

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS –
AGRONOMIA

PRIMING COM BASSINOLIDE E NANOPARTÍCULAS
DE SILÍCIO NO DESEMPENHO DE SEMENTES DE
MILHO

Autora: Thaís Fernandes de Jesus

Orientadora: Profa. Dra. Juliana de Fátima Sales

RIO VERDE - GO
Fevereiro – 2025

PRIMING COM BASSINOLIDE E NANOPARTÍCULAS DE SILÍCIO NO DESEMPENHO DE SEMENTES DE MILHO

Autora: Thaís Fernandes de Jesus
Orientadora: Prof.^a Dr.^a Juliana de Fátima Sales
Coorientador: Prof. Dr. Arthur Almeida Rodrigues

Tese apresentada como parte das exigências para obtenção do título de DOUTORA EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS - AGRONOMIA, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias - Agronomia - do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Rio Verde – Agronomia

RIO VERDE - GO
Fevereiro – 2025

**Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do
Programa de Geração Automática do Sistema Integrado de Bibliotecas do IF Goiano - SIBi**

D278p de Jesus, Thaís Fernandes
PRIMING COM BASSINOLIDE E NANOPARTÍCULAS DE
SILÍCIO NO DESEMPENHO DE SEMENTES DE MILHO /
Thaís Fernandes de Jesus. Rio Verde 2025.

74f. il.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Juliana de Fátima Sales.

Coorientador: Prof. Dr. Arthur Almeida Rodrigues.

Tese (Doutor) - Instituto Federal Goiano, curso de 0232014 -
Doutorado em Ciências Agrárias - Agronomia - Rio Verde
(Campus Rio Verde).

1. Sementes. 2. Condicionamento. 3. Brassinosteroide. 4.
Sementes. 5. Vigor. I. Título.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

Documentos 1/2025 - SREPG/CMPR/CPG-RV/DPGPI-RV/CMPRV/IFGOIANO

PRIMING COM BASSINOLIDE E NANOPARTÍCULAS DE SILÍCIO NO DESEMPENHO DE SEMENTES DE MILHO

Autora: Thaís Fernandes de Jesus

Orientadora: Dr.^a Juliana de Fátima Sales

TITULAÇÃO: Doutorado em Ciências Agrárias-Agronomia - Área de Concentração em Produção Vegetal Sustentável no Cerrado

APROVADA em, 07 de fevereiro de 2025.

Prof.^a Dr.^a Juliana de Fátima Sales (Presidente)

Prof. Dr. Arthur Almeida Rodrigues (Avaliador interno)

Prof.^a Dr.^a Erica Fernandes Leão (Avaliadora externa)

Prof.^a Dr.^a Ingrid Maressa Hungria de Lima e Silva (Avaliadora externa)

Prof.^a Dr.^a Paula Sperotto Alberto Faria (Avaliadora externa)

Documento assinado eletronicamente por:

- Juliana de Fatima Sales, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 07/02/2025 10:54:55.
- PAULA SPEROTTO ALBERTO FARIA, 2023102344060003 - Discente, em 07/02/2025 10:56:48.
- ARTHUR ALMEIDA RODRIGUES, ARTHUR ALMEIDA RODRIGUES - Professor Avaliador de Banca - Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde (10651417000500), em 07/02/2025 10:56:48.
- Erica Fernandes Leao Araujo, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 07/02/2025 10:57:03.
- Ingrid Maressa Hungria de Lima e Silva, 025.224.851-13 - Usuário Externo, em 07/02/2025 10:57:59.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 24/01/2025. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 669152
Código de Autenticação: 8a5956f882



INSTITUTO FEDERAL GOIANO
Campus Rio Verde
Rodovia Sul Goiana, Km 01, Zona Rural, 01, Zona Rural, RIO VERDE / GO, CEP 75901-970
(64) 3624-1000



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

Ata nº 6/2025 - SREPG/CMPR/CPG-RV/DPGPI-RV/CMPRV/IFGOIANO

ATA Nº/146

BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE TESE

Ao sétimo dia do mês de fevereiro do ano de dois mil e vinte e cinco às 7:30, reuniram-se os componentes da Banca Examinadora: sob a presidência do primeiro, Prof.^a Dr.^a Juliana de Fátima Sales (Presidente); Prof. Dr. Arthur Almeida Rodrigues (Avaliador interno); Prof.^a Dr.^a Erica Fernandes Leão (Avaliadora externa); Prof.^a Dr.^a Ingrid Maressa Hungria de Lima e Silva (Avaliadora externa); Prof.^a Dr.^a Paula Sperotto Alberto Faria (Avaliadora externa) em sessão pública realizada no IF Goiano - Campus Rio Verde, para procederem a avaliação da defesa de Tese, em nível de Doutorado, de autoria de **THAÍS FERNANDES DE JESUS**, discente do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias – Agronomia do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde. A sessão foi aberta pelo presidente da Banca Examinadora, Prof.^a Dr.^a Juliana de Fátima Sales (presidente), que fez a apresentação formal dos membros da Banca. A palavra, a seguir, foi concedida a autora da Tese para, em 40 min., proceder à apresentação de seu trabalho. Terminada a apresentação, cada membro da banca arguiu o(a) examinado(a), tendo-se adotado o sistema de diálogo sequencial. Terminada a fase de arguição, procedeu-se a avaliação da defesa. Tendo-se em vista as normas que regulamentam o Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias – Agronomia, e procedidas às correções recomendadas, a Tese foi APROVADA, considerando-se integralmente cumprido este requisito para fins de obtenção do título de **DOCTORA EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS-AGRONOMIA**, na área de concentração Produção Vegetal Sustentável no Cerrado, pelo Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde. A conclusão do curso dar-se-á quando da entrega na secretaria do PPGCA-AGRO da versão definitiva da Tese, com as devidas correções. Assim sendo, esta ata perderá a validade se não cumprida essa condição, em até **60** (sessenta) dias da sua ocorrência. A Banca Examinadora recomendou a publicação dos artigos científicos oriundos dessa Tese em periódicos de circulação nacional e/ou internacional, após procedida as modificações sugeridas. Cumpridas as formalidades da pauta, a presidência da mesa encerrou esta sessão de defesa de Tese de Doutorado, e para constar, eu, Vanilda Maria Campos, secretária do PPGCA-AGRO, lavrei a presente Ata, que, após lida e achada conforme, será assinada pelos membros da Banca Examinadora.

Prof.^a Dr.^a Juliana de Fátima Sales (Presidente)

Prof. Dr. Arthur Almeida Rodrigues (Avaliador interno)

Prof.^a Dr.^a Erica Fernandes Leão (Avaliadora externa)

Prof.^a Dr.^a Ingrid Maressa Hungria de Lima e Silva (Avaliadora externa)

Prof.^a Dr.^a Paula Sperotto Alberto Faria (Avaliadora externa)

Documento assinado eletronicamente por:

- Juliana de Fatima Sales, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 07/02/2025 10:56:36.
- ARTHUR ALMEIDA RODRIGUES, ARTHUR ALMEIDA RODRIGUES - Professor Avaliador de Banca - Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde (10651417000500), em 07/02/2025 10:58:19.
- Ingrid Maressa Hungria de Lima e Silva, 025.224.851-13 - Usuário Externo, em 07/02/2025 10:58:38.
- Erica Fernandes Leao Araujo, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 07/02/2025 10:58:44.
- PAULA SPEROTTO ALBERTO FARIA, 2023102344060003 - Discente, em 07/02/2025 10:58:58.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 24/01/2025. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 669145
Código de Autenticação: 497f5d727f



INSTITUTO FEDERAL GOIANO
Campus Rio Verde
Rodovia Sul Goiana, Km 01, Zona Rural, 01, Zona Rural, RIO VERDE / GO, CEP 75901-970
(64) 3624-1000

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610, de 19 de fevereiro de 1998, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano a disponibilizar gratuitamente o documento em formato digital no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

IDENTIFICAÇÃO DA PRODUÇÃO TÉCNICO-CIENTÍFICA

Tese (doutorado)

Dissertação (mestrado)

Monografia (especialização)

TCC (graduação)

Artigo científico

Capítulo de livro

Livro

Trabalho apresentado em evento

Produto técnico e educacional - Tipo:

Nome completo do autor:

Matrícula:

Título do trabalho:

RESTRIÇÕES DE ACESSO AO DOCUMENTO

Documento confidencial: Não Sim, justifique:

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: / /

O documento está sujeito a registro de patente? Sim Não

O documento pode vir a ser publicado como livro? Sim Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O(a) referido(a) autor(a) declara:

- Que o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- Que obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autoria, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- Que cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Local / /
Data

Assinatura do autor e/ou detentor dos direitos autorais

Ciente e de acordo:

Assinatura do(a) orientador(a)

*“Alguém precisa começar, filho. Alguém tem que dar o primeiro passo e fazer o que é certo porque é certo. Se ninguém começar, então os outros não podem segui-lo...
Jornada antes do destino.”*

Brandon Sanderson – O Caminho dos Reis

"Aos meus pais, Terezinha e Altaídes, que sob
muito sol, fizeram-me chegar até
aqui, na sombra"

DEDICO.

A minha família e amigos,
À Prof.^a Dr.^a. Juliana de Fátima Sales e Dr. Arthur
Almeida Rodrigues que tanto colaboraram para o
sucesso deste trabalho;

OFEREÇO.

AGRADECIMENTOS

A Deus, fonte de toda sabedoria e força, expresso minha eterna gratidão por me guiar ao longo desta jornada. Sem Sua presença constante, sua orientação silenciosa, este trabalho não seria possível. A Ele, dedico toda a minha conquista.

Aos meus pais, Terezinha e Altaídes, que desde sempre foram meu alicerce e inspiração. O amor incondicional de vocês, seus ensinamentos e exemplo de dedicação e perseverança me guiaram até aqui. Obrigada por acreditarem em mim. Esta conquista é, também, de vocês.

À minha irmã, Flívia, por ser minha confiante e amiga em todas as fases da vida. Sua presença, apoio e palavras encorajadoras foram fundamentais para que eu seguisse em frente, mesmo diante dos desafios. Sou grata por cada gesto de carinho e pela certeza de que, em todos os momentos, posso contar com você.

Ao meu esposo, Leandro, por sua paciência, compreensão e apoio inabalável ao longo dessa jornada. Foram inúmeras as horas dedicadas a este doutorado, muitas delas roubadas ao nosso tempo juntos, e ainda assim você esteve sempre ao meu lado, incentivando e acreditando no meu potencial. Obrigada por ser meu porto seguro e por comemorar comigo cada

À minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Juliana de Fátima, minha eterna gratidão pela orientação cuidadosa, pelo profissionalismo exemplar. Sua dedicação e compromisso com a pesquisa foram fundamentais para meu crescimento acadêmico e pessoal. Agradeço por acreditar no meu potencial, por me desafiar a crescer e por sempre me estimular a dar o meu melhor.

Não tenho palavras para agradecer ao meu coorientados, Dr. Arthur Almeida Rodrigues, a quem tenho o privilégio de considerar um grande mestre. Tive a honra de aprender com você em todas as etapas deste doutorado. Agradeço imensamente por todo o esforço e dedicação em tornar possível a realização deste trabalho. Seus conhecimentos foram compartilhados de forma generosa e sempre com paciência admirável, permitindo não apenas o crescimento desta pesquisa, mas também o meu amadurecimento acadêmico. Não apenas me orientou tecnicamente, mas ensinou, valores que levarei para toda a minha carreira. Aprendi profundamente com seus ensinamentos e, ainda mais, com a maneira exemplar com que os compartilhou.

A toda equipe do Laboratório de Sementes do Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde, pelo apoio e auxílio na condução dos experimentos, companheirismo, amizade, pelo incentivo, pelas risadas e pela distração ocasional dos rigores da pós-graduação. Em especial a Moara, Anderson, Ingrid, Layane e Edilma... muito obrigada!

Agradeço imensamente ao Laboratório de Ecofisiologia e Produtividade Vegetal do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, na pessoa do estimado Adinan Alves, por toda

a colaboração e pelas valiosas sugestões que enriqueceram esta pesquisa. Sem você eu não conseguiria entender fisiologia.

Meu sincero reconhecimento aos Laboratórios de Anatomia Vegetal, Pós-Colheita de Produtos Vegetais e Cultura de Tecidos Vegetais da Instituição, pelo suporte essencial na utilização de equipamentos e na realização das análises.

Aos professores do Programa, sou imensamente grato pelos preciosos ensinamentos que tanto desenvolvi para minha formação. À secretária dedicada Vanilda, pelo atendimento sempre cordial, e a todos os funcionários da Instituição que, de alguma forma, desenvolvem para o desenvolvimento desta pesquisa.

Aos meus colegas do Laboratório de Sementes, que tornaram essa jornada mais enriquecedora, especialmente a Ingrid, Layane, Anderson, Moara e Edilma.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG), pela concessão da bolsa.

BIOGRAFIA DA AUTORA

Thaís Fernandes de Jesus Conceschi, filha de Terezinha de Jesus Fernandes e Altaídes Fernandes de Jesus, esposa de Leandro Luis Conceschi, nasceu no dia 26 de maio de 1990, em Ipameri – Goiás. Em 2009 ingressou na graduação de Bacharelado em Agronomia na Universidade Estadual de Goiás, Campus-Ipameri, na qual atuou em projetos de pesquisa na área de culturas anuais, e diplomou-se em 2014. De 2014 a 2018 trabalhou em empresas privadas, no ramo de agricultura de precisão e posicionamento de variedades de cultivares de semente de soja. Em 2018, iniciou no curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, na mesma universidade que cursou a graduação, área de concentração em Produção Vegetal e linha de pesquisa em Fitotecnia, no qual desenvolveu estudos com qualidade fisiológica e tratamento de sementes, como bolsista da instituição CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), defendendo a dissertação no dia 25 de fevereiro de 2021. Em 2021 foi aprovada para iniciar no curso de doutorado no Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias – Agronomia, na área de Tecnologia de Sementes, como bolsista CAPES, atuando na área de condicionamento de sementes e potencial fisiológico. Em 2024, se casou. Em fevereiro de 2025 submeteu-se à defesa da tese, requisito indispensável para a obtenção do título de Doutora em Ciências Agrárias-Agronomia.

ÍNDICE GERAL

Página

ÍNDICE DE FIGURAS.....	10
LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES	12
RESUMO.....	16
ABSTRACT.....	17
1. INTRODUÇÃO GERAL	18
1.1 Referências Bibliográficas	20
2. OBJETIVO GERAL	22
3. CAPÍTULO I: Priming com brassinolide: estratégia para melhorar a germinação e o desenvolvimento inicial de plântulas de milho	23
3.1 Introdução	25
3.2 Material e métodos.....	26
3.3 Resultados	31
3.4 Discussão	42
3.5 Conclusões	46
3.6 Referências Bibliográficas	47
4. CAPÍTULO II: Priming de sementes de milho com nanopartículas de silício: otimização da germinação e do crescimento inicial	53
4.1 Introdução	55
4.2 Material e métodos.....	56
4.3 Resultados	61
4.4 Discussão	65
4.5 Conclusões	70
4.6 Referências Bibliográficas	70
5 CONCLUSÃO GERAL.....	76

ÍNDICE DE FIGURAS

Página

CAPÍTULO I

- Figura 1. Efeito do brassinolide na germinação de sementes de milho. Sementes sem priming (controle, S), priming com água (0) e com as concentrações de 0,5; 1 e 2 μM do hormônio. Colunas verticais representam a média de quatro repetições com barras indicando o erro padrão. (k)..... 32
- Figura 2. Efeito do brassinolide na germinação de sementes de milho. Sementes sem priming (S), priming com água (0) e com as concentrações de 0,5; 1 e 2 μM do hormônio, submetidas ao teste de frio (TF) (A), restrição hídrica (RH) (B), envelhecimento acelerado (EA) (D), índice de velocidade de emergência (IVE) (D), comprimento da parte aérea e raiz (CP e CR) (E), massa seca de parte aérea e raiz (MP e MR) (F). Colunas verticais representam a média de quatro repetições com barras indicando o erro padrão..... 33
- Figura 3. Rendimento quântico potencial do PSII (F_v/F_m), fluorescência inicial (F_0), rendimento quântico efetivo do PSII (Φ_{II}), rendimento quântico de dissipação de energia não regulada do PSII (Φ_{NO}) taxa de transporte de eletros (ETR) das plantas de soja aos 15 dias após semeadura das sementes de milho sem priming (S), priming com água (0) e com as concentrações de 0,5; 1 e 2 μM do brassinolide..... 35
- Figura 4. Taxa fotossintética (A , A), condutância estomática (g_s , B), taxa transpiratória (E , C), relação entre concentração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a , D) das plantas de soja aos 15 dias após semeadura das sementes de milho sem priming (S), priming com água (0) e com as concentrações de 0,5; 1 e 2 μM do brassinolide. Para A, E e g_s asteriscos indicam diferença significativa pelo teste de Kruskal-Wallis e o post-hoc de Dunn aplicando a correção de Bonferroni..... 36
- Figura 5. Análise histoquímica de sementes de milho. A coloração com azul de toluidina foi realizada para caracterização estrutural (A). A coloração com lugol foi realizada para identificação de amido (B, e C). A coloração com xylydine ponceau foi realizada para identificar os compostos proteicos (D, e E)..... 38
- Figura 6. Efeito do brassinolide na atividade de α -amilase de sementes de milho sem priming (S), priming com água (0) e com as concentrações de 0,5; 1 e 2 μM do hormônio. Colunas verticais representam a média de quatro repetições com barras indicando o erro padrão..... 39
- Figura 7. Análise dos componentes principais (PCA) de dados de qualidade e vigor de sementes, PG (porcentagem de germinação), teste de frio (TF), restrição hídrica (RH), emergência (EM), índice de velocidade de emergência (IVE), comprimento de parte aérea (CP), comprimento de raiz (CR), massa seca de parte aérea (MP), massa seca de raiz (MR) e envelhecimento acelerado (EA), dados de fluorescência de imagem, rendimento quântico potencial do PSII (F_v/F_m), fluorescência inicial (F_0), rendimento quântico efetivo do PSII (Φ_{II}), rendimento quântico de dissipação de energia não regulamentada do PSII (Φ_{NO}) taxa de transporte de eletros (ETR), rendimento de extinção não fotoquímica (YNPQ), para trocas gasosas, taxa fotossintética (A), condutância estomática (g_s), taxa transpiratória (E), relação entre concentração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a) e atividade de α -amilase (Alfa) e b-amilase (Beta) para o condicionamento fisiológicos de sementes de milho com brassinolide..... 40

Figura 8. Matriz de correlação de Pearson de dados de qualidade e vigor de sementes, PG (porcentagem de germinação), teste de frio (TF), restrição hídrica (RH), emergência (EM), índice de velocidade de emergência (IVE), comprimento de parte aérea (CP), comprimento de raiz (CR), massa seca de parte aérea (MP), massa seca de raiz (MR) e envelhecimento acelerado (EA), dados de fluorescência de imagem, rendimento quântico potencial do PSII (F_v/F_m), fluorescência inicial (F_0), rendimento quântico efetivo do PSII (Φ_{II}), rendimento quântico de dissipação de energia não regulamentada do PSII (Φ_{NO}) taxa de transporte de eletros (ETR), rendimento de extinção não fotoquímica (YNPQ), para trocas gasosas, taxa fotossintética (A), condutância estomática (g_s), taxa transpiratória (E), relação entre concentração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a) e atividade de α -amilase (Alfa) e β -amilase (Beta) para o condicionamento fisiológicos de sementes de milho com brassinolide.....	41
CAPÍTULO II	
Figura 1. Efeito do priming na germinação (%) em sementes de milho com concentrações de SiO_2 -NPs (0, 200, 400 e 600 $mg L^{-1}$) e controle (SP). Colunas verticais representam a média de quatro repetições com barras indicando o erro padrão.....	60
Figura 2. Efeito do priming na germinação (%) em sementes de milho com concentrações de SiO_2 -NPs (0, 200, 400 e 600 L^{-1}) e controle (SP) submetidas aos testes de estresse salino (ES), teste de frio (TF), restrição hídrica (RH) e envelhecimento acelerado (EA). Colunas verticais representam a média de quatro repetições com barras indicando o erro padrão.....	61
Figura 3. Gráfico radar. Efeito do priming na germinação (%) em sementes de milho com concentrações de SiO_2 -NPs (0, 200, 400 e 600 L^{-1}) e controle (SP) submetidas aos testes de estresse salino (ES), teste de frio (TF), restrição hídrica (RH) envelhecimento acelerado (EA) e emergência (EM).....	62
Figura 4. Efeito do priming no índice de velocidade de emergência (IVE) (A) e no comprimento de parte aérea e raiz de plântulas (CP e CR) (B) em sementes de milho com concentrações de SiO_2 -NPs (0, 200, 400 e 600 $mg L^{-1}$) e controle (SP). Colunas verticais representam a média de quatro repetições com barras indicando o erro padrão.....	62
Figura 5. Efeito do priming na atividade da enzima α -amilase em sementes de milho com concentrações de SiO_2 -NPs (0, 200, 400 e 600 $mg L^{-1}$) e controle (SP). Colunas verticais representam a média de quatro repetições com barras indicando o erro padrão.....	63
Figura 6. Rendimento quântico efetivo da conversão de energia fotoquímica em PSII (Φ_{II}), dissipação de energia não regulada (Φ_{NO}) e o rendimento quântico de dissipação de energia regulada (Φ_{NPQ}) aos 15 dias após semeadura das sementes de milho sem priming (SP), priming com água (0) e com as concentrações de 200, 400 e 600 $mg L^{-1}$ de SiO_2 -NPs.....	64

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES

Símbolo/sigla	Significado	Unidades
≈	Aproximadamente	-
%	Porcentagem	-
±	Mais ou menos	-
>	Maior	-
<	Menor	-
≤	Menor ou igual	-
=	Igual	-
**	Significativo a 1% de significância	-
*	Significativo a 5% de significância	-
Ns	Não significativo	-
Ha	Hectare	-
°	Grau	-
'	Minutos	-
S	Sul	-
W	Oeste	-
H	Horas	-
Min	Minutos	-
M	Metros	-
G	Gramas	-
Mg	Miligramas	-
°C	Temperatura em graus Celsius	-
Kv	Quilovolt	-
TXT	Documento de texto	-
JPEG	Joint Photographic Experts Group	-
®	Marca registrada	-
Mm	Milímetro	-

mm ²	Milímetro quadrado	-
Cm	Centímetros	-
N ₂	Nitrogênio	-
SOD	Superóxido dismutase	U SOD min ⁻¹ mg ⁻¹ de proteína
CAT	Catalase	min ⁻¹ mg ⁻¹ de proteína
APX	Peroxidase do ascorbato	min ⁻¹ mg ⁻¹ de proteína
POX	Peroxidase inespecífica	min ⁻¹ mg ⁻¹ de proteína
EC	Enzyme Comission	-
MI	Mililitro	-
Mm	Milímetro	-
pH	Potencial hidrogeniônico	-
m/v	Relação massa e volume	-
Nm	Nanômetro	-
μL	Microlitro	-
μM	Micrômetro	-
μS	Micro-Siemens	-
Mmol	Micromol	-
Nmol	Nanomol	-
W	Watts	-
PEG	Polietilenoglicol	-
BR	Brassinosteróide	-
BL	Brassinolide	-
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio	-
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético	-
MDA	Malondialdeído	nmol g ⁻¹ de massa fresca
PROT	Proteína	g ou %
RAS	Regras para análises de sementes	-
BOD	Biochemical Oxygen Demand	-
F ₀	Fluorescência mínima	-
F _m	Fluorescência máxima	-
PSII	Fotossistema II	-

F_v/F_m	Rendimento quântico potencial do fotossistema II	-
F_m'	Máxima fluorescência no claro	-
F	Fluorescência	-
F_0	Fluorescência inicial	-
Φ_{NO}	Rendimento quântico de dissipação de energia não regulada	-
Φ_{II}	Rendimento quântico efetivo do PSII	-
G_s	Condutância estomática	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
A	Taxa fotossintética	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
E	Taxa transpiratória	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
$C_i C_a$	Concentração interna de CO_2	-
ETR	Taxa de transporte de elétrons	%
C_i	Concentração interna de CO_2	-
C_a	Concentração externa de CO_2	-
CaCl_2	Cloreto de cálcio	-
PCA	Análise de Componentes Principais	-
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético	-
XP	Xylidine Ponceau	-
DIC	Delineamento inteiramente ao acaso	-
P	Probabilidade de significância	-
F	Teste F	-
TA	Teor de água	-
PG	Porcentagem de germinação	%
IVE	Índice de velocidade de emergência	-
EM	Emergência	%
TF	Teste de Frio	%
EA	Envelhecimento acelerado	%
CP	Comprimento parte aérea	cm
CR	Comprimento de raiz	cm
RH	Restrição hídrica	%
ES	Estresse salino	%
24-EBL	24-epibrassinolíde	-
$\text{SiO}_2\text{-NPs}$	Nanopartículas de dióxido de silício	-

SiNPs	Nanopartículas de silício	-
IRGA	Analisador por gases infravermelho	-
SiO ₂	Sílica	-

RESUMO

CONCESCHI, THAÍS FERNANDES DE JESUS. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Rio Verde – GO, fevereiro de 2024. **Impactos dos efeitos do priming com brassinolide e nanopartículas de silício no desempenho de sementes de milho.** Orientadora: Prof.^a Dr.^a Juliana de Fátima Sales. Coorientador: Dr. Arthur Almeida Rodrigues.

A qualidade da semente é um dos fatores mais importantes para atingir os objetivos de estabelecimento uniforme de plântulas e alto rendimento da cultura. A utilização de sementes de alta qualidade e vigor é fundamental para o aumento da produtividade agrícola, sendo fator indispensável para o sucesso da cultura do milho. No entanto, diversas dificuldades podem comprometer a qualidade das sementes e o desenvolvimento das plantas, como o deterioração e envelhecimento das sementes e fatores ambientais adversos, como variações de temperatura e estresse hídrico. Esses fatores limitam o potencial de germinação e vigor das sementes, prejudicando o crescimento das plântulas e, conseqüentemente, afetando a produtividade da cultura. O aumento da produtividade do milho tem sido impulsionado por novas tecnologias, incluindo o aprimoramento da qualidade das sementes, entre as estratégias utilizadas, destaca-se o priming, uma técnica que consiste no pré-condicionamento das sementes antes da semeadura. Essa abordagem pode aumentar a velocidade e o vigor da germinação, além de contribuir para o desenvolvimento inicial das plântulas, especialmente em condições de estresse, além de permitir o uso de aplicação de substâncias químicas, como reguladores de crescimento e nanopartículas. Este estudo investigou o potencial do priming em sementes de milho com duas abordagens distintas: o uso de brassinolide (BL) e nanopartículas de dióxido de silício (SiO₂-NPs). O priming com BL, experimento I, foi realizado utilizando diferentes concentrações (0,0; 0,5; 1; e 2 µM) para avaliar o efeito no desenvolvimento inicial das plântulas, em especial sob condições de estresse. Para isso, foram utilizados testes de germinação, envelhecimento acelerado, e avaliação do desempenho das sementes sob estresses como frio e restrição hídrica. Da mesma forma, as sementes de milho foram tratadas com diferentes concentrações de nanopartículas de SiO₂ (0, 200, 400 e 600 mg L⁻¹) no experimento II, e o efeito do priming foi analisado por meio de análises, fisiológicas e bioquímicas. Ambas as técnicas de priming foram avaliadas em relação aos testes de fluorescência da clorofila, trocas gasosas e outros parâmetros fisiológicos, como a atividade da enzima α-amilase. Esses testes permitiram analisar a eficácia do priming na melhoria do vigor e na resistência das sementes de milho. Os resultados indicaram que tanto o brassinolide quanto as nanopartículas de SiO₂ aumentaram a qualidade fisiológica das sementes, favorecendo a germinação e o desenvolvimento inicial das plântulas, especialmente quando as sementes enfrentaram condições de estresse.

Palavras-chave: condicionamento, germinação, potencial fisiológico, vigor, *Zea mays* L.

ABSTRACT

CONCESCHI, THAIS FERNANDES DE JESUS. Federal Institute of Education, Science, and Technology of Goiás, Rio Verde Campus, Goiás State (GO), Brazil, March 2024. **Impacts of brassinolide and silicon nanoparticle priming on maize seed performance.** Advisor: Profa. Dra. Sales, Juliana de Fatima. Co-advisor: Dr. Arthur Almeida Rodrigues.

The use of high-quality and vigorous seeds is fundamental to increase agricultural productivity, being an essential factor for success of maize (*Zea mays* L.) cultivation. However, various challenges may compromise seed quality and plant development, such as seed deterioration and aging, as well as adverse environmental factors, including temperature fluctuations and water stress. These factors limit seed germination potential and vigor, hindering seedling growth and consequently affecting crop productivity. Maize productivity has been driven by new technologies, including the improvement of seed quality. Among the strategies employed, priming stands out as a technique that involves pre-conditioning seeds before sowing. This approach can increase germination speed and vigor, as well as to contribute to the early development of seedlings, especially under stress conditions, and allow the application of substances such as growth regulators and nanoparticles. This study investigated the potential of priming maize seeds using two distinct approaches: the use of brassinolide (BL) and silicon dioxide nanoparticles (SiO₂-NPs). Priming with BL (Experiment I) was performed using different concentrations (0.0, 0.5, 1, and 2 μ M) to assess its effect on early seedling development, particularly under stress conditions. For this, germination tests, accelerated aging, and performance evaluation under stresses such as cold and water restriction were employed. Similarly, maize seeds were treated with different concentrations of SiO₂ nanoparticles (0, 200, 400, and 600 mg L⁻¹) in Experiment II, the priming effect was analyzed through physiological and biochemical assessments. Both priming techniques were evaluated in relation to chlorophyll fluorescence tests, gas exchange, and other physiological parameters, such as α -amylase enzyme activity. These tests allowed the analysis of the priming effectiveness in improving seed vigor and resistance. The results indicated that both brassinolide and SiO₂ nanoparticles increased the physiological quality of the seeds, favoring germination and early seedling development, especially when seeds faced stress conditions.

Keywords: conditioning, germination, physiological potential, vigor, *Zea mays* L.

1. INTRODUÇÃO GERAL

O milho (*Zea mays* L.) é uma das culturas mais significativas e versáteis do mundo, com grande importância na economia agrícola global, sendo fundamental para os mercados globais. O Brasil ocupa o terceiro lugar de maiores produtores, principalmente nas regiões como o Centro-Oeste, Sul e Sudeste, consolidando a importância da cultura no panorama agrícola nacional (CONAB, 2023).

A emergência rápida e o estabelecimento adequado das plântulas são fatores decisivos na produção de milho. Fundamental na agricultura e na segurança alimentar, a qualidade de semente é um dos pilares para garantir a sustentabilidade dos sistemas alimentares globais. A utilização de sementes de alta qualidade maximiza o potencial genético das culturas, e resulta em maior produtividade e resiliência aos desafios ambientais (Finch-Savage e Bassel, 2016). Essas sementes proporcionam melhor adaptação a condições climáticas e de crescimento adversas, maior resistência a pragas e doenças, e uniformidade no crescimento e na maturação das plantas (Wimalasekera, 2015).

Estressores abióticos, como seca, salinidade e temperaturas extremas, prejudicam a germinação das sementes ao alterar processos metabólicos e fisiológicos essenciais. Com as mudanças climáticas, a incidência desses estressores, tanto bióticos quanto abióticos, tem aumentado, representando ameaça significativa à produtividade das plantas (Tamindžić *et al.* 2024). Sementes de milho de alto vigor são mais resistentes às condições de baixa disponibilidade hídrica, favorecendo o estabelecimento da planta no campo mesmo nessas condições (Tekrony e Egli, 1991). Isso se deve à rápida emergência e ao alto desempenho das sementes, que resultam em melhor uniformidade, desenvolvimento e qualidade do produto colhido (Marcos Filho, 2015).

O priming ou condicionamento fisiológico de sementes é uma técnica utilizada na agricultura para promover a germinação das sementes e o estabelecimento das plantas, que envolve através de procedimentos prévios à semeadura, que buscam aprimorar a qualidade fisiológica das sementes (Khalaki *et al.* 2020). A técnica envolve a hidratação parcial das sementes, de modo a permitir a ocorrência da fase II da germinação, sem que se inicie a emergência da raiz primária (fase III, crescimento), momento que ocorre a perda da tolerância à dessecação (Singh *et al.* 2015; Waqas *et al.* 2019). Após o tratamento, as sementes são novamente secas até atingirem o grau de umidade inicial e, então, armazenadas até o momento da semeadura. Na fase de embebição, a absorção controlada de água facilita a síntese de proteínas e induz a atividade respiratória. A fase II, também denominada pré-germinação ou ativação, envolve vários processos metabólicos, como a síntese proteica, a respiração e o metabolismo de açúcares (Corbineau *et al.* 2023).

O priming de sementes pode ser realizado usando água ou ampla gama de agentes

de priming que incluem sais, moléculas antioxidantes e bioativas, microrganismos benéficos, fitohormônios (hormopriming) e nanopartículas (nanopriming) (Pagano *et al.* 2023). Os tratamentos têm o propósito de ativar processos metabólicos nas sementes, estimulando a respiração, a síntese de enzimas e hormônios, e a mobilização de reservas. Como resultado, ocorre aumento na taxa de germinação, na velocidade de emergência de plântulas e na uniformidade do estabelecimento da cultura (Sano *et al.* 2017; Paparella *et al.* 2015).

O hormopriming consiste na aplicação exógena de reguladores de crescimento de plantas ou fitohormônios que podem estimular a embebição e modificar o metabolismo das sementes (Bryksová *et al.* 2020). Os reguladores de crescimento de plantas mais frequentemente usados dessa forma são ácido abscísico, giberelinas, citocininas, auxinas, etileno, e mais recentemente os brassinosteróides (De Diego e Spíchal, 2020).

Os brassinosteróides (BRs) são hormônios esteroides vegetais essenciais para o desenvolvimento adequado da planta (Divi e Krishna, 2009). Afetam os processos de crescimento, formação do sistema vascular, reprodução, desenvolvimento de flores e frutos, controla os efeitos inibitórios do ácido abscísico, tendo efeito positivo na germinação das sementes (Zhang *et al.* 2009; Hu e Yu, 2014). Juntamente com as giberelinas e o etileno, os BRs induzem o crescimento do embrião e aumentam a digestão do endosperma (Finch-Savage e Leubner-Metzger, 2006).

O nanopriming estimula vários mecanismos metabólicos associados à germinação das sementes, incluindo a regulação positiva dos genes da aquaporina, atividade da α -amilase e sistemas antioxidantes (Mahakham *et al.* 2017). O priming de sementes utilizando diferentes tipos de nanopartículas tem se mostrado eficaz no que se refere à redução da dormência das sementes, à melhoria da germinação e ao vigor das plântulas, tanto de espécies agrícolas quanto de espécies florestais não agrícolas (Arnott *et al.* 2021).

Nos últimos anos, os nanomateriais são utilizados na agricultura como estimuladores de crescimento, produtos de proteção de plantas e nanofertilizantes. Entre estes, as nanopartículas de sílica (SiNPs) têm ganhado cada vez mais atenção devido às suas propriedades únicas, como alto volume de poros, grande área de superfície, baixa toxicidade, alta estabilidade, morfologia controlável e facilidade de funcionalização da superfície (Sun *et al.* 2018). Foi demonstrado que o nanopriming com SiNPs melhora a germinação de sementes e o crescimento de plântulas sob estresse salino e condições normais (El-Serafy *et al.* 2021).

A aplicação de silício é uma estratégia ecologicamente correta para melhorar a resposta das plantas ao estresse salino e à seca, além de melhorar as respostas adaptativas, como a produção de compostos fenólicos, absorção de minerais e antioxidantes (Ahanger *et al.* 2018; Ahmad *et al.* 2018).

O aprimoramento da qualidade das sementes, por meio de práticas como o priming e o uso de nanopartículas e fitohormônios, representam avanço significativo para melhorar a germinação, o vigor das plântulas e a resistência a estressores abióticos. Dessa forma, a integração de novas tecnologias de tratamento de sementes para garantir a produção agrícola mais eficiente e sustentável, especialmente neste cenário de mudanças climáticas e desafios ambientais crescentes, tem se mostrado cada vez mais urgente.

1.1 Referências Bibliográficas

- AHANGER, M. A.; ALYEMENI, M. N.; WIJAYA, L.; ALAMRI, S. A.; ALAM, P.; ASHRAF, M.; AHMAD, P. Potential of exogenously sourced kinetin in protecting *Solanum lycopersicum* from NaCl-induced oxidative stress through up-regulation of the antioxidant system, ascorbate-glutathione cycle and glyoxalase system. **PLoS ONE**, v. 13, e0202175, 2018.
- AHMAD, P.; AHANGER, M. A.; ALAM, P.; ALYEMENI, M. N.; WIJAYA, L.; ALI, S.; ASHRAF, M. Silicon (Si) supplementation alleviates NaCl toxicity in Mung Bean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] through the modifications of physio-biochemical attributes and key antioxidant enzymes. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 38, p. 70–82, 2019.
- AHMED, M. Z.; OMRAN, M. F.; MANSOUR, S. Z.; IBRAHIM, N. K. Effectiveness of *Carthamus tinctorius* L. in the restitution of lipid composition in irradiated rats. **Journal of Radiation Research and Applied Sciences**, v. 20, n. 1, p. 75-94, 2007.
- ARNOTT, A.; GALAGEDARA, L.; THOMAS, R.; CHEEMA, M.; SOBZE, J. M. The potential of rock dust nanoparticles to improve seed germination and seedling vigor of native species: A review. **Science of The Total Environment**, v. 775, p. 145139, 2021.
- BRYKSOVÁ, M.; HYBENOVÁ, A.; HERNÁNDIZ, A. E.; NOVÁK, O.; PEŇCÍK, A.; SPÍČHAL, L.; DE DIEGO, N.; DOLEŽAL, K. Hormopriming to mitigate abiotic stress effects: A case study of N9-substituted cytokinin derivatives with a fluorinated carbohydrate moiety. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 599228, 2020.
- CORBINEAU, F.; TASKIRAN-ÖZBINGÖL, N.; EL-MAAROUF-BOUTEAU, H. Improvement of Seed Quality by Priming: Concept and Biological Basis. **Seeds**, v. 2, p. 101-115, 2023.
- DE DIEGO, N.; SPÍČHAL, L. Use of plant metabolites to mitigate stress effects in crops. In: GEELLEN, D.; XU, L. (eds.). *The Chemical Biology of Plant Biostimulants*. Hoboken, NJ: **Wiley**, p. 261–300, 2020.
- DIVI, U. K.; KRISHNA, P. Brassinosteroid: a biotechnological target for enhancing crop yield and stress tolerance. **New Biotechnology**, v. 26, p. 131-136, 2009.
- EL-SERAFY, R. S.; EL-SHESHTAWY, A. -N. A.; ATTEYA, A. K. G.; AL-HASHIMI, A.; ABBASI, A. M.; AL-ASHKAR, I. Seed priming with silicon as a potential to increase salt stress tolerance in *Lathyrus odoratus*. **Plants**, v. 10, p. 2140, 2021.
- FINCH SAVAGE, W. E.; BASSEL, G. W. Seed vigour and crop establishment: extending performance beyond adaptation. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n. 3, p. 567-591, 2016.
- HU, Y.; YU, D. BRASSINOSTEROID INSENSITIVE2 interacts with abscisic acid insensitive5 to mediate the antagonism of brassinosteroids to abscisic acid during seed germination in *Arabidopsis*. **The Plant Cell**, v. 26, p. 4394–4408, 2014.

KHALAKI, M. A.; MEHDI, M.; BEHNAM, A. L.; TESS, A. Influence of nano-priming on seed germination and plant growth of forage and medicinal plants. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 93, p. 13-28, 2020.

MAHAKHAM, W.; THEERAKULPISUT, P.; MAENSIRI, S.; PHUMYING, S.; SARMAH, A. K. Environmentally benign synthesis of phytochemicals-capped gold nanoparticles as nanopriming agent for promoting maize seed germination. **Science of The Total Environment**, v. 573, p. 1089-1102, 2016.

MARCOS FILHO, J. Fisiologia de sementes de plantas cultivadas. 2. ed. Londrina: Abrates, 2015. 660 p.

PAGANO, A.; MACOVEI, A.; BALESTRAZZI, A. Molecular dynamics of seed priming at the crossroads between basic and applied research. **Plant Cell Reports**, v. 42, p. 657-688, 2023.

PAPARELLA, S.; ARAÚJO, S. S.; ROSSI, G.; WIJAYASINGHE, M.; CARBONERA, D.; BALESTRAZZI, A. Seed priming: state of the art and new perspectives. **Plant Cell Reports**, v. 34, p. 1281-1293, 2015.

RIZWAN, M.; ALI, S.; IBRAHIM, M.; FARID, M.; ADREES, M.; BHARWANA, S. A.; ZIA-UR-REHMAN, M.; QAYYUM, M. F.; ABBAS, F. Mechanisms of silicon-mediated alleviation of drought and salt stress in plants: A review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p. 15416–15431, 2015.

SANO, N.; KIM, J. S.; ONDA, Y.; NOMURA, T.; MOCHIDA, K.; OKAMOTO, M.; SEO, M. RNA-Seq using bulked recombinant inbred line populations uncovers the importance of brassinosteroid for seed longevity after priming treatments. **Scientific Reports**, v. 7, p. 8095, 2017.

SINGH, H.; JASSAL, R.; KANG, J.; SANDHU, S.; KANG, H.; GREWAL, K. Seed priming techniques in field crops - A review. **Agricultural Reviews**, v. 36, p. 10, 2015.

SUN, D. Q.; HUSSAIN, H. I.; YI, Z. F.; ROOKES, J. E.; KONG, L. X.; CAHILL, D. M. Delivery of abscisic acid to plants using glutathione responsive mesoporous silica nanoparticles. *Journal of Nanosci.* **Nanotechnol.**, v. 18, p. 1615–1625, 2018.

TAMINDŽIĆ, G.; MILJAKOVIĆ, D.; IGNJATOV, M.; MILADINOVIĆ, J.; ĐORĐEVIĆ, V.; MILOŠEVIĆ, D.; JOVIČIĆ, D.; VLAJIĆ, S.; BUDAKOV, D.; GRAHOVAC, M. Impact of Simultaneous Nutrient Priming and Biopriming on Soybean Seed Quality and Health. **Plants**, v. 13, p. 2557, 2024.

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

WAQAS, M.; KORRES, N. E.; KHAN, M. D.; NIZAMI, A. S.; DEEBA, F.; ALI, I.; HUSSAIN, H. Advances in the concept and methods of seed priming. In: HASANUZZAMAN, M.; FOTOPOULOS, V. (eds.). *Priming and Pretreatment of Seeds and Seedlings*. Singapore: Springer **Nature** Singapore Pte Ltd., p. 11–41, 2019.

WIMALASEKERA, R. Role of Seed Quality in Improving Crop Yields. In: HAKEEM, K. (ed.). *Crop Production and Global Environmental Issues*. Cham: Springer, 2015. p. 93–28.

2. OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos do priming com brassinolide e nanopartículas de silício em sementes de milho através de análises da qualidade fisiológica das sementes.

3. CAPÍTULO I

Priming com brassinolide: estratégia para melhorar a germinação e o desenvolvimento inicial de plântulas de milho

(Normas de acordo com o periódico *Theoretical and Experimental Plant Physiology*)

RESUMO: Variações de temperatura e o nível de hidratação afetam a germinação das sementes. A técnica do priming aumenta a velocidade e vigor, mas pode afetar negativamente a longevidade das sementes. Este estudo foi conduzido com o objetivo de investigar o potencial do priming com brassinolide em sementes de milho como uma estratégia para aprimorar a germinação e o desenvolvimento inicial das plântulas. Uma solução estoque foi preparada com brassinolide, e as sementes de milho do híbrido SYN8A98 foram condicionadas com as seguintes concentrações: 0,0; 0,5; 1; e 2 μM e sementes sem priming foram consideradas como o tratamento controle. A germinação e o vigor das sementes apresentaram resultados superiores quando as sementes foram condicionadas. Para os testes de imposição de fatores de estresse, teste de frio e de restrição hídrica, sementes condicionadas com BL foram superiores. A fluorescência da clorofila *a* e parâmetros de trocas gasosas apresentaram melhores resultados em plântulas dos tratamentos com 0,5; e 1 μM de brassinolide no priming. As sementes condicionadas apresentaram menor acúmulo de amido e proteínas nos tecidos celulares, em comparação com as sementes não condicionadas. Esses resultados indicaram que o condicionamento com o hormônio brassinolide incrementa a qualidade fisiológica das sementes de milho, principalmente sob condições de estresses, e posteriormente, melhora o desenvolvimento inicial das plântulas.

Palavras-chave: Brassinosteróide, fotossíntese, trocas gasosas, vigor, *Zea mays* L.

CHAPTER I

Brassinolide Priming: A Strategy to Enhance Germination and Early Seedling Development in Maize

(Theoretical and Experimental Plant Physiology journal guidelines)

ABSTRACT: Temperature variations and hydration levels influence seed germination. The priming technique improves seed speed and vigor but may negatively affect seed longevity. This study aimed to investigate the potential of priming with brassinolide in maize seeds as a strategy to enhance germination and early seedling development. A stock solution of brassinolide was prepared, and maize seeds of the hybrid SYN8A98 were conditioned with the following concentrations: 0.0, 0.5, 1, and 2 μM , with non-primed seeds as the control treatment. Germination and seed vigor showed superior results when the seeds were conditioned. In stress factor tests, including cold and water restriction, seeds primed with BL performed better. Chlorophyll fluorescence and gas exchange parameters had improved results in seedlings from treatments with 0.5 and 1 μM brassinolide in the priming process. Conditioned seeds showed lower accumulation of starch and proteins in the cellular tissues compared to non-conditioned seeds. These results suggest that conditioning with the brassinolide hormone enhances the physiological quality of maize seeds, particularly under stress conditions, and subsequently improves early seedling development.

Keywords: Brassinosteroid, photosynthesis, gas exchange, vigor, *Zea mays* L.

3.1 Introdução

A utilização de sementes de qualidade e alto vigor é essencial para o aumento da produtividade agrícola, sendo fator indispensável para o sucesso da cultura do milho (*Zea mays* L.). Os lotes de sementes de milho com alta qualidade garantem uma taxa de germinação elevada e estabelecimento uniforme da cultura, contribuindo para o aumento potencial na colheita em mais de 30% (Afzal *et al.* 2016). No entanto há várias limitações, como deterioração e o envelhecimento, doenças do solo e desafios ambientais, que prejudicam a qualidade das sementes e o crescimento subsequente das plantas (Zvinavashe *et al.* 2019). Garantir a qualidade das sementes é, portanto, vital para impulsionar a produtividade do milho.

A técnica de priming é um tratamento pré-semeadura, baseado na hidratação controlada seguida de secagem até o grau de umidade original, que busca aprimorar a qualidade e desempenho das sementes através da hidratação controlada, estimulando o processo metabólico pré-germinativo (Szabó *et al.* 2023; Ahmad *et al.* 2023). Quando comparadas às sementes não condicionadas, as sementes submetidas ao priming apresentam germinação mais rápida e uniforme pelas alterações na ativação enzimática, incremento na atividade metabólica, reparo celular, síntese de proteínas e aprimoramento do sistema de defesa antioxidante, uma vez que os estágios iniciais de germinação já estão concluídos (Zulfiqar 2021). Além disso, o priming das sementes melhora o enraizamento e o crescimento das plântulas, o índice de vigor e ajuda as plantas a lidarem com os efeitos adversos das condições ambientais desfavoráveis e, em última instância, melhoram o rendimento da colheita (Ellouzi *et al.* 2021; Moaaz *et al.* 2020).

Hormopriming é uma das técnicas de priming em que a embebição das sementes ocorre na presença de hormônios vegetais, podendo afetar diretamente o metabolismo das sementes. Os hormônios mais comumente utilizados são as auxinas, ácido giberélico (GA), citocinina e mais recentemente, os brassinosteroides.

Os brassinosteroides (BRs) são hormônios vegetais de plantas que sinalizam respostas moleculares, fisiológicas e bioquímicas (Taiz e Zeiger *et al.* 2017). Na agricultura moderna, os BRs são utilizados para aumentar a produção agrícola e conferir tolerância a estresses bióticos e abióticos (Hussain *et al.* 2020). Atualmente, mais de 60 análogos naturais de BR foram identificados e sintetizados, dentre esses análogos, o brassinolide (BL) destaca-se como o primeiro descoberto, sendo simultaneamente o representante mais difundido e ativo dos BRs (Zullo e Bajguz 2019).

Mesmo que o teor de BR seja baixo nas plantas, a atividade fisiológica é elevada (Guo *et al.* 2023). Desempenham papéis vitais em vários processos fisiológicos, incluindo divisão e alongamento celular, crescimento de raízes primárias, modulação da expressão gênica, maturação e envelhecimento da planta (Nolan *et al.* 2020; Božilović *et al.*, 2023; Planas-Riverola *et al.* 2019; Chmur e Bajguz, 2021). BRs também promovem a germinação das sementes, acelerando a ruptura do endosperma através da promoção do alongamento celular na região de transição hipocótilo-radícula, controlando o efeito inibitório do ácido abscísico e corregulam a germinação de sementes e o crescimento embrionário modulando a mobilização de glutelina em paralelo com a giberelina (Zhong *et al.* 2021; Zhao *et al.* 2019; Xiong *et al.* 2021). Os BRs são ainda alguns dos hormônios mais importantes no processo fotossintético. Quando aplicados exogenamente, podem regular a fotossíntese, com efeitos em múltiplos aspectos que ocorrem em vários níveis, pois são capazes de influenciar a taxa de fixação de CO₂, regeneração e atividade da ribulose-1,5-bifosfato, melhoram significativamente a eficiência da transpiração e induzem aumento dos teores de clorofilas, carboidratos e proteínas (Li *et al.* 2023; Fedina *et al.* 2008; Xia *et al.* 2009; Zhao *et al.* 2019; Nolan *et al.* 2020; Siddiqui *et al.* 2018; Hussain *et al.* 2020).

Aprimorar as características agronômicas do milho é importante para atender à crescente necessidade de alimentos gerada pelo aumento da população, que demanda maiores volumes de produção agrícola para garantir a segurança alimentar. Além disso, as mudanças climáticas representam desafios adicionais à produtividade, tornando a aplicação de brassinosteroides exógenos uma abordagem promissora para melhorar a germinação de sementes e o vigor de plântulas, contribuindo para uma agricultura mais resiliente. A capacidade do hormônio de gerar respostas em concentrações baixíssimas e, ao mesmo tempo, ser de baixo impacto ao meio ambiente ainda são dois aspectos importantes e atraentes do uso dos BRs no manejo das culturas. Este trabalho tem o objetivo de investigar o potencial do priming com brassinolide em sementes milho, como uma estratégia para aprimorar a germinação e o desenvolvimento inicial das plântulas.

3.2 Material e Métodos

Para avaliar o desempenho do condicionamento com brassinolide (BL) em sementes de milho (*Zea mays* L.), o presente ensaio foi executado no Laboratório de Análises de Sementes, Laboratório de Ecofisiologia e Produtividade Vegetal e Laboratório de Anatomia Vegetal do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia – IF Goiano – Campus Rio Verde.

Condicionamento fisiológico das sementes

Sementes de milho híbrido SYN8A98 com germinação inicial de 84% e teor de água inicial de 12% foram utilizadas neste estudo. A fim de mitigar quaisquer potenciais fontes de contaminação durante o processo de condicionamento, as sementes foram submetidas a uma etapa de esterilização, consistindo em uma imersão de 1 minuto em uma solução de hipoclorito de sódio a 1%. Subsequentemente, as sementes foram submetidas a um processo de lavagem utilizando água destilada, seguido por uma fase de secagem a temperatura ambiente.

Para preparação da solução estoque, pesou-se 1 mg de brassinolide, que foi dissolvida em 10 mL de álcool absoluto e o volume completado para 1000 mL com água destilada. A partir da diluição da solução foram obtidas as diferentes concentrações para o condicionamento das sementes de milho: 0,5; 1; e 2 μ M. As sementes condicionadas com água destilada + concentração de álcool para preparo das soluções foram testadas e sementes sem condicionamento foram incluídas como controle.

As sementes esterilizadas foram, posteriormente, dispostas de maneira uniforme sobre papel germinação, que havia sido previamente umedecido com as soluções brassinolide na proporção de 2,5 vezes o peso do papel. As bandejas de polietileno 38x53 contendo as sementes e o papel germinação foram postas em uma incubadora, mantida em temperatura controlada de $25 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, no escuro, pelo período de 20 horas. O tempo de condicionamento adotado baseou-se na curva de hidratação das sementes de milho. Após essa etapa, as sementes foram submetidas ao processo de secagem em estufa com circulação de ar e renovação, mantida a temperatura de 25°C , até que o teor de água inicial das sementes fosse atingido.

Potencial fisiológico de sementes

Antes e depois do priming foi determinado o teor de umidade das sementes pelo método da estufa, e as amostras foram acondicionadas a $105^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$, pelo período de 24 horas, utilizando duas repetições para cada tratamento (Brasil 2009).

- Germinação: o teste foi realizado com quatro repetições, cada uma composta por quatro subamostras de 50 sementes, semeadas em substrato de papel germinação, previamente umedecido com água destilada, utilizando-se 2,5 vezes a massa do papel seco, e mantidas em germinador à temperatura de 25°C . As avaliações foram efetuadas aos sete dias após a semeadura, sendo os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais, conforme as Regras para Análise de Sementes (Brasil 2009)

- Restrição hídrica: para a simulação do déficit hídrico foi utilizada uma solução de

polietilenoglicol (PEG 6000) com potencial osmótico de $-0,2$ MPa, correspondente à concentração de 119,571g por litro de água (Moterle et al. 2008). A solução contendo PEG 6000 foi aplicada diretamente no papel germinação e o teste de germinação foi realizado de acordo com as recomendações para semente de milho (Brasil, 2009).

- Teste de frio: realizado seguindo os mesmos procedimentos metodológicos do teste de germinação, com algumas adaptações para simular condições de estresse térmico. Após a semeadura, os rolos de papel contendo as sementes foram acondicionados no interior de sacos plásticos escuros, para evitar a entrada de luz, e em seguida transferidos para uma câmara fria mantida a temperatura de 10°C . Nessa condição, permaneceram por sete dias. Após esse intervalo, os rolos foram retirados da câmara fria e transferidos para um germinador a 25°C , e permaneceram por mais sete dias. Ao final deste teste foram computadas, em porcentagem, as plântulas normais (Coimbra *et al.* 2009).

- Envelhecimento acelerado: realizado com quatro repetições de 50 sementes, que foram acondicionadas em camada única sobre uma tela metálica suspensa dentro de caixas de acrílico de $11 \times 11 \times 3,5$ cm contendo 40 mL de água destilada no fundo. Posteriormente, as caixas foram tampadas e acomodadas em câmara de germinação a 41°C e 100% de umidade relativa do ar por 96 horas (Marcos Filho 1994). Após esse período, seguiu-se a metodologia do teste de germinação e as plântulas normais foram avaliadas quatro dias após a semeadura.

- Emergência de plântulas: o teste foi conduzido utilizando quatro repetições de 50 sementes de cada tratamento, que foram dispostas em sulcos com 3 cm de profundidade em canteiros contendo areia grossa. A irrigação foi realizada por aspersão, acionada quatro vezes ao dia. As avaliações consistiram na contagem diária das plântulas emergidas (definidas como aquelas que apresentavam coleóptilos acima da superfície do solo), sendo realizadas até que a emergência se estabilizasse em cada tratamento. Os resultados obtidos foram expressos em porcentagem de emergência, conforme descrito por Nakagawa (1994).

- Índice de velocidade de emergência: conduzido simultaneamente ao teste de emergência de plântulas, por meio de contagens realizadas diariamente, iniciando a partir da emergência da primeira plântula até a estabilização do processo. O cálculo foi realizado seguindo a metodologia proposta por Maguire (1962).

- Comprimento de plântula: quatro subamostras de 20 sementes por tratamento e repetição foram distribuídas em rolos de papel germinação, umedecidos com água destilada na proporção de 3 por 1 (mL de água destilada por massa do papel seco em gramas) e mantidos em germinador a 25°C , por sete dias (Nakagawa 1999). O comprimento de raiz e parte aérea de plantas consideradas normais (Brasil 2009) foi determinado ao final do

sétimo dia, com o auxílio de régua milimetrada.

- Massa seca de plântulas: foram avaliadas as plântulas normais, selecionadas do teste de comprimento. Em seguida, raízes e parte aérea de cada tratamento foram colocadas separadamente em cadinhos de metal levadas à estufa a 65°C durante 4 dias. Após a secagem, foi realizada a pesagem do material em balança analítica (Krzyzanowski *et al.* 2020).

Trocas gasosas

As trocas gasosas foram mensuradas em folhas totalmente expandidas de plantas de milho provenientes do teste de emergência 15 dias após a semeadura, utilizando um analisador de gases por infravermelho (IRGA) de sistema aberto (LI-6800, LI-COR Inc., Lincoln, NE, USA) para determinar a taxa líquida de fotossíntese (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), taxa de transpiração (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e a relação entre concentrações internas (C_i) e externas (C_a) de CO_2 (C_i/C_a). As mensurações de A , g_s , E e C_i/C_a foram realizadas entre as 8h e 11h da manhã sob radiação fotossinteticamente ativa constante (PAR , $1000 \mu\text{mol de fótons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e temperatura (25°C).

Imagem de fluorescência da clorofila a

As imagens de fluorescência da clorofila a foram obtidas com a ajuda do fluorômetro modulado Imaging-PAM (versão MAXI-Standard, Heinz Walz). Inicialmente, as folhas de milho das plantas oriundas do teste de emergência foram adaptadas por pelo menos 40 minutos no escuro a fluorescência inicial (F_0) e a fluorescência máxima (F_m) foram determinadas, em que F_0 é o rendimento mínimo de fluorescência, excitado por uma luz vermelha modulada de baixa intensidade ($3 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e F_m é a fluorescência máxima obtida aplicando um pulso de luz atinente saturante por 0,8 s ($>6000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). A partir disso, foi possível calcular o rendimento quântico potencial do fotossistema II (PSII) ($F_v/F_m = [F_m - F_0]/F_m$). As variáveis da fase lenta da indução de fluorescência foram obtidas sequencialmente com a aplicação de uma iluminação atinente por 30 s e um pulso de luz atinente saturante para determinar as variáveis: fluorescência em uma amostra adaptada à luz antes do pulso de saturação (F) e fluorescência máxima em uma amostra adaptada à luz (F_m'). A partir desses parâmetros, foi possível calcular a fluorescência mínima do tecido vegetal iluminado, $F_0' = F_0 / [(F_m - F_0)/F_m + (F_0/F_m)']$ (Oxborough e Baker, 1997). O rendimento quântico efetivo da conversão de energia fotoquímica em PSII, $\Phi_{II} = (F_m' - F)/F_m'$; os rendimentos quânticos de dissipação de energia regulada, $\Phi_{NPQ} = (F/F_m') - (F/F_m)$ e de dissipação de energia não regulada, $\Phi_{NO} = F/F_m$, foram calculados

de acordo com Genty *et al.* (1989) e Hendrickson *et al.* (2004). O Φ_{II} também foi usado para estimar a taxa aparente de transporte de elétrons ($ETR = \Phi_{II} \times PAR \times A_{leaf} \times 0,5$) (Bilger *et al.* 1995), em que PAR é o fluxo de fótons ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) nas folhas, A_{leaf} é a quantidade correspondente à fração de luz incidente absorvida pelas folhas e 0,5 é a fração de energia de excitação direcionada para o PSII (Laisk e Loreto 1996).

Caracterização anatômica e histoquímica

A execução dos testes ocorreu mediante a retirada de amostras, da região do endosperma, de quatro sementes de cada tratamento. Em seguida, as amostras de sementes foram fixadas em Karnovsky (1965), por 24 horas. Após este período, as amostras foram pré-lavadas em tampão fosfato e desidratadas em série etílica crescente, pré-infiltradas e infiltradas em historesina (Leica, Alemanha), conforme recomendações do fabricante. Para a avaliação estrutural, as amostras foram seccionadas transversalmente a $7 \mu\text{m}$ de espessura em micrótomo rotativo de mesa (Modelo 1508R, Logen scientific, China) e os cortes corados com azul de toluidina (O'Brien *et al.* 1964). Para a análise histoquímica, os cortes foram corados com Xylidine ponceau (XP) para proteínas totais (O'Brien e McCully 1981) e Lugol para amido (Johansen, 1940). As observações foram realizadas e as imagens fotografadas em microscópio Olympus (BX61, Tokyo, Japão) acoplado com câmera DP- 72 utilizando a opção de campo claro.

Atividade de α -amilase e β -amilase

Para a reparação do extrato enzimático Quatro repetições de cada tratamento pesando em média 0,250 mg de uma mistura de endosperma e eixo embrionário das sementes foram utilizadas no procedimento de preparação do extrato enzimático. Os endospermas e eixos embrionários foram macerados com N_2 líquido e depois homogeneizados em 2 mL de água de destilada. O homogeneizado resultante foi então submetido a um processo de centrifugação a $12.000 \times g$ pelo período de 15 minutos, com a temperatura controlada de 4°C .

A determinação da atividade da α -amilase foi conduzida utilizando 250 μL do sobrenadante, que foram adicionadas a 250 μL de um meio de reação contendo CaCl_2 3 mM para inativação da β -amilase, sendo a reação incubada a 70°C por 5 minutos. Subsequentemente, a esta mistura foram adicionados 500 mL de tampão citrato a concentração de 100 mM (pH 5,0) e 250 μL de amido na concentração de 1%, prosseguindo com a incubação da mistura na temperatura de 30°C por 5 minutos. A reação foi interrompida pela adição de 2,0 ml do reagente ácido 3,5-dinitrosalicílico 1% (DNS) e

aquecida em banho-maria a 65°C por 5 minutos.

A avaliação da atividade da enzima β -amilase foi iniciada pela adição de 180 μ L de extrato enzimático a um meio de reação contendo 110 μ L de EDTA 0,1 M, 100 μ L de tampão citrato 100 mM, pH 3,4 e 250 μ L da solução de amido 1%. A reação foi incubada a 30°C durante 5 minutos. Em seguida foram adicionados 2,0 mL de ácido 3,5-dinitrossalicílico 1% (DNS) com posterior aquecimento em água a 65° por 5 minutos para desenvolvimento da coloração.

Após completar o volume da reação, tanto da α -amilase quanto da β -amilase para 10,0 mL, os açúcares redutores formados pela ação das amilases foram quantificados pela leitura da absorbância em 540 nm, utilizando solução padrão de glicose 2 mg/mL (Tárrago e Nicolás, 1976; Bernfeld 1955; Kishorekumar *et al.* 2007).

Delineamento experimental e procedimentos estatísticos

O delineamento utilizado foi inteiramente ao acaso (DIC), com quatro repetições. Os dados quantitativos foram submetidos à análise de normalidade pelo Teste Shapiro-Wilk e avaliação da homogeneidade das variâncias dos erros pelo Teste de Bartlett. Foi realizada a análise de variância, seguida de comparação de médias pelo teste de Dunnett, considerando os níveis de significância de 1% (**) e 5% (*).

Para as condições de normalidade e homogeneidade de variâncias que não foram atendidas, utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis (teste não paramétrico) e o post-hoc de Dunn aplicando a correção de Bonferroni. Os resultados foram considerados significativamente diferentes quando $p < 0,05$. Os dados de potencial fisiológico de sementes e os parâmetros das trocas gasosas e de fluorescência foram submetidos à análise de componentes principais (PCA) e correlação de Pearson (r).

As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do Software R versão 3.6.0., e os gráficos elaborados no programa SigmaPlot 14.5.

3.3 Resultados

Condicionamento de sementes com BL traz respostas benéficas para a germinação e o vigor

As sementes condicionadas com brassinolide, independente da dosagem, apresentaram aumento na porcentagem de germinação em comparação com o controle (S) (Fig. 1).

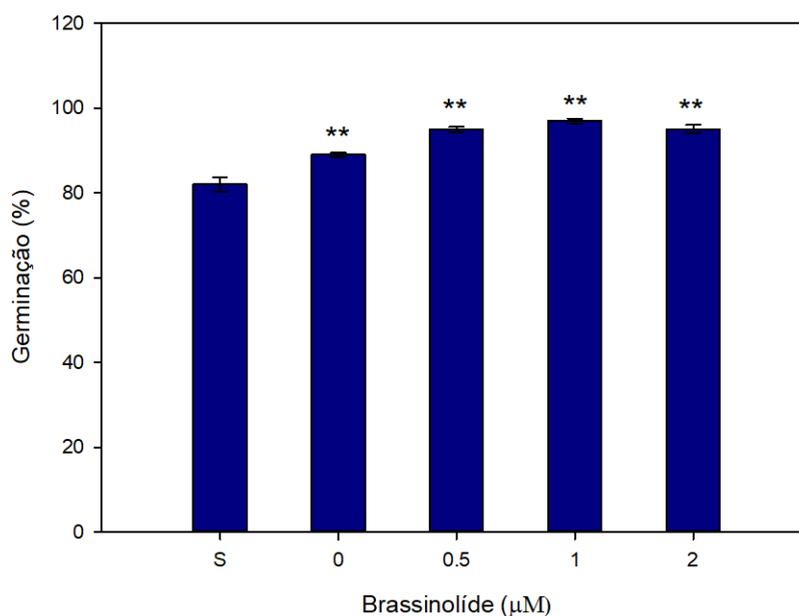


Fig. 1. Germinação de sementes de milho condicionadas com brassinolide. Sementes sem priming (controle, S), priming com água (0) e com as concentrações de 0,5; 1 e 2 µM do hormônio. Colunas verticais representam a média de quatro repetições com barras indicando o erro padrão. Os asteriscos indicam diferenças a 5% (*) e 1% (**) de probabilidade, em relação ao controle pelo teste de Dunnett.

As diferentes concentrações de brassinolide promoveram incrementos na eficiência do processo de germinação das sementes de milho submetidas ao estresse por baixas temperaturas do teste de frio (Fig. 2A), com a maior porcentagem na concentração 1 µM, sendo 18,29% superior quando comparada ao controle. O condicionamento das sementes sem a adição do hormônio não apresentou diferenças significativas em comparação ao grupo controle.

No teste de restrição hídrica, a porcentagem de germinação foi maior para as sementes condicionadas com brassinolide, em comparação ao controle e condicionamento com água, sendo que a concentração 2 µM estimulou em 11,9% a germinação em relação as sementes condicionadas sem a presença do hormônio (Fig. 2B).

Para o teste de envelhecimento acelerado (Fig. 2C), as sementes condicionadas com as diferentes concentrações de brassinolide e as condicionadas com água tiveram reduções significativas na porcentagem de germinação em relação ao controle. Quanto ao índice de velocidade de emergência (IVE), sementes condicionadas diferiram do controle independentemente da presença e da concentração do brassinolide (Fig. 2D).

O condicionamento das sementes promoveu aumento nos atributos de crescimento das plântulas de milho, em comparação ao controle, mediante incrementos no comprimento da parte aérea e comprimento da raiz (Fig. 2E). O acúmulo de massa seca não variou de forma significativa na parte aéreas das plantas (MP), porém, houve incremento na massa

seca das raízes (MR) de todas as plantas submetidas ao condicionamento das sementes (Fig. 2F).

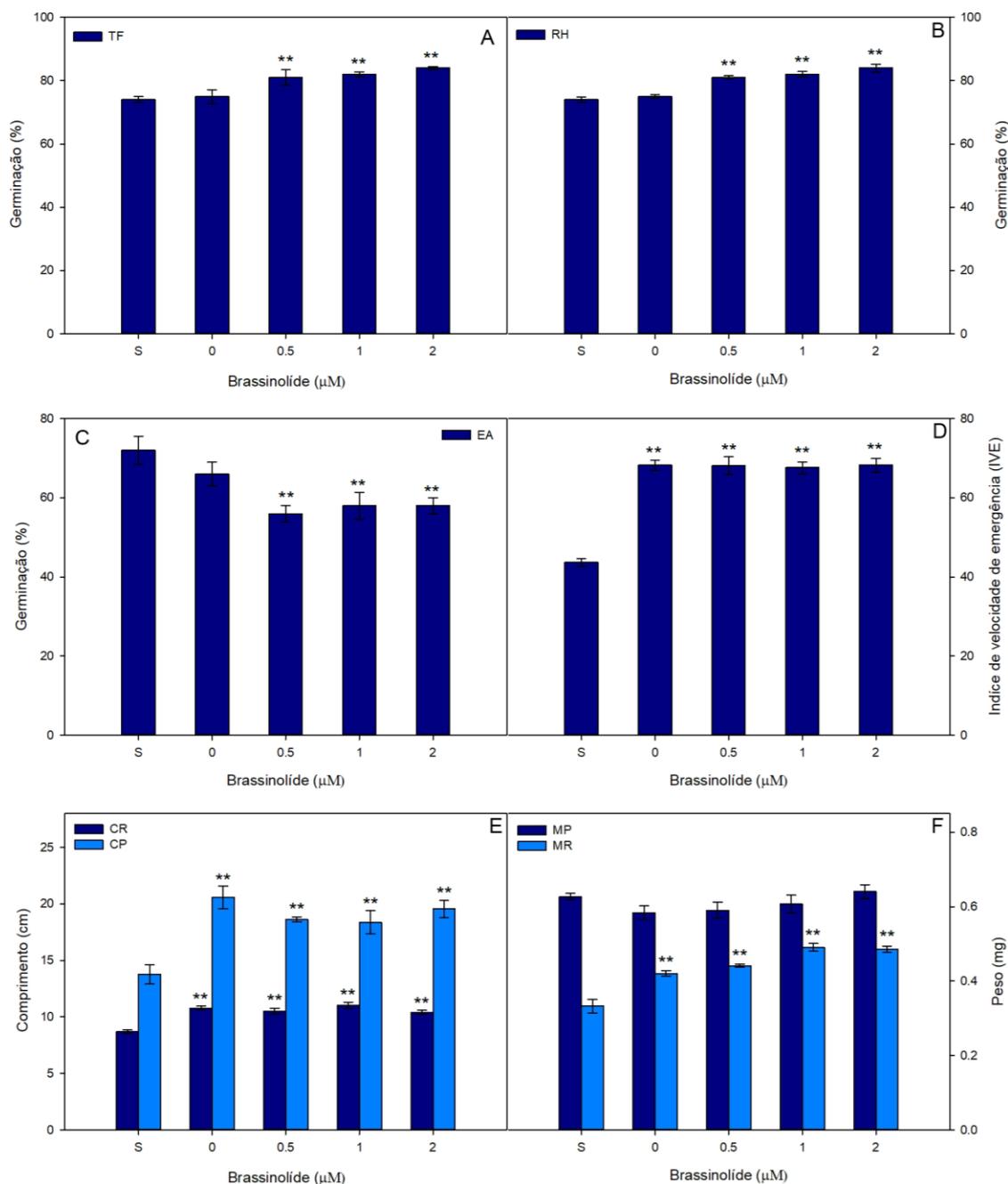


Fig. 2. Qualidade fisiológica de sementes de milho condicionadas com brassinolide. Sementes sem priming (S), priming com água (0) e com as concentrações de 0,5; 1 e 2 μM do hormônio, submetidas ao teste de frio (TF) (A), restrição hídrica (RH) (B), envelhecimento acelerado (EA) (D), índice de velocidade de emergência (IVE) (D), comprimento da parte aérea e raiz (CP e CR) (E), massa seca de parte aérea e raiz (MP e MR) (F). Colunas verticais representam a média de quatro repetições com barras indicando o erro padrão. Os asteriscos indicam diferenças a 5% (*) e 1% (**) de probabilidade, em relação ao controle pelo teste de Dunnnett.

O condicionamento das sementes melhorou a eficiência fotoquímica e as trocas gasosas de plantas jovens de milho

O rendimento quântico potencial do PSII (F_v/F_m) foi menor para o controle, diferindo das sementes condicionadas com ou sem a presença do brassinolide (Fig. 3). Os incrementos em F_v/F_m em função do condicionamento com brassinolide foram de 2,7%, 3,2% e 2,9% para as concentrações de 0,5; 1; e 2 μM , respectivamente e 3,39% para sementes condicionadas com somente água. Houve redução na fluorescência inicial (F_0) para as sementes condicionadas, diferindo significativamente do controle, com diferença máxima de 21,1% na concentração 2 μM de brassinolide. O rendimento quântico da dissipação não regulada de energia (Φ_{NO}), rendimento quântico efetivo do PSII (Φ_{II}) e a taxa de transporte de elétrons (ETR) não diferiram significativamente do controle, de acordo com o teste de Dunnett (Fig. 6).

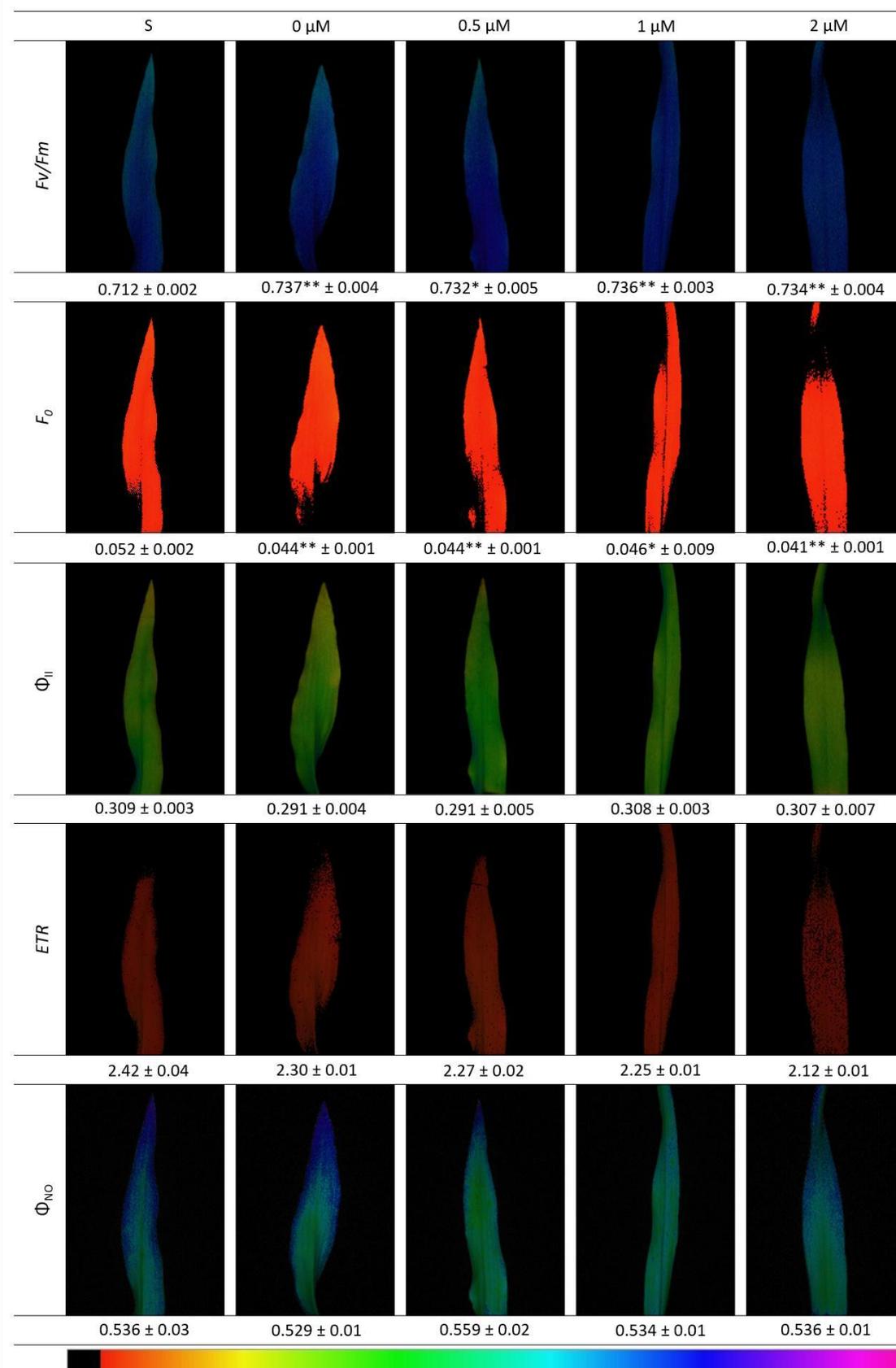


Fig. 3. Rendimento quântico potencial do PSII (F_v/F_m), fluorescência inicial (F_0), rendimento quântico efetivo do PSII (Φ_{II}), rendimento quântico de dissipação de energia não regulada do PSII (Φ_{NO}) taxa de transporte de eletros (ETR) das plantas de soja aos 15 dias após semeadura das sementes de milho sem priming (S), priming com água (0) e com as concentrações de 0,5; 1 e 2 μM do brassinolide. Os dados são médias de quatro repetições com erro padrão. Os asteriscos indicam

diferenças a 5% (*) e 1% (**) de probabilidade, em relação ao controle pelo teste de Dunnett.

As trocas gasosas realizadas nas plantas aos 15 dias após a semeadura foram significativamente influenciadas pelo condicionamento das sementes de milho com o brassinolide (Fig. 4). O teste de Kruskal-Wallis mostrou que há diferença entre os grupos das diferentes variáveis. Pelo post-hoc de Dunn, houve menor taxa fotossintética (A) do controle quando comparado à concentração de 0,5 μM de brassinolide, com diferença de 26,85% em relação às medianas (Fig. 4A). A condutância estomática (g_s) foi maior para os tratamentos 0,5 e 1 μM em comparação ao controle, sendo, respectivamente, 45,45% e 40,65% maiores (Fig. 4B). Para a taxa transpiratória (E), o controle foi 43,25% menor que na concentração de 1 μM , com diferença significativa pelo teste de Dunn (Fig. 4C). Para a razão entre a concentração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a), médias 25,25% e 29,84% maiores foram registradas para os tratamentos com, respectivamente, 0,5 μM e 1 μM do BL (Fig. 4D).

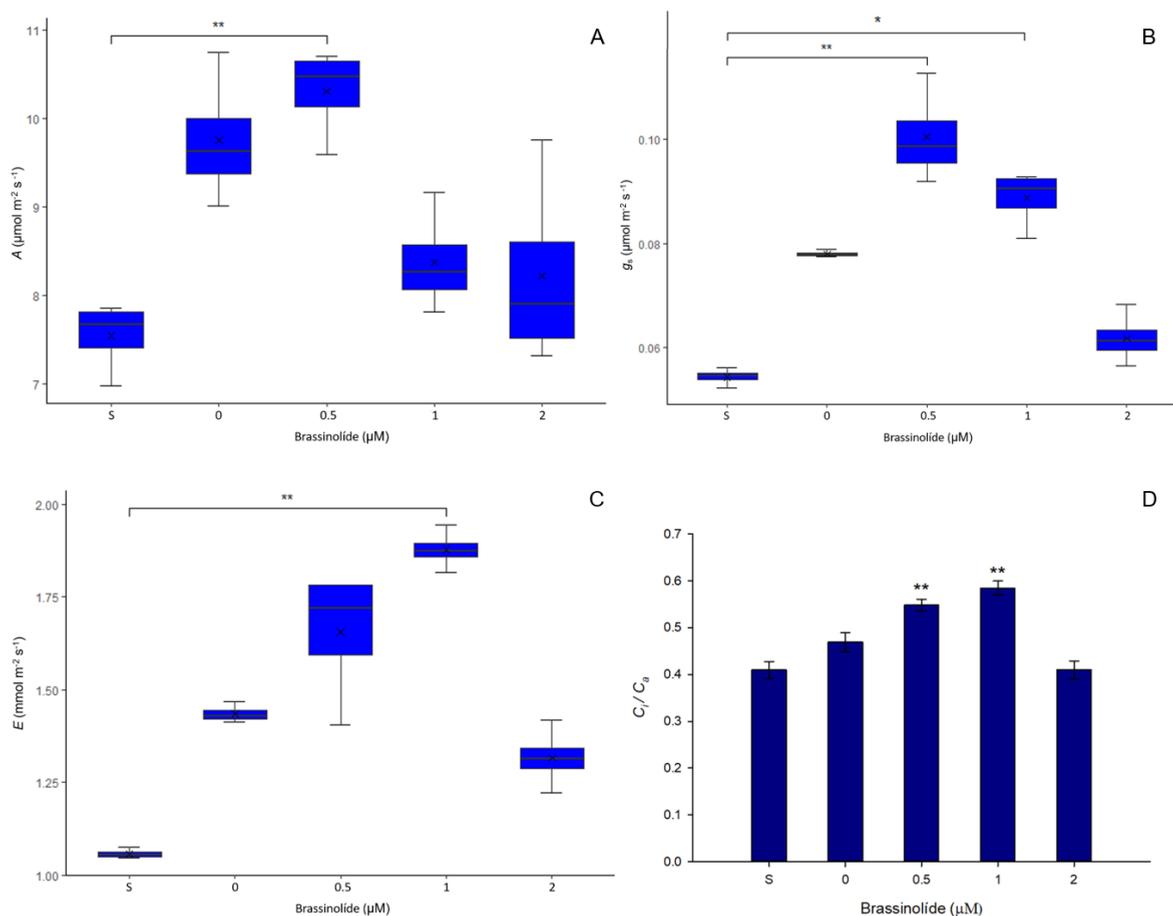


Fig. 4. Taxa fotossintética (A , A), condutância estomática (g_s , B), taxa transpiratória (E , C), relação entre concentração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a , D) das plantas de soja aos 15 dias após semeadura das sementes de milho sem priming (S), priming com água (0) e com as concentrações de 0,5; 1 e 2 μM do brassinolide. Para A, E e g_s asteriscos indicam diferença significativa pelo teste de Kruskal-Wallis e o post-hoc de Dunn aplicando a correção de Bonferroni. Para C_i/C_a os

asteriscos indicam diferenças a 5% (*) e 1% (**) de probabilidade, em relação ao controle pelo teste de Dunnett.

Alterações anatômicas e histoquímicas induzidas pelo condicionamento das sementes

Na caracterização anatômica estrutural, as sementes de milho apresentam endosperma com células arredondadas, com paredes finas e conteúdo celular visualizado em gotas no interior das células (Fig. 5A).

Independente do condicionamento com as diferentes concentrações de brassinolide, constatou-se a presença de amido e proteínas nas células do endosperma das sementes. Nas avaliações de acúmulo de amido, observou-se que as células possuem áreas marcadas pelo corante lugol, com maior acúmulo em sementes não condicionadas em relação as sementes condicionadas, como demonstrado pelas setas vermelhas nas figuras 5B e C. Ocorreram mudanças também no acúmulo de proteínas no interior das células de sementes de milho, indicadas pelas setas verdes na Fig. 5C e D, e foi demonstrado maior espaçamento intracelular nas sementes de milho condicionadas com BL.

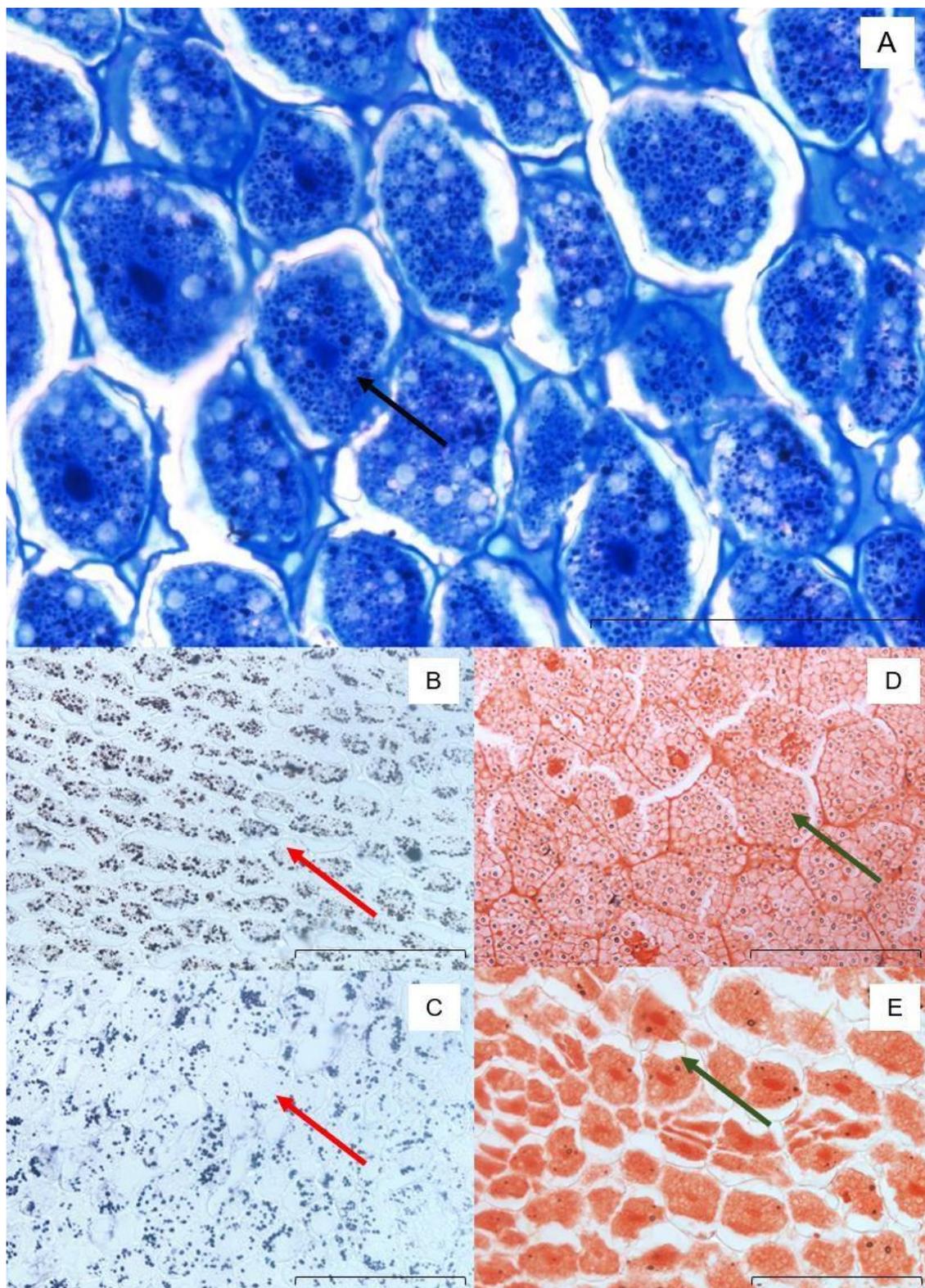


Fig. 5. Análise histoquímica de sementes de milho. A coloração com azul de toluidina foi realizada para caracterização estrutural (A). A coloração com lugol foi realizada para identificação de amido (B, e C). A coloração com xylydine ponceau foi realizada para identificar os compostos proteicos (D, e E). Sementes condicionadas com água (B e D) e 0,5 (A, C e E) μM de brassinolide. Barras: 100 μm .

O condicionamento exerce influência significativa sobre a atividade da α -amilase

O metabolismo das sementes de milho foi avaliado em termos de atividade de α -

amilase e b-amilase (Fig. 6). A concentração de 2 μM de brassinolide induziu maiores valores de atividade da α -amilase, sendo 68,84% superior aos observados para o controle, que também demonstrou médias inferiores aos demais tratamentos. Não houve diferença significativa para a atividade de b-amilase, de acordo com o teste de Dunnett (dados não demonstrados).

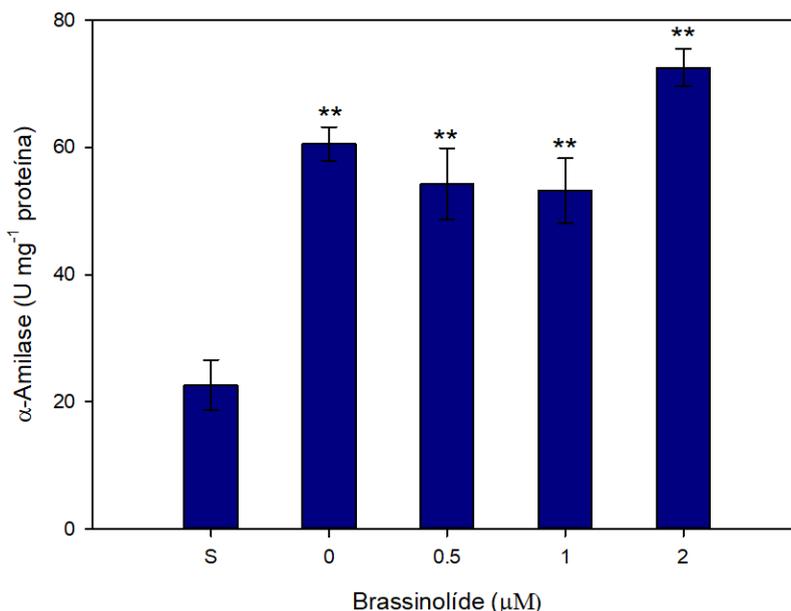


Fig. 7. Atividade de α -amilase de sementes de milho condicionadas com brassinolide. Sementes sem priming (S), priming com água (0) e com as concentrações de 0,5; 1 e 2 μM do hormônio. Colunas verticais representam a média de quatro repetições com barras indicando o erro padrão. Os asteriscos indicam diferenças a 5% (*) e 1% (**) de probabilidade, em relação ao controle pelo teste de Dunnett.

Correlação entre tratamentos estudados e características avaliadas

A correlação entre os tratamentos e características avaliadas foi determinada através da realização de análise de componentes principais (PCA) (Fig. 6). A maioria das variações foi encontrada nos dois primeiros PCs, e o valor acumulado aproximado foi de 69,2% (41,6% para PC 1 e 17,6% para PC 2). A porcentagem de germinação (PG), Fv/Fm, comprimento de parte aérea (CP), teste de frio (TF) apresentaram similaridade, sendo correlacionados de forma positiva, em oposição ao envelhecimento acelerado (EA). Existe forte correlação positiva entre a condutância estomática (gs) e a relação interna e externa de CO_2 (C_i/C_a) e taxa transpiratória (E), que se correlacionam positivamente com a taxa fotossintética (A). qP e qL também apresentaram forte correlação positiva. Em contraste, as características mencionadas exibiram uma correlação negativa com a atividade da β -amilase (Beta). α -amilase (Alfa) apresentou forte correlação negativa com F_0 .

A distância entre dois pontos quaisquer, que representam as amostras, é uma aproximação da similaridade em relação às variáveis.

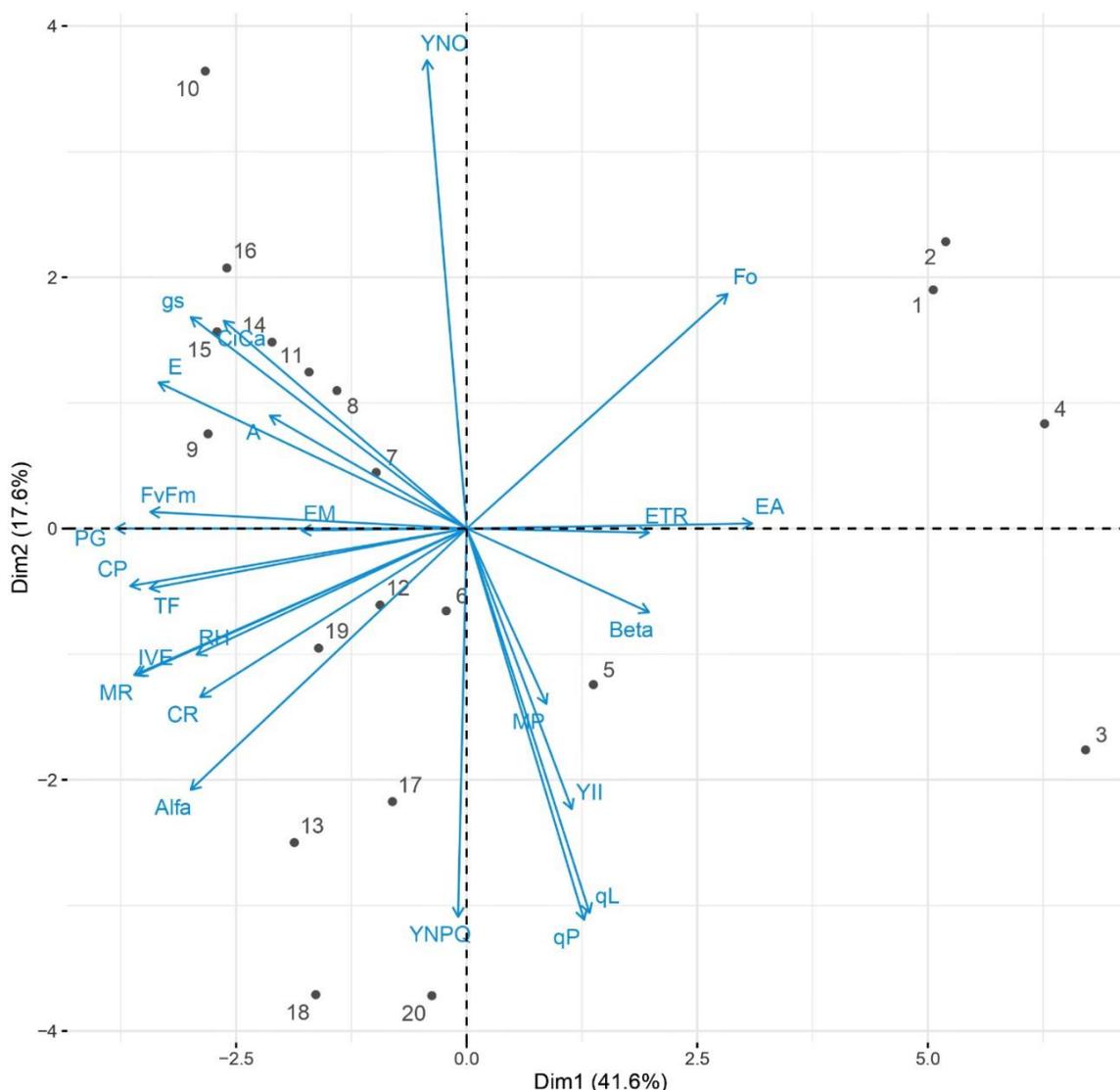


Fig. 8. Análise dos componentes principais (PCA) de dados de qualidade e vigor de sementes, PG (porcentagem de germinação), teste de frio (TF), restrição hídrica (RH), emergência (EM), índice de velocidade de emergência (IVE), comprimento de parte aérea (CP), comprimento de raiz (CR), massa seca de parte aérea (MP), massa seca de raiz (MR) e envelhecimento acelerado (EA), dados de fluorescência de imagem, rendimento quântico potencial do PSII (Fv/Fm), fluorescência inicial (F_0), rendimento quântico efetivo do PSII (Φ_{II}), rendimento quântico de dissipação de energia não regulamentada do PSII (Φ_{NO}) taxa de transporte de eletros (ETR), rendimento de extinção não fotoquímica (YNPQ), para trocas gasosas, taxa fotossintética (A), condutância estomática (g_s), taxa transpiratória (E), relação entre concentração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a) e atividade de α -amilase (Alfa) e β -amilase (Beta) para o condicionamento fisiológicos de sementes de milho com brassinolide.

A análise de correlação de Pearson foi realizada para avaliar possíveis associações entre as variáveis estudadas (Fig. 7). As correlações positivas mais significativas foram entre porcentagem de germinação (PG), teste de frio (TF), Fv/Fm , índice de velocidade de emergência (IVE), comprimento de parte aérea (CP) e taxa transpiratória (E) e α -amilase (Alfa), que apresentaram correlação superior a 6, sendo componente da fisiologia das plantas de soja, potencial fisiológico das sementes de milho e parâmetros enzimáticos.

fotoquímica (YNPQ), para trocas gasosas, taxa fotossintética (A), condutância estomática (g_s), taxa transpiratória (E), relação entre concentração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a) e atividade de α -amilase (Alfa) e β -amilase (Beta) para o condicionamento fisiológicos de sementes de milho com brassinolide.

3.4 Discussão

A germinação e o vigor das sementes desempenham papel fundamental na determinação do rendimento da colheita, afetando a taxa e uniformidade de emergência, a taxa de crescimento inicial da planta. Neste estudo os resultados demonstram que a porcentagem de germinação das sementes de milho pode ser influenciada pelo condicionamento, em que a presença do hormônio brassinolide teve efeito positivo na dinâmica da germinação, apresentando médias superiores na avaliação da variável. Os efeitos do priming com 24-epibrassinolide (24-EBL), fitohormônio pertencente ao grupo dos brassinosteróides, foram relatados anteriormente para sementes de milho, sendo os resultados dependentes da concentração e do híbrido escolhido, apresentado efeito benéfico na concentração $\times 10^{-12}$ M, e inibitório a $5,20 \times 10^{-15}$ M, com redução de 4,6% na germinação entre os referidos tratamentos (Božilović *et al.* 2023).

Enquanto o teste de germinação prevê a emergência em campo sob condições ideais, os resultados do testes de frio é, frequentemente, melhor correlacionado com a emergência em campo sob condições ambientais adversas. Neste estudo, a análise do teste de frio mostrou que as sementes submetidas ao condicionamento com brassinolide foram superiores na porcentagem de germinação, em relação aos demais tratamentos. Os dados obtidos corroboram com Xu *et al.* (2022), em que o estresse pelo frio inibiu significativamente a germinação de sementes de arroz, reduzindo de 90% para 87%, no entanto, a aplicação de 28-epibrassinolide sob condições de estresse pelo frio aumentou significativamente a germinação, de 87,66% para 89,33%, como também aumentou a porcentagem de germinação em condições não estressantes, no que se refere à temperatura.

A análise de expressão gênica e aplicação de BR 1 μM demonstraram que os fitohormônios aumentaram a taxa de germinação de sementes de *Oryza sativa* sob condições de baixa temperatura. Neste estudo, foi demonstrado que o gene de biossíntese BR, OsD2, é o gene causal para a germinação em baixa temperatura (Kim *et al.* 2022)

A redução na porcentagem de germinação de sementes pode ser atribuída para a menor taxa de absorção de água, através do tegumento da semente em condições de estresse hídrico, prolongando o tempo de germinação das sementes (Saha *et al.* 2022; Queiroz *et al.* 2019). O tegumento apresenta obstáculos mecânicos e de permeabilidade à embebição durante a germinação, porém, a permeabilidade do tegumento pode ser parcialmente controlada pela sinalização de BR (Sano *et al.* 2017). Dessa forma, o BL pode ter

contribuído para maior taxa de germinação das sementes submetidas ao teste de restrição hídrica no presente trabalho.

Durante a condição de estresse por déficit hídrico, o priming de sementes amendoim (*Arachis hypogaea* L.) com BR na concentração de 1 ppm, melhorou a capacidade de tolerância ao estresse, aprimorando os níveis de enzimas oxidativas (Savaliya *et al.* 2013). Trabalho conduzido por Huang *et al.* (2020), também com sementes de amendoim que passaram pelo priming com BR, mostraram que os componentes de rendimento das plantas aumentaram na seca, além de melhor crescimento após a restauração do fornecimento de água, indicando maior adaptação ao estresse e melhor crescimento após a restauração do fornecimento de água. Em milho, foram observadas diferenças no teor de BR entre linhagens, que foram correlacionadas com o grau de tolerância à seca, uma vez que genótipos altamente tolerantes apresentaram maior teor de BR sob estresse hídrico (Gillani *et al.* 2022).

Amplamente empregado como abordagem eficiente para a avaliação do vigor das sementes, o envelhecimento acelerado simula alterações que ocorrem durante o armazenamento, como danos nas membranas, decorrentes da exposição a elevadas temperaturas (40-42°C) e elevada umidade relativa do ar (100% UR) (Delouche e Baskin 1973). Os efeitos benéficos do priming na germinação das sementes podem, contudo, estar associados a diminuição na longevidade e na capacidade de armazenamento, um efeito colateral atribuído ao aumento da permeabilidade do tegumento (Pirredda *et al.* 2024). A estrutura do tegumento da semente desempenha papel importante na longevidade, uma vez que serve como uma camada que protege o embrião de fatores ambientais (Renard *et al.* 2020)

De fato, neste estudo, o priming das sementes com o brassinolide teve resultados desfavoráveis para o envelhecimento acelerado, com menores taxas de germinação. Resultados semelhantes foram encontrados por Sano *et al.* (2017), em que sementes mutantes deficientes em BR de *Arabidopsis thaliana*, quando condicionadas com 24-EBL ou um inibidor da biossíntese de BR, apresentaram redução e melhora na longevidade, respectivamente. Os pesquisadores sugerem que a perda de longevidade das sementes condicionadas é por causa do aumento da permeabilidade do revestimento da semente, que é regulado positivamente, em parte, pela sinalização BR. Sementes de soja esverdeadas condicionadas com brassinolide apresentaram comportamento semelhante, e o hormônio prejudicou a germinação em sementes envelhecidas (De Jesus *et al.* 2023).

Os fitohormônios são fundamentais para o crescimento das plantas e a aplicação exógena dessas substâncias, em concentrações adequadas, tornou-se prática convencional

para estimular o desenvolvimento vegetal. Em estudo conduzido por Liu *et al.* (2022) mostrou que a aplicação exógena de BRs induz significativo alongamento do hipocótilo, resultando no crescimento diferenciado de aipo (*Apium graveolens* L.), sendo a resposta dependente da concentração de 24-EBL, com aumento significativo no comprimento observado a concentração de $1,24 \times 10^{-6}$ mol/L e a redução a $2,08 \times 10^{-6}$ mol/L. Tais resultados indicam que variações nas concentrações hormonais exercem efeitos contrastantes no crescimento e metabolismo das plantas.

O mecanismo de ação dos brassinosteroides no crescimento radicular é complexo e implica na interação hormonal com receptores localizados na membrana celular, desencadeando a ativação de vias de sinalização que exercem influência sobre os processos de crescimento e diferenciação das células radiculares. Um dos principais efeitos dos BRs no crescimento radicular é a estimulação do alongamento celular (Božilović *et al.* 2023).

Em pesquisa conduzida por Groszyz e Szechyńska-Hebda (2021) com cevada (*Hordeum vulgare* L.), a aplicação de 24-EBL levou ao aumento de 30% no comprimento da raiz em comparação com o grupo controle. Para arroz (*Oryza sativa* L.), o BR tem efeito negativo no tamanho do meristema em níveis supra-ótimos e efeito dependente da dose no alongamento celular em raízes de plântulas de arroz tratadas com BR exógeno (Jantapo *et al.* 2021). Em *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana*), o BR pode regular negativamente o tamanho do meristema da raiz, já em baixas concentrações, há promoção do alongamento da raiz em plantas selvagens em até 50% e em mutantes deficientes em BR (González-García *et al.* 2011; Müssig *et al.* 2003). Dada a variação nos dados literários, é importante salientar que o impacto dos brassinosteroides pode diferir entre diversas espécies, inclusive híbridos (Waisi *et al.* 2015; Božilović *et al.* 2023).

Correlacionados a um forte vigor inicial das plantas e a rápida germinação, as culturas podem se recuperar dos danos no início do plantio por causa das flutuações de temperatura, breves períodos de estiagem, bem como doenças e pragas. Neste estudo, a porcentagem de emergência das sementes de milho condicionadas com BL na concentração de 2 μ M superou significativamente aquelas do grupo controle, evidenciando efeito positivo. O IVE apresentou significância favorável para as sementes submetidas ao priming. Larré *et al.* (2009) pesquisaram o condicionamento de sementes de arroz com 24-EBL, e verificaram que concentrações 0,01 e 0,1 μ M tiveram o IVE ligeiramente superior ao controle, e déficit nas concentrações de 0,4 e 1,0 μ M, sendo a germinação prejudicada nas mais altas concentrações, que refletiram na velocidade de emergência.

O estado funcional do complexo de evolução do oxigênio está intimamente ligado à variável *Fv/Fm*, que serve como indicador sensível do desempenho fotossintético. Níveis

baixos de Fv/Fm , em conjunto com níveis mais elevados de F_0 , indicam a ocorrência de fotoinibição. Em estudos conduzidos por Pereira *et al.* (2020), observou-se que os brassinosteróides têm a capacidade de aumentar Fv/Fm e reduzir os valores de F_0 , diminuindo os efeitos de fotoinibição e diminuindo a dissipação de energia de excitação nas antenas do fotossistema II. No presente trabalho, o condicionamento aliviou os efeitos da fotoinibição, tanto em sementes condicionadas com brassinolide como as condicionadas sem a presença do hormônio. Estudo conduzido por Lima e Lobato (2017), plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.) quando pulverizadas com 100 nM de 24-EBL apresentaram maiores médias em Fv/Fm e menores para F_0 , comparadas à testemunha, em condições controle e de déficit hídrico.

Os parâmetros fotossintéticos refletem muitas informações sobre o processo de transporte de elétrons no fotossistema II durante a fotossíntese. Os resultados deste experimento indicam que a presença de brassinolide no condicionamento de sementes de milho teve interferência positiva na fotossíntese e nos atributos fisiológicos relacionados das plântulas de milho. Em estudo conduzido por Maia *et al.* (2023), a aplicação foliar de 24-EBL em plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) resultou em aumentos significativos de 7,24% na taxa fotossintética (A) e de 2,31% na taxa de transpiratória (E) quando expostas a concentração de 100 nM do hormônio, em comparação com o grupo controle. Resultados semelhantes foram descritos por Jesus *et al.* (2023), que avaliaram as sementes de soja esverdeada condicionadas com brassinolide, e descreveram incrementos em A , Φ_{II} , ETR e a redução em C_i/C_a na concentração de 0,6 μ M no condicionamento. A aplicação foliar com 24-EBL na concentração de 0,2 μ M em plantas de milho resultou em aumentos significativos em g_s , E e C_i (Seleiman *et al.* 2023). Esses incrementos nas trocas gasosas podem revelar melhora no desempenho estomático, potencializando a fixação de CO_2 .

Os BRs aumentaram a produção e ativação de enzimas envolvidas tanto na fotossíntese quanto na produção de clorofila, resultando em aumento na taxa de fotossíntese em *Brassica rapa* L. sob estresse abiótico (Khan *et al.* 2023). Esta conclusão é apoiada por Yu *et al.* (2004), que demonstraram que os BRs aumentaram a atividade da rubisco, enzima crucial na fotossíntese e atividades relacionadas em *Cucumis sativus*. Esses autores alegam que o aumento na atividade da rubisco foi responsável pelo aumento da absorção de CO_2 no ciclo de calvin.

A atividade da α -amilase é considerada fundamental na germinação das sementes de milho, uma vez que a enzima catalisa a degradação do amido do endosperma para disponibilizar açúcares para o metabolismo, fornecendo energia para a germinação das

sementes. Dessa forma, está intimamente relacionada a múltiplas características agronômicas importantes, como a taxa de germinação e vigor de plântulas (Xiong *et al.* 2022). O priming pode aprimorar a germinação por meio do aumento do metabolismo fisiológico, como a atividade da α -amilase, aumento do conteúdo solúvel e de prolina durante a germinação, sem envolver qualquer fase de latência ou período de ativação. Este processo potencializa o vigor das mudas tanto em condições normais quanto de estresse (Singhal e Bose 2020). Os resultados apresentados na Fig. 6 mostraram que o condicionamento com BL aumentou a atividade da α -amilase em comparação com os obtidos no controle. No arroz, a regulação da germinação das sementes pelos BRs ocorre em sua maioria através do fator de transcrição brassinazole-resistant 1 (*BZRI*), que exerce influência ao ligar-se ao promotor da α -amilase 3D (*RAmy3D*), impactando na expressão e atividade da α -amilase, como também na degradação do amido no endosperma (Xiong *et al.* 2022; Wang *et al.* 2024).

Neste estudo as descobertas estão de acordo com Alhammad *et al.* (2023), que relataram maior atividade de α -amilase e melhor desempenho de germinação de sementes de milho em resposta ao condicionamento de sementes com 24-EBL, tanto em condições de controle como em estresse salino. Dessa forma, a correlação positiva entre a α -amilase, PG e componentes de vigor como IVE, CP e CR (Fig. 6), mostra que o condicionamento das sementes de milho, sobretudo com BL na concentração de 2 μ M, tem influência benéfica no desenvolvimento inicial das sementes e vigor de plântulas pela modulação da enzima. No entanto, é necessário realizar mais pesquisas para entender completamente os mecanismos subjacentes a esses efeitos e otimizar as concentrações de BL no condicionamento para diferentes variedades de milho e ambientes de cultivo.

3.5 Conclusões

Com base nos resultados apresentados, o condicionamento de sementes de milho com brassinolide demonstrou efeitos benéficos na germinação, vigor e crescimento inicial das plântulas, com melhores resultados em comprimento de parte aérea, raiz e índice de velocidade de emergência. O priming com brassinolide incrementou a germinação sob condições de estresse: frio e restrição hídrica. Além disso, o condicionamento resultou em melhor desempenho fotossintético e trocas gasosas nas plântulas, nas concentrações 0,5 e 1 μ M. Observou-se ainda efeitos sobre a anatomia e metabolismo das sementes, com aumento na atividade da α -amilase nas sementes condicionadas. O condicionamento de sementes com brassinolide representa uma alternativa sustentável e eficaz para otimizar a

germinação e o crescimento das plantas de milho.

3.6 Referências bibliográficas

Afzal I, Javed T, Amirkhani M, Taylor AG. (2020) Modern seed technology: seed coating delivery systems for enhancing seed and crop performance. *Agriculture* 10, 526. <https://doi.org/10.3390/agriculture10110526>

Alhammad BA, Ahmad A, Seleiman MF, Tola E. (2023) Seed priming with nanoparticles and 24-epibrassinolide improved seed germination and enzymatic performance of *Zea mays* L. in salt-stressed soil. *Plants* 12, 690. <https://doi.org/10.3390/plants12040690>

Bernfeld P. (1955) Amylase α and β . *Methods in Enzymology* 1, 149-158. [http://dx.doi.org/10.1016/0076-6879\(55\)01021-5](http://dx.doi.org/10.1016/0076-6879(55)01021-5)

Božilović B, Nikolić B, Waisi H, Trifković J, Dodevski V, Janković B, Krstić S, Mojović M. (2023) Influence of 24-epibrassinolide on the energetic parameters and early stages of growth and development in seedlings of two maize (*Zea mays* L.) Genotypes. *Agronomy* 13, 1673. <https://doi.org/10.3390/agronomy13071673>

Brasil. (2009) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes.** Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, 01, 399.

Chmur M, Bajguz A. (2021) Brassinolide enhances the level of brassinosteroids, protein, pigments, and monosaccharides in *wolffia arrhiza* treated with brassinazole. *Plants* 10, 1311. <https://doi.org/10.3390/plants10071311>

Coimbra RA, Martins CC, Tomaz CA, Nakagawa J. (2009) Testes de vigor utilizados na avaliação da qualidade fisiológica de lotes de sementes de milho-doce (sh2). *Ciência Rural* 39, 9. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782009000900004>

De Jesus TF, Rodrigues AA, Santos LS, Silva AA, Costa A, Sales JF. (2023) Physiological performance of brassinolide-conditioned green soybean seeds. *South African Journal of Botany* 165, 237-245 <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.12.024>

Delouche JC, Baskin CC. (1973) Accelerated ageing technique for predicting relative storability of seed lots. *Seed Science and Technology* 1, 427–52.

Ellouzi H, Oueslati S, Hessini K, Rabhi M, Abdelly C. (2021) Seed-priming with H₂O₂ alleviates subsequent salt stress by preventing ROS production and amplifying antioxidant defense in cauliflower seeds and seedlings. *Scientia Horticulturae* 288, 110360. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110360>

Fedina EO, Karimova FG, Tarchevsky IA, Toropygin IYu, Khripach VA. (2008) Effect of epibrassinolide on tyrosine phosphorylation of the calvin cycle enzymes. *Russian Journal of Plant Physiology* 55, 193–200. <https://doi.org/10.1134/S1021443708020052>

Genty B, Briantais JM, Baker NR. (1989) The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects* 990, 87–92. [https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(89\)80016-9](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(89)80016-9)

Gillani SFA, Zhuang Z, Rasheed A, Haq IU, Abbasi A, Ahmed S, Wang Y, Khan MT, Sardar R and Peng Y. (2022) Brassinosteroids induced drought resistance of contrasting drought-responsive genotypes of maize at physiological and transcriptomic levels. *Frontiers in Plant Science* 13, 961680. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.961680>

González-García MP, Vilarrasa-Blasi J, Zhiponova M, Divol F, Mora-García S, Russinova E, Caño-Delgado A. (2011) Brassinosteroids control meristem size by promoting cell cycle progression in *Arabidopsis* roots *Development* 138, 849–859. <https://doi.org/10.1242/dev.057331>

Gour L, Ramakrishnan RS, Panwar NK, Sharma R, Pathak N, Koutu GK. (2019) Seed Priming: An old empirical technique with new contemporary perspectives in respect to *Pisum sativum* L: A review. *Agricultural Reviews* 40, 136–142. <https://doi.org/10.18805/ag.R-1906>

Groszyk J, Szechyńska-Hebda M. (2021) Effects of 24-epibrassinolide, bikinin, and brassinazole on barley growth under salinity stress are genotype- and dose-dependent. *Agronomy* 11, 59. <https://doi.org/10.3390/agronomy11020259>

Guo B, Liu M, Yang H, Dai L, Wang L. (2023) Brassinosteroids Regulate the Water Deficit and Latex Yield of Rubber Trees. *International Journal of Molecular Sciences* 24, 12857. <https://doi.org/10.3390/ijms241612857>

Huang L, Zhang L, Zeng R, Wang X, Zhang H, Wang L, Liu S, Wang X, Chen T. (2020) Brassinosteroid Priming Improves Peanut Drought Tolerance via Eliminating Inhibition on Genes in Photosynthesis and Hormone Signaling. *Genes* 11, 919. <https://doi.org/10.3390/genes11080919>

Hussain MA, Fahad S, Sharif R, Jan MF, M M, Ali Q, Ahmad A, Ahmad H, Amin N, Ajayo BS, Sun C, Gu L, Ahmad I, Jiang Z, Hou J. (2020) Multifunctional role of brassinosteroid and its analogues in plants. *Plant Growth Regulation* 92, 141–156. <https://doi.org/10.1007/s10725-020-00647-8>

Johansen DA. (1941) Plant microtechnique. *Nature*, 147, 222. <https://doi.org/10.1038/147222b0>

Jantapo K, Wimonchaijit W, Wang W, Chaiwanon J. (2021) Supraoptimal Brassinosteroid Levels Inhibit Root Growth by Reducing Root Meristem and Cell Elongation in Rice. *Plants* 10, 1962. <https://doi.org/10.3390/plants10091962>

Khan M, Ahmed S, Yasin NA, Sardar R, Hussaan M, Gaafar A-R.Z, Haider FU. (2023) 28-Homobrassinolide Primed Seed Improved Lead Stress Tolerance in *Brassica rapa* L. through Modulation of Physio-Biochemical Attributes and Nutrient Uptake. *Plants* 12, 3528. <https://doi.org/10.3390/plants12203528>

Kim SH, Shim K-C, Lee H-S, Jeon Y-A, Adeva C, Luong NH and Ahn S-N. (2022) Brassinosteroid biosynthesis gene OsD2 is associated with low-temperature germinability in rice. *Front. Plant Sci.* 13, 985559. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.985559>

Kishorekumar A, Jaleel AC, Manivannan P, Sankar B, Sridharan R, Panneerselvam R. (2007) Comparative effects of different triazole compounds on growth, photosynthetic pigments and carbohydrate metabolism of *Solenostemon rotundifolius*. *Colloids and Surfaces* 60, 207-212. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2007.06.008>

Kraus JE, Arduin M. (1997) Manual básico de métodos em morfologia vegetal. EDUR. Seropédica.

Krzyzanowski FC, Vieira RD, França Neto JB. (1999) Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina: ABRATES.

Laisk A, Loreto F. (1996) Determining photosynthetic parameters from leaf CO₂ exchange and chlorophyll fluorescence (ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase specificity factor, dark respiration in the light, excitation distribution between photosystems, alternative electron transport rate, and mesophyll diffusion resistance). *Plant Physiology* 110, 903–912. <https://doi.org/10.1104/pp.110.3.903>

Larré CF, Moraes DM, Lopes NF. (2009) Potencial fisiológico de dois lotes de sementes de arroz tratadas com 24-epibrassinolídeo. *Revista Brasileira de Sementes* 31, 027-035. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222009000400003>

Li H, He X, Gao Y, Liu W, Song J, Zhang J. (2023) Integrative analysis of transcriptome, proteome, and phosphoproteome reveals potential roles of photosynthesis antenna proteins in response to brassinosteroids signaling in maize. *Plants* 13, 1290. <https://doi.org/10.3390/plants12061290>

Lima JV, Lobato AKS. (2017) Brassinosteroids improve photosystem II efficiency, gas exchange, antioxidant enzymes and growth of cowpea plants exposed to water deficit. *Physiology and Molecular Biology of Plants* 23, 59–72. <https://doi.org/10.1007/s12298-016-0410-y>

Liu Y-H, Sun M, Wang H, Liu J-X, Tan G-F, Yan J, Wang Y-H, Yan Z-M, Liu H, Tao J-P. (2022) 24-epibrassinolide and 2,6-dichlorobenzonitrile promoted celery petioles and hypocotyl elongation by altering cellulose accumulation and cell length. *Agronomy* 12, 1670. <https://doi.org/10.3390/agronomy12071670>

Maguire JD. (1962) Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science* 2, 176-177. <https://doi.org/10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x>

Maia JSO, Andrade JR, Nascimento R, Lima RF, Nascimento ECS, Ferreira VM. (2022) Physiological parameters of tomato plants subjected to salinity and treated with brassinosteroid. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 57, e01885. <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.pab2022.v57.01885>.

Marcos Filho, J. (1994). *Teste de envelhecimento acelerado*. In R. D. Vieira, N. M. Carvalho (Eds.), **Testes de vigor em sementes** (pp. 133-150). Jaboticabal: FUNEP.

Moaaz Ali M, Javed T, Mauro RP, Shabbir R, Afzal I, Yousef AF. (2020) Effect of Seed Priming with Potassium Nitrate on the Performance of Tomato. *Agriculture* 10, 498. <https://doi.org/10.3390/agriculture10110498>

Moterle LM, Lopes PC; BracciniII AL, Scapim CA. (2006) Germination of seeds and seedling growth of popcorn cultivars under water and salinity stress. *Revista Brasileira de Sementes* 28, 169-176, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222006000300024>

Nakagawa J. (1999) Testes de vigor baseados na avaliação das plântulas. In: Krzyzanowski, F. C. et al. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES.

Nolan TM, Vukašinić N, Liu D, Russinova E, Yin Y. (2020) Brassinosteroids:

Multidimensional regulators of plant growth, development, and stress responses. *The Plant Cell* 32, 295–318. <https://doi.org/10.1105/tpc.19.00335>

O'Brien TP, Feder N, McCully ME. (1964) The study of plant structure principles and selected methods. *Protoplasma*, 59, 368-373.

Oxborough K, Baker NR. (1997) Resolving chlorophyll a fluorescence images of photosynthetic efficiency into photochemical and nonphotochemical components—calculation of qP and Fv/Fm-; without measuring Fo. *Photosynthesis Research* 54, 135–142. <https://doi.org/10.1023/A:1005936823310>

Pereira YC, da Silva FR, da Silva BRS, Cruz FJR, Marques DJ, Lobato AKS. (2020) 24-Epibrassinolide Induces Protection against Waterlogging and Alleviates Impacts on the Root Structures, Photosynthetic Machinery and Biomass in Soybean. *Plant Signaling & Behavior* 15, 1805885. [10.1080/15592324.2020.1805885](https://doi.org/10.1080/15592324.2020.1805885)

Pirredda M, Fañanás-Pueyo I, Oñate-Sánchez L, Mira S. (2024) Seed Longevity and Ageing: A Review on Physiological and Genetic Factors with an Emphasis on Hormonal Regulation. *Plants* 13, 41. <https://doi.org/10.3390/plants13010041>

Planas-Riverola A., Gupta A, Betegón-Putze I, Bosch N, Ibañes M, Caño-Delgado AI. (2019) Brassinosteroid signaling in plant development and adaptation to stress. *Development* 146, 151894. <https://doi.org/10.1242/dev.151894>

Queiroz MS, Oliveira CES, Steiner F, Zuffo AM, Zoz T, Vendruscolo EP, Silva MV, Mello BFFR, Cabral RC, Menis FT. (2019) Drought stresses on seed germination and early growth of maize and sorghum. *Journal of Agricultural Science* 11, 310-318. <https://doi.org/10.5539/jas.v11n2p310>

Rai-Kalal, P, Jajoo A. (2021) Priming with zinc oxide nanoparticles improve germination and photosynthetic performance in wheat. *Plant Physiology and Biochemistry* 160, 341–351. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.01.032>

Renard J, Niñoles R, Martínez-Almonacid I, Gayubas B, Mateos-Fernández R, Bissoli G, Bueso E, Serrano R, Gadea J. (2020) Identification of Novel Seed Longevity Genes Related to Oxidative Stress and Seed Coat by Genome-wide Association Studies and Reverse Genetics. *Plant, Cell & Environment* 43, 2523–2539. <https://doi.org/10.1111/pce.13822>

Saha D, Choyal P, Mishra UN, Dey P, Bose B, Prathibha MD, Gupta KM, Mehta BK, Kumar P, Pandey S, Chauhan J, Sighal RK. (2022) Drought stress responses and inducing tolerance by seed priming approach in plants. *Plant Stress* 4, 100066. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2022.100066>

Sano N, Kim JS, Onda Y, Nomura T, Mochida K, Okamoto M, Seo M. (2017) RNA-Seq using bulked recombinant inbred line populations uncovers the importance of brassinosteroid for seed longevity after priming treatments. *Scientific Reports* 7, 8095. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-08116-5>

Savaliya DD, Mandavia CK, Mandavia M. (2013) Role of brassinolide on enzyme activities in groundnut under water deficit stress. *Indian Journal of Agricultural Biochemistry* 26, 92-96.

Seleiman MF, Ahmad A, Tola E, Alhammad BA, Almutairi KF, Madugundu R, Al-Gaadi KA. (2023) Exogenous Application of 24-Epibrassinolide Confers Saline Stress and

Improves Photosynthetic Capacity, Antioxidant Defense, Mineral Uptake, and Yield in Maize. *Plants* 12, 3559. <https://doi.org/10.3390/plants12040690>

Siddiqui H, Hayat S, Bajguz A. (2018) Regulation of photosynthesis by brassinosteroids in plants. *Acta Physiologia Plantarum* 40, 59. <https://doi.org/10.1007/s11738-018-2639-2>

Singhal RK, Bose B. 2020. Wheat seedlings as affected by Mg (NO₃)₂ and ZnSO₄ priming treatments. *World Scientific News* 144, 13-29.

Szabó O, Pisarčík M, Hrevušová Z, Haki J. (2023) Seed Treatment Potential for the Improvement of Lucerne Seed Performance and Early Field Growth. *Agronomy* 13, 2207. <https://doi.org/10.3390/agronomy13092207>

Taiz I, Zeiger E. (2017) *Fisiologia Vegetal*. 6. ed. Porto Alegre: Artmed.

Tárrago JF, Nicolás G. (1976) Starch Degradation in the Cotyledons of Germinating Lentils *Plant Physiology* 58, 618–621. <https://doi.org/10.1104/pp.58.5.618>

Waisi H, Kosović A, Krstić Đ, Milojković-Opsenica D, Nikolić B, Dragičević V, Trifković J. (2015) Polyphenolic profile of maize seedlings treated with 24-epibrassinolide. *Journal of Chemistry* 5, 1-10. <https://doi.org/10.1155/2015/976971>

Wang G, Kang Y, Li X, Zhang L, Xu G, Zheng Y. (2024) Effects of seed coating and priming with exogenous brassinosteroid on tobacco seed germination, *Journal of Plant Interactions* 19, 1742-9145, <https://doi.org/10.1080/17429145.2023.2299546>

Xia XJ, Huang LF, Zhou YH, Mao WH, Shi K, Wu JX, Asami T, Chen Z, Yu JQ. (2009) Brassinosteroids promote photosynthesis and growth by enhancing activation of Rubisco and expression of photosynthetic genes in *Cucumis sativus*. *Planta* 230, 1185–1196. <https://doi.org/10.1007/s00425-009-1016-1>

Xiong M, Chu L, Li Q, Yu J, Yang Y, Zhou P, Zhou Y, Zhang C, Fan X, Zhao D, Yan C, Liu Q. (2021) Brassinosteroid and gibberellin coordinate rice seed germination and embryo growth by regulating glutelin mobilization. *The Crop Journal* 9, 1039–1048. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2020.11.006>

Xiong M, Yu J, Wang J, Gao Q, Huang L, Chen C, Zhang C, Fan X, Zhao D, Liu QQ, Li QF. (2022) Brassinosteroids regulate rice seed germination through the BZR1-RAmy3D transcriptional module. *Plant Physiology* 189, 402–418. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiac043>

Xu Q, Wei Q, Kong Y, Zhu L, Tian W, Huang J, Pan L, Jin Q, Zhang J, Zhu C. (2022) Unearthing the alleviatory mechanisms of brassinolide in cold stress in rice. *Life* 12, 833. <https://doi.org/10.3390/life12060833>

Zhao X, Dou L, Gong Z, Wang X, Mao T. (2019) BES1 hinders ABSCISIC ACID INSENSITIVE5 and promotes seed germination in *Arabidopsis*. *The New phytologist* 221, 908–918. <https://doi.org/10.1111/nph.15437>

Zhong C, Patra B, Tang Y, Li X, Yuan L, Wang X. (2021) A transcriptional hub integrating gibberellin–brassinosteroid signals to promote seed germination in *Arabidopsis*, *Journal of Experimental Botany* 72, 4708–4720. <https://doi.org/10.1093/jxb/erab192>

Zulfiqar, F. (2021) Effect of seed priming on horticultural crops. *Scientia Horticulturae* 286, 110197. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110197>

Zullo MAT, Bajguz A. (2019) The brassinosteroids family—structural diversity of natural compounds and their precursors. In *Brassinosteroids: Plant Growth and Development* 1–44. https://doi.org/10.1007/978-981-13-6058-9_1

Zvinavashe AT, Lim E, Sun H, Marelli B. (2019) A bioinspired approach to engineer seed microenvironment to boost germination and mitigate soil salinity. *The Proceedings of the National Academy of Sciences* 116, 25555–25561. <https://doi.org/10.1073/pnas.1915902116>

4. CAPÍTULO II

Priming de sementes de milho com nanopartículas de silício: otimização da germinação e do crescimento inicial

(Normas de acordo com o periódico PeerJ)

RESUMO: O milho (*Zea mays* L.) é um dos principais cereais cultivados mundialmente, sendo fundamental para a segurança alimentar e a economia global. No Brasil, a área cultivada e a produtividade do milho têm crescido substancialmente devido ao uso de novas tecnologias, incluindo o aprimoramento da qualidade das sementes. A técnica de priming tem sido utilizada para melhorar o desempenho das sementes e o uso de nanopartículas de silício surge como uma estratégia promissora para otimizar o crescimento e a produtividade das culturas. Este estudo investigou o efeito do priming de sementes de milho com nanopartículas de dióxido de silício (SiO_2 -NPs) em diferentes concentrações (0, 200, 400 e 600 mg L^{-1}). Os efeitos do priming foram investigados por meio do teste de germinação, comprimento da parte aérea e raiz de plântulas, envelhecimento acelerado, índice de velocidade de emergência e massa seca de plântulas, teste de frio, restrição hídrica e estresse salino. Os parâmetros de troca gasosa e de fluorescência da clorofila a foram mensurados nas plântulas após 15 de semeadura. Sementes tratadas com SiO_2 -NPs apresentaram maior taxa de germinação e para parâmetros de vigor, sementes que passaram pelo priming tiveram melhores resultados. Observou-se aumento na eficiência fotossintética através das maiores médias para rendimento quântico efetivo do PSII (Φ_{II}). As análises também revelaram maior atividade da α -amilase nas maiores concentrações de SiO_2 -NPs. Esses resultados indicam que o priming com SiO_2 -NPs favorece o desenvolvimento inicial das plântulas e potencializa a resiliência em condições de estresse.

Palavras-chave: *Zea mays* L., vigor, germinação, SiO_2 -NPs, fotossíntese, estresse, trocas-gasosas.

CHAPTER II

Seed priming with silicon nanoparticles in maize: optimization of germination and early growth

(PeerJ journal guidelines)

ABSTRACT: Maize (*Zea mays* L.) is one of the main cereals grown worldwide, being crucial for global food security and the economy. In Brazil, the area cultivated, and the productivity of maize have grown substantially due to the use of new technologies, including the seed quality improvement. The priming technique has been used to enhance seed performance, and the use of silicon nanoparticles has emerged as a promising strategy to improve crop growth and productivity. This study investigated the effect of priming maize seeds with silicon dioxide nanoparticles (SiO₂-NPs) at different concentrations (0, 200, 400, and 600 mg L⁻¹). The priming effects were investigated through germination tests, seedling shoot and root length, accelerated aging, emergence speed index, and seedling dry mass, cold test, water restriction, and salt stress. Gas exchange parameters and chlorophyll fluorescence were measured in the seedlings after 15 weeks. Seeds treated with SiO₂-NPs showed higher germination rates and vigor parameters, with primed seeds performing better. An increase in photosynthetic efficiency was observed through higher mean values for effective quantum yield of PSII (Φ II). The analyses also revealed higher α -amylase activity at the higher SiO₂-NP concentrations. These results indicate that priming with SiO₂-NPs promotes early seedling development and enhances resilience under stress conditions.

Keywords: *Zea mays* L., vigor, SiO₂-NPs, photosynthesis, stress, gas exchange.

4.1 Introdução

O milho (*Zea mays* L.) é reconhecido como uma cultura de destaque global, sendo um dos três principais cereais cultivados no mundo, formando a base alimentar para bilhões de pessoas. No Brasil, a área cultivada de milho no ano de 2023 atingiu a cerca de 21,1 milhões de hectares, consolidando a importância da cultura no panorama agrícola nacional (CONAB, 2023). Referente à safra 2022/2023, o país ultrapassou os Estados Unidos e tornou-se o maior exportador de milho do mundo, segundo dados do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA). Com o passar dos anos, a produtividade de milho por área tem aumentado significativamente. Novos híbridos, tecnologias e sistemas de manejo cada vez mais eficientes têm contribuído para esse crescimento exponencial (Silva *et al.* 2021).

A qualidade das sementes é essencial na produção de milho, influenciando diretamente o rendimento final e a produtividade da cultura. Sementes de alta qualidade podem produzir plantas vigorosas e saudáveis, que rapidamente crescem e se estabelecem em campo. Estudos indicam que o uso de sementes de alta qualidade pode aumentar o rendimento da colheita de milho em aproximadamente 30% (Afzal *et al.* 2020). A escolha criteriosa de sementes de alta qualidade pelos agricultores não apenas reduz o risco de perdas decorrentes de doenças ou condições ambientais adversas, mas contribui para o aumento da produtividade e lucratividade nas atividades agrícolas.

A produção de milho enfrenta desafios importantes, especialmente durante o estabelecimento inicial da cultura, uma das fases mais críticas para o sucesso do cultivo. Problemas com estresse hídrico e condições climáticas extremas, como secas ou chuvas excessivas, podem comprometer a germinação das sementes e o desenvolvimento inicial das plantas, resultando em perdas na produtividade. A entrega de sementes de alta qualidade é dificultada por essas adversidades, e reforça a necessidade de estratégias que melhorem o desempenho das sementes sob condições desfavoráveis.

Neste contexto, o priming de sementes destaca-se como uma abordagem eficaz para estimular a germinação e melhorar o desempenho inicial de crescimento das plântulas (Ibrahim, 2016). O processo envolve a embebição das sementes para regular de forma positiva as atividades metabólicas, mas sem a protrusão da raiz primária através do tegumento (Szabó *et al.* 2023). Entre os métodos e abordagens, o priming de sementes com nanomateriais tem recebido atenção especial pelas múltiplas vantagens, como o potencial de aumentar a produtividade e a qualidade dos produtos agrícolas, ao mesmo tempo que minimiza a dependência de agroquímicos, herbicidas, fungicidas e inseticidas como fator significativo na agricultura sustentável (Iavicoli *et al.* 2017). O nanopriming utilizando vários nanomateriais exibiu resultados impressionantes em relação à germinação de sementes e às características de

crescimento de plântulas de diversas espécies de plantas (Hatami *et al.* 2021).

A utilização de silício em estruturas como nanopartículas representa uma abordagem inovadora desse elemento, pois à medida que o tamanho das partículas é reduzido, ocorre aumento da área de superfície disponível, resultando em alterações nos padrões de absorção e transporte nos tecidos vegetais (Subbenaik, 2016). Essa característica resulta em efeitos mais pronunciados das nanopartículas de silício (SiNPs) no crescimento e desenvolvimento das plantas, pois a alteração do estado físico dos SiNPs tem implicações diretas com a absorção e translocação no sistema vegetal (Tripathi *et al.* 2017). Embora o silício não seja considerado essencial para a maioria das plantas, ele desempenha papel facilitador em diversas vias metabólicas cruciais. Esse elemento pode influenciar a relação planta-água, a elasticidade e plasticidade da parede celular, a espessura da folha e a estabilidade da membrana (Coskún *et al.* 2019; Mukarram, Masroor e Corpas, 2021; Mukarram *et al.* 2022).

Com os avanços tecnológicos na área da nanotecnologia, diversos pesquisadores relataram influência positiva dos SiNPs em processos específicos das plantas, como a lentilha e o trigo, incluindo a germinação de sementes, fotossíntese, trocas gasosas, absorção de nutrientes, metabolismo antioxidante, atividades enzimáticas e produtividade (Luyckx *et al.* 2017; Ahmad *et al.* 2020; Biju *et al.* 2017; Gong e Chen, 2012). A interação direta ou indireta dos SiNPs com as plantas pode contribuir para o aprimoramento do crescimento e desenvolvimento vegetal, sugerindo o seu uso como indutor de crescimento em diversas culturas (Mukarram *et al.* 2022). A eficácia do silício em termos de nanofertilizantes provou ser mais eficaz do que os seus análogos convencionais (Kah *et al.* 2018). No milho, foi relatado que os SiNPs aumentam o sistema de defesa natural e melhora a porcentagem de germinação (Suriyaprabha *et al.* 2012; Naguib e Abdalla, 2019)

O potencial dos nanomateriais em melhorar o rendimento e a produtividade agrícola é uma área de pesquisa que permanece em grande parte subexplorada (Vishwakarma *et al.* 2017). Portanto, é necessário conduzir investigações mais aprofundadas sobre os efeitos das nanopartículas de silício no condicionamento de sementes de milho, avaliando parâmetros como germinação, vigor, trocas gasosas, eficiência fotossintética e atividade enzimática, buscando compreender os mecanismos pelas quais essas nanopartículas podem influenciar o desenvolvimento inicial das plântulas. Portanto, objetivou-se investigar os efeitos no potencial fisiológico das nanopartículas de silício no condicionamento de sementes de milho.

4.2 Material e Métodos

Foram utilizadas sementes de milho (*Zea mays* L.) do híbrido SYN8A98 para avaliar o desempenho do condicionamento com nanopartículas de silício. O presente ensaio

foi executado no Laboratório de Análises de Sementes do Instituto, Federal de Educação, Ciência e Tecnologia – IF Goiano – Campus Rio Verde. Sementes de milho híbrido SYN8A98 foram utilizadas neste estudo.

Tratamentos experimentais

As nanopartículas de dióxido de silício (SiO₂-NPs) utilizadas neste estudo tinham a área de superfície específica em nanos escala de 650 m²/g, o tamanho médio das partículas primárias era de 15 nm e a pureza superior a 99%. O pó de SiO₂-NPs foi adquirido pela MKnano (division of MK Impex Corp.).

Para o priming das sementes foram preparadas soluções com diferentes concentrações de SiO₂-NPs (0, 200, 400, 600 mg L⁻¹). Para isso, as quantidades necessárias de nanopartículas foram pesadas em balança analítica com precisão de 0,0001g (AY220, Marte, Brasil) e adicionadas à água deionizada.

Condicionamento fisiológico das sementes

As sementes foram submetidas a uma etapa de esterilização, consistindo em uma imersão por 1 minuto em solução de hipoclorito de sódio a 1%. Subsequentemente, as sementes foram submetidas a um processo de lavagem utilizando água destilada, seguido por uma fase de secagem a temperatura ambiente.

As sementes esterilizadas foram, posteriormente, dispostas de maneira uniforme sobre papel germinação que havia sido previamente umedecido com as soluções de SiO₂-NPs na proporção de 2,5 vezes o peso do papel. As bandejas de polietileno 38x53 contendo as sementes e o papel foram postas em incubadora, mantida a temperatura controlada de 25 ± 0,5°C, no escuro, pelo período de 20 horas. O tempo de condicionamento adotado baseou-se na curva de hidratação das sementes de milho. Após essa etapa, as sementes foram submetidas a secagem em estufa com circulação de ar e renovação, mantida a temperatura de 25°C, até que o teor de água inicial das sementes fosse restabelecido.

Para diferenciar os efeitos da água e das nanopartículas, a preparação das sementes foi feita de duas maneiras: usando apenas água (hidropriming) e solução de SiO₂-NPs (nanopriming). Sementes não preparadas (sementes não tratadas) foram consideradas como controle.

Potencial fisiológico de sementes

Antes e depois do priming foi determinado o teor de água das sementes pelo método da estufa, e as amostras foram acondicionadas a 105 ± 3°C, por 24 horas, utilizando duas repetições para cada tratamento (Brasil, 2009).

- Germinação: o teste foi realizado com quatro repetições, cada uma composta por quatro subamostras de 50 sementes, semeadas em substrato de papel germinação, previamente umedecido com água destilada, utilizando 2,5 vezes a massa do papel seco, e mantidas em germinador à temperatura de 25°C. As avaliações foram efetuadas aos sete dias após a semeadura, sendo os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais (Brasil, 2009).

- Restrição hídrica: para a simulação do déficit hídrico foi utilizada solução de polietilenoglicol (PEG 6000) com potencial osmótico de -0,4 MPa, correspondente à concentração de 239,142g por litro de água (Moterle *et al.* 2008). A solução contendo PEG 6000 foi aplicada diretamente no papel germinação e o teste de germinação foi realizado de acordo com as recomendações para as sementes de milho (Brasil, 2009).

- Estresse salino: para a simulação do estresse salino foram utilizados os sais cloreto de potássio (KCl), com o nível de potencial salino de -0,8 MPa, produzidos pela dissolução dos sais em água destilada. A solução contendo KCl foi aplicada diretamente no papel germinação e o teste de germinação foi realizado de acordo com as recomendações para as sementes de milho (Brasil, 2009).

- Teste de frio: conduzido seguindo a mesma metodologia do teste de germinação, porém, em primeiro momento, após a semeadura, os rolos foram colocados no interior de sacos plásticos escuros e levados a câmara fria a 10°C, durante o período de sete dias, e em seguida transferidos para o germinador a 25°C por mais sete dias. Ao final deste teste foram computadas, em porcentagem, as plântulas normais (Coimbra *et al.* 2009).

- Envelhecimento acelerado: realizado com quatro repetições de 50 sementes, as quais foram acondicionadas em camada única sobre uma tela metálica suspensa dentro de caixas de acrílico 11x11x3,5 cm contendo 40 mL de água destilada ao fundo. Posteriormente, as caixas foram tampadas e acomodadas em câmara de germinação a 41°C e 100% de umidade relativa do ar por 96 horas (Marcos Filho, 1994). Após esse período, seguiu-se a metodologia do teste de germinação e as plântulas normais foram avaliadas quatro dias após a semeadura.

Emergência de plântulas: o teste foi realizado com 200 sementes por tratamento, divididas em quatro repetição de 50 sementes, distribuídas em sulcos com 3 cm de profundidade em canteiros de areia grossa. O sistema de irrigação foi por aspersão, quatro vezes ao dia. As avaliações foram efetuadas com a contagem diária das plântulas emergidas (aquelas que apresentarem coleóptilos acima do solo), até a estabilização da emergência de cada lote, e os resultados expressos em porcentagem de emergência (Nakagawa, 1994).

- Índice de velocidade de emergência: foi conduzido em conjunto com o teste de

emergência de plântulas, contabilizando diariamente, o número de plântulas emergidas até o final do teste. Com os dados obtidos, o índice de velocidade de emergência foi calculado empregando a fórmula proposta por Maguire (1962).

- Comprimento de parte aérea e raiz: foram utilizadas quatro repetições de 20 sementes distribuídas em substrato rolo de papel germinação, umedecidos com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes o peso do papel e mantidas em câmara de germinação regulada a temperatura de 25°C por sete dias (Nakagawa, 1999). O comprimento de raiz e parte aérea de plantas consideradas normais (Brasil, 2009) foi determinado ao final do sétimo dia, com o auxílio de régua milimetrada. Os resultados médios por plântulas foram expressos em centímetros.

Trocas gasosas

As trocas gasosas foram mensuradas em folhas totalmente expandidas de plantas de milho provenientes do teste de emergência 15 dias após a semeadura, utilizando um analisador de gases por infravermelho (IRGA) de sistema aberto (LI-6800, LI-COR Inc., Lincoln, NE, USA) para determinar a taxa líquida de fotossíntese (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), taxa de transpiração (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e a relação entre concentrações internas (C_i) e externas (C_a) de CO_2 (C_i/C_a). As mensurações de A , g_s , E e C_i/C_a foram realizadas entre as 8h e as 11h da manhã sob radiação fotossinteticamente ativa constante (PAR , $1000 \mu\text{mol de f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e temperatura (25°C).

Imagem de fluorescência da clorofila a

As imagens de fluorescência da clorofila a foram obtidas com a ajuda do fluor\u00f4metro modulado Imaging-PAM (vers\u00e3o MAXI-Standard, Heinz Walz). Inicialmente, as folhas de milho das plantas oriundas do teste de emergência foram adaptadas por pelo menos 40 minutos no escuro e a fluoresc\u00eancia inicial (F_0) e a fluoresc\u00eancia m\u00e1xima (F_m) foram determinadas, em que F_0 \u00e9 o rendimento m\u00ednimo de fluoresc\u00eancia, excitado por uma luz vermelha modulada de baixa intensidade ($3 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), e F_m \u00e9 a fluoresc\u00eancia m\u00e1xima obtida aplicando um pulso de luz atinente saturante por 0,8 s ($>6000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). A partir disso, foi poss\u00edvel calcular o rendimento qu\u00e2ntico potencial do fotossistema II (PSII) ($F_v/F_M = [F_m - F_0]/F_m$). As vari\u00e1veis da fase lenta da indu\u00e7\u00e3o de fluoresc\u00eancia foram obtidas sequencialmente com a aplica\u00e7\u00e3o de uma ilumina\u00e7\u00e3o atinente por 30 s e um pulso de luz atinente saturante para determinar as vari\u00e1veis: fluoresc\u00eancia em uma amostra adaptada \u00e0 luz antes do pulso de satura\u00e7\u00e3o (F) e fluoresc\u00eancia m\u00e1xima em uma amostra

adaptada à luz (F_m'). A partir desses parâmetros, foi possível calcular a fluorescência mínima do tecido vegetal iluminado, $F_0' = F_0 / [(F_m - F_0/F_m) + (F_0/F_m')]$ (Oxborough e Baker, 1997). O rendimento quântico efetivo da conversão de energia fotoquímica em PSII, $\Phi_{II} = (F_m' - F) / F_m'$; os rendimentos quânticos de dissipação de energia regulada, $\Phi_{NPQ} = (F/F_m') - (F/F_m)$ e de dissipação de energia não regulada, $\Phi_{NO} = F/F_m$, foram calculados de acordo com Genty *et al.* (1989) e Hendrickson *et al.* (2004). O Φ_{II} também foi usado para estimar a taxa aparente de transporte de elétrons ($ETR = \Phi_{II} \times PAR \times A_{leaf} \times 0,5$) (Bilger *et al.* 1995), em que PAR é o fluxo de fótons ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) nas folhas, A_{leaf} é a quantidade correspondente à fração de luz incidente absorvida pelas folhas e 0,5 é a fração de energia de excitação direcionada para o PSII (Laisk e Loreto 1996).

Preparação do extrato enzimático

Após o priming, quatro repetições de cada tratamento pesando em média 0.250 mg de uma mistura de endosperma e eixo embrionário das sementes foram utilizadas no procedimento de preparação do extrato enzimático. Os endospermas e eixos embrionários foram macerados com N_2 líquido e depois homogeneizados em 2 mL de água de destilada. O homogeneizado resultante foi então submetido a um processo de centrifugação a $12.000 \times g$ pelo período de 15 minutos, com a temperatura controlada a 4°C .

Atividade de α -amilase e β -amilase

A determinação da atividade da α -amilase foi conduzida utilizando 250 μL do sobrenadante foram adicionadas a 250 μL de um meio de reação contendo CaCl_2 3 mM para inativação da β -amilase, sendo a reação incubada a 70°C por 5 minutos. Subsequentemente, a esta mistura foram adicionados 500 μL de tampão citrato a uma concentração de 100 mM (pH 5,0) e 250 μL de amido a uma concentração de 1%, prosseguindo com a incubação da mistura a uma temperatura de 30°C por 5 minutos. A reação foi interrompida pela adição de 2,0 ml do reagente ácido 3,5-dinitrosalicílico 1% (DNS) e aquecida em banho-maria a 65° por 5 minutos.

A avaliação da atividade da enzima β -amilase foi iniciada pela adição de 180 μL de extrato enzimático a um meio de reação contendo 110 μL de EDTA 0,1 M, 100 μL de tampão citrato 100 mM, pH 3,4 e 250 μL da solução de amido 1%. A reação foi incubada a 30°C durante 5 minutos. Em seguida foram adicionados 2,0 mL de ácido 3,5-dinitrosalicílico 1% (DNS) com posterior aquecimento em água a 65°C por 5 minutos para desenvolvimento da coloração.

Após completar o volume da reação, tanto da α -amilase quanto da β -amilase para

10,0 mL, os açúcares redutores formados pela ação das amilases foram quantificados pela leitura da absorbância em 540 nm, utilizando solução padrão de glicose 2 mg/mL (Tárrago e Nicolás, 1976; Bernfeld 1955).

Delineamento experimental e procedimentos estatísticos

O delineamento utilizado foi inteiramente ao acaso (DIC), com quatro repetições. Os dados quantitativos foram submetidos à análise de normalidade pelo Teste Shapiro-Wilk e avaliação da homogeneidade das variâncias dos erros pelo Teste de Bartlett. Foi realizada a análise de variância, seguida de comparação de médias pelo teste de Tukey, considerando os níveis de significância de 1% e 5%. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do Software R versão 3.6.0., e os gráficos elaborados no programa SigmaPlot 14.5.

4.3 Resultados

Germinação e vigor

Os resultados da Fig. 1 apresentam o efeito da aplicação do priming na germinação de sementes de milho com as diferentes concentrações de SiO₂-NPs. Os maiores valores de germinação, de 95%, foram registrados com os tratamentos de 200 e 400 mg L⁻¹ de SiO₂-NPs. Enquanto isso, o menor foi obtido no controle, em que as sementes não passaram pelo processo de priming, com germinação média de 91%.

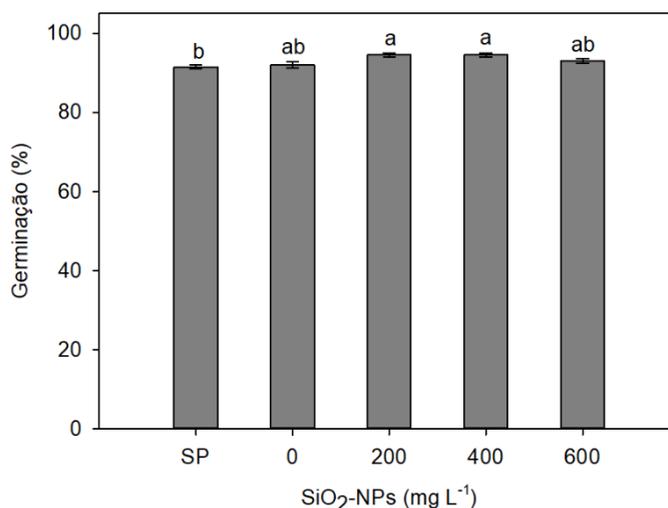


Fig 1. - Germinação de sementes de milho condicionadas com concentrações de SiO₂-NPs (0, 200, 400 e 600 mg L⁻¹) e controle (SP). Colunas verticais representam a média de quatro repetições com barras indicando o erro padrão. Letras diferentes são significativamente diferentes no nível $p \leq 0,05$ pelo teste de Tukey.

A germinação das sementes em condições de estresse salino (ES) reduziu no tratamento controle em relação aos tratamentos que passaram pelo priming, com diferença de 41,54% para a concentração de 200 mg L⁻¹ de SiO₂-NPs (Fig. 2A). Comportamento semelhante foi encontrado no teste de frio (TF), sendo a taxa de germinação no controle 20% menor em relação a concentração de 200 mg L⁻¹ (Fig 2B). Na restrição hídrica (RH), as sementes que foram submetidas ao priming com SiO₂-NPs apresentaram maior taxa de germinação, sendo superiores ao controle, com diferença de 14,31% a mais na concentração de 200 mg L⁻¹ comparada ao controle (Fig 2C). A Fig. 2D mostra os dados referentes ao envelhecimento acelerado (EA), em que o priming das sementes diminuiu a taxa de germinação de sementes, independente para a presença de SiO₂-NPs. O controle foi superior em média 17,32% em comparação aos demais tratamentos.

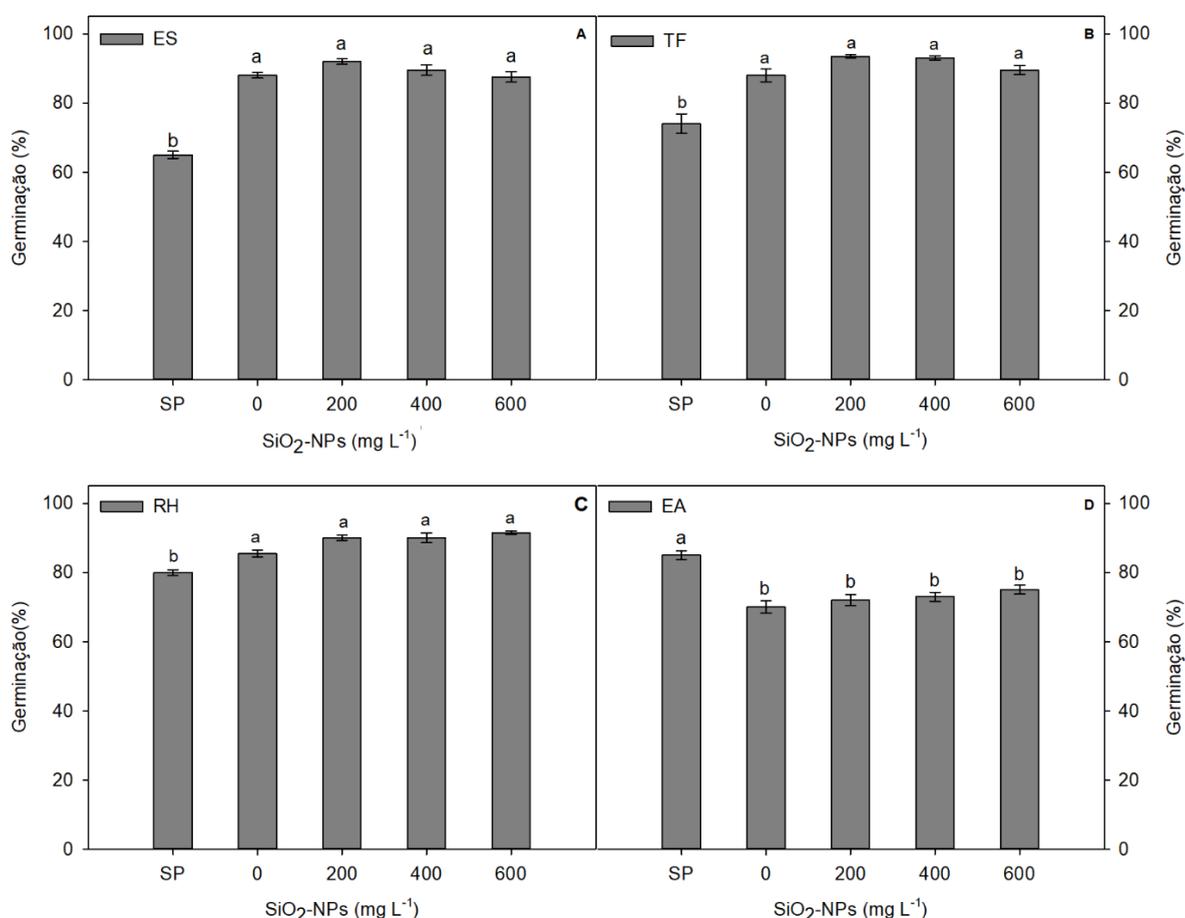


Fig 2. Qualidade fisiológica de sementes de milho condicionadas com concentrações de SiO₂-NPs (0, 200, 400 e 600 mg L⁻¹) e controle (SP). Teste de estresse salino (ES), teste de frio (TF), restrição hídrica (RH) e envelhecimento acelerado (EA). Colunas verticais representam a média de quatro repetições com barras indicando o erro padrão. Letras diferentes são significativamente diferentes no nível $p \leq 0,05$ pelo teste de Tukey.

Para facilitar a visualização das variáveis de vigor computadas em porcentagem de germinação, optou-se por uma representação gráfica por meio de gráfico de radar (Fig. 3). Essa

representação ajuda a comparar diferentes variáveis, permitindo a rápida identificação de similaridades, diferenças e singularidades nos testes de vigor analisados. Dessa forma, cada variável analisada é detalhada, recapitulando todas as determinações realizadas e potencializadas as diferenças. De acordo com essa comparação, é possível destacar que houve maior disparidade de resultados entre os testes no controle (SP), enquanto as sementes que passaram priming tiveram resultados mais constantes entre os tratamentos e testes, atribuindo maior vigor às sementes condicionadas.

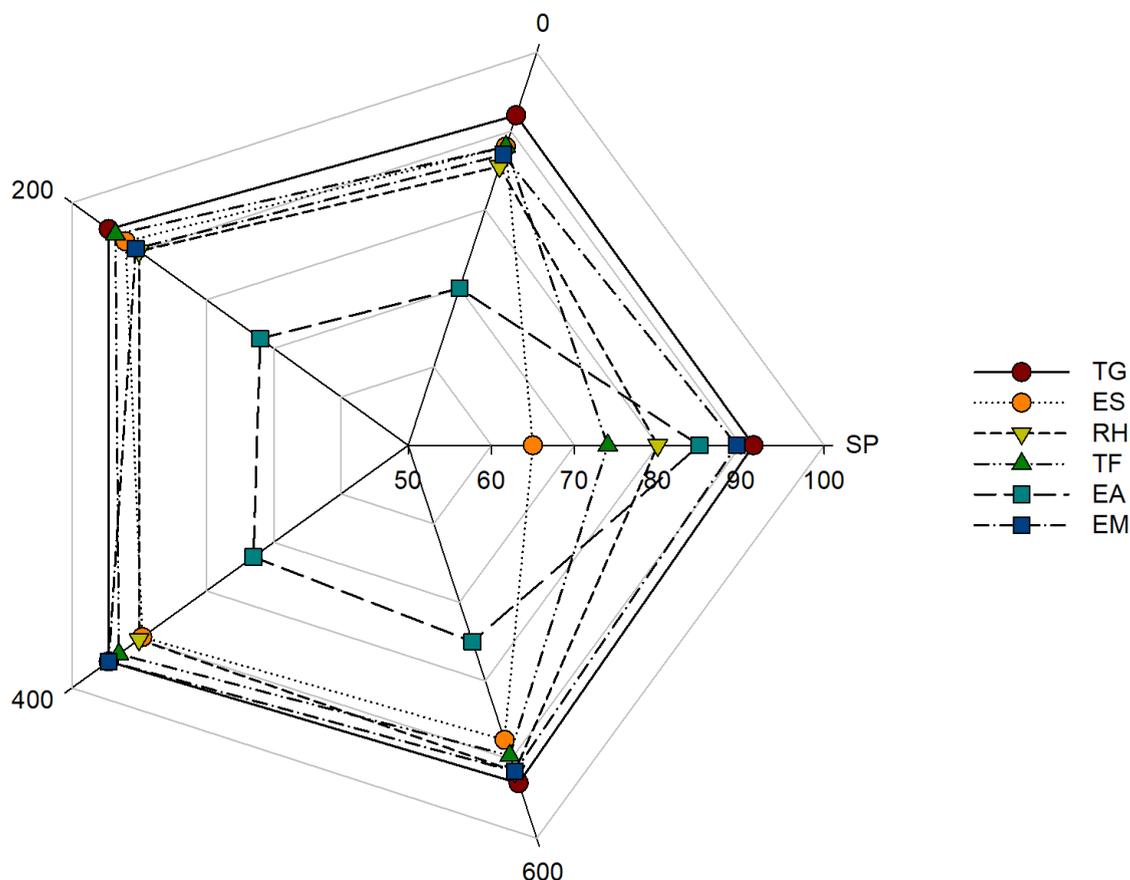


Fig 3. Efeito do priming na germinação (%) em sementes de milho com concentrações de SiO₂-NPs (0, 200, 400 e 600 mg L⁻¹) e controle (SP) submetidas aos testes de germinação (TG) de estresse salino (ES), teste de frio (TF), restrição hídrica (RH) envelhecimento acelerado (EA) e emergência (EM).

O índice de velocidade de emergência (IVE) aumentou nas sementes de milho após o priming em comparação ao controle, sendo 38% inferior a concentração de 400 mg L⁻¹ de SiO₂-NPs, que apresentou o maior índice (Fig. 4A). O priming das sementes promoveu aumento nos atributos de crescimento das plântulas de milho, em comparação ao controle, mediante incrementos no comprimento da parte aérea e comprimento da raiz (Fig. 4B).

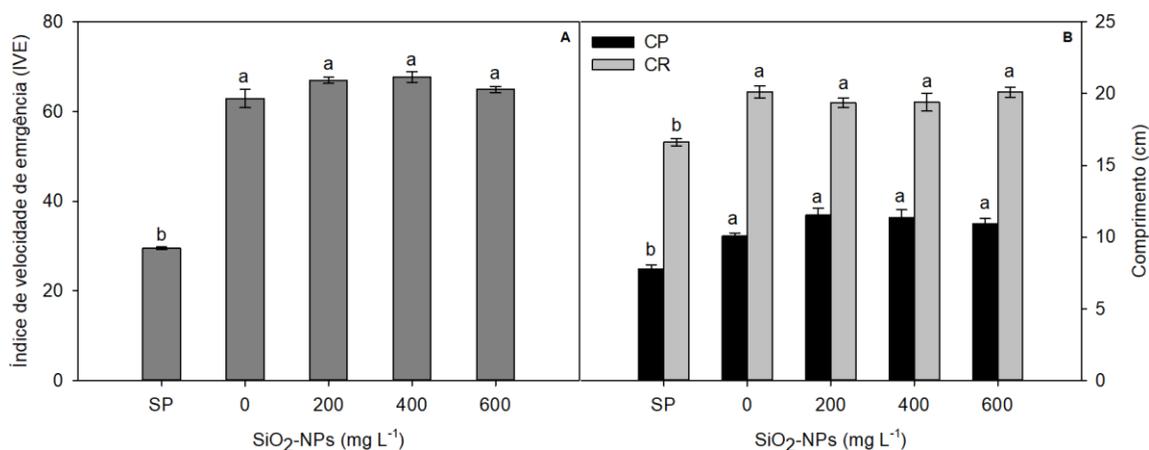


Fig 4. Qualidade fisiológica de sementes de milho condicionadas com concentrações de SiO₂-NPs (0, 200, 400 e 600 mg L⁻¹) e controle (SP). Índice de velocidade de emergência (IVE) (A) e comprimento de parte aérea e raiz de plântulas (CP e CR) (B). Colunas verticais representam a média de quatro repetições com barras indicando o erro padrão. Letras diferentes são significativamente diferentes no nível $p \leq 0,05$ pelo teste de Tukey.

Atividade da enzima α -amilase

O metabolismo das sementes de milho foi avaliado por meio da atividade das enzimas α -amilase e β -amilase (Fig. 5). A concentração de 600 mg L⁻¹ de SiO₂-NPs resultou em uma atividade de α -amilase 20,35% maior em comparação ao controle, estatisticamente superior aos demais tratamentos. Para a atividade de β -amilase, não houve diferença significativa conforme o teste de Tukey (dados não apresentados).

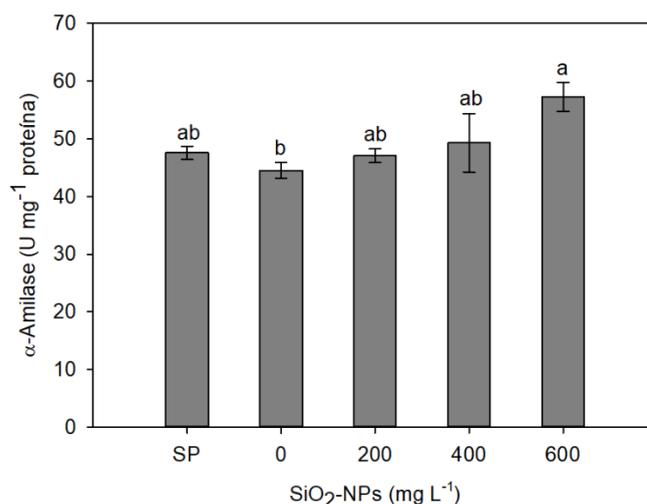


Fig 5. Atividade da enzima α -amilase em sementes de milho condicionadas com concentrações de SiO₂-NPs (0, 200, 400 e 600 mg L⁻¹) e controle (SP). Colunas verticais representam a média de quatro repetições com barras indicando o erro padrão. Letras diferentes são significativamente diferentes no nível $p \leq 0,05$ pelo teste de tukey.

Fluorescência da clorofila (a)

As plântulas após o priming com SiO₂-NPs demonstraram alterações nos seus parâmetros da fluorescência da clorofila (*a*) (Fig 6). Para Φ_{II} , a concentração do priming de 600 mg L⁻¹ de SiO₂-NPs apresentou os maiores resultados, já para Φ_{NO} , os demais tratamentos foram significativamente maiores, diferindo estatisticamente. A maior concentração de SiO₂-NPs diferiu dos demais tratamentos na análise de Φ_{NPQ} , apresentando as maiores médias, sendo as menores observadas no tratamento de 200 mg L⁻¹ de concentração de SiO₂-NPs.

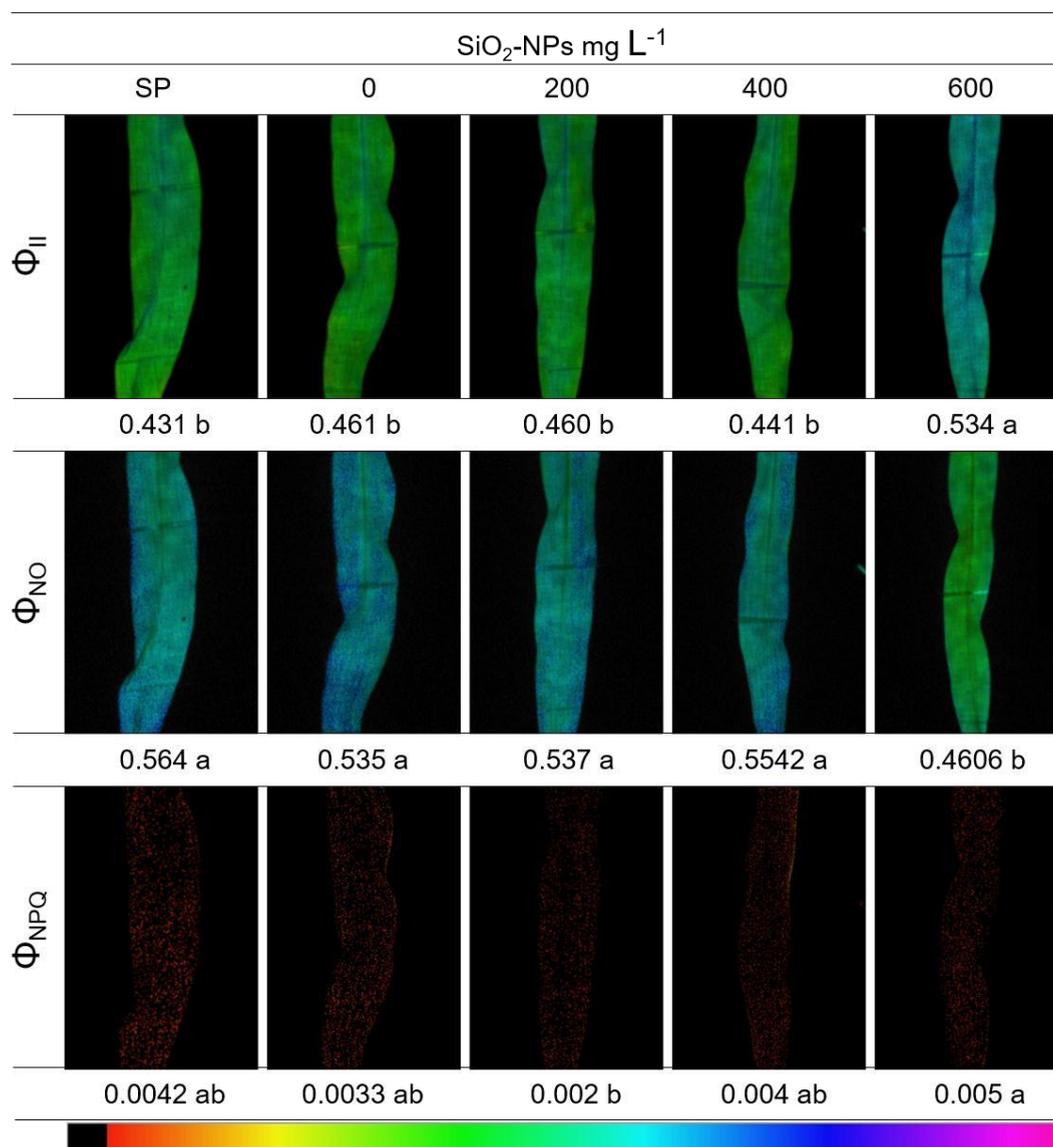


Fig. 6. Rendimento quântico efetivo da conversão de energia fotoquímica em PSII (Φ_{II}), dissipação de energia não regulada (Φ_{NO}) e o rendimento quântico de dissipação de energia regulada (Φ_{NPQ}) aos 15 dias após sementeira das sementes de milho sem priming (SP), priming com água (0) e com as concentrações de 200, 400 e 600 mg L⁻¹ de SiO₂-NPs. Letras diferentes são significativamente diferentes no nível $p \leq 0,05$ pelo teste de tukey.

4.4 Discussão

No presente estudo foram investigados os efeitos do priming com SiO₂-NPs em sementes de milho. A porcentagem de germinação apresentou médias superiores quando condicionadas com 200 e 400 mg L⁻¹ de SiO₂-NPs se comparadas ao controle. Sementes de

estévia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) submetidas ao nanopriming melhoraram significativamente a porcentagem de germinação com priming na concentração de 100 ppm de SiO₂-NPs (Hasanaklou *et al.*, 2023).

O preparo de sementes com nanopartículas de SiO₂ pode estimular eventos metabólicos pré-germinativos, incluindo o aumento da absorção de água, a promoção da divisão e do alongamento celular, a reparação de danos nos ácidos nucleicos, a ativação de enzimas mobilizadoras de reservas, o aumento das atividades das enzimas antioxidantes que eventualmente melhoraram a emergência, o crescimento e o vigor das plântulas (Ali *et al.* 2021).

O vigor das sementes é uma característica complexa que envolve a germinação, emergência, crescimento das plântulas e tolerância ao estresse, sendo influenciado por fatores como o acúmulo de reservas durante o desenvolvimento, a deterioração das sementes durante o armazenamento, além dos tratamentos e condições de estresse durante a germinação. Neste estudos os resultados indicaram que o priming melhorou diferentes parâmetros de vigor das sementes, como o índice de velocidade de emergência e comprimento de parte aérea e raiz de plântulas.

As sementes que passaram pelo priming, geralmente apresentam um tempo de emergência reduzido, maior taxa, uniformidade e porcentagem de germinação em comparação às sementes que não foram condicionadas. Esses benefícios podem ser atribuídos à ativação mediada pelo priming de vários processos metabólicos, incluindo a maior ativação de enzimas, atividades metabólicas, mudanças bioquímicas associadas à reparação celular, síntese de proteínas e melhoria do sistema de defesa antioxidante (Beckers e Conrath, 2007, Narejo *et al.* 2022).

Khalequzaman *et al.* (2023) avaliaram o efeito do priming com Si em sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.) e observaram que o condicionamento foi amplamente ineficaz, sem melhorias significativas no crescimento, rendimento e na resposta fisiológica das plantas em comparação com o controle, embora tenha ocorrido diferença significativa na germinação, com maior porcentagem. Em sementes de tomate (*Lycopersicon esculentum*), ocorreu melhora significativa nos parâmetros de germinação, como porcentagem de germinação, índice de germinação, índice de vigor, tempo médio de germinação e comprimento médio do caule das plantas de tomate tratadas com 5 gL⁻¹ de SiO₂-NPs (Lu *et al.* 2015). Behboudi *et al.* (2017) observaram aumento no índice de germinação em cevada (*Hordeum vulgare* L) com nano-priming usando 30 e 60 ppm de SiO₂-NPs, no entanto, concentrações mais altas mostraram efeitos tóxicos mais pronunciados no comprimento da parte aérea e raízes de plântulas.

Dependendo do tipo, concentração, tamanho, morfologia e método de aplicação, os nanomateriais podem ter impacto positivo ou negativo no crescimento e desenvolvimento das plantas, influenciando características morfológicas, fisiológicas, bioquímicas, anatômicas, moleculares e agronômicas (Mittal *et al.* 2020; Yang *et al.* 2017). Em diferentes concentrações, a dispersão dos nanomateriais pode variar, afetando as propriedades físicas, e, em concentrações maiores, as partículas tendem a aglomerar-se devido à dispersão mais lenta, criando obstáculos no transporte e distribuição, tornando o processo menos eficiente à medida que a concentração aumenta (Dhingra *et al.* 2022). Além disso, a interação das nanopartículas com diferentes espécies de plantas varia, acrescentando complexidade ao processo, envolvendo três componentes interligados: nanomaterial, meio de crescimento e a planta (Zaytseva e Neumann, 2016).

A água é essencial para a embebição das sementes e para a mobilização de reservas que levam à germinação, entretanto, estresses abióticos, como a seca e a salinidade, causam estresse osmótico que limita a absorção de água. Na presente pesquisa, o priming de sementes melhorou a porcentagem de germinação tanto em condições de estresse salino e para restrição hídrica, no entanto, não houve diferença entre as diferentes concentrações de SiO₂-NPs.

O estresse salino e a restrição hídrica diminuem a germinação das sementes como resultado da absorção limitada de água, desaceleração da quebra do material de reserva das sementes e inibição a produção de proteínas de reserva (El-Serafy *et al.* 2021). O priming de sementes tem o potencial de reparar os danos nas membranas celulares induzidos por estresses abióticos, promovendo a germinação por meio de modificações bioquímicas essenciais.

Sementes de arroz (*Oryza sativa*) submetidas ao hidropriming apresentaram porcentagem de germinação e índice de germinação mais altos, além de tempo médio de germinação menor, em comparação com as sementes não condicionadas sob condições de estresse hídrico (Kalhori *et al.* 2018). Akter *et al.* (2018) propuseram que o hidropriming é a técnica mais eficaz para a redução do estresse salino no milho, melhorando a germinação, além de proporcionar desempenho superior em diversos atributos das plântulas, como comprimento da plântula e comprimento da raiz.

O priming em sementes de trigo (*Triticum aestivum* L.) com 15 mg L⁻¹ de SiO₂- NPs aumentou a tolerância ao estresse hídrico, conforme indicado por parâmetros fotossintéticos melhorados, equilíbrio bioquímico mantido e produção amplificada de biomassa em plântulas de trigo em comparação com sementes não condicionadas (Rai-kalal *et al.* 2021). Da mesma forma, sementes de pimenta (*Capsicum annuum* L.) tratadas com 300 mg L⁻¹ de

SiO₂-NPs apresentaram melhora significativa na germinação sob estresse salino, com aumento na taxa de germinação, índice de germinação e comprimento da raiz primária, em comparação com sementes não tratadas (Li *et al.* 2024).

O principal objetivo do priming de sementes é maximizar a taxa de emergência, no entanto, o crescimento pós-emergência também é beneficiado. As plântulas provenientes de sementes condicionadas apresentam maior velocidade de crescimento em comparação às sementes não condicionadas, resultando em maior altura das plântulas (Adhikari *et al.* 2021). No presente trabalho, sementes condicionadas apresentaram maior índice de velocidade de emergência e maior comprimento de parte aérea e raiz de plântulas.

Esse efeito benéfico do priming pode ser explicado pelo melhor desenvolvimento do sistema radicular, que aumenta a capacidade de absorção de nutrientes e água, favorecendo maior taxa de crescimento relativa e regulação mais eficiente do estado hídrico (Ahmed *et al.* 2016; Muhammad *et al.* 2015). Além disso, o condicionamento promove aumento na divisão celular no meristema apical das raízes, resultando em maior crescimento e desenvolvimento das plantas, e pode estar associado ao controle do ciclo celular e aos mecanismos de alongamento celular (Banerjee e Roychoudhury, 2019).

O priming com 900 ppm de nanopartículas de sílica em sementes de trigo (*Triticum turgidum* L.), resultou em maior altura da parte aérea, comprimento de raiz e plântula, peso da parte aérea e da raiz, percentual final de germinação, índice de taxa de germinação e índice de comprimento da parte aérea e raiz, além do menor período médio de germinação (Al-Tabbal *et al.* 2024). No entanto, neste estudos não houve diferença para velocidade de emergência e comprimento de parte aérea e raiz entre o priming feito somente com água e o feito com as diferentes concentrações de SiO₂-NPs.

Em ambientes de alta temperatura e alta umidade, uma série de reações fisiológicas e bioquímicas ocorrem nas sementes, como peroxidação lipídica da membrana, degradação de açúcares solúveis e proteínas, distúrbios de expressão genética relacionados e degradação de ácidos nucleicos são acelerados (Brar *et al.* 2019). O teste de envelhecimento acelerado simula os danos celulares que ocorrem durante o armazenamento prolongado, submetendo as sementes a condições extremas que resultam na perda de vigor e viabilidade, tornando-se uma ferramenta eficaz para avaliar as mudanças no vigor ao longo do armazenamento (Wu *et al.* 2019; Tian *et al.* 2008). Neste estudo, o priming das sementes resultou em efeitos desfavoráveis durante o envelhecimento acelerado, levando a menores taxas de germinação, independente da concentração de SiO₂-NPs.

Os efeitos benéficos do priming na germinação das sementes podem estar

associados a diminuição na longevidade e na capacidade de armazenamento, um efeito colateral atribuído ao aumento da permeabilidade do tegumento (Pirredda *et al.* 2024). A estrutura do tegumento da semente desempenha papel importante na longevidade, uma vez que serve como uma camada que protege o embrião de fatores ambientais (Renard *et al.* 2020). Sano *et al.* (2017), os pesquisadores sugerem que a perda de longevidade das sementes condicionadas é pelo aumento da permeabilidade do revestimento da semente. Resultados semelhantes foram encontrados em sementes de soja condicionadas, em que o priming prejudicou a germinação em sementes envelhecidas (De Jesus *et al.* 2023).

O priming é uma técnica controlada de hidratação que inicia processos metabólicos de pré-germinação nas sementes, como a absorção de água e a ativação de enzimas de reserva, como a amilase, sem provocar a germinação em si (Ali *et al.* 2021). O nanopriming, quando aplicado em concentrações adequadas, intensifica esses processos, aumentando a atividade de α -amilase, acelerando o metabolismo do amido e favorecendo a germinação das sementes (Mahakham *et al.* 2017). Os resultados obtidos neste estudo mostram variação na atividade da α -amilase, com aumento progressivo à medida que a concentração de SiO₂-NPs aumenta, alcançando o valor máximo em 600 mg L⁻¹.

Sementes de estévia preparadas com SiO₂ apresentaram maior atividade da α -amilase em comparação ao controle, essa maior atividade da enzima promove a manipulação do amido e o subsequente aumento nos níveis de sacarose nas raízes e na parte aérea das plântulas de estévia (Hasanaklou, 2023). O aumento observado nas atividades de α -amilase e desidrogenase provavelmente contribuiu para as melhorias na porcentagem e na taxa de germinação (Haider e Rehman, 2022). Biju *et al.* (2017) relataram que a adição de silício diminuiu a atividade da α -amilase em genótipos de lentilha tolerantes à seca sob estresse hídrico, indicando que o efeito do silício é dependente do genótipo.

Os resultados deste experimento indicam que a presença de SiO₂-NPs no priming de sementes de milho teve efeito positivo na fotossíntese e nos atributos fisiológicos das plântulas. Um estudo conduzido por Hussain *et al.* (2019) mostrou que o priming de sementes com nanopartículas de Si melhorou a fotossíntese e aumentou os conteúdos de clorofila em plantas de trigo cultivadas em solo estressado por cádmio. Na concentração de 1200 mg L⁻¹ de SiO₂-NPs, observou-se um aumento de 79% na taxa fotossintética, 84% na taxa de transpiração, 99% na condutância dos estômatos, 100% nos carotenoides, além de incrementos de 61% e 127% nos teores de clorofila a e clorofila b, respectivamente, em relação aos controles. Não houve diferenças nos parâmetros fotossintéticos, como a taxa fotossintética, condutância estomática e para transpiração entre as mudas de espinheiro (*Crataegus* sp.) tratadas e não tratadas com SiO₂-NPs (Ashkavand *et al.* 2015)

A presença de silício reduziu tanto Φ_{NPQ} quanto Φ_{NO} em plantas de cevada (*Hordeum vulgare* L.) submetidas ao estresse salino (Falouti *et al.* 2002). De acordo com Zhou *et al.* (2019), Φ_{II} , Φ_{NPQ} e Φ_{NO} estão em competição, de modo que um aumento em um parâmetro resulta em diminuição nos outros dois e sob condições ambientais específicas, a regulação bem-sucedida tende a maximizar os valores de Φ_{II} .

As nanopartículas têm sido cada vez mais aplicadas no setor agrícola por causa dos benefícios, especialmente no aprimoramento da germinação de sementes, etapa crítica para a produtividade das culturas. Este estudo explorou os efeitos do priming com SiO₂-NPs em sementes de milho, demonstrando que a porcentagem de germinação foi significativamente maior quando as sementes foram tratadas com concentrações de 200 e 400 mg L⁻¹ de SiO₂-NPs em comparação ao controle.

4.5 Conclusões

O priming de sementes com nanopartículas de silício demonstrou efeitos positivos sobre a germinação, vigor e crescimento inicial das plântulas de milho. Embora o priming tenha apresentado benefícios para a germinação e crescimento inicial das plântulas, os efeitos sobre a longevidade das sementes foram negativos, possivelmente devido ao aumento da permeabilidade do tegumento. Além disso, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos em parâmetros de crescimento pós-emergência, como comprimento de parte aérea e raiz, quando comparados ao priming com água. Na concentração 600 mg L⁻¹ ocorreram aumentos na atividade da enzima α -amilase e conversão de energia fotoquímica em PSII (Φ_{II}).

4.6 Referências Bibliográficas

- Adhikari B, Dhital PR, Ranabhat S, Poudel H. 2021. Effect of seed hydro-priming durations on germination and seedling growth of bitter melon (*Momordica charantia*). *PLOS ONE*, 16(8): e0255258. DOI: 10.1371/journal.pone.0255258
- Afzal I, Javed T, Amirkhani M, Taylor AG. 2020. Modern Seed Technology: Seed Coating Delivery Systems for Enhancing Seed and Crop Performance. *Agriculture*, 10:526. DOI: 10.3390/agriculture10110526
- Ahmad B, Khan MMA, Jaleel H, Shabbir A, Sadiq Y, Uddin M. 2020. Silicon Nanoparticles Mediated Increase in Glandular Trichomes and Regulation of Photosynthetic and Quality Attributes in *Mentha piperita* L. *J. Plant Growth Regul.*, 39:346–357. DOI: 10.1007/s00344-019-09986-x
- Ahmed M, Qadeer U, Ahmed ZI, Hassan Ful. 2015. Improvement of wheat (*Triticum aestivum*) drought tolerance by seed priming with silicon. *Archives of Agronomy and Soil*

Science, 62(3):299–315. DOI: 10.1080/03650340.2015.1048235

Akter L, Fakir OA, Alam MK, Islam MU, Chakraborti P, Alam MJ, Rashid MH, Begum M, Kader MA. 2018. Amelioration of salinity stress in maize seed germination and seedling growth attributes through seed priming. *Open J Soil Sci*, 8:137–146.

Ali LG, Nulit R, Ibrahim MH, Yien CYS. 2021. Efficacy of KNO₃, SiO₂ and SA priming for improving emergence, seedling growth and antioxidant enzymes of rice (*Oryza sativa*), under drought. *Sci Rep*, 11:3864. DOI: 10.1038/s41598-021-83434-3

Al-Tabbal J, Al-Harashsheh M, Al-Zou'by J, Al-Zboon Z, Al-Rawashda KA. 2024. Silica Nanoparticle: Eco-friendly Waste Having Potential for Seed Germination of Wheat (*Triticum turgidum* L. Var. Sham) Under Salt Stress Conditions. *Waste Biomass Valor*, 15:2973–2987. DOI: 10.1007/s12649-023-02338-7

Ashkavand P, Tabari M, Zarafshar M, Tomášková I, Struve D. 2015. Effect of SiO₂ nanoparticles on drought resistance in hawthorn seedlings. *For. Res. Pap.*, 76(4):350–359. DOI: 10.1515/frp-2015-0034

Banerjee A, Roychoudhury A. 2019. Abiotic Stress Tolerance in Plants by Priming and Pretreatment with Hydrogen Peroxide. In: Hasanuzzaman M, Fotopoulos V (eds) Priming and Pretreatment of Seeds and Seedlings. *Springer*, Singapore. DOI: 10.1007/978-981-13-8625-1_20

Beckers GJ, Conrath U. 2007. Priming for stress resistance: From the lab to the field. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 10:425–431.

Behboudi F, Tahmasebi Sarvestani Z, Kassae MZ, Modares Sanavi SAM, Sorooshzadeh A. 2017. Phytotoxicity of Chitosan and SiO₂ Nanoparticles to Seed Germination of Wheat (*Triticum aestivum* L.) and Barley (*Hordeum vulgare* L.) Plants. *Notulae Scientia Biologicae*, 9(2):242–249. DOI: 10.15835/nsb9210075

Bernfeld P. 1955. *Amylases, α and β* . In: Colowick SP, Kaplan NO (eds) *Methods in Enzymology*, Vol. 1, pp. 149-158. Academic Press.

Biju S, Fuentes S, Gupta D. 2017. Silicon improves seed germination and alleviates drought stress in lentil crops by regulating osmolytes, hydrolytic enzymes and antioxidant defense system. *Plant Physiol. Biochem.*, DOI: 10.1016/j.plaphy.2017.09.001

Bilger W, Bock M, Schreiber U. 1995. Measurement of the chlorophyll fluorescence quenching sites in leaves of higher plants. *Photosynth. Res.*, 46(1):29–38.

Brar NS, Kaushik P, Dudi BS. 2019. Assessment of natural ageing related physio-biochemical changes in onion seed. *Agriculture*, 9:163. DOI: 10.3390/agriculture9080163

Brasil. 2009. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, 01:399.

Coimbra RA, Martins CC, Tomaz CA, Nakagawa J. 2009. Testes de vigor utilizados na avaliação da qualidade fisiológica de lotes de sementes de milho-doce (sh2). *Ciência Rural*, 39:9. DOI: 10.1590/S0103-84782009000900004

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. 2023. Boletim da Safra de Grãos. Brasília

- DF, 111 p. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/infoagro/safras/graos/boletim-da>

Coskun D, Deshmukh R, Sonah H, Menzies JG, Reynolds O, Ma JF, Kronzucker HJ, Bélanger RR. 2019. In Defence of the Selective Transport and Role of Silicon in Plants: A Response to Exley & Guerriero (2019) ‘A Reappraisal of Biological Silicification in Plants?’ *New Phytol.*, 223:514–516. DOI: 10.1111/nph.15885

De Jesus TF, Rodrigues AA, Santos LS, Silva AA, Costa A, Sales JF. 2023. Physiological performance of brassinolide-conditioned green soybean seeds. *South Afr. J. Bot.*, 165:237–245. DOI: 10.1016/j.sajb.2023.12.024

Dhingra P, Sharma S, Singh KH, Kushwaha HS, Kachhwaha S, Brarupal JK, Haq S, Hothari SL, Kachawaha S. 2022. Seed priming with carbon nanotubes and silicon dioxide nanoparticles influence agronomic traits of Indian mustard (*Brassica juncea*) in field experiments. *J King Saud Univ Sci*, 34(4):102067 DOI: 10.1016/j.jksus.2022.102067.

El-Serafy RS, El-Sheshtawy A-NA, Atteya AKG, Al-Hashimi A, Abbasi AM, Al-Ashkar I. 2021. Seed priming with silicon as a potential to increase salt stress tolerance in *Lathyrus odoratus*. *Plants*, 10:2140. DOI: 10.3390/plants10102140

Falouti M, Ellouzi H, Bounaouara F, Farhat N, Aggag AM, Debez A, Rabhi M, Abdell C, Slama I, Zorrig W. 2022. Higher activity of PSI compared to PSII accounts for the beneficial effect of silicon on barley (*Hordeum vulgare* L.) plants challenged with salinity. *Photosynthetica*, 60(4):508–520. DOI: 10.32615/ps.2022.031

Genty B, Briantais JM, Baker NR. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects*, 990:87–92. DOI: 10.1016/S0304-4165(89)80016-9

Gong H, Chen K. 2012. The regulatory role of silicon on water relations, photosynthetic gas exchange, and carboxylation activities of wheat leaves in field drought conditions. *Acta Physiologiae Plantarum*, 34:1589–1594.

Haider BI, Rehman HU. 2022. The impact of different seed priming agents and priming durations on stand establishment and biochemical attributes of *Stevia rebaudiana*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(4):2210–2218. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.11.040>

Hasanaklou NT, Mohagheghi V, Hasanaklou H, Ma’mani L, Malekmohammadi M, Moradi F, Dalvand Y. 2023. Seed nano-priming using silica nanoparticles: effects in seed germination and physiological properties of *Stevia Rebaudiana* Bertoni. *Chem. Biol. Technol. Agric.*, 10:96. DOI: 10.1186/s40538-023-00445-0

Hatami M, Khanizadeh P, Bovand F, Aghae A. 2021. Silicon nanoparticle-mediated seed priming and *Pseudomonas* spp. inoculation augment growth, physiology and antioxidant metabolic status in *Melissa officinalis* L. *Plants. Ind. Crops Prod.*, 162:113238. DOI: 10.1016/j.indcrop.2021.113238

Hendrickson L, Förster B, Furbank RT, Chow WS. 2004. Processes contributing to photoprotection of grapevine leaves illuminated at low temperature. *Physiologia Plantarum*, 121(2):272–281. DOI: 10.1111/j.0031-9317.2004.0324.x

- Hussain A, Rizwan M, Ali Q, Ali S. 2019. Seed priming with silicon nanoparticles improved the biomass and yield while reduced the oxidative stress and cadmium concentration in wheat grains. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 26:7579–7588. DOI: 10.1007/s11356-019-04210-5
- Iavicoli I, Leso V, Beezhold D, Shvedova AA. 2017. Nanotechnology in agriculture: Opportunities, toxicological implications, and occupational risks. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 329:96–111. DOI: 10.1016/j.taap.2017.05.025
- Ibrahim EA. 2016. Seed priming to alleviate salinity stress in germinating seeds. *J. Plant Physiol.*, 192:38–46. DOI: 10.1016/j.jplph.2015.12.011
- Kah M, Kookana RS, Gogos A, Bucheli TD. 2018. A critical evaluation of nanopesticides and nanofertilizers against their conventional analogues. *Nat. Nanotechnol.*, 13:677–684. DOI: 10.1038/s41565-018-0131-1
- Kalhari N, Nulit R, Azizi P, Abiri R, Atabki N. 2018. Hydro priming stimulates seedling growth and establishment of Malaysian Indica rice (MR219) under drought stress. *Acta Scientific Agriculture*. 2:9-16.
- Khalequzzaman U, Ullah H, Himanshu SK, Noor-E-Tajkia I, Tisarum R, Cha-um S, Datta A. 2023. Seed priming improves germination, yield, and water productivity of cotton under drought stress. *J Soil Sci Plant Nutr*, 23:2418–2432. DOI: 10.1007/s42729-023-01196-5
- Laisk A, Loreto F. 1996. Determining photosynthetic parameters from leaf CO₂ exchange and chlorophyll fluorescence. *Plant Physiology*, 110:903–912. DOI: 10.1104/pp.110.3.903
- Li Y, Zan T, Li K, Hu H, Yang T, Yin J, Zhu Y. 2024. Silica nanoparticles promote the germination of salt-stressed pepper seeds and improve growth and yield of field pepper. *Scientia Horticulturae*, 337:113570 DOI: 10.1016/j.scienta.2024.113570.
- Lu MM, De Silva DM, Peralta E, Fajardo A, Peralta M. 2015. Effects of nanosilica powder from rice hull ash on seed germination of tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Philipp. e-J. Appl. Res. Dev. (PeJARD)*, 5:11–22.
- Luyckx M, Hausman J-F, Lutts S, Guerriero G. 2017. Silicon and plants: Current knowledge and technological perspectives. *Front. Plant Sci.*, 8:411. DOI: 10.3389/fpls.2017.00411
- Maguire JD. 1962. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, 2:176–177. DOI: 10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x
- Mahakham W, Sarmah AK, Maensiri S, Theerakulpisut P. 2017. Nanoprimer technology for enhancing germination and starch metabolism of aged rice seeds using phytosynthesized silver nanoparticles. *Sci Rep*, 7:8263. DOI: 10.1038/s41598-017-08669-5
- Marcos Filho J. 1994. Teste de envelhecimento acelerado. In: Vieira RD, Carvalho NM, eds. *Testes de vigor em sementes*, pp. 133–150. Jaboticabal: FUNEP.
- Mittal D, Kaur G, Singh P, Yadav K, Ali SA. 2020. Nanoparticle-based sustainable agriculture and food science: recent advances and future outlook. *Front. Nanotechnol.*, 2:579954. DOI: 10.3389/fnano.2020.579954
- Muhammad I, Kolla M, Volker R, Günter N. 2015. Impact of nutrient seed priming on

germination, seedling development, nutritional status and grain yield of maize. *J Plant Nutr*, 38(12):1803–1821. DOI: 10.1080/01904167.2014.990094

Mukarram M, Khan MMA, Corpas FJ. 2021. Silicon nanoparticles elicit an increase in lemongrass (*Cymbopogon flexuosus* (Steud.) Wats) agronomic parameters with a higher essential oil yield. *J. Hazard. Mater.*, 412:125254. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2021.125254

Mukarram M, Petrik P, Mushtaq Z, Khan MMA, Gulfishan M, Lux A. 2022. Silicon nanoparticles in higher plants: Uptake, action, stress tolerance, and crosstalk with phytohormones, antioxidants, and other signaling molecules. *Environ. Pollut.*, 310:119855. DOI: 10.1016/j.envpol.2022.119855

Naguib DM, Abdalla H. 2019. Metabolic status during germination of nano silica primed *Zea mays* seeds under salinity stress. *J Crop Sci Biotechnol*, 22:415–423 DOI: 10.1007/s12892-019-0168-0.

Nakagawa J. 1994. Testes de vigor baseados na avaliação das plântulas. In: Vieira RD, Carvalho NM, eds. Teste de vigor em sementes. Jaboticabal: Funep, 49-86.

Narejo GA, Mirbahar AA, Yasin S, Sirohi MH, Saeed R. 2022. Effect of hydro and KNO₃ priming on seed germination of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) under gnotobiotic conditions. *J Plant Growth Regul*. DOI: 10.1007/s00344-022-10644-y.

Oxborough K, Baker NR. 1997. Resolving chlorophyll a fluorescence images of photosynthetic efficiency into photochemical and nonphotochemical components—calculation of qP and Fv/Fm-; without measuring Fo. *Photosynth Res*, 54:135–142 DOI: 10.1023/A:1005936823310.

Pirredda M, Fañanás-Pueyo I, Oñate-Sánchez L, Mira S. 2024. Seed longevity and ageing: A review on physiological and genetic factors with an emphasis on hormonal regulation. *Plants*, 13:41 DOI: 10.3390/plants13010041.

Renard J, Niñoles R, Martínez-Almonacid I, Gayubas B, Mateos-Fernández R, Bissoli G, Bueso E, Serrano R, Gadea J. 2020. Identification of novel seed longevity genes related to oxidative stress and seed coat by genome-wide association studies and reverse genetics. *Plant Cell Environ*, 43(10):2523–2539 DOI: 10.1111/pce.13822.

Sano N, Kim JS, Onda Y, Nomura T, Mochida K, Okamoto M, Seo M. 2017. RNA-Seq using bulked recombinant inbred line populations uncovers the importance of brassinosteroid for seed longevity after priming treatments. *Sci Rep*, 7:8095 DOI: 10.1038/s41598-017-08116-5.

Silva DD, Cota LV, Costa RV. 2021. Doenças. In: Cruz JC, ed. Cultivo do Milho, 8ª ed. Embrapa Milho e Sorgo: Sete Lagoas-MG.

Subbenaik SC. 2016. Physical and chemical nature of nanoparticles. In: Kole C, Kumar S, Khodakovskaya MV, eds. Plant Nanotechnology. Springer International Publishing: Switzerland, 15–28 DOI: 10.1007/978-3-319-42154-4_2.

Suriyaprabha R, Karunakaran G, Yuvakkumar R, Prabu P, Rajendran V, Kannan N. 2012. Growth and physiological responses of maize (*Zea mays* L.) to porous silica nanoparticles in soil. *J Nanopart Res*, 14:1294 DOI: 10.1007/s11051-012-1294-6.

Szabó O, Písarčík M, Hrevušová Z, Hakl J. 2023. Seed treatment potential for the

improvement of lucerne seed performance and early field growth. *Agronomy*, 13:2207 DOI: 10.3390/agronomy13092207.

Tárrago JF, Nicolás G. 1976. Starch degradation in the cotyledons of germinating lentils. *Plant Physiol*, 58(5):618–621.

Tian X, Song S, Lei Y. 2008. Cell death and reactive oxygen species metabolism during accelerated ageing of soybean axes. *Russ J Plant Physiol*, 55:33–40 DOI: 10.1134/S1021443708010032.

Tripathi DK, Singh S, Singh VP, Prasad SM, Dubey NK, Chauhan DK. 2017. Silicon nanoparticles more effectively alleviated UV-B stress than silicon in wheat (*Triticum aestivum*) seedlings. *Plant Physiol Biochem*, 110:70–81 DOI: 10.1016/j.plaphy.2016.06.026.

Vishwakarma K, Shweta, Upadhyay N, Singh J, Liu S, Singh VP, Prasad SM, Chauhan DK, Tripathi DK, Sharma S. 2017. Differential phytotoxic impact of plant-mediated silver nanoparticles (AgNPs) and silver nitrate (AgNO₃) on Brassica sp. *Front Plant Sci*, 8:1501 DOI: 10.3389/fpls.2017.01501.

Wu X, Ning F, Hu X, Wang W. 2017. Genetic modification for improving seed vigor is transitioning from model plants to crop plants. *Front Plant Sci*, 8:8 DOI: 10.3389/fpls.2017.00008.

Yang J, Cao W, Rui Y. 2017. Interactions between nanoparticles and plants: phytotoxicity and defense mechanisms. *J Plant Interact*, 12(1):158–169 DOI: 10.1080/17429145.2017.1310944.

Zaytseva O, Neumann G. 2016. Carbon nanomaterials: production, impact on plant development, agricultural and environmental applications. *Chem Biol Technol Agric*, 3:17 DOI: 10.1186/s40538-016-0070-8.

Zhou R, Kan X, Chen J, Hua H, Li Y, Ren J, Feng K, Liu H, Deng D, Yin Z. 2019. Drought-induced changes in photosynthetic electron transport in maize probed by prompt fluorescence, delayed fluorescence, P700 and cyclic electron flow signals. *Environ Exp Bot*, 158:51–62

5. CONCLUSÃO GERAL

O priming de sementes de milho com diferentes agentes, como nanopartículas de dióxido de silício (SiO_2 -NPs) e brassinolide, demonstrou ser uma técnica eficaz para aprimorar a qualidade fisiológica e o desempenho inicial das plântulas. Os estudos evidenciaram resultados significativos, com incrementos na germinação, vigor e índices de crescimento, especialmente em condições adversas, como frio, restrição hídrica e estresse salino. Além disso, o priming contribuiu para o aumento da eficiência fotossintética, melhor desempenho em trocas gasosas e maior atividade da enzima α -amilase, fatores que favorecem o estabelecimento inicial das plantas especialmente em condições de estresse. Esses resultados reforçam a viabilidade do condicionamento de sementes como uma estratégia sustentável para potencializar a produtividade e a adaptabilidade da cultura do milho.