio e quitosana são exemplos de moléculas que podem ser utilizadas com este intuito.

O pigmento clorofila apresenta sensibilidade ao déficit hídrico, sendo assim, o uso da molécula de melatonina no pré tratamento de sementes representa a capacidade de manter os níveis deste pigmento (WANG et al., 2018). Na ação do AIA no milho, observa-se efeito positivo no alívio do estresse salino quando combinado aos macronutrientes K e P (KAYA et al., 2013). O uso da molécula de óxido nítrico incita a germinação das sementes sob condições de estresse, favorece a quebra de dormência de algumas espécies e promove o alongamento e formação de raízes adventícias (SOUZA, 2007). Já o uso do peróxido de hidrogênio (H₂O₂) de forma conjunta ao ácido ascórbico e ácido salicílico, proporcionou uma melhora no crescimento de plantas de milho nos estágios iniciais em condição de estresse de baixas temperaturas (AHMAD; BASRA; WAHID, 2014). E a aplicação de quitosana como revestimento nas sementes de milho, quando expostas a diferentes fontes de estresse abiótico proporciona às

plantas o desenvolvimento de mecanismos de defesa contra patógenos e um maior crescimento destas (LIZÁRRAGA-PAULÍN et al., 2011).

Desta forma, no presente trabalho objetivou analisar a eficiência do uso de moléculas sinalizadoras na indução de tolerância a estresses abióticos na cultura do milho, causados pelo excesso de sais e cádmio, a partir do emprego do condicionamento fisiológico em sementes do híbrido de milho GNHSEX2 e seus genitores, L101 e L102.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 – Importância econômica da cultura do milho no Brasil

A cultura do milho desempenha um papel fundamental na agricultura brasileira em virtude da sua ampla utilização na alimentação humana, animal e mais recentemente, na fabricação de etanol (CONTINI et al., 2019). A diversificação de uso do milho é resultante de fatores como as características nutricionais, principalmente como fonte energética, em função do seu alto teor de amido, lipídios e proteínas encontradas nos grãos, além de compostos bioativos como os carotenóides e minerais como o selênio (RIBEIRO et al., 2003; KUMAR; JHARIYA, 2013).

O Brasil movimentava aproximadamente R\$ 10 bilhões de reais ao ano com o comércio de sementes. Visto que o milho e a soja somam 85% desse mercado, em função das altas tecnologias aplicadas na produção de sementes (AEAPB, 2017). A utilização de sementes com atributos de qualidade aceitáveis é de extrema importância para o desenvolvimento do setor (SANTOS et al., 2018).

O Brasil é o terceiro maior produtor de milho no mundo, sendo superado apenas pelos Estados Unidos e China. A estimativa de produção da safra 2019/2020 é de aproximadamente 101 milhões de toneladas, podendo atingir 25,3 e 75,4 milhões de toneladas, na primeira e segunda safra, respectivamente. (CONAB, 2019). Nos últimos 25 anos, o milho aumentou o valor arrecadado em 1111,7%, passando de R\$ 3,1 bilhões para R\$ 37,6 bilhões. Esse aumento decorreu dos avanços tecnológicos empregados nas lavouras, do crescimento das áreas plantadas e da valorização do dólar frente ao real.

O uso de ferramentas do melhoramento genético, como a utilização da transgenia e sementes híbridas, contribuiu massivamente para o aumento da produção de milho no ano agrícola. Consequentemente, a semente adquiriu um valor agregado, tornando necessária uma gestão eficiente (HENRIQUE; SILVA; FRANCO, 2020). No levantamento da safra 2017/2018 foram relacionadas 298 cultivares, incluindo milho grão, silagem, pipoca e milho verde comum. Do total, 195 cultivares são transgênicas, apresentando um ou mais eventos, e as restantes são convencionais. Portanto, 65,43% das cultivares de milho que estão no mercado são transgênicas e apenas 34,56% são convencionais (FILHO et al., 2018).

2.2 – Estresses abióticos na cultura do milho

Para alcançar boas produtividades, as condições ambientais adversas devem ser remediadas, incluindo os estresses bióticos, como o manejo de pragas e doenças e estresses abióticos, como o excesso de cádmio e a salinidade. Para tanto, a tolerância das plantas às intempéries torna-se uma solução (GALON et al., 2010).

A cultura do milho exige entre 400 e 600 mm de água para uma produção satisfatória. A água afeta o desenvolvimento vegetativo da planta, além disso, está associada aos processos de síntese de proteína e RNA, na fisiologia do florescimento e no enchimento de grãos (FANCELLI; ALVES; ALMEIDA, 2015).

Um fator ligado com o estresse hídrico é a salinidade, que pode ser causada pelo excesso de sais ou falta de água. O estresse salino dificulta a absorção de água, aumenta a concentração de íons de Na^+ e Cl^- nas células e propicia o desequilíbrio nutricional, por atrapalhar a absorção de nutrientes essenciais. As principais causas são o uso inadequado de irrigação, fertilização e fertirrigação dos solos (RIBEIRO; GRZYBOWSKI, 2016). A salinidade apresenta vários fatores que limitam o estágio de emergência e desenvolvimento das culturas (ALMEIDA, 2010).

Para Conus et al. (2009), a cultura do milho é moderadamente tolerante à salinidade, sendo mais sensível ao estresse salino no período vegetativo. Porém, o aumento da concentração de sais na solução pode causar decréscimo no crescimento, na área foliar e na massa seca de plântulas. A redução dos componentes de rendimento da cultura do milho, em função do aumento na salinidade do solo, é relatada por Blanco et al. (2008), que verificaram que a produtividade da cultura do milho foi reduzida, em função do aumento nos níveis de salinidade da água de irrigação.

A parte aérea é mais sensível a elevadas concentrações de NaCl comparada com as raízes. Os altos níveis de sais no solo são apontados como os responsáveis por afetar a planta inteira, diminuindo a produtividade, além de provocar a sua morte (ESTEVES; SUZUKI, 2008). Segundo Oliveira e colaboradores (2013), o aumento das concentrações salinas submetidas em sementes híbridas de milho, influenciaram diretamente a porcentagem de germinação, sendo que a concentração salina influencia negativamente o crescimento inicial das plantas de milho.

O cádmio (Cd) é um metal pesado que, quando presente no solo, apresenta alta toxicidade ao ambiente, afetando plantas e animais e conseqüentemente, a produtividade das lavouras. Tal contaminação pode ocorrer tanto naturalmente como por ação antrópica, através

da mineração, resíduos industriais e de esgoto e mau uso de agroquímicos (RIZWAN et al, 2012; ADREES et al, 2015). A presença de cádmio no solo também pode acarretar a diminuição de pigmentos fotossintéticos e as características de trocas gasosas em diversas espécies de plantas (AKHTAR et al., 2016). O estresse por Cd é oxidativo, o que leva à formação de espécies reativas de oxigênio, principalmente as que danificam a membrana celular, como as que incluem radical hidroxila, ânion superóxido e peróxidos de hidrogênio (KHAN et al., 2007).

A tolerância por parte das plantas contra o estresse causado pela presença deste metal pesado pode variar de uma espécie para outra e algumas cultivares de milho (*Zea mays* L.) são capazes de tolerar e acumular algumas concentrações de cádmio sem apresentar sinais de toxidez, uma vez que essas plantas de milho apresentam um potencial de aumento na produção de biomassa, atuando como forma de assistência na tolerância ao estresse causado por este metal pesado (RIZWAN et al, 2012). Quando não tolerantes, essas plantas apresentam redução do comprimento das raízes e da parte aérea, branqueamento das folhas, alterações ultraestruturais dos cloroplastos e diminuição da atividade fotossintética, observados quando essas plantas foram submetidas a altas concentrações de Cd (entre 100 μ M e 250 μ M) (RASCIO et al., 1993).

Anjum e colaboradores (2015), ao estudar duas cultivares distintas de milho (Run Nong 35 e Wan Dan 13), observaram que a toxicidade do Cd alterou o acúmulo de Cd, a geração de ROS, as atividades antioxidantes e o rendimento de grãos em ambas as cultivares de milho. O efeito deletério das espécies reativas de oxigênio geradas pela exposição ao Cd foi maior em Run Nong 35 e maior tolerância ao estresse do Cd em Wan Dan 13 foi manifestada pelo aumento da ativação de antioxidantes e maior acúmulo de Cd. Os autores concluíram que a manipulação desses antioxidantes e o aumento do acúmulo de Cd nas raízes podem levar a uma melhora na tolerância ao estresse do Cd em cultivares tolerantes.

2.3 - Efeito protetivo de moléculas condicionantes em sementes

O estresse abiótico influencia diretamente no desempenho das sementes, sendo que sementes com baixo vigor, sob condições adversas, tendem a apresentar menor velocidade e percentual de germinação. A hidratação controlada das sementes com agentes químicos pode expressar o máximo potencial fisiológico das mesmas, mesmo quando submetidas a condições de estresse (GOUVEIA; BINOTTI; COSTA, 2017).

Buscando diminuir esses impactos para melhorar a qualidade fisiológica das sementes utiliza-se a técnica de condicionamento fisiológico. A técnica é utilizada para melhorar o vigor da semente devido ao processo natural de sua deterioração que acontece antes da semeadura. O condicionamento fisiológico controla a velocidade de embebição de água pelas sementes em soluções iônicas ou não iônicas, ajustadas a potenciais hídricos que permitam a ocorrência dos processos fisiológicos iniciais, sem atingir umidade suficiente para que ocorra a expansão celular e, posteriormente a protrusão da radícula (BRADFORD, 1986).

O uso do condicionamento fisiológico de sementes objetiva a diminuição do tempo de germinação e de emergência de plântulas, além da formação de estandes uniformes, quando expostas a condições adversas (KIKUTI et al, 2009).

Dentre estas moléculas, a melatonina, ácido indol acético (AIA), óxido nítrico, peróxido de hidrogênio e quitosana são citadas como protetivas e podem estar associada aos mecanismos de defesa, atuando como moléculas sinalizadoras da indução de rotas de proteção oxidativa (BONOME et al., 2017).

A melatonina, é uma molécula derivada do triptofano, ligada a uma gama de funções fisiológicas em animais e de grande importância em processos fisiológicos das plantas. Foi identificada em vegetais pela primeira vez no ano de 1995, a partir de estudos conduzidos por Dubbels et al. (1995) e Hattori et al. (1995), sendo encontrada vinculada aos processos fisiológicos de floração, fotossíntese, senescência, germinação, enraizamento e ainda em resposta a diversos tipos de estresses bióticos e abióticos, como altas temperaturas, salinidade, estresse hídrico, radiação ultravioleta e a presença de metais pesados na água e no solo (ARNAO et al, 2015; WANG et al, 2018; TAN, 2015).

O uso da melatonina como pré-tratamento, apresenta a capacidade de preservar os níveis de clorofila em plantas de diversas espécies, sendo este pigmento sensível a condições de déficit hídrico e sofrendo reduções em sua ocorrência (WANG et al., 2018). O papel da melatonina na proteção de plantas contra estresse biótico inclui a transdução de sinal e mecanismo de ação na indução da imunidade contra infecções causadas por patógenos, tendo relação com ácido salicílico e jasmônico (SUN et al., 2020). Acredita-se que melatonina e ácido salicílico, quando aplicados em conjunto, tenham efeitos positivos nas respostas de plantas à patógenos (HERNANDEZ-RUIZ & ARNAO, 2018).

Auxinas são hormônios sintetizados nos meristemas apicais e transportados em direção à base, influenciando o crescimento da gema apical e inibindo o crescimento das gemas axilares, fenômeno denominado de dominância apical (TAIZ; ZEIGER, 2004). O ácido indolacético (AIA) faz parte dos grupos das auxinas, sendo um hormônio de ocorrência natural e seu uso

exógeno tem aprimorado o rendimento em safras comerciais, principalmente quando submetidas a estresse salino (ASHRAF; AZHAR; HUSSAIN, 2006).

Estudos mostraram que em plantas de milho, a aplicação foliar de AIA aumentou as concentrações de K^+ nas folhas de plantas submetidas a estresse salino, bem como causou o acúmulo de prolina e nutrientes inorgânicos essenciais, mantendo a permeabilidade da membrana (KAYA et al., 2010). Foi observado o efeito mais promissor do AIA no alívio do estresse salino no milho, quando combinado com K e P, além de reduzir consideravelmente a concentração de Na^+ e aumentar significativamente os níveis de K^+ , Ca^{2+} e P nas plantas de milho com estresse salino (KAYA et al., 2013).

Segundo Ataíde, Flores e Castro (2015), o uso de óxido nítrico em diferentes espécies evidencia efeitos positivos que essa molécula tem nos processos fisiológicos das plantas. A sua participação é comprovada em inúmeros processos fisiológicos vegetais, entre eles a função protetora contra o estresse oxidativo, por impedir reações de peroxidação de lipídios decorrentes de estresses abióticos. Para Souza (2007) o óxido nítrico estimula a germinação de sementes, tanto sob condições normais, quanto sob estresse, favorece a quebra de dormência de sementes de algumas espécies e atua promovendo o alongamento e formação das raízes adventícias.

Estudos comprovam a eficiência do óxido nítrico em sementes de *Plathymenia reticulata* expostas ao envelhecimento acelerado, que tiveram a germinação aumentada (PEREIRA et al., 2010). A presença de óxido nítrico nas sementes de gergelim, mesmo com a restrição hídrica, proporcionou um aumento na germinação (PIRES, 2014).

Os efeitos protetores do óxido nítrico nas plantas foram observados em culturas celulares, tecidos e órgãos e em diferentes moléculas, tais como DNA, RNA, proteínas, clorofilas e lipídios (BELIGNI; LAMATTINA, 1999). Constata-se que a molécula, mesmo apresentando estrutura molecular bastante simples, encontra-se envolvida em diversos mecanismos bioquímicos e fisiológicos em plantas submetidas a múltiplas condições de estresses bióticos e abióticos, abrangendo um amplo espectro para estudos mais avançados (FERREIRA, 2007).

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) sinaliza os danos causados pelas espécies reativas de oxigênio em macromoléculas e nas membranas celulares (SHU-HSIEN; CHIH-WEN; LIN, 2005), além de regular diretamente a expressão de vários genes, alguns dos quais estão envolvidos na defesa da planta e resposta de hipersensibilidade (KOVTON et al., 2000).

Na triticultura, estudos demonstraram que a aplicação de H_2O_2 exógeno foi capaz de melhorar a tolerância de mudas de trigo ao estresse salino, diminuindo a concentração de

malondialdeído e a taxa de produção do radical superóxido. Ainda aumenta as atividades de algumas enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase, peroxidase, catalase e ascorbato peroxidase, além de prover a concentração de glutatona e carotenóides (LI et al., 2011).

Em conjunto com ácido ascórbico e ácido salicílico, a aplicação exógena de peróxido de hidrogênio foi capaz de melhorar o crescimento de mudas de milho em estágios iniciais sob estresse de baixas temperaturas. Em vaso, a aplicação foliar dessa mistura melhorou o crescimento da planta, conteúdo de clorofila B, estabilidade de membrana e atividades antioxidantes enzimáticas em milho. Em campo, a aplicação dessas substâncias, seja por primer (semente) ou pulverização foliar, melhorou os atributos morfológicos, relacionados à produtividade de grãos de milho (AHMAD; BASRA; WAHID, 2014).

A quitosana é um exemplo de biofilme e indutor de resistência, cuja aplicação permite uma maior durabilidade em produtos após a colheita e na prateleira. Frutos do morangueiro que receberam aplicação de quitosana durante a pré-colheita apresentaram maior resistência das plantas a patógenos (MAZARO et al., 2008). É ainda indicada como auxiliar na redução do dano oxidativo causado pelo estresse salino (RAZAVIZADEH; ADABAVAZEH; KOMATSU, 2020). Além de prefigurar um método alternativo no controle da deterioração, o uso de quitosana reduz a contaminação por microrganismos, retardam o amadurecimento excessivo e evitam desperdícios (FAVARO, 2017).

O uso de quitosana como revestimento protetor em sementes de milho sob diferentes fontes de estresse abiótico (seca, umidade, pH ácido e pH alcalino) permitiu que as plantas desenvolvessem mecanismos de defesa contra patógenos, além de promover um maior crescimento de hastes, folhas e raízes longas e fortes (LIZÁRRAGA-PAULÍN et al., 2011). Ao utilizar uma cultivar tolerante ao resfriamento e outra sensível ao frio, Guan et al. (2009) observaram que o priming de sementes com quitosana aumentou o índice de germinação, a altura da parte aérea, o comprimento da raiz e pesos secos da parte aérea e da raiz, e reduziu o tempo médio de germinação, em ambas as cultivares de milho.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, em esquema fatorial $5 \times 3 + 1$, sendo cinco moléculas sinalizadoras (ácido indolacético, peróxido de hidrogênio, quitosana, melatonina e óxido nítrico), duas condições de estresse e condição normal de germinação e uma testemunha (sementes sem condicionamento e sem estresse), conduzido no Laboratório Central de Sementes da Universidade Federal de Lavras. Foram utilizadas sementes de milho do híbrido GNHSEX2 e seus genitores, L101 e L102.

A qualidade inicial das amostras foi determinada a partir da avaliação do teor de água, por testes de germinação e vigor, conforme estabelecido na RAS. Em seguida, as sementes de milho foram condicionadas em soluções aeradas de ácido indolacético (100 μM), peróxido de hidrogênio (100 μM), quitosana (0,75 mM), melatonina (1mM) e solução doadora de ON nitroprussiato de sódio (100 μM), a temperatura de 24°C, por um período de 24 horas (PALLAORO et al., 2016). Após o condicionamento, as sementes foram lavadas em água corrente e o excesso de água removido utilizando papel toalha. As sementes, com ou sem condicionamento, passaram pelo processo de secagem durante 48 horas, em temperatura ambiente a fim de uniformizar o teor de água entre as sementes de todos os tratamentos.

As sementes condicionadas e não condicionadas (controle), foram submetidas a diferentes condições de germinação: condição controle (água destilada), condição de estresse salino (solução de NaCl, concentração de -0,8MPa, equivalente a 10,472g L⁻¹) (ARAÚJO et al., 2014) e condição de estresse por cádmio (induzida por solução de NaCl de 0,003g L⁻¹).

No teste de germinação, utilizou-se quatro repetições de 50 sementes. Sendo a semeadura 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. As sementes permaneceram em germinador tipo Mangelsdorf regulado a temperatura de 25°C, com luz constante. A primeira contagem foi realizada aos 4 dias e a contagem final aos 7 dias após a semeadura (BRASIL, 2009). A germinação fisiológica foi analisada a partir da protrusão radicular.

Os dados foram submetidos à análise de variância e, quando significativos, aplicou-se testes de médias. Para a comparação do controle com os tratamentos resultantes do fatorial, quando significativo, realizou-se o teste de Dunnett.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O uso de moléculas sinalizadoras como indutoras de tolerância à estresses abióticos em sementes de milho resultaram em interação entre os fatores para porcentagem da primeira contagem de germinação, germinação e plântulas anormais quando avaliadas a linhagem de milho L101 e o híbrido GNHSEX2 (Tabelas 1 e 4). Quando utilizada a linhagem L102, houve interação apenas na porcentagem da primeira contagem de germinação, sendo as demais análises avaliadas separadamente (Tabela 2 e 3).

Ao analisar a porcentagem da primeira contagem de germinação, observou-se que as condições de estresse salino, independente do tratamento condicionante utilizado, inviabilizam a germinação aos 4 dias (Tabela 1). O estresse salino dificulta a absorção de água tornando-se um fator limitante para a germinação de sementes, uma vez que o potencial osmótico do solo é reduzido (CONUS et al., 2009). Não houve diferenciação das substâncias condicionantes quando se analisou a primeira contagem em estresse salino e sem estresse.

Quando tratadas previamente e submetidas a estresse por cádmio, as sementes de milho L101 apresentaram melhores resultados na primeira contagem de germinação com o uso da melatonina (82,5%) e peróxido de hidrogênio (77,5%). No entanto, todas as sementes tratadas foram iguais ou superiores estatisticamente àquelas que não foram submetidas a nenhuma molécula em condição de estresse, demonstrando que utilizar tais substâncias garante melhor desempenho. Analisando a germinação após 7 dias, as sementes submetidas ao estresse por cádmio e sem estresse se diferiram da testemunha positivamente (Tabela 1). Assim como ocorreu na contagem aos 4 dias, as sementes submetidas ao estresse salino mostraram menor desempenho quando comparadas ao tratamento testemunha, sem estresse e o de estresse por cádmio.

As moléculas condicionantes interferiram de forma semelhante nas porcentagens de germinação das sementes expostas ao estresse por cádmio e sem estresse. Já no tratamento de estresse salino, tratar sementes da linhagem L101 com peróxido de hidrogênio mostrou ser a melhor opção, pois proporcionou 66,0% de germinação, não diferindo da testemunha, enquanto o uso de quitosana foi o de menor potencial, onde apenas 36,5% germinaram. Neste estudo, a aplicação exógena do peróxido de hidrogênio proporcionou a aclimação das sementes de milho ao estresse oxidativo proporcionado pelo cádmio e pelo sal. O peróxido de hidrogênio é uma espécie reativa de oxigênio (EROS), moderadamente reativo. Em altas concentrações, pode causar danos aos ácidos nucleicos, proteínas e lipídeos das células, contudo em baixas

concentrações, funciona como um importante sinalizador intracelular ativando respostas ao estresse e de vias de defesas do vegetal, promovendo a tolerância cruzada (SILVA et al, 2016).

Em sementes de repolho, Kaiser e colaboradores (2016) não encontraram diferenças significativas na porcentagem da primeira contagem de germinação e germinação função da salinidade e concentrações de KNO_3 , um liberador de óxido nítrico. No entanto, os autores observaram que, semelhante ao observado nas sementes da linhagem L101, as médias de germinação das sementes submetidas ao estresse salino eram significativamente inferiores à testemunha. Os autores testaram ainda diferentes concentrações de nitroprussiato de sódio (0,01; 0,1; 1,0 e 10 mmol L^{-1}) e observaram que a utilização de 0,01 mmol L^{-1} nas sementes de repolho proveram resultados próximos ao do tratamento controle, sugerindo que esta concentração minimizaria os efeitos da salinidade. Ao ministrarem a dose de 0,1 mmol L^{-1} , a porcentagem da primeira contagem de germinação e germinação decresceram para valores inferiores aos encontrados neste estudo, sendo 14% e 27%, respectivamente.

Tabela 1. Porcentagem da primeira contagem de germinação, germinação e plântulas anormais de sementes de milho L101 tratadas com substâncias condicionantes (ácido indolacético, melatonina, peróxido de hidrogênio, quitosana e óxido nítrico) e submetidas a diferentes vias de estresse (cádmio e salino). Lavras, 2021.

Substância condicionante	Primeira contagem de germinação (%)			Germinação (%)			Anormal (%)		
	Cádmio	Salino	Sem estresse	Cádmio	Salino	Sem estresse	Cádmio	Salino	Sem estresse
Ácido Indolacético	71,0 Ab	0,0 Ba*	77,0 Aa*	84,0 Aa*	48,0 Bb *	86,5 Aa*	2,5 Ba*	39,5 Ab*	2,5 Ba*
Melatonina	82,5 Aa*	0,5 Ba*	80,0 Aa*	90,5 Aa*	45,0 Bb *	85,0 Aa*	0,5 Ba*	37,5 Ab*	3,5 Ba*
Peróxido de hidrogênio	77,5 Aab*	0,0 Ba*	80,0 Aa*	88,5 Aa*	66,0 Ba	86,5 Aa*	0,5 Ba*	23,5 Ac*	1,5 Ba*
Quitosana	73,5 Ab*	0,0 Ba*	74,5 Aa*	86,5 Aa*	36,5 Bc *	88,5 Aa*	2,0 Ba*	52,5 Aa*	2,5 Ba*
Óxido nítrico	62,5 Bc	0,0 Ba*	81,5 Aa*	87,0 Aa*	46,0 Bb *	87,0 Aa*	1,0 Ba*	47,5 Aa*	2,5 Ba*
Testemunha		63,5			74,5			15,5	
CV (%)		8,2			5,59			25,74	

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. *Diferem significativamente da testemunha pelo Teste de Dunnett ao nível de 5 % de probabilidade.

Todos os tratamentos se diferenciaram da testemunha quanto a porcentagem de plântulas anormais, sendo a maior taxa encontrada em estresse salino, demonstrando a ineficiência dos tratamentos quando as sementes são submetidas a este tipo de estresse (Tabela 1). Neste quesito, não houve diferenciação da aplicação das moléculas quando as sementes foram submetidas ao estresse por cádmio ou sem estresse. Quanto ao estresse salino, o uso de quitosana e óxido nítrico proporcionaram maior taxa de anormalidade nas sementes, 52,5% e 47,5%, respectivamente, enquanto a utilização de peróxido de hidrogênio foi responsável pela menor porcentagem de plântulas anormais (23,5%), corroborando com os dados de germinação

Para a primeira contagem de germinação da linhagem L102, observou-se diferença significativa em todos os tratamentos em relação ao tratamento controle, exceto nas sementes tratadas com quitosana e submetidas ao estresse por cádmio (44,0%) e sem estresse (35,5%) (Tabela 2). Martins (2016), ao aplicar quitosana em sementes de milho transgênico e não transgênico observou que esta substância promoveu o potencial germinativo de ambos os híbridos somente quando ministrada em altas concentrações (600, 1200 e 2400 ppm).

Tabela 2. Porcentagem da primeira contagem de germinação de sementes de milho L102 tratadas com substâncias condicionantes (ácido indolacético, melatonina, peróxido de hidrogênio, quitosana e óxido nítrico) e submetidas a diferentes vias de estresse (cádmio e salino). Lavras, 2021.

Substância condicionante	Primeira contagem de germinação (%)		
	Cádmio	Salino	Sem estresse
Ácido Indolacético	64,0 Aa*	0,0 Ba*	62,0 Aa*
Melatonina	49,0 Bbc*	0,0 Ca*	61,0 Aa*
Peróxido de hidrogênio	66,5 Aa*	0,0 Ba*	61,5 Aa*
Quitosana	44,0 Ac	0,0 Ca*	35,5 Bc
Óxido nítrico	55,0 Ab*	0,0 Ba*	49,0 Ab*
Testemunha		38,0	
CV (%)		10,53	

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. *Diferem significativamente da testemunha pelo Teste de Dunnett ao nível de 5 % de probabilidade.

O estresse salino tornou inviável esta primeira contagem de germinação, sendo todas as substâncias condicionantes utilizadas ineficazes em sua reversão. Os condicionantes, ácido indolacético (64,0%) e peróxido de hidrogênio (66,5%), prefiguraram as melhores opções quando ocorre o estresse por cádmio. Na ausência de estresse, as moléculas de ácido indolacético, melatonina e peróxido de hidrogênio se destacaram, com 62%, 61,0 e 61,5%, respectivamente. Comparativamente, o tratamento com melatonina foi menos eficaz para

sementes sob estresse por cádmio (49,0%) do que sementes sem estresse (61,0%) e o tratamento com quitosana foi mais eficaz sob estresse por cádmio (44,0%) do que sementes sem estresse (35,5%).

Não houve interação entre os tratamentos condicionantes e as vias de estresse para a linhagem L102 nas avaliações de porcentagem de germinação e porcentagem de plântulas anormais, sendo estes parâmetros avaliados separadamente (Tabela 3). Dentre os materiais analisados, a linhagem L102 foi a mais prejudicada pelo estresse salino. O estresse salino proporcionou menor taxa de germinação (13,3%) e maior índice de plântulas anormais (70,2%) comparado a estes mesmo parâmetros submetidos a estresse por cádmio ou sem estresse.

Tabela 3. Porcentagem da germinação e plântulas anormais de sementes de milho L102 tratadas com substâncias condicionantes (ácido indolacético, melatonina, peróxido de hidrogênio, quitosana e óxido nítrico) e submetidas a diferentes vias de estresse (cádmio e salino). Lavras, 2021.

Tratamentos	Germinação (%)	Anormal (%)
Estresse		
Cádmio	87,1 a	1,6 b
Salino	13,3 b	70,2 a
Sem estresse	83,2 a	4,3 b
Substância condicionante		
Ácido indolacético	62,5 a	23,3 a
Melatonina	62,7 a	23,7 a
Peróxido de hidrogênio	62,5 a	26,7 a
Quitosana	60,0 a	27,3 a
Óxido nítrico	58,3 a	25,8 a
Testemunha	77,0	12,0
CV (%)	8,52	16,34

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. *Diferem significativamente da testemunha pelo Teste de Dunnett ao nível de 5 % de probabilidade.

As sementes do milho híbrido GNHSEX2, assim como ocorreu com as sementes de milho das linhagens L101 e L102, apresentaram inviabilidade na primeira contagem para o tratamento com estresse salino (Tabela 4). Ainda nesta análise, em relação ao tratamento testemunha (81,5%), não houve diferenciação para os tratamentos com ácido indolacético (85%) e óxido nítrico (83,5%) quando submetidas ao estresse por cádmio e para os tratamentos com ácido indolacético (89,5%), melatonina (87,5%) e óxido nítrico (82%) para os tratamentos sem estresse.

Tabela 4. Porcentagem da primeira contagem de germinação, germinação e plântulas anormais de sementes de milho híbrido GNHSEX2 tratadas com substâncias condicionantes (ácido indolacético, melatonina, peróxido de hidrogênio, quitosana e óxido nítrico) e submetidas a diferentes vias de estresse (cádmio e salino). Lavras, 2021.

Substância condicionante	Primeira contagem de germinação (%)			Germinação (%)			Anormal (%)		
	Cádmio	Salino	Sem estresse	Cádmio	Salino	Sem estresse	Cádmio	Salino	Sem estresse
Ácido indolacético	85,0 Abc	1,5 Ba*	89,5 Aab	98,0 Aa	75,5 Bbc*	93,0 Aa	0,5 Ba*	21,5 Aab*	3,5 Ba
Melatonina	92,5 Aab*	0,5 Ba*	87,5 Aab	95,0 Aa	79,0 Bab*	95,0 Aa	2,0 Ba	17,0 Abc*	4,0 Ba
Peróxido de hidrogênio	93,5 Aab*	0,5 Ba*	93,5 Aa*	99,0 Aa	83,0 Ba*	96,0 Aa	0,0 Ba*	14,0 Ac*	4,0 Ba
Quitosona	95,0 Aa*	3,0 Ba*	92,5 Aa*	98,0 Aa	71,0 Bc*	97,0 Aa	0,5 Ba*	24,0 Aa*	1,5 Ba
Óxido nítrico	83,5 Ac	1,5 Ba*	82,0 Ab	95,5 Aa	81,0 Bab*	93,5 Aa	1,0 Ba*	12,0 Ac*	2,5 Ba
Testemunha		81,5			92,0			6,5	
CV (%)		6,91			3,81			36,81	

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. *Diferem significativamente da testemunha pelo Teste de Dunnett ao nível de 5 % de probabilidade.

Os tratamentos com melatonina, peróxido de hidrogênio e quitosana foram responsáveis pelas maiores médias da primeira contagem de germinação tanto das sementes estressadas por cádmio, 92,5%, 93,5% e 95,0%, respectivamente, quanto das sementes sem tratamento de estresse, 87,5%, 93,5% e 92,5%, respectivamente, juntamente com o ácido indolacético (89,5%) para essa última.

Para porcentagem de germinação das sementes do milho híbrido GNHSEX2, somente as sementes submetidas ao estresse salino obtiveram médias inferiores e diferenciaram significativamente do tratamento controle (Tabela 4). A germinação para o tratamento por estresse salino também foi destaque negativo comparado às outras vias de estresse. Em estresse salino, a utilização de melatonina (79,0%), peróxido de hidrogênio (83,0%) e óxido nítrico (81,0%) como moléculas condicionantes permitiram as maiores porcentagens de germinação, sendo o tratamento com peróxido de hidrogênio estatisticamente superior. A utilização da quitosana, por sua vez, proporcionou a menor taxa de germinação (71%)

Quando tratadas previamente na fase de plântula com peróxido de hidrogênio, Gondim e colaboradores (2011) perceberam que a aclimação de plantas de milho ao estresse salino foi induzida, revertendo parcialmente os efeitos deletérios da salinidade. Os autores atribuíram tal situação ao maior acúmulo de proteínas e carboidratos solúveis, o que pode ter ocorrido também no tratamento prévio das sementes neste estudo. Não houve diferenciação na porcentagem de germinação quanto ao uso das moléculas condicionantes nos tratamentos de estresse por cádmio e sem estresse.

A taxa de plântulas anormais foi maior quando estas foram submetidas ao estresse salino (Tabela 4), sendo que todos os tratamentos com moléculas sinalizadoras apresentaram maiores taxas do que a encontrada para a testemunha. Apesar disso, menores taxas de plântulas anormais foram encontradas nas sementes tratadas com melatonina (17,0%), peróxido de hidrogênio (14,0%) e óxido nítrico (12,0%).

Não houve diferenciação do tratamento sem estresse, bem como para a utilização de melatonina como condicionante do estresse por cádmio em relação ao controle. Assim como ocorreu na porcentagem de germinação, não houve significância na utilização de diferentes substâncias condicionantes se tratando sementes estressadas por cádmio ou sem estresse, demonstrando que a utilização de qualquer uma das substâncias em sementes do híbrido GNHSEX2 é eficaz para aumentar a porcentagem de germinação e diminuir a quantidade de plântulas anormais.

Assim como ocorreu neste ensaio, Gomes e colaboradores (2000) observaram que sementes híbridas de milho apresentam qualidade fisiológica superior quando comparadas às das

linhagens. Tal fato se deve à expressão da heterose, evidenciada pelo cruzamento de linhagens com bom potencial. Além disso, os autores observaram melhoras no processo de germinação em sementes híbridas devido a maior eficiência do sistema enzimático.

CONCLUSÕES

A utilização de moléculas condicionantes em sementes submetidas ao estresse por cádmio e ausência de estresse favorece a primeira contagem de germinação, porcentagem de germinação e diminui a taxa de plântulas anormais em sementes de milho híbrido.

Em sementes de milho submetidas ao estresse salino, o tratamento com peróxido de hidrogênio se destacou, apesar de originar valores menores que a testemunha, portanto, o aumento da dose desta substância pode atingir patamares efetivos.

O peróxido de hidrogênio foi a substância condicionante que melhor interagiu com as sementes, independente do estresse, proporcionando maiores taxas de germinação nas sementes das linhagens L101 e L102 e no milho híbrido GNHSEX2 e menores taxas de plântulas anormais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, V. M.; PINHO, E. V. R. V.; PINHO, R. G.; NAVES, G. M. F.; SILVA NETA, I. C.; GUIMARÃES, R. M.; CARVALHO, M. R. Physiological performance and expression of isozymes in maize seeds subjected to water stress. **Journal of Seed Science**, v. 36, p. 40-47, 2014.
- ADREES, M. et al. Mechanisms of silicon-mediated alleviation of heavy metal toxicity in plants: a review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 119, p. 186-197, 2015.
- AEAPB – Associação Brasileira dos Engenheiros Agrônomos de Pato Branco. Sementes garantem produtividade do agronegócio brasileiro. **Agronomia em debate**. Ano 11|n.3. p.6 – 9. Dezembro 2017.
- AHMAD, I.; BASRA, S. M. A.; WAHID, A. Exogenous application of ascorbic acid, salicylic acid and hydrogen peroxide improves the productivity of hybrid maize at low temperature stress. **Int. J. Agric. Biol**, v. 16, n. 4, p. 825-830, 2014.
- AKHTAR, Tasneem et al. Photosynthesis and growth response of maize (*Zea mays* L.) hybrids exposed to cadmium stress. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 6, p. 5521-5529, 2017.
- ALMEIDA, O. Á. Qualidade da Água de Irrigação. 1. Versão online. ed. Cruz das Almas - BA, : Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2010.
- ANJUM, S. A. et al. Cadmium toxicity in Maize (*Zea mays* L.): consequences on antioxidative systems, reactive oxygen species and cadmium accumulation. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 21, p. 17022-17030, 2015.
- ARAÚJO, M. L.; OLIVEIRA, S. S.; BEZERRA, J. L. S.; ABREU, M. G. P.; MELHORANÇA FILHO, A.L. Avaliação do efeito do estresse salino sobre o desenvolvimento inicial da rúcula. **Colloquium Agrariae**, v. 10, n. 1, p. 01-08, 2014.
- ARNAO, M. B.; HERNÁNDEZ-RUIZ, J. Functions of melatonin in plants: a review. **Journal of pineal research**, v. 59, n. 2, p. 133-150, 2015.
- ASHRAF, M. Y.; AZHAR, N.; HUSSAIN, M. Indole acetic acid (IAA) induced changes in

growth, relative water contents and gas exchange attributes of barley (*Hordeum vulgare* L.) grown under water stress conditions. **Plant Growth Regulation**, v. 50, n. 1, p. 85, 2006.

ATAÍDE, G.; FLORES, A.; CASTRO, R. V. Óxido nítrico na germinação de sementes de baixo vigor de *Dalbergia nigra*. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 38, n. 3, p. 438–444, 2015.

BELIGNI, M.V., LAMATTINA, L. Is nitric oxide toxic or protective? **Trends Plant Sci.**, v.4, p.299-300, 1999.

BERGAMASCHI, H. et al. Deficit hídrico e produtividade na cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 2, p. 243–249, 2006.

BERGER, L. R. R.; STAMFORD, T. C. M.; STAMFORD, N. P. Perspectivas para o uso da quitosana na agricultura. **Revista Iberoamericana de Polímeros**, v. 12, n. 4, p. 195-215, 2011

BLANCO, F. F.; FOLEGATTI, M.V.; GHEYI, H. R.; FERNANDES, P.D. Growth and yield of corn irrigated with saline water. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.65, n.6, pp. 574-580, 2008.

BONOME, L. T. S.; GUIMARÃES, R. M.; OLIVEIRA, J. A.; DOUSSEAU, S. Osmoconditioning of *Urochloa brizantha* seeds to reduce pelleting negative effects. **Brazilian Journal of Agriculture**, Piracicaba, v. 92, n. 2, p. 87-100, 2017.

BRADFORD, K.J. Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditions. **HortScience**, Alexandria, v. 21, n. 5, p. 1105-1112, 1986.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399p.

BURIN, C. C. Nitratos no condicionamento fisiológico em sementes de milho sob estresses abióticos. Dissertação (Mestrado) – Agronomia – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, 2018.

CONAB. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos - Boletim - Abril de 2021. **Companhia Nacional de Abastecimento**. 2021. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>>. Acesso em: 13 abr 2021.

CONAB. Acompanhamento da Safra Brasileira. **Companhia Nacional de Abastecimento**, v. 5, n. 4, p. 1–113, 2019.

CONTINI, E.; et al. Milho - caracterização e desafios tecnológicos. Série desafios do agronegócio brasileiro (NT2). Embrapa. 2019. Disponível em:<<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/195075/1/Milho-caracterizacao.pdf>>. Acesso em: 14 jan. de 2021.

CONUS, L. A. et al. Germinação de sementes e vigor de plântulas de milho submetidas ao estresse salino induzido por diferentes sais. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 4, p. 67–74, 2009.

DE OLIVEIRA GARCIA, G. et al. Teores Foliare Dos Macronutrientes Catiônicos E Suas Relações Com O Sódio Em Plantas De Milho Sob Estresse Salino. **Idesia (Arica)**, v. 25, n. 3, p. 93–106, 2007.

DUBBELS, R. et al. Melatonin in edible plants identified by radioimmunoassay and by high performance liquid chromatography-mass spectrometry. **Journal of Pineal Research**, v. 18, n. 1, p. 28-31, 1995.

ESTEVEES, B. dos S.; SUZUKI, M. S. Efeito da salinidade sobre as plantas. **Oecologia Brasiliensis**, v. 12, n. 4, p. 6, 2008.

FANCELLI, A. L.; ALVES, L. R. A.; ALMEIDA, R. E. M. DE. A cadeia produtiva do milho. **Revista Visão Agrícola**, v. 13, n. 9, p. 1–176, 2015.

FAVARO, R. Ácido salicílico como indutor de resistência ao tetranychusurticae(koch) e helicoverpaarmigera em cultivares de morangueiro. 2017. 67f. Dissertação (mestrado em agronomia) – Universidade Estadual do centro Oeste. Guarapuava, 2017.

FERREIRA, L.C. Ação Protetora Do Óxido Nítrico em Plantas De Soja (*Glycine max* L. Merrill) Submetidas ao Lactofen. 2007. 155P. TESE (DOUTORADO) – Instituto De Biociências, Unesp – Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

FILHO, I. A. P.; BORGHI, E.; Sementes de milho no Brasil - A dominância dos transgênicos. Embrapa Milho e Sorgo. Documentos 223. 2018. Disponível em:<<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/186601/1/doc-223.pdf>>. Acesso em: 14/01/2021.

GALON, L. et al. Influência dos fatores abióticos na produtividade da cultura do milho

Influence of abiotic factors on corn yield. **Revista Trópica - Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 4, n. 3, p. 18–38, 2010.

GOMES, M. S. et al. Efeito da heterose na qualidade fisiológica de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 22, n. 1, p. 7-17, 2000.

GONÇALVES, J. F. et al. Cadmium toxicity causes oxidative stress and induces response of the antioxidant system in cucumber seedlings. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 19, n. 3, p. 223-232, 2007.

GONDIM, F. A. et al. Efeitos do H₂O₂ no crescimento e acúmulo de solutos em plantas de milho sob estresse salino. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 2, p. 373-381, 2011.

GOUVEIA, G. C. C.; BINOTTI, F. F. DA S.; COSTA, E. Priming effect on the physiological potential of maize seeds under abiotic stress I. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 47, n. 3, p. 328–335, 2017.

GUAN, Y. et al. Seed priming with chitosan improves maize germination and seedling growth in relation to physiological changes under low temperature stress. **Journal of Zhejiang University Science**, v. 10, n. 6, p. 427-433, 2009.

HATTORI, A. *et al.* Identification of melatonin in plants and its effects on plasma melatonin levels and binding to melatonin receptors in vertebrates. **Biochemistry and molecular Biology International**, v. 35, n. 3, p. 627, 1995.

HENRIQUE, K.; SILVA, A.; FRANCO, C. Análise de custo de produção e lucratividade na produção do milho convencional e transgênico em Mato Grosso. p. 250–275, 2020.

HERNÁNDEZ-RUIZ, J.; ARNAO, M. B. Relationship of melatonin and salicylic acid in biotic/abiotic plant stress responses. **Agronomy**, v. 8, n. 4, p. 33, 2018.

KAISER, I. S. et al. Efeito de liberadores de óxido nítrico na qualidade fisiológica de sementes de repolho sob salinidade. **Rev. Ceres**, Viçosa, v. 63, n. 1, p. 39-45, 2016.

KAPPES, C. et al. Germinação, Vigor De Sementes E Crescimento De Plântulas De Milho Sob Condições De Déficit Hídrico. **Scientia Agraria**, v. 11, n. 2, p. 125, 2009.

KAYA, C. et al. Alleviation of salt stress-induced adverse effects on maize plants by exogenous

application of indoleacetic acid (IAA) and inorganic nutrients-A field trial. **Australian Journal of Crop Science**, v. 7, n. 2, p. 249, 2013.

KAYA, C. et al. Effect of foliar applied kinetin and indole acetic acid on maize plants grown under saline conditions. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, v. 34, n. 6, p. 529-538, 2010.

KHAN, N. A.; SINGH, S.; NAZAR, R.; Activities of antioxidative enzymes, sulphur assimilation, photosynthetic activity and growth of wheat (*Triticum aestivum*) cultivars differing in yield potential under cadmium stress. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 193, n. 6, p. 435-444, 2007.

KHAN, T. A. et al. Melatonin in business with abiotic stresses in plants. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, p. 1-14, 2020.

KIKUTI, A. L. P. et al. Condicionamento fisiológico de sementes de couve-flor. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 240-245, 2009.

KOVTUN, Yelena et al. Functional analysis of oxidative stress-activated mitogen-activated protein kinase cascade in plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 97, n. 6, p. 2940-2945, 2000.

KUMAR, D.; JHARIYA, A. N. Nutritional, medicinal and economical importance of corn: A mini review. **Res J Pharm Sci**, v. 2319, p. 555X, 2013.

LI, J.-T. et al. Exogenous hydrogen peroxide can enhance tolerance of wheat seedlings to salt stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 33, n. 3, p. 835-842, 2011.

LIMÃO, M. A. R. et al. Importância da preservação das sementes crioulas de Milho (*Zea mays* L.) e a importância atrelada aos atributos de qualidade de sementes. **Meio Ambiente (Brasil)**, v. 1, n. 1, 2020.

LIZÁRRAGA-PAULÍN, E. G. et al. Chitosan application in maize (*Zea mays*) to counteract the effects of abiotic stress at seedling level. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 34, p. 6439-6446, 2011.

MARTINS, M. **Aplicação da quitosana em milho transgênico e não transgênico**. 2016. 66 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, 2016.

MAZARO, S. M. et al. Comportamento pós-colheita de frutos de morangueiro após a aplicação pré-colheita de quitosana e acibenzolar-S-metil. **Revista brasileira de fruticultura**, v. 30, n. 1, p. 185-190, 2008.

OLIVEIRA, H.; BUSTAMANTE, F. D. O.; RESENDE, E. S. Sementes híbridas de milho submetidas a diferentes níveis de estresse salino durante a germinação. n. 1, p. 1917–1922, 2013.

PALLAORO, D. S.; AVELINO, A. C. D.; CAMILI, E. C.; GUIMARÃES, S. C.; ALBUQUERQUE, M. C. F. E. Priming corn seeds with plant growth regulator. **Journal of Seed Sciences**, v. 38, p. 227-232, 2016.

PEREIRA, B.L.C.; BORGES, E.E.L.; OLIVEIRA, A.C.; LEITE, H.G.; GONÇALVES, J.F.C. Influência do óxido nítrico na germinação de sementes de *Plathymenia reticulata* Benth com baixo vigor. **Scientia Florestalis**, v.38, n.88, p.629-636, 2010.

PIRES, R. M. de O. Protective action of nitric oxide on sesame seeds (*Sesamum indicum* L.) submitted to different conditions of stress. 2014. 86 f. Dissertação (Mestrado em Plantas daninhas, Alelopatia, Herbicidas e Resíduos; Fisiologia de culturas; Manejo pós-colheita de) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2014.

RASCIO, N.; DALLA VECCHIA, F.; MERLO, L.; GHISI, R.; Some effects of cadmium on maize plants. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v. 25, n. 2, p. 244-249, 1993.

RAZAVIZADEH, R. ; ADABAVAZEH, F. ; KOMATSU, S. Chitosan effects on the elevation of essential oils and antioxidant activity of *Carum copticum* L. seedlings and callus cultures under in vitro salt stress. **Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology**, v. 29, n. 3, p. 473-483, 2020.

RIBEIRO, C.; GRZYBOWSKI, D. S. Vigor de sementes de milho: influência no desenvolvimento de plântulas em condições de estresse salino 1 Vigour in maize seeds: influence on seedling development under conditions of salt. p. 491–499, 2016.

RIBEIRO, S. A. L. et al. Fungos filamentosos isolados de produtos derivados do milho comercializados em Recife, Pernambuco. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, n. 2, p. 223–229, 2003.

RIZWAN, M. et al. Effect of silicon on reducing cadmium toxicity in durum wheat (*Triticum turgidum* L. cv. Claudio W.) grown in a soil with aged contamination. **Journal of hazardous materials**, v. 209, p. 326-334, 2012.

SANTOS, D. M.; BALDONI, A. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho. **Revista GeTeC**, v. 7, n. 19, 2018.

SHU-HSIEN, H. U. N. G.; CHIH-WEN, Y. U.; LIN, C. H. Hydrogen peroxide functions as a stress signal in plants. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, v. 46, 2005.

SILVA, E. M. et al. Métodos de aplicação de diferentes concentrações de H₂O₂ em milho sob estresse salino. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 11, n. 3, p. 1-7, 2016.

SOUZA, Y.A. - **Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidas às condições de estresse: ação do óxido nítrico**. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas). Universidade Estadual Paulista. Botucatu. 2007

STEVES, B.S.; SUZUKI, M.S. Efeito da salinidade sobre as plantas. **Oecologia Australis**, v.12, n.4, p.662-679, 2008

SUN, C. et al. Melatonin: A master regulator of plant development and stress responses. **Journal of Integrative Plant Biology**, 2020.

TAIZ, L. ; ZEIGER, E. Metabólitos secundários e defesa vegetal. **Fisiologia vegetal**, v. 4, 2004.

TAN, D.-X. Melatonin and plants. **Journal of Experimental Botany** , v. 66, n. 3, pág. 625-626, 2015.

WAGNER, M. V. et al. Estimativa da produtividade do milho em função da disponibilidade hídrica em Guarapuava, PR, Brasil. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, n. 2, p. 170–179, 2013.

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