

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**AUXINAS DEPENDEM DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO  
NAS RESPOSTAS DAS RAÍZES DE TOMATEIRO À  
DEFICIÊNCIA DE NITROGÊNIO**

**José Clebson Barbosa Lúcio  
Engenheiro Agrônomo**

**2019**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**AUXINAS DEPENDEM DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO  
NAS RESPOSTAS DAS RAÍZES DE TOMATEIRO À  
DEFICIÊNCIA DE NITROGÊNIO**

**José Clebson Barbosa Lúcio**

**Orientador: Prof. Dr. Rogério Falleiros Carvalho**

**Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, *Câmpus* de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia (Produção Vegetal).**

**2019**

L938a      Lúcio, José Clebson Barbosa  
Auxinas dependem de peróxido de hidrogênio nas respostas das raízes de tomateiro à deficiência de nitrogênio / José Clebson Barbosa Lúcio. -- Jaboticabal, 2020  
41 p. : tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Rogério Falleiros Carvalho

1. Deficiência de  $\text{NO}_3^-$ . 2. Modulação hormonal. 3. Sinalização de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . 4. Sistema radicular. 5. *Solanum lycopersicum* (L).

I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

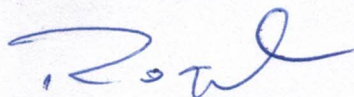
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: AUXINAS DEPENDEM DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO NAS RESPOSTAS DAS RAÍZES DE TOMATEIRO À DEFICIÊNCIA DE NITROGÊNIO

**AUTOR: JOSÉ CLEBSON BARBOSA LÚCIO**

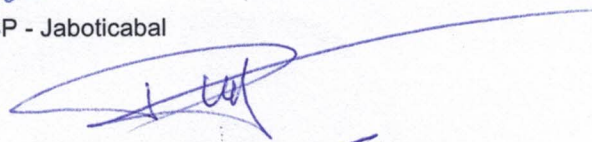
**ORIENTADOR: ROGÉRIO FALLEIROS CARVALHO**

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL), pela Comissão Examinadora:

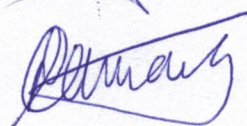
Prof. Dr. ROGÉRIO FALLEIROS CARVALHO  
Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Prof. Dr. RENATO DE MELLO PRADO  
Departamento de Solos e Adubos / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Profa. Dra. LILIANE SANTOS DE CAMARGOS  
Departamento de Biologia e Zootecnia / UNESP/ Câmpus de Ilha Solteira



Jaboticabal, 03 de dezembro de 2019

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

JOSÉ CLEBSON BARBOSA LÚCIO, filho de Josefa Barbosa Lúcio e Cicero Lúcio do Nascimento, Nordestino, natural da cidade de Arapiraca/AL, nasceu em 26 de maio de 1986. Foi alfabetizado na Escola Municipal Professora Francisca Petrina de Macêdo no Sítio Poção. cursou o Ensino fundamental na Escola Estadual Costa Rêgo (2002) e o Ensino Médio na Escola Estadual Professora Izaura Antônia de Lisboa – Arapiraca/AL (2005), formou-se Engenheiro Agrônomo pela Universidade Federal de Alagoas – UFAL – *Campus* de Arapiraca/AL (2017). Durante a graduação esteve vinculado ao Centro de Referências em Recuperação de Áreas Degradadas do Rio São Francisco – CRAD Baixo São Francisco – UFAL, onde desenvolveu pesquisas como voluntário do Programa de Bolsas para iniciação científica (PIBIC) nos ciclos 2014 – 2015 e 2015 -2016, ambos os trabalhos lhes conferiram premiação de excelência acadêmica. Foi presidente do centro acadêmico e representante discente no colegiado do curso de agronomia (2012 – 2017). Em agosto de 2017 ingressou no Mestrado em Agronomia (Produção Vegetal) na Universidade Estadual Paulista – UNESP/FCAV – Jaboticabal/SP onde desenvolve pesquisa em Fisiologia Vegetal, voltada à compreensão da modulação e sinalização hormonal de plantas sob condições de estresse nutricional, sob a orientação do Professor Doutor Rogério Falleiros Carvalho.

“Não há ensino sem pesquisa e pesquisa sem ensino.”

Paulo Freire

Aos meus pais Cícero e Josefa,  
Minhas Irmãs Cleia, Claudia e Clebia,  
Meus amados sobrinhos Rayssa, Matheus, Gustavo, Miguel, Antenor e Gabriel  
pelo amor e apoio incondicional como família em todos os momentos de minha  
vida.

## **OFEREÇO**

### **Vó Odete Praxedes**

O alpendre da nossa casa era tal qual uma  
sala de aula, eu com dez anos,  
a senhora com 80.

Eu falava daquilo que lia nos livros,  
a senhora das experiências da vida.

Ah, o tempo!

Cleb, saiba esperar o Tempo!  
O Tempo de Deus é diferente do nosso!  
Era sempre com esta frase que você me fortalecia.

Pelo brilho dos teus olhos ao me ouvir falar dos sonhos  
ainda quando menino.

## **DEDICO**

## **AGRADECIMENTOS**

À força maior que impulsiona a vida e toda positividade que dela advém, por me motivar sempre a buscar evoluir de forma holística nos âmbitos pessoal, humano, social e profissional.

À sociedade brasileira, da qual poucos tem a oportunidade de acesso a patamares de ensino e qualificação profissional, que por meio dos impostos pagos por ela e das políticas públicas dos governos de outrora, tornaram possível a expansão do ensino público superior, a interiorização das Universidades Federais e o apoio ao desenvolvimento científico do país, por meio dos programas de mestrado e doutorado.

À FCAV/UNESP e ao programa de pós-graduação em Agronomia (Produção Vegetal) pela oportunidade de cursar o Mestrado e pela estrutura disponibilizada. A todos os docentes e funcionários que contribuíram com a minha formação.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa que possibilitou a realização deste trabalho.

Ao Professor Dr. Rogerio Falleiros Carvalho pela orientação e conhecimento compartilhado durante esse ciclo de grande importância para meu crescimento pessoal e profissional.

À Professora Priscila Lupino Gratão pela empatia e apoio em diversos momentos da realização deste trabalho e deste ciclo como um todo.

À minha querida “Soninha”, Sônia Maria Carregari, técnica do laboratório de fisiologia vegetal, que além de todo apoio nas análises laboratoriais foi sempre um amparo certo em momentos onde só o carinho de mãe resolve.

Aos amigos do Laboratório de Fisiologia Vegetal: Joel, Lucas, Reginaldo, Victor, Carol, Rafael, Mariana, Kevein, Mirela, Kolima, Cássia, Ricardo, Emilaine, Mayara, Letícia, Gilmar, Domingos, Constança, Jefferson, Clara, Noelle e Beatriz, pela amizade, convivência, ajuda e experiências compartilhadas.

Ao Aldo e a Marcia e por meio deles estendo os agradecimentos a todos que fazem parte do Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária pelo convívio e apoio durante este ciclo.



Aos Amigos Danilo, Juliana, Ariadne, Carol, Kevien, Cassia, Samira, Antônio, Gelza, Leonardo, Joel, Leandra e Laurinha que de alguma forma tornaram-se minha família em Jaboticabal.

Aos amigos do apartamento 14, bloco 1 do Santa Felicidade, Fernando, Kássia, Marcilene e em especial ao Kleve Canteral pelo apoio, cuidado e carinho.

Aos amigos de Alagoas, Cleice, Julliana, Cinara, Jânio, Sirleide, Dayane, Fran, Rodolfo, Felipe, Roberta, Professor José Vieira e Professor Cicero Gomes que estiveram sempre presentes independente da distância geográfica.

À minha família, que mesmo diante das dificuldades não medem esforços para que eu possa alcançar os meus objetivos. Amo vocês!

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram no decurso de minha formação.

**Os meus sinceros agradecimentos!**

## SUMÁRIO

Página

RESUMO.....	x
ABSTRACT .....	xi
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	3
2.1. Sistema Radicular.....	3
2.2. Interação entre nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) e auxinas para o crescimento e desenvolvimento do sistema radicular.....	4
2.3. A ação do peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) nas vias de sinalização do crescimento e desenvolvimento do sistema radicular.....	6
2.4. Inibidores do transporte de auxinas.....	7
2.5. O tomateiro (Micro-Tom) como modelo para estudos fisiológicos.....	9
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	10
3.1. Material vegetal e ambiente de cultivo .....	10
3.2. Experimentos para determinar as concentrações de $\text{NO}_3^-$ para cultivo hidropônico de tomateiro sob suficiência e deficiência de N.....	12
3.3. Experimento para determinar a concentração ideal do Ácido 2,3,5-triiodo-benzóico (TIBA) a ser adicionado à solução nutritiva para inibir o transporte de auxina nas plantas de Tomateiro.....	13
3.4. Experimento para verificar a ação do $\text{H}_2\text{O}_2$ na sinalização e modulação do crescimento de raízes do tomateiro sob suficiência e deficiência de $\text{NO}_3^-$ .....	13
3.5. Análises experimentais .....	15
3.5.1. Análises de crescimento .....	15
3.5.2. Análises bioquímicas .....	15
3.5.2.1. Peroxidação lipídica.....	15
3.5.2.2. Conteúdo de $\text{H}_2\text{O}_2$ .....	16
4. RESULTADOS .....	16
4.1. Concentrações de $\text{NO}_3^-$ para cultivo hidropônico de tomateiro sob suficiência e deficiência de $\text{NO}_3^-$ .....	16
4.1.1. Concentração suficiente de $\text{NO}_3^-$ (0 – 20 $\text{mmol L}^{-1}$ ).....	16
4.1.2. Concentração deficiente de $\text{NO}_3^-$ (0 – 1,0 $\text{mmol L}^{-1}$ ) .....	18

4.2. Concentração ideal do Ácido 2,3,5-triiodo-benzóico (TIBA) para inibir o transporte de auxina em plantas de tomateiro cultivadas em hidroponia sob deficiência de $\text{NO}_3^-$ .....	19
4.3. Ação do $\text{H}_2\text{O}_2$ na sinalização e modulação do crescimento de raízes do tomateiro sob suficiência e deficiência de $\text{NO}_3^-$ .....	20
4.3.1. Análises de crescimento da parte aérea das plantas .....	20
4.3.2. Análises de crescimento do sistema radicular .....	22
4.3.3. Conteúdo de $\text{H}_2\text{O}_2$ e Peroxidação lipídica do sistema radicular .....	24
5. DISCUSSÃO .....	25
5.1. Modulação do N sobre o crescimento da parte aérea e das raízes do tomateiro .....	25
5.2. Interação entre N e auxinas no crescimento de raízes de tomateiro .....	26
5.3. Interação entre N e $\text{H}_2\text{O}_2$ no crescimento das raízes do tomateiro .....	27
6. CONCLUSÕES .....	28
7. REFERÊNCIAS .....	28
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	41

## AUXINAS DEPENDEM DE PERÓXIDO DE HIDROGENIO NAS RESPOSTAS DAS RAÍZES DE TOMATEIRO À DEFICIÊNCIA DE NITROGÊNIO

**RESUMO** - O nitrogênio (N), elemento essencial ao crescimento e desenvolvimento vegetal, é absorvido principalmente como nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ). Esse elemento pode controlar a arquitetura de raízes e dessa forma favorecer a absorção de nutrientes pelas plantas. Para isso, tem sido mostrado que esses eventos estão relacionados ao controle hormonal, especialmente as auxinas, pois esse hormônio controla o crescimento das raízes de modo dependente de  $\text{NO}_3^-$ . Entretanto, esses mecanismos são complexos, pois dependem de várias moléculas, especialmente peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), o qual parece atuar nas sinalizações das auxinas em situações estressoras nas plantas, a exemplo da deficiência de N. Entretanto, a forma como auxinas e  $\text{H}_2\text{O}_2$  interagem nas raízes sob deficiência de N foi pouco explorado. Assim, objetivou-se verificar se as auxinas dependem de  $\text{H}_2\text{O}_2$  nas respostas das raízes de tomateiro à deficiência de  $\text{NO}_3^-$ . Para isso, plantas de da cultivar Micro-Tom de tomateiro foram cultivadas em hidroponia sob suficiência e deficiência de  $\text{NO}_3^-$ , ambas com presença e ou ausência de inibidor de transporte de auxinas, o (ácido 2,3,5-triiodo-benzóico- TIBA) e inibidor do acúmulo de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Catalase). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, disposto em fatorial 2x4, com três repetições. Foi analisado comprimento e biomassa seca da parte aérea e biomassa seca, comprimento, área e volume das raízes. Além disso, foi quantificado conteúdo de MDA e  $\text{H}_2\text{O}_2$ . A deficiência de  $\text{NO}_3^-$  diminuiu o crescimento da parte aérea, porém promoveu maior crescimento de raízes. O uso de TIBA inibiu o crescimento das raízes em ambas as condições de  $\text{NO}_3^-$ , e a presença de catalase na deficiência de  $\text{NO}_3^-$  resultou em menor crescimento de raiz. Esses resultados evidenciam que as auxinas dependem de  $\text{H}_2\text{O}_2$  para respostas das raízes de tomateiro à deficiência de N.

**Palavras-chave:** deficiência de  $\text{NO}_3^-$ , modulação hormonal, sinalização de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , sistema radicular, *Solanum lycopersicum* (L)

## AUXINS DEPEND ON HYDROGEN PEROXIDE IN THE RESPONSE OF TOMATO ROOTS TO NITROGEN DEFICIENCY

**ABSTRACT** - Nitrogen (N) is essential for plant growth and development, and is mainly absorbed as nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ). It also controls root architecture, improving plant nutritional status. These characteristics are related to hormonal control, especially by auxins. Auxins control root growth via  $\text{NO}_3^-$ -dependent cell expansion, but these mechanisms are complex and depend on several molecules. Hydrogen peroxide ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) appears to act on these auxins signalling in plant stress situations. However, how auxins and  $\text{H}_2\text{O}_2$  interact in roots under N deficiency has not been well explored. Therefore, this study aimed to verify if auxins depend on  $\text{H}_2\text{O}_2$  for responses of tomato roots to N deficiency. Micro-Tom plants were grown in hydroponic systems under sufficiency and deficiency of  $\text{NO}_3^-$ , both with and without auxin transport inhibitor, 2,3,5-triiodo-benzoic acid (TIBA), and the inhibitor of  $\text{H}_2\text{O}_2$  accumulation (Catalase) in plants. The experiment was carried out in a completely randomized design in a factorial scheme ( $2 \times 4$ ) with three replications. Shoot length and dry biomass, as well as root dry biomass, length, area and volume were analysed. In addition, MDA and  $\text{H}_2\text{O}_2$  content were also quantified.  $\text{NO}_3^-$  deficiency reduced shoot growth and, interestingly, promoted higher root growth. Furthermore, TIBA inhibited root growth under both  $\text{NO}_3^-$  conditions and the presence of catalase in  $\text{NO}_3^-$  deficiency resulted in lower root growth. These results show that auxins depend on  $\text{H}_2\text{O}_2$  for tomato root responses to N deficiency.

**Keywords:**  $\text{NO}_3^-$  deficiency, hormonal modulation,  $\text{H}_2\text{O}_2$  signaling, root system, *Solanum lycopersicum* (L)

## 1. INTRODUÇÃO

O nitrogênio (N) é indispensável para as plantas, pois auxilia na constituição celular, compõe proteínas, aminoácidos, ácidos nucleicos, fitohormônios e outras moléculas, desta forma sua deficiência pode causar severa inibição do crescimento vegetal (Fageria, 2001; Xu et al., 2012; Castro Rodríguez et al., 2017). O nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) é a principal fonte de N absorvida da solução do solo pelas plantas (Hirel et al., 2007), e move-se dentro delas através de transportadores proteicos específicos atuando ativamente no controle da arquitetura do sistema radicular, principalmente no desenvolvimento de raízes laterais (Krouk et al., 2010; Sun, 2017), favorecendo a absorção de nutrientes e de água ao longo do desenvolvimento da planta (Rubio et al., 2009; Gojon et al., 2011; Krouk et al., 2011).

O primeiro transportador de  $\text{NO}_3^-$  identificado em plantas superiores foi a proteína NPF6.3/NRT1.1 (Tsay et al., 1993), o mesmo atua como transportador de baixa afinidade sob condições suficientes e de alta afinidade sob condições insuficientes de  $\text{NO}_3^-$  (Liu e Tsay, 2003; Tsay et al., 2007; Sun e Zheng, 2015). Curiosamente, mutantes de *Arabidopsis* deficientes para NPF6.3/NRT1.1 apresentam reduzida absorção de  $\text{NO}_3^-$  (Munõs et al., 2004; Ho et al., 2009; Ye et al., 2019), bem como não induz o crescimento das raízes laterais em condições de alta disponibilidade dessa molécula (Ivanchenko et al., 2013). Dessa forma, tem sido atribuído ao NPF6.3 um papel importante nas alterações morfoanatômicas da raiz na presença de  $\text{NO}_3^-$ .

O importante papel atribuído ao  $\text{NO}_3^-$  na morfoanatomia do sistema radicular está fortemente relacionado à sua ação parcial no controle da biossíntese, conjugação, transporte e sinalização hormonal, em especial as auxinas (Guan, 2017). Esse hormônio controla efetivamente o crescimento das raízes por meio do controle da expansão celular (Sozzani e Iyer-Pascuzzi, 2014). Durante a expansão, as auxinas migram da porção aérea para o ápice radicular (transporte acrópeto) e são redistribuídas do ápice para base da raiz (transporte basipeto), induzindo o crescimento das raízes laterais (Krouk et al., 2010).

Portanto, tem sido evidenciado que a interação entre auxinas e  $\text{NO}_3^-$  nas raízes se dá pelo processo de transporte de  $\text{NO}_3^-$  nas plantas. No entanto, isso

de tenderá da concentração de  $\text{NO}_3^-$ , podendo ser inibido pelo mesmo (Krouk et al., 2010; Mounier et al., 2014). Vários trabalhos relatam mudanças no acúmulo de auxinas e alteração no crescimento da raiz em função da disponibilidade de  $\text{NO}_3^-$  em diferentes espécies, tais como soja (*Glycine max (L.) Merrill*) (Caba et al., 2000), abacaxi (*Ananas comosus (L.) Merrill*) (Tamaki & Mercier, 2007), milho (*Zea mays L.*) (Liu et al., 2010) e Arabidopsis (*Arabidopsis thaliana L.*) (Krouk et al., 2010). Em cada caso, as auxinas são translocadas da parte aérea para a raiz da planta em resposta a um decréscimo no fornecimento de  $\text{NO}_3^-$ .

Embora as auxinas tenham um efetivo e bem explorado controle sobre a arquitetura radicular de modo dependente do  $\text{NO}_3^-$ , os mecanismos envolvidos nesse evento são bastante complexos, e tem sido evidenciado que, além de outros fitormônios, (Aloni, 2013; Jung e McCouch, 2013; Fusconi et al., 2014) uma série de moléculas parecem ser parte importante dessa resposta (Fernández-Marcos et al., 2011; Kapulnik et al., 2011; Mendes et al., 2011), em especial o  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Dunand et al., 2007; Ivanchenko et al., 2013). O  $\text{H}_2\text{O}_2$  desempenha dupla função nas células: durante o estresse oxidativo, como uma forte espécie reativa de oxigênio, causando danos ou até mesmo a morte celular, (Veal e Day, 2011; Foyer et al., 2012) e / ou como uma molécula sinalizadora na homeostase celular, manutenção do status redox, defesa contra estresses abióticos e bióticos (Orozco-Cardenas et al., 2001; Hung et al., 2005; Niu e Liao, 2016).

Neste sentido, o  $\text{H}_2\text{O}_2$  está envolvido na mediação de importantes processos biológicos, como o fechamento estomático (Pei et al., 2000), germinação de sementes (Liu et al., 2010) e, especialmente, gravitropismo da raiz de modo dependente de auxinas (Joo et al., 2001; Li et al., 2015; Zhou et al., 2018). Além disso, o  $\text{H}_2\text{O}_2$  parece agir especificamente como parte da sinalização de resposta das auxinas em plantas em condição de estresse biótico e abióticos (Zhao et al., 2012). Diante do exposto, faz-se necessário conjecturar que o importante papel das auxinas nas respostas da raiz à presença de  $\text{NO}_3^-$  é dependente da sinalização do  $\text{H}_2\text{O}_2$ , visto as fortes relações entre auxinas e  $\text{NO}_3^-$  e auxinas e  $\text{H}_2\text{O}_2$  no crescimento e desenvolvimento do sistema radicular. Entretanto, pouco se sabe sobre os efeitos dessa interação. Assim, objetivou-se verificar se a auxina interage com o  $\text{H}_2\text{O}_2$  nas respostas das raízes de tomateiro à deficiênciade N.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Sistema Radicular

O sistema radicular é essencial para fornecer água, minerais e ancoragem às plantas. Na relação entre as plantas e o solo, são as raízes que precisam perceber e responder rapidamente às mudanças nas características físicas e químicas do ambiente na qual estão inseridas (White et al., 2013). Caracterizadas como órgãos cilíndricos, subterrâneos e aclorofilados, as raízes apresentam geotropismo positivo e fototropismo negativo e suas ramificações são iniciadas endogenamente ao longo do eixo principal da raiz, mais especificamente, são originadas de um subconjunto específico de células do periciclo, também chamadas células fundadoras da raiz lateral (Lima et al., 2006).

Um corte transversal da raiz mostrará sua composição por três zonas diferentes: a epiderme, o córtex e o cilindro central vascular (Apezzato-da-Gloria e Hayashi, 2006). Na epiderme ocorre a absorção de nutrientes e água, sendo essa ação fortemente ampliada pelas raízes laterais e pelos absorventes, visto que essas estruturas ampliam expressivamente a área superficial das raízes, possibilitando maior contato com a solução do solo (Cohen et al., 2019). O desenvolvimento do sistema radicular está intimamente ligado à absorção de água e nutrientes, onde a disponibilidade de ambos na rizosfera pode agir estimulando ou inibindo o crescimento das raízes (Giehl et al. 2014).

Nesse sentido, tem-se buscado entender como ocorrem essas interações, em particular, influência do  $\text{NO}_3^-$  sobre o crescimento e ramificação das raízes (Bhardwaj et al., 2015), assim como a participação do  $\text{H}_2\text{O}_2$  nesse processo (Trevisan et al., 2019), visto que a arquitetura radicular é um aspecto fundamental da produtividade das plantas, especialmente nos diversos ambientes caracterizados por baixa disponibilidade de água e nutrientes (Lynch, 1995).



## **2.2. Interação entre nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) e auxinas para o crescimento e desenvolvimento do sistema radicular**

O nitrogênio (N), como um macronutriente, é requerido abundantemente pelas plantas, pois é essencial à constituição celular, onde compõe aminoácidos, proteínas, enzimas e ácidos nucleicos. A deficiência deste elemento está fortemente relacionada à inibição no crescimento vegetal (Fageria, 2011; Xu et al., 2012; Koohkan; Maftoun, 2016; Castro Rodríguez et al., 2017). Os danos no crescimento vegetal ocorrem devido uma série de eventos biológicos que podem ser desencadeados em condições de deficiência de N, como alterações moleculares e celulares que levam à desorganização dos tecidos das plantas, redução da síntese proteica e da atividade fotossintética (Flores et al., 2016; Prado, 2008). Essa desordem nutricional e fisiológica culmina em sintomas visíveis em caules, folhas e frutos das plantas, causando perdas e danos econômicos para os produtores das diversas culturas, entre elas o tomate (Marschner, 2012).

Para muitas espécies, o  $\text{NO}_3^-$  é a principal fonte de N absorvida da solução do solo (Hirel et al., 2007). Este nutriente move-se dentro das plantas por meio de transportadores proteicos específicos, atuando ativamente nas diversas etapas de seu crescimento e desenvolvimento, como a germinação, crescimento da parte aérea, transição de fases fenológicas e crescimento do sistema radicular (Alboresi et al., 2005; Guo et al., 2005; Liu et al., 2010; Vidal et al., 2015). De maneira geral, o  $\text{NO}_3^-$  atua com dupla função, nutricional e de sinalização, exercendo impacto na arquitetura do sistema radicular, alterando o número, comprimento, ângulo e diâmetro das raízes, assim como o desenvolvimento de raízes laterais (Zhang et al., 1999, Krouk et al., 2010; Sun et al., 2017). Estes fatores fazem do  $\text{NO}_3^-$  uma molécula de extrema importância nas relações nutricionais e hídricas ao longo do desenvolvimento das plantas (Rubio et al., 2009; Gojon et al., 2011; Krouk et al., 2011).

Esse papel atribuído ao  $\text{NO}_3^-$  na morfoanatomia do sistema radicular está fortemente relacionado à sua ação parcial no controle da biossíntese, conjugação, transporte e sinalização hormonal, em especial das auxinas (Krouk, 2016; Guan, 2017). As auxinas por sua vez, controlam efetivamente o crescimento das raízes por meio do controle da expansão celular, pois elas induzem a expressão de

enzimas e genes responsáveis por manter as células do centro quiescente e, portanto, o crescimento radicular (Sozzani e Iyer-Pascuzzi, 2014), onde durante a expansão, elas migram da porção aérea da planta para o ápice radicular (transporte acrópeto) e são redistribuídas do ápice para a base da raiz (transporte basipeto), induzindo o crescimento das raízes laterais (Krouk et al., 2010).

Deste modo, tem sido evidenciado que há uma interação entre auxinas e  $\text{NO}_3^-$  para que ocorram as respostas de crescimento das raízes, e essas interações acontecem por meio do processo de transporte de  $\text{NO}_3^-$  nas plantas. Nesse sentido foi mostrado que as proteínas NPF6.3/NRT1.1, que são transportadoras de  $\text{NO}_3^-$  (Tsay et al., 1993; Nogueiro et al., 2018), atuam como um sistema de transporte de baixa afinidade sob condições suficientes de  $\text{NO}_3^-$ , assim como, quando fosforilado, atua como transportador de alta afinidade em condições deficientes deste nutriente (Liu e Tsay, 2003; Nogueiro et al., 2018), podendo também ser induzido pelo mesmo (Guo et al., 2005).

Além disso, NPF6.3/NRT1.1 pode atuar no transporte de auxinas (Krouk, 2016; Leran et al., 2014), porém esta ação é dependente da concentração de  $\text{NO}_3^-$  disponível para as plantas (Krouk et al., 2010; Mounier et al., 2014). Adicionalmente, foi relatado que o gene Triptofano amino-transferase (TAR2) participa ativamente da manutenção da biossíntese de auxina em condições de deficiência de N, sendo o mesmo induzido e expresso em raízes e periciclo vascular, o que indica que ele está fortemente envolvido no acúmulo de auxina nas raízes, assim como no desenvolvimento de raízes laterais em condições de deficiência de N (Ma et al., 2014; Zhao, 2012).

Vários trabalhos relatam mudanças na biossíntese, transporte e acúmulo de auxinas associados a alterações no crescimento da raiz em função da disponibilidade de  $\text{NO}_3^-$  em diferentes espécies, tais como soja (*Glycine max L. Merrill*) (Caba et al., 2000), abacaxi (*Ananas comosus L. Merrill*) (Tamaki & Mercier, 2007), milho (*Zea mays L.*) (Liu et al., 2010), *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana L.*) (Krouk et al., 2010; MA et al., 2014) e em tomate (*Solano Lycopersicum*) (Ivanchenko et al., 2013). Em adição, está evidente que as plantas sob deficiência de N alteram a atividade de transportadores de  $\text{NO}_3^-$  e, conseqüentemente, há alteração na arquitetura e morfologia do sistema radicular, para proporcionar uma

maior eficiência de uso de N, o que geralmente resulta em maior vigor das raízes e maior relação raiz/parte aérea (Xu et al., 2012; Zhu et al., 2015; Garnett et al., 2009).

De maneira geral, ao longo dos anos vem sendo elucidados diversos questionamentos sobre esse complexo mecanismo de interação hormônio-nutriente para o crescimento e desenvolvimento das plantas. Embora as auxinas tenham um efetivo controle sobre a arquitetura radicular de modo dependente do  $\text{NO}_3^-$ , os mecanismos envolvidos nesse evento são bastante complexos e tem sido mostrado que, além de outros fitormônios (Aloni, 2013; Jung e McCouch, 2013; Fusconi et al., 2014), uma série de moléculas parecem ser parte importante dessas respostas (Fernández-Marcos et al., 2011; Kapulnik et al., 2011; Mendes et al., 2011), em especial o  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Dunand et al., 2007; Ivanchenko et al., 2013).

### **2.3. A ação do peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) nas vias de sinalização do crescimento e desenvolvimento do sistema radicular**

O  $\text{H}_2\text{O}_2$  desempenha dupla função ou função complementar nas células das plantas: durante o estresse oxidativo, ele pode atuar como uma forte espécie reativa de oxigênio, causando danos ou até mesmo a morte celular (Veal e Day, 2011; Foyer et al., 2012) e como uma molécula sinalizadora na homeostase celular, manutenção do status redox, defesa contra estresses abióticos e bióticos (Orozco-Cardenas et al., 2001, Hung et al., 2005, Niu e Liao, 2016). O limiar entre a ação de sinalizador e causador de danos depende da quantidade de  $\text{H}_2\text{O}_2$  intracelular presente, pois apesar da eficiente ação das enzimas antioxidantes para remover essas EROs, em baixas concentrações de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (1-10 mM), os mecanismos de eliminação são menos eficazes, permitindo que o  $\text{H}_2\text{O}_2$  atue como um sinalizador (Sies, 2017; Cerny et al., 2018).

De maneira geral, o  $\text{H}_2\text{O}_2$  pode ser produzido no metabolismo das plantas por meio de via enzimática direta ou indireta a partir de oxidases como NADPH oxidase que produz o ânion superóxido ( $\text{O}_2^-$ ), que posteriormente é dismutado pela superóxido dismutase e então é formada a molécula de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Além desses processos, o  $\text{H}_2\text{O}_2$  pode ser gerado durante as atividades de transferência de elétrons nos cloroplastos e mitocôndrias, assim como na oxidação do glicolato nos peroxissomos (Niu e Liao, 2016; Khan et al., 2018). A deficiência nutricional é um

dos fatores que desencadeia a produção de  $H_2O_2$  nas plantas, o que pode desencadear danos ao crescimento ou respostas de defesa antioxidante (Tewari et al., 2004).

Uma vez produzido, o  $H_2O_2$  consegue se locomover facilmente até o seu destino por meio de canais específicos como as aquaporinas nas membranas plasmáticas (Rodrigues et al., 2017), o mesmo consegue percorrer longas distâncias de forma relativamente rápida para alcançar seus alvos (Gilroy et al., 2016). Essas características fazem do  $H_2O_2$  um sinalizador primário (Sewelam et al., 2016), que atua no controle de respostas sistêmicas de defesa (Choi et al., 2017; Si et al., 2018). Como mensageiro secundário, o  $H_2O_2$  pode interagir com hormônios, desencadeando respostas no crescimento e desenvolvimento das plantas às diferentes condições ambientais a que elas estão expostas (Wojtyla et al., 2016).

Portanto, o  $H_2O_2$  está envolvido na mediação de importantes processos fisiológicos das plantas, como o fechamento estomático (Pei et al., 2000; Ge et al., 2015), germinação de sementes (Liu et al., 2010; Ishibashi et al., 2017), aceleração do crescimento de raízes primárias e laterais (Hernandez-Barrera et al., 2015) e gravitropismo da raiz de modo dependente de auxinas (Joo et al., 2001; Li et al., 2015; Zhou et al., 2018). Além disso, o  $H_2O_2$  é um possível sinalizador de resposta das auxinas em plantas sob condição de estresse biótico e abióticos (Zhao et al., 2012), como por exemplo, em deficiência de  $NO_3^-$  em milho (Trevisan et al., 2019). Um outro papel do  $H_2O_2$  seria nas vias de sinalização que conferem maior tolerância das plantas a estresses por salinidade (Bagheri et al., 2019), metais pesados (Hasanuzzaman et al., 2017), encharcamento (Andrade et al., 2018) e seca (Ishibashi et al., 2011).

#### **2.4. Inibidores do transporte de auxinas**

O entendimento atual de como as auxinas se movem nos tecidos das plantas promovendo respostas morfológicas e fisiológicas de grande importância para o crescimento e desenvolvimento vegetal, só foram possíveis devido ao uso de inibidores do transporte polar das auxinas. Vários inibidores foram caracterizados e são utilizados para afetar as taxas de transporte polar desse hormônio (Klima et

al., 2016). Dentre os inibidores do transporte de auxinas, destacam-se o Ácido Naftilftalâmico (NPA), o Ácido 2,3,5-triiodo-benzóico (TIBA) e o 2-cloro-9-hidroxi fluoreno-9-carboxilato de metila (Morfactina IT 3456) (Saniewski et al., 2017).

O NPA é classificado como uma fitotropina que age inibindo o transporte de auxina polar nas plantas (Depta et al., 1983; Rubery, 1990). O NPA inibe o transporte de auxina polar através de sua ligação a um local específico (receptor de NPA nas células vegetais) (Monday et al., 1993), porém vem sendo cada vez mais fortalecida a hipótese de que não há um único local de ligação do NPA, onde tem se evidenciado que ele pode se ligar a mais de um local na membrana plasmática (Michalke et al., 1992) ou diretamente ao transportador de efluxo de auxinas (Sussman; Goldsmith, 1981). Mais recentemente, mostrou-se que duas importantes proteínas, PINs e ABCB, que formam mecanismos de transporte de auxina polar altamente independentes foram descritas como sensíveis ao NPA (Mravec et al., 2008, Teale et al., 2018).

O TIBA, por sua vez, é um ácido aromático fraco, que se difunde nas células de maneira semelhante ao ácido indolacético (AIA), porém com maior permeabilidade em condições fisiológicas, sendo transportado polarmente através de um transportador de efluxo comum ao AIA (Delbarre et al., 1996), fato este que o torna um concorrente direto do local de atividade de transporte do AIA. No entanto, assim como NPA, o modelo de local único para transporte polar de AIA e TIBA foi descartado (Depta et al., 1983), fortalecendo as hipóteses de que há mais de um local para transporte polar de AIA e TIBA.

A inibição do transporte de AIA pelo TIBA pode acontecer pelo seguinte mecanismo: TIBA e AIA se ligam a locais separados, mas funcionalmente relacionados, no transportador de efluxo de AIA, e o transporte de qualquer um deles é inibido quando ambos são ligados simultaneamente (Depta et al., 1983; Teale et al 2018). De maneira geral, tem sido observado que esses compostos afetam o crescimento e o desenvolvimento das plantas no nível molecular, por interferência com os transportadores de auxina e/ou facilitadores de PINs e proteínas ABCB localizadas na membrana plasmática, mas o mecanismo detalhado ainda permanece incerto (Fujita et al., 1996; Saniewski et al., 2014).

Devido as especificidades de cada molécula desses inibidores, diversas pesquisas indicam a maior eficiência do TIBA para inibir a formação e o crescimento de raízes quando comparado com o NPA, como foi observado por Saniewski (2014) onde o TIBA inibiu completamente a formação radicular em estacas de plantas ornamentais da família *Crassulaceae*. A eficiência do TIBA na inibição do crescimento de raízes laterais também foi mostrada por Rincon (2002) em mudas de abeto (*Picea abies*) inoculadas com o fungo micorrizico *Laccaria bicolor*. Fato que reforça a eficiência do TIBA na inibição do transporte de auxina principalmente quando se trata de respostas no sistema radicular das plantas.

## **2.5. O tomateiro (Micro-Tom) como modelo para estudos fisiológicos**

A biologia vegetal tem avançado nos últimos anos em relação aos processos e mecanismos genéticos, fisiológicos e bioquímicos, responsáveis pelo crescimento e desenvolvimento das plantas. Um dos fatores fundamentais para esses avanços é o uso de plantas modelo para esses estudos (Koornneef; Meinke, 2010; Gaion, 2017).

A *Arabidopsis thaliana*, planta daninha da família *Brassicaceae*, mede aproximadamente 10 cm de altura, produz flor, frutos secos, elevado número de sementes, ciclo de vida curto, além de possuir pequeno genoma (cinco cromossomos), tornando-a uma planta de fácil cultivo e manipulação em laboratório, como também uma análise molecular detalhada. Essas características tornaram a *Arabidopsis* o primeiro organismo modelo mais bem estudado da biologia vegetal (Koornneef; Meinke, 2010).

Características similares as da *Arabidopsis*, como genoma relativamente compacto (950Mb), ciclo de vida curto e elevado número de sementes (Carvalho et al., 2011) foram encontradas na cultivar de tomateiro (*Solanum lycopersicum L.*) Micro-Tom (Campos et al., 2011). Essa cultivar de tomateiro surgiu primeiramente como uma planta ornamental (Scott et al., 1989) e posteriormente, por possuir características de desenvolvimento diferentes das encontradas em *Arabidopsis*, como por exemplo, fruto carnoso (Carvalho et al., 2011) e também devido a sua

importância agrônômica, passou a ser utilizada como planta modelo para estudos genéticos e fisiológicos (Meissner et al., 1997).

Neste sentido, Carvalho et al. (2011) introgridiram em Micro-Tom uma série de mutações hormonais, tanto em biossíntese como em sensibilidade, assim possibilitando o estudo das principais classes hormonais e suas respostas a estresses bióticos e abióticos no tomateiro. Desde então, foi observado que a modulação de sinais da raiz para a parte aérea do tomateiro sob déficit hídrico ocorre de forma dependente das giberelinas (Gaion et al., 2018), assim como observou-se que a maior sensibilidade as giberelinas afeta o metabolismo do cálcio e promove o surgimento de distúrbios fisiológicos como a podridão de flores e frutos (Gaion et al., 2019). Relatou-se também que a sensibilidade do tomateiro ao etileno é um fator essencial para a tolerância à seca (Gaion et al., 2017).

No âmbito das interações hormônio nutricionais, Santos (2016) indicou resultados relacionados à sinalização das auxinas para modular o crescimento do tomateiro sob suficiência e deficiência de nitrogênio, e Barreto (2019) indicou a ação da interação entre silício e citocininas nas respostas de crescimento do tomateiro à toxicidade de amônio. Estes e outros estudos têm possibilitado a compreensão da ação desses hormônios no crescimento e no desenvolvimento vegetal, assim como as respostas desencadeadas a partir dos estresses bióticos e abióticos tendo o tomateiro como planta modelo.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. Material vegetal e ambiente de cultivo**

A presente pesquisa foi desenvolvida no Departamento de “Biologia Aplicada à Agropecuária” da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP- Campus de Jaboticabal.

Como planta modelo, foi utilizado o tomateiro (*Solanum lycopersicum*), cultivar Micro – Tom, como descrito em Campos et al (2010). Para germinação, as sementes foram submetidas à assepsia, a partir de imersão em cloro a 5% por 3

min e em álcool 70% por 30 segundos, o processo foi finalizado com tríplice lavagem em água deionizada. As sementes foram dispostas em caixas gerbox, contendo duas folhas de papel germibox umedecidos com 15 mL de água deionizada. Em seguida, as sementes foram acondicionadas em câmara de germinação (BOD) em condição de escuro por 24 horas, posteriormente foi mantido o fotoperíodo de 12 horas até o quarto dia após a germinação.

No quinto dia após a germinação, as plântulas foram transferidas e cultivadas durante dez dias em um mini sistema hidropônico (Figura 1) composto por caixas de polipropileno com capacidade para 200 mL de solução nutritiva como descrita a seguir, placas de poliestireno com capacidade para quatro plantas e bomba compressora de ar com tubulação que manteve a solução nutritiva aerada durante o período de iluminação.



**Figura 1.** Visão geral da bancada de luz com o mini sistema hidropônico e das plantas de tomateiro aos dez dias após o transplantio.

A solução nutritiva foi utilizada conforme a indicação de Hoagland e Arnon (1950) preparada a 50% da força iônica utilizando fontes de nutrientes de reagentes P.A diluídos em água deionizada. A condutividade elétrica variou de 2,057 a 2,208 ms/cm entre as soluções nutritivas com concentração 0 e 20 mmol L<sup>-1</sup> de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. O valor de pH das soluções foi monitorado diariamente e ajustado, sempre que necessário, para 5,7 ± 0,3 com soluções de NaOH ou HCl (1%).



O mini sistema estava instalado em uma sala de crescimento, disposto em uma bancada com fotoperíodo de 12 horas, sob irradiação de 85  $\mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , obtida com lâmpadas LEDs tubulares. As temperaturas no local foram de  $26/22 \pm 3^\circ\text{C}$  (dia/noite), e a umidade relativa do ar manteve-se entre 35 e 45%.

### 3.2. Experimentos para determinar as concentrações de $\text{NO}_3^-$ para cultivo hidropônico de tomateiro sob suficiência e deficiência de N

Estes experimentos foram compostos pelas seguintes concentrações de  $\text{NO}_3^-$  (0; 1; 2,5; 5; 10; 15; 20)  $\text{mmol L}^{-1}$  (tabela 1) e (0,0; 0,025; 0,05; 0,1; 0,5; 0,75; e 1,00)  $\text{mmol L}^{-1}$  (Tabela 2). Os experimentos foram arranjados em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com três repetições, cada repetição continha 4 plantas, conduzido sob as condições já descritas acima. Analisou-se comprimento e massa seca da parte aérea e massa seca, comprimento e densidade do sistema radicular. As análises serão descritas no item 3.5.

**Tabela 1.** Composição da solução nutritiva com concentrações de  $\text{NO}_3^-$  na faixa de 0 a 20  $\text{mmol L}^{-1}$ .

Solução – Estoque ( $\text{mol L}^{-1}$ )	Concentrações de $\text{NO}_3^-$ $\text{mmol L}^{-1}$						
	0,0	1,0	2,5	5,0	10	15	20
Fertilizantes	----- mL -----						
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
$\text{MgSO}_4$	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
KCl	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,0	0,5	1,75	2,5	5,0	7,5	10
$\text{CaCl}_2$	10	9,5	8,25	7,5	5,0	2,5	-
Micronutrientes <sup>(2)</sup>	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Fe – EDDHA <sup>(3)</sup>	1	1	1	1	1	1	1

<sup>1</sup> 50% da força iônica, com exceção para o  $\text{CaNO}_3$  e o  $\text{CaCl}_2$ . <sup>2</sup> Para 1 L: 2,86 g  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ; 1,81 g  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ; 0,10 g  $\text{ZnCl}_2$ ; 0,04 g  $\text{CuCl}_2$ ; 0,02 g  $\text{H}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ . <sup>(2)</sup> 83,3 g  $\text{L}^{-1}$  Fe-EDDHA (6%).

**Tabela 2.** Composição da solução nutritiva com concentrações de  $\text{NO}_3^-$  na faixa de 0 a 1  $\text{mmol L}^{-1}$ .

Solução – Estoque ( $\text{mol L}^{-1}$ )	Concentração de $\text{NO}_3^-$ $\text{mmol L}^{-1}$						
	0,0	0,025	0,05	0,1	0,5	0,75	1,00
Fertilizantes	----- mL -----						
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
$\text{MgSO}_4$	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
KCl	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,0	0,0125	0,025	0,05	0,25	0,375	0,5
$\text{CaCl}_2$	10	9,9875	9,975	9,95	9,75	9,625	9,5
Micronutrientes <sup>(2)</sup>	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Fe – EDDHA <sup>(3)</sup>	1	1	1	1	1	1	1

<sup>1</sup> 50% da força iônica, com exceção para o  $\text{CaNO}_3$  e o  $\text{CaCl}_2$ . <sup>2</sup> Para 1 L: 2,86 g  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ; 1,81 g  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ; 0,10 g  $\text{ZnCl}_2$ ; 0,04 g  $\text{CuCl}_2$ ; 0,02 g  $\text{H}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ . <sup>(2)</sup> 83,3 g  $\text{L}^{-1}$  Fe-EDDHA (6%).

### **3.3. Experimento para determinar a concentração ideal do Ácido 2,3,5-triiodo-benzóico (TIBA) a ser adicionado à solução nutritiva para inibir o transporte de auxina nas plantas de Tomateiro**

O experimento para determinar a concentração ideal de TIBA para inibir o transporte de auxina em plantas de tomateiro foi realizado com plantas crescidas sob deficiência de  $\text{NO}_3^-$  ( $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ ). Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, sendo composto por quatro concentrações de TIBA (0,0; 0,1; 1,0 e 10,0)  $\mu\text{mol L}^{-1}$  com quatro repetições.

O TIBA foi dissolvido em 0,1% (v/v) de dimetilsulfóxido (DMSO) e adicionado a solução nutritiva previamente preparada na concentração deficiente em  $\text{NO}_3^-$  já estabelecida nos experimentos anteriores. Foram analisados a massa seca e comprimento da parte aérea e massa seca, comprimento e densidade do sistema radicular. As análises serão descritas no item 3.4.

### **3.4. Experimento para verificar a ação do $\text{H}_2\text{O}_2$ na sinalização e modulação do crescimento de raízes do tomateiro sob suficiência e deficiência de $\text{NO}_3^-$**

Este experimento foi realizado sob as condições ambientais descritas anteriormente e foi disposto em delineamento experimental inteiramente casualizado, com três repetições e cada repetição foi composta por quatro plantas, organizado em esquema fatorial  $2 \times 4$ , sendo duas condições de  $\text{NO}_3^-$ , deficiência e suficiência, através das respectivas concentrações ( $0,1$  e  $1,0$ )  $\text{mmol L}^{-1}$  e pela presença e ou ausência de substâncias inibidoras do transporte de auxina (TIBA), e do acúmulo de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Catalase exógena), o que totalizou oito tratamentos (Figura 2).

Mais especificamente foram quatro tratamentos para suficiência de  $\text{NO}_3^-$  ( $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{NO}_3^-$ ;  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{NO}_3^-$  + TIBA;  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{NO}_3^-$  + CAT;  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{NO}_3^-$  + TIBA + CAT) e quatro para deficiência ( $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{NO}_3^-$ ;  $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{NO}_3^-$  + TIBA;  $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{NO}_3^-$  + CAT;  $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{NO}_3^-$  + TIBA + CAT). Os dados foram submetidos a Análise de Variância, e as médias foram comparadas usando Teste de Tukey (em  $p \leq 0,05$ ) no software AgroEstat (Barbosa & Maldonado Júnior, 2015).

$NO_3^-$	TIBA	CATALASE
Suficiência	-	-
	+	-
	-	+
	+	+
Deficiência	-	-
	+	-
	-	+
	+	+

**Figura 2.** Esquema representando a composição dos oito tratamentos formados por duas condições de  $NO_3^-$ , suficiência (branco), deficiência (cinza) e presença (+) e ou ausência (-) de TIBA e Catalase.

A solução nutritiva foi adaptada para as respectivas condições de deficiência e suficiência (0,1 e 1,0 mmol L<sup>-1</sup>) de  $NO_3^-$ , resultantes dos experimentos do item 3.1. Desta forma, obtivemos a seguinte composição para as soluções estoques suficiente e deficiente em  $NO_3^-$  (Tabela 3).

**Tabela 3.** Composição das soluções nutritivas com concentrações deficientes e suficientes em  $NO_3^-$  respectivamente (0,1 e 1,0 mmol L<sup>-1</sup>).

Solução – Estoque (mol L <sup>-1</sup> )	Concentração de $[NO_3^-]$ mmol L <sup>-1</sup>	
	0,1	1,00
Fertilizantes	----- mL -----	
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,5	0,5
MgSO <sub>4</sub>	1,0	1,0
KCl	2,5	2,5
Ca (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> 4H <sub>2</sub> O	0,05	0,5
CaCl <sub>2</sub>	9,95	9,5
Micronutrientes <sup>(2)</sup>	0,5	0,5
Fe – EDDHA <sup>(3)</sup>	1	1

<sup>1</sup> 50% da força iônica, com exceção para o CaNO<sub>3</sub> e o CaCl<sub>2</sub>. <sup>2</sup> Para 1 L: 2,86 g H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>; 1,81 g MnCl<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O; 0,10 g ZnCl<sub>2</sub>; 0,04 g CuCl<sub>2</sub>; 0,02 g H<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O. <sup>(2)</sup> 83,3 g L<sup>-1</sup> Fe-EDDHA (6%).

Utilizando as soluções nutritivas adaptadas para suficiência e deficiência de  $NO_3^-$ , com base no experimento do ponto 3.2, definiu-se 1,0 μmol L<sup>-1</sup> de ácido 2,3,5-triiodo-benzóico (TIBA) como concentração ideal para ser adicionada à estas soluções com a finalidade de inibir o transporte de auxina nas plantas. Foram utilizados 200 U mL<sup>-1</sup> de Catalase exógena (CAT – Sigma-Aldrich ref: C100) como concentração ideal a ser adicionada à estas soluções com a finalidade de inibir o acúmulo de moléculas de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> nas raízes das plantas, essa concentração foi definida com base na literatura (Arias-Moreno et al. 2017).

### **3.5. Análises experimentais**

#### **3.5.1. Análises de crescimento**

Aos dez dias de cultivo, foram realizadas as análises de crescimento. Para obtenção da biomassa seca, o material foi mantido em saco de papel e levado à estufa com renovação forçada de ar a 55 °C por 72 horas. Posteriormente, foi obtida a massa da parte aérea e da raiz utilizando-se uma balança analítica (Denver Instrument Company AA-200) com precisão de 0,0001 g. Já a altura de planta foi aferida por meio de régua milimétrica.

O comprimento, área, volume e densidade do sistema radicular foram determinados a partir da captura de imagem do sistema radicular por meio de um Scanner LA1600 e analisados pelo programa computacional Winrhizo® (Regent Instruments Inc., Canadá).

#### **3.5.2. Análises bioquímicas**

Após dez dias de cultivo, 300 mg de raiz foram coletados, colocados em tubos, imediatamente congelados em nitrogênio líquido e armazenados em freezer a temperatura de -80 °C para posterior quantificação do teor de malondialdeído (MDA) e de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

##### **3.5.2.1. Peroxidação lipídica**

A peroxidação lipídica foi estimada por meio do teste do ácido 2 tiobarbitúrico (TBA) descrito por Heath e Packer (1968). Onde os metabólitos reativos das membranas celulares, principalmente o malondealdído (MDA), reagem com o TBA, possibilitando a quantificação por meio da espectrofotometria com leituras em 535 e 600 nm, e a concentração foi calculada usando um coeficiente de extinção de  $1,55 \times 10^{-5} \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  (Gratão et al. 2012). O teor de MDA foi expresso em nmol g<sup>-1</sup> de massa fresca de raiz.

### **3.5.2.2. Conteúdo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**

Por meio da reação com iodeto de potássio (KI), foi determinado o conteúdo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> conforme Alexieva et al. (2001). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 390 nm e a determinação dos conteúdos de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> das amostras se deu utilizando uma curva conhecida de concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como padrão. O teor de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi expresso em mol g<sup>-1</sup> de massa fresca de raiz.

## **4. RESULTADOS**

### **4.1. Concentrações de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> para cultivo hidropônico de tomateiro sob suficiência e deficiência de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>**

#### **4.1.1. Concentração suficiente de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (0 – 20 mmol L<sup>-1</sup>)**

O crescimento da parte aérea das plantas de tomateiro foi prejudicado pela omissão de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, tanto na altura de plantas como na massa seca da parte aérea. As concentrações entre 1 e 20 mmol L<sup>-1</sup> não diferiram em altura de plantas, porém as concentrações de 15 e 20 mmol L<sup>-1</sup> de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> promoveram decréscimos na massa seca das plantas (Tabela 4).

A omissão e as diferentes concentrações de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> promoveram diferenças no crescimento do sistema radicular do tomateiro. Os maiores valores de comprimento, massa seca e densidade do sistema radicular foram obtidos nas respectivas concentrações de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (1,0 e 2,5 mmol L<sup>-1</sup>). As concentrações de 5, 10, 15 e 20 mmol L<sup>-1</sup> promoverão redução do crescimento do sistema radicular. Porém tanto a omissão como a concentração de 20 mmol L<sup>-1</sup> de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> apresentaram as maiores reduções no crescimento do sistema radicular do tomateiro (Tabela 4).

Diante dos resultados obtidos para parte aérea e para o sistema radicular das plantas de tomateiro, observou-se que entre 0 e 20 mmol L<sup>-1</sup> de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> a concentração de 1,0 mmol L<sup>-1</sup> é suficiente para nutrir essas plantas durante o período do experimento.

**Tabela 4.** Efeito das diferentes concentrações de  $\text{NO}_3^-$  no comprimento da parte aérea (CPA), massa seca da parte aérea (MSPA), comprimento da raiz (CR), massa seca da raiz (MSR) e densidade radicular (DR) de plantas de tomateiro crescidas durante dez dias em sistema hidropônico. Valores na coluna representam a média  $\pm$  erro padrão. Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna indicam que houve diferença pelo teste de Tukey a 1% ( $p \leq 0,01$ ) entre as diferentes concentrações de  $\text{NO}_3^-$ .

Tratamentos	CPA	MSPA	CR	MSR	DR
	(cm)	(mg por planta)	(cm)	(mg por planta)	(mm/ml)
-----Concentração de $\text{NO}_3^-$ (0 – 20 mmol L <sup>-1</sup> ) -----					
0,0	2,98 $\pm$ 0,04 b	0,02 $\pm$ 0,0009 d	14,90 $\pm$ 0,73 c	0,003 $\pm$ 0,00015 cd	0,50 $\pm$ 0,06 bc
1,0	4,24 $\pm$ 0,09 a	0,05 $\pm$ 0,0013 ab	22,33 $\pm$ 0,23 a	0,005 $\pm$ 0,00019 a	0,73 $\pm$ 0,02 a
2,5	4,51 $\pm$ 0,14 a	0,05 $\pm$ 0,0022 ab	22,59 $\pm$ 0,64 a	0,005 $\pm$ 0,00021 ab	0,72 $\pm$ 0,04 a
5,0	4,48 $\pm$ 0,12 a	0,06 $\pm$ 0,0029 a	18,80 $\pm$ 0,29 b	0,005 $\pm$ 0,00024 ab	0,64 $\pm$ 0,02 ab
10,0	4,44 $\pm$ 0,09 a	0,05 $\pm$ 0,0022 ab	18,86 $\pm$ 0,23 b	0,003 $\pm$ 0,00009 cd	0,34 $\pm$ 0,02 d
15,0	4,29 $\pm$ 0,12 a	0,05 $\pm$ 0,0019 bc	17,73 $\pm$ 0,93 b	0,004 $\pm$ 0,00033 bc	0,42 $\pm$ 0,02 cd
20,0	4,00 $\pm$ 0,39 a	0,04 $\pm$ 0,0003 c	10,08 $\pm$ 0,58 d	0,003 $\pm$ 0,00032 d	0,30 $\pm$ 0,01 d
-----Concentração de $\text{NO}_3^-$ (0 – 1 mmol L <sup>-1</sup> ) -----					
0,0	2,27 $\pm$ 0,05 c	0,006 $\pm$ 0,001 d	12,14 $\pm$ 0,16 b	0,0018 $\pm$ 0,00009 d	0,031 $\pm$ 0,029 d
0,025	2,61 $\pm$ 0,06 bc	0,012 $\pm$ 0,001 c	19,73 $\pm$ 0,54 a	0,0041 $\pm$ 0,0002 bc	0,57 $\pm$ 0,024 bc
0,05	2,72 $\pm$ 0,06 bc	0,017 $\pm$ 0,001 c	20,31 $\pm$ 0,27 a	0,0042 $\pm$ 0,0003 bc	0,064 $\pm$ 0,030 b
0,1	2,78 $\pm$ 0,04 b	0,022 $\pm$ 0,001 b	21,31 $\pm$ 0,20 a	0,0065 $\pm$ 0,0003 a	0,82 $\pm$ 0,022 a
0,5	2,79 $\pm$ 0,14 b	0,023 $\pm$ 0,002 b	14,93 $\pm$ 0,17 b	0,0031 $\pm$ 0,0002 c	0,49 $\pm$ 0,024 c
0,75	3,04 $\pm$ 0,03 b	0,032 $\pm$ 0,001 a	20,18 $\pm$ 0,65 a	0,0045 $\pm$ 0,0002 b	0,64 $\pm$ 0,004 b
1,0	3,53 $\pm$ 0,19 a	0,035 $\pm$ 0,001 a	20,04 $\pm$ 0,72 a	0,0045 $\pm$ 0,0003 b	0,52 $\pm$ 0,021 c

#### 4.1.2. Concentração deficiente de $\text{NO}_3^-$ (0 – 1,0 $\text{mmol L}^{-1}$ )

As concentrações de  $\text{NO}_3^-$  entre 0 e 1,0  $\text{mmol L}^{-1}$  promoveram diferenças no crescimento da parte aérea e do sistema radicular do tomateiro. Como esperado a concentração de 1,0  $\text{mmol L}^{-1}$  de  $\text{NO}_3^-$  promoveu os maiores valores de comprimento e massa seca da parte aérea (Tabela 4).

As mesmas variáveis decresceram a medida que as concentrações de  $\text{NO}_3^-$  foram reduzidas respectivamente para 0,75; 0,5 e 0,1  $\text{mmol L}^{-1}$  e decresceram ainda mais quando as plantas foram submetidas a baixíssimas concentrações como 0,05, 0,025  $\text{mmol L}^{-1}$  e sob a omissão de  $\text{NO}_3^-$  (Tabela 4).

O comprimento do sistema radicular foi reduzido quando submetido a omissão de  $\text{NO}_3^-$  e sob 0,5  $\text{mmol L}^{-1}$  desse nutriente. Todas as outras concentrações não diferiram no comprimento da raiz. Já a massa seca e a densidade do sistema radicular apresentaram maior crescimento sob a concentração de 0,1  $\text{mmol L}^{-1}$  de  $\text{NO}_3^-$  de forma que concentrações muito baixas ou a omissão desse nutriente, assim como concentrações mais elevadas como 0,5, 0,75 e 1,0  $\text{mmol L}^{-1}$  promoveram menor crescimento do sistema radicular (Tabela 4).

Levando em consideração os resultados de crescimento de parte aérea, assim como do sistema radicular, pode-se concluir que a concentração de 0,1  $\text{mmol L}^{-1}$  promove deficiência de  $\text{NO}_3^-$  e ao mesmo tempo, esse nível de estresse nutricional induz um maior crescimento do sistema radicular do tomateiro (Figura 3).



**Figura 3.** Efeitos das diferentes concentrações de  $\text{NO}_3^-$  ( $\text{mmol L}^{-1}$ ) no crescimento da parte aérea e do sistema radicular de plantas de tomateiro crescidas durante dez dias em sistema hidropônico.

#### **4.2. Concentração ideal do Ácido 2,3,5-triiodo-benzóico (TIBA) para inibir o transporte de auxina em plantas de tomateiro cultivadas em hidroponia sob deficiência de $\text{NO}_3^-$**

A adição das diferentes concentrações de TIBA à solução nutritiva não promoveu diferenças no comprimento das plantas de tomateiro. Porém, a massa seca da parte aérea foi reduzida quando submetida a  $10 \mu\text{mol L}^{-1}$  de TIBA. O sistema radicular é mais sensível ao TIBA que a parte aérea, tanto que, o comprimento, a massa seca e a densidade do sistema radicular foram reduzidas gradativamente ao se aplicar 0,1; 1,0 e  $10 \mu\text{mol L}^{-1}$  desse inibidor do transporte de auxinas (Tabela 5) e (Figura 4). Visando os menores efeitos do tiba na parte aérea das plantas e os maiores níveis de inibição do crescimento do sistema radicular, a concentração mais indicada foi  $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ .



**Tabela 5.** Efeito das diferentes concentrações de Ácido 2,3,5-triiodo-benzóico (TIBA) no comprimento da parte aérea (CPA), massa seca da parte aérea (MSPA), comprimento da raiz (CR), massa seca da raiz (MSR) e densidade do sistema radicular (DR) de plantas de tomateiro crescidas durante dez dias em sistema hidropônico sob deficiência de  $\text{NO}_3^-$  ( $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ ). Valores na coluna representam a média  $\pm$  erro padrão. Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna indicam que houve diferença pelo teste de Tukey a 1% ( $p \leq 0,01$ ) entre as diferentes concentrações de TIBA.

Tratamentos	CPA	MSPA	CR	MSR	DR
	(cm)	(mg por planta)	(cm)	(mg por planta)	(mm/ml)
-----Concentração de TIBA (0 – $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) -----					
0,0	1,99 $\pm$ 0,018 a	0,0067 $\pm$ 0,0007 a	17,69 $\pm$ 0,63 a	0,0017 $\pm$ 0,00005 a	0,253 $\pm$ 0,0176 a
0,1	1,96 $\pm$ 0,096 a	0,0077 $\pm$ 0,0003 a	15,47 $\pm$ 0,58 b	0,0014 $\pm$ 0,00003 b	0,150 $\pm$ 0,0035 b
1,0	1,86 $\pm$ 0,030 a	0,0063 $\pm$ 0,0003 a	13,86 $\pm$ 0,25 b	0,0009 $\pm$ 0,00003 c	0,091 $\pm$ 0,0058 c
10	1,74 $\pm$ 0,065 a	0,0023 $\pm$ 0,0003 b	5,83 $\pm$ 0,25 c	0,0005 $\pm$ 0,00005 d	0,031 $\pm$ 0,0003 d



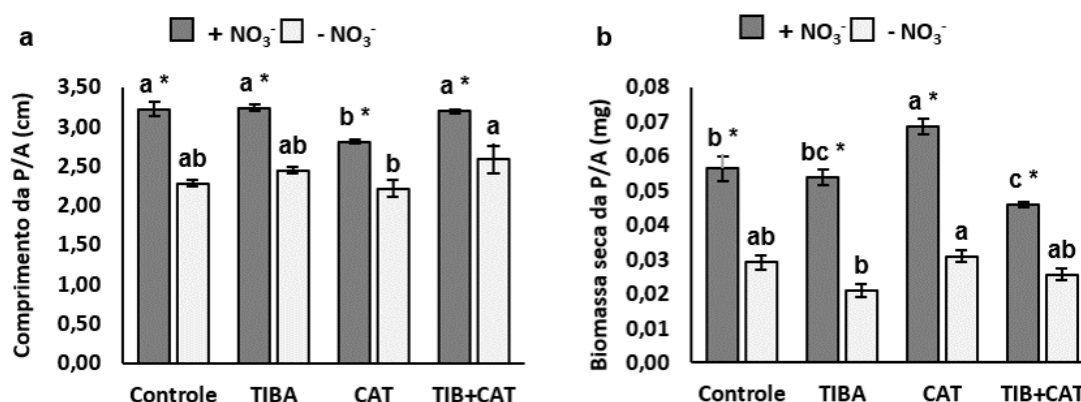
**Figura 4.** Efeito das diferentes concentrações de Ácido 2,3,5-triiodo-benzóico (TIBA) no crescimento da parte aérea e do sistema radicular do tomateiro crescido durante dez dias em solução nutritiva sob deficiência de  $\text{NO}_3^-$  ( $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ ).

### 4.3. Ação do $\text{H}_2\text{O}_2$ na sinalização e modulação do crescimento de raízes do tomateiro sob suficiência e deficiência de $\text{NO}_3^-$

#### 4.3.1. Análises de crescimento da parte aérea das plantas

Tanto na condição de suficiência ( $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ ) como de deficiência ( $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ ) de  $\text{NO}_3^-$ , o comprimento de planta (Figura 5a) não apresentou efeito da presença de TIBA e TIBA + CAT na solução nutritiva, apenas a presença isolada de CAT promoveu menor crescimento de plantas em ambas as condições de  $\text{NO}_3^-$ .

. Ao compararmos as concentrações de  $\text{NO}_3^-$ ,  $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$  afetou o comprimento das plantas quando comparados a concentração de  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{NO}_3^-$  independentemente da presença ou ausência de TIBA, CAT e TIBA + CAT, onde respectivamente os valores correspondem a um decréscimo de aproximadamente 30% na altura de planta. Observamos também que a biomassa da parte aérea (Figura 5b) das plantas não apresentou ação da presença de TIBA, porém, a solução TIBA + CAT promoveu menor peso de plantas na condição suficiente de  $\text{NO}_3^-$ .



**Figura 5** Efeito da presença do inibidor do transporte de auxinas (TIBA), de catalase exógena (CAT) e da Solução TIBA + CAT no comprimento (a) e biomassa seca (b) da parte aérea do tomateiro cultivado sob suficiência e deficiência de  $\text{NO}_3^-$ . \* indica diferenças significativas a  $P < 0,05$  pelo teste de Tukey entre as condições  $\text{NO}_3^-$ . Letras iguais indicam que as medias não diferem entre si dentro da mesma condição de  $\text{NO}_3^-$ .

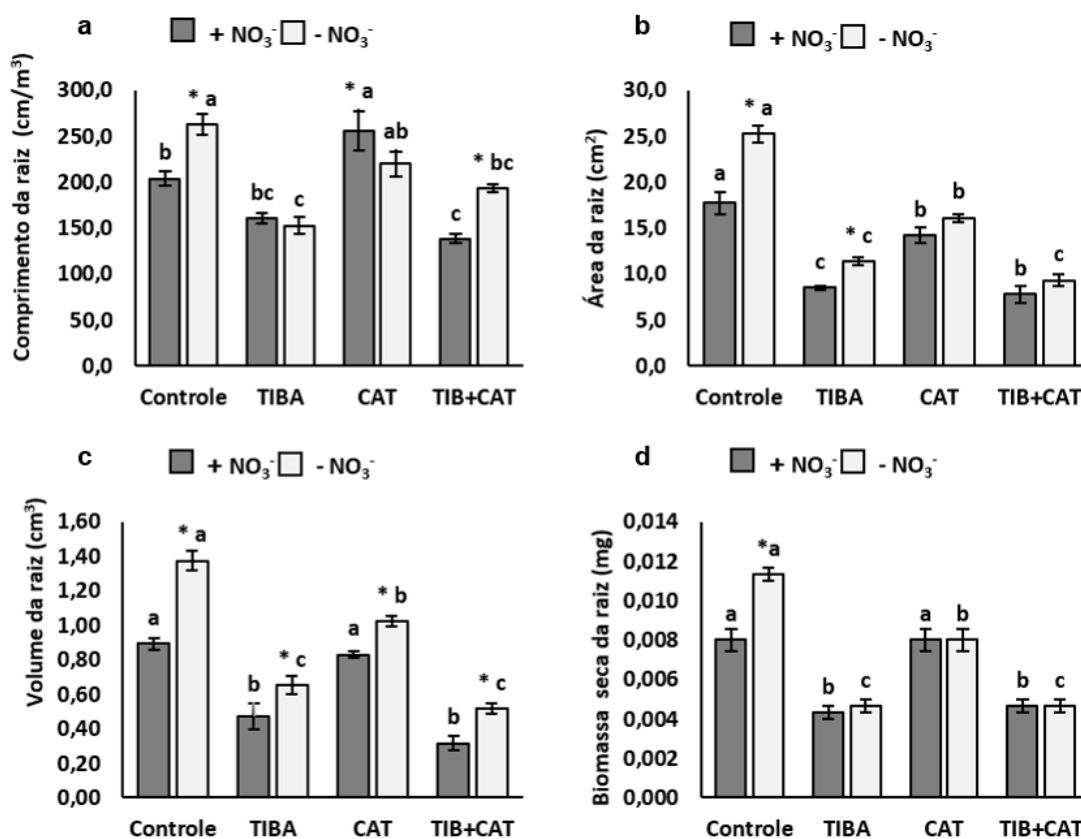
Nessa mesma condição, a presença isolada de CAT promoveu maior acúmulo de biomassa nas plantas. Na condição de deficiência de  $\text{NO}_3^-$  a biomassa de plantas teve efeito apenas da presença de TIBA, resultando em menor crescimento. Ao compararmos as duas condições de  $\text{NO}_3^-$ , de maneira geral, a concentração de  $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{NO}_3^-$  promoveu redução de aproximadamente 50% da biomassa seca da parte aérea das plantas (Figura 5b) e (Figura 6).



**Figura 6.** Aspectos gerais da parte aérea das plantas de tomateiro cultivadas sob deficiência ( $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ ) (a) e suficiência ( $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ ) (b) de  $\text{NO}_3^-$ .

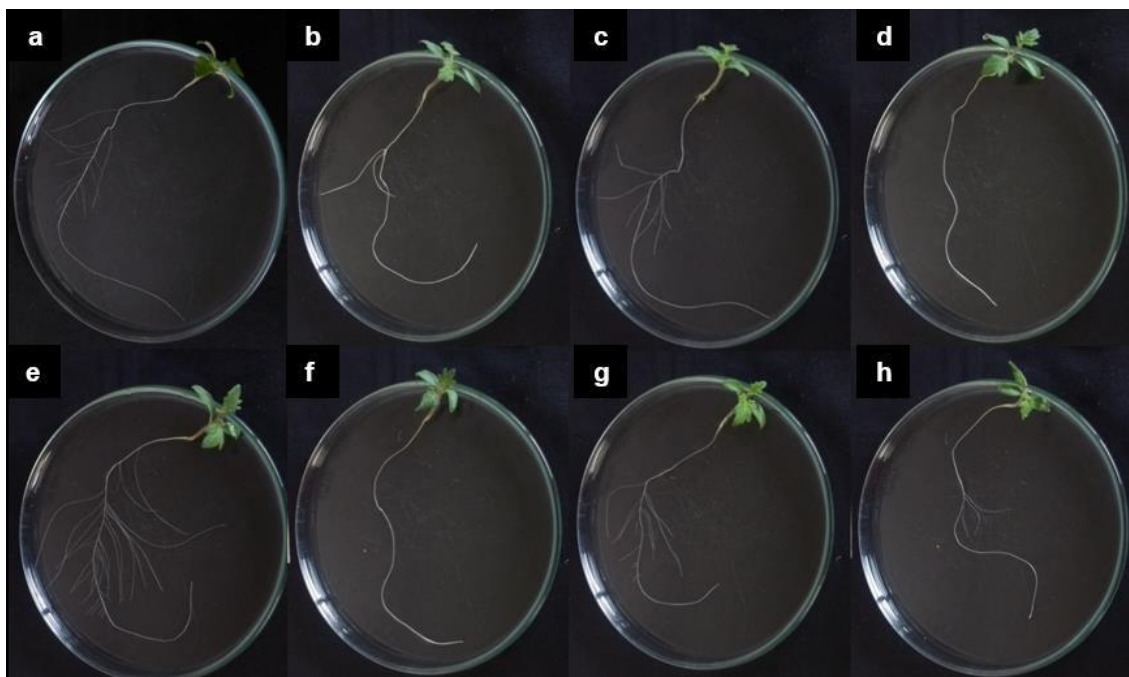
#### 4.3.2. Análises de crescimento do sistema radicular

Observamos que a presença de TIBA e de TIBA + CAT na solução nutritiva inibiu o crescimento do sistema radicular do tomateiro. Esse efeito é comprovado pela redução do comprimento, área, volume e biomassa do sistema radicular em ambas as condições de  $\text{NO}_3^-$  (Figura 7). A presença de CAT por sua vez promoveu maior comprimento da raiz (Figura 7a), porém não alterou os valores de volume (Figura 7c) e biomassa (Figura 7d) das raízes do tomateiro crescidas sob suficiência de  $\text{NO}_3^-$ , apesar de ter reduzido significativamente a área (Figura 7b) do sistema radicular. Em condições de deficiência de  $\text{NO}_3^-$  a presença isolada de CAT não promoveu efeitos significativos no comprimento de raiz (Figura 7a), porém reduziu significativamente a área (Figura 7b), volume (Figura 7c) e a biomassa seca (Figura 7d) do sistema radicular quando comparado com o tratamento controle. Interessantemente quando comparamos as duas condições de  $\text{NO}_3^-$ , a condição de deficiência promoveu maior crescimento do sistema radicular, como mostrado no tratamento controle (Figura 7a, b, c, d).



**Figura 7.** Efeito da presença do inibidor do transporte de auxinas (TIBA), de catalase exógena (CAT) e da Solução (TIBA + CAT) no comprimento (a), área (b), volume (c) e biomassa seca (d) do sistema radicular do tomateiro cultivado sob suficiência e deficiência de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. \* indica diferenças significativas a P < 0,05 pelo teste de Tukey entre as condições NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Letras iguais indicam que as medias não diferem entre si dentro da mesma condição de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.

A inibição do transporte de auxina pela adição de TIBA na solução nutritiva reduziu o crescimento das raízes tanto na suficiência como na deficiência de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (Figura 7a, b, c, d). Já o uso de CAT para eliminar as moléculas de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> produzidas pela deficiência de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> reduziu a área e a biomassa (Figura 7b e d) do sistema radicular do tomateiro de forma que o torna igual aos valores dessas variáveis na condição de suficiência de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Esses resultados podem ser visualizados nas imagens da Figura 8.

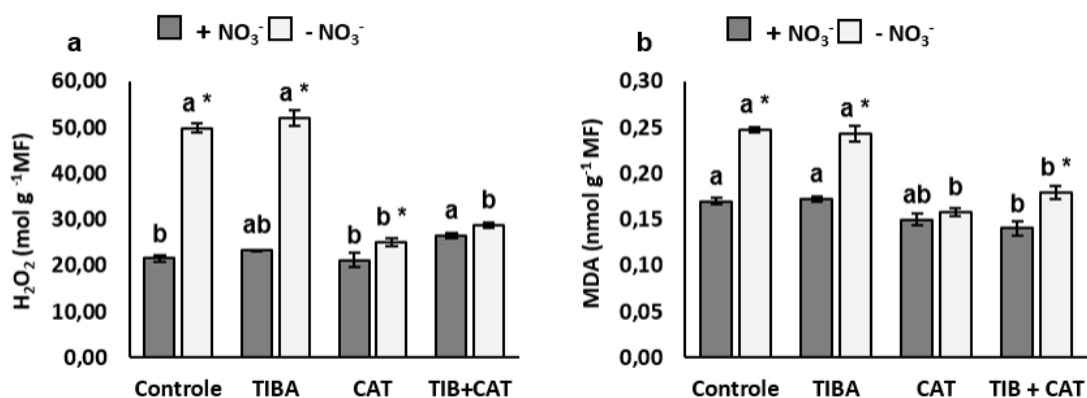


**Figura 8.** Aspectos gerais do sistema radicular das plantas de tomateiro cultivadas sob suficiência de  $\text{NO}_3^-$  (a) controle, (b) presença de TIBA, (c) presença de CAT e (d) presença da solução TIBA+CAT, e das plantas cultivadas sob deficiência de  $\text{NO}_3^-$  (e) controle, (f) presença de TIBA, (g) presença de CAT e (h) presença da solução TIBA+CAT.

#### 4.3.3. Conteúdo de $\text{H}_2\text{O}_2$ e Peroxidação lipídica do sistema radicular

O conteúdo de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Figura 9a) no sistema radicular do tomateiro sob condições suficientes de  $\text{NO}_3^-$  não foi alterado pela presença de TIBA, assim como pela presença de CAT, porém na presença da solução de TIBA + CAT ocorreu um pequeno aumento desse conteúdo quando comparamos com o tratamento controle nessa condição de  $\text{NO}_3^-$ . Na condição de deficiência, a solução com a presença de CAT e TIBA + CAT reduziram o conteúdo de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Porém, a solução de TIBA não alterou o conteúdo de  $\text{H}_2\text{O}_2$  no sistema radicular das plantas de Micro-Tom. Quando comparamos o conteúdo dessa ERO entre as duas condições de  $\text{NO}_3^-$ , observamos que a condição de deficiência promoveu a produção de elevados níveis de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e que a solução de TIBA não tem efeito sobre essa molécula. A CAT por sua vez promoveu a redução do conteúdo de  $\text{H}_2\text{O}_2$  do sistema radicular das plantas cultivadas sob deficiência de  $\text{NO}_3^-$  e isso resultou em níveis de  $\text{H}_2\text{O}_2$  semelhantes aos da condição de suficiência de  $\text{NO}_3^-$ .

O conteúdo de MDA (Figura 9b) do sistema radicular do tomateiro na condição de suficiência de  $\text{NO}_3^-$ , quando comparado com o controle, não sofreu alteração do TIBA, sendo levemente reduzido pela presença de CAT e da solução TIBA + CAT. Resultados semelhantes foram observados para condição de deficiência de  $\text{NO}_3^-$ , onde a presença de CAT e de TIBA + CAT reduziram o conteúdo de MDA. Quando comparamos o conteúdo de MDA entre as condições de  $\text{NO}_3^-$ , a deficiência apresenta os maiores conteúdos, tanto no tratamento controle como sob a presença de TIBA. Contudo, a presença de CAT promoveu uma redução no conteúdo de MDA na condição de deficiência de  $\text{NO}_3^-$  a ponto de equiparar aos níveis de MDA da condição de suficiência de  $\text{NO}_3^-$ .



**Figura 9.** Efeito da presença do inibidor do transporte de auxinas (TIBA), de catalase exógena (CAT) e da Solução (TIBA + CAT) no conteúdo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (9a) e de MDA (9b) do sistema radicular do tomateiro cultivado sob suficiência e deficiência de  $\text{NO}_3^-$ . \* Indica diferenças significativas a  $p < 0,05$  pelo teste de Tukey entre as condições  $\text{NO}_3^-$ . Letras iguais indicam que as médias não diferem entre si dentro da mesma condição de  $\text{NO}_3^-$ .

## 5. DISCUSSÃO

### 5.1. Modulação do N sobre o crescimento da parte aérea e das raízes do tomateiro

O N é amplamente relatado como um dos macronutriente mais requeridos para o crescimento e desenvolvimento das plantas, uma vez que compõe proteínas, aminoácidos, ácidos nucleicos, fitormônios e outras moléculas que desempenham funções estruturais, fisiológicas e ou genéticas nas plantas (Fageria, 2001; Xu et al., 2012; CastroRodríguez et al., 2017). Desta forma, baixas concentrações de N

no solo causam severos danos ao crescimento e desenvolvimento da vegetação agrícola ou natural. Dentre os efeitos da deficiência de N nas plantas, está a baixa eficiência do aparelho fotossintético que resulta principalmente em decréscimos elevados na biomassa da parte aérea da planta (Luo et al., 2019; Qin et al., 2018; Huang et al. 2017; Hak et al., 1993). Neste experimento, a concentração de  $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{NO}_3^-$  evidenciou os efeitos da deficiência de N na altura e biomassa da parte aérea das plantas de tomateiro, quando comparamos com as plantas sob a concentração de  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{NO}_3^-$  (Figura 5a e b) e (Figura 6).

Nas raízes, além do importante papel na composição de moléculas que atuam na estrutura e funcionamento celular, o  $\text{NO}_3^-$  vem sendo apontado como um sinalizador crucial para o seu crescimento e desenvolvimento, principalmente, em resposta aos estresses. Essa ação pode estar atrelada a sua participação no controle parcial da biossíntese, degradação, transporte e sinalização dos hormônios (Kiba et al., 2011, Vidal et al., 2015, Krouk, 2016; Ristova et al., 2016; Guan et al., 2017; Bellegarde et al., 2017; Liu et al., 2017). Diferentemente da parte aérea, o sistema radicular do tomateiro na condição de deficiência de  $\text{NO}_3^-$ , apresentou maior crescimento quando comparado com a condição de suficiência de  $\text{NO}_3^-$  no tratamento controle (Figura 7a, b, c e d) e (Figura 8). Neste sentido, há diversos relatos de que em respostas a deficiência de N, muitas espécies de plantas apresentam maior crescimento do sistema radicular, como por exemplo, em trigo (*Triticum aestivum L.*) (Singh et al., 2018), canola (*Brassica napus L.*) (Guo et al., 2017) e espécies arbóreas como álamos (*Populus L.*) (Luo et al., 2019). Essas alterações na arquitetura do sistema radicular estão atreladas a plasticidade das plantas, promovida como estratégia para interagirem com o ambiente, visto as constantes mudanças na disponibilidade de nutrientes no ambiente (Linkohr et al., 2002). Entretanto, as respostas de crescimento à deficiência de N em plantas podem depender da espécie e do estágio fenológico da planta (Moreira, 2011).

## **5.2. Interação entre N e auxinas no crescimento de raízes de tomateiro**

O crescimento do sistema radicular das plantas em resposta as diferentes concentrações de N estão relacionadas à ação das auxinas, uma vez que elas atuam como sinal de longo alcance para mediar o desenvolvimento do sistema

radicular sob essas condições (Forde e lorenzo, 2000; Krouk et al., 2010, Mounier et al., 2014). Em adição, os níveis de  $\text{NO}_3^-$  disponíveis para as plantas, podem agir de forma positiva ou negativa na regulação de genes que atuam nas respostas de biossíntese e ou transporte de auxinas (Won et al., 2011; Zhao, 2012; Yu et al., 2014). Esses fatores somados aos nossos resultados, fortalecem as evidências sobre a interação entre N e auxinas para modular o crescimento de raízes, uma vez que, sob deficiência de  $\text{NO}_3^-$ , houve maior crescimento do sistema radicular (Figura 7a, b, c e d) e (Figura 8). De fato, o transporte de auxinas das plantas é inibido através da adição de ácido 2,3,5-triiodo-benzóico (TIBA) na solução nutritiva. O TIBA inibiu consideravelmente a disponibilidade de auxinas no sistema radicular e isso reduziu drasticamente o crescimento do sistema radicular do Micro-Tom em ambas as condições de N (Figura 7a, b, c e d) e (Figura 8), deixando claro essa interdependência hormônio nutricional para as respostas do crescimento das raízes.

### **5.3. Interação entre N e $\text{H}_2\text{O}_2$ no crescimento das raízes do tomateiro**

A interação entre  $\text{NO}_3^-$  e auxinas para modular o desenvolvimento e crescimento do sistema radicular depende da ação e sinalização de outras moléculas reguladoras, bem como tem sido mostrado que algumas EROs, em especial o  $\text{H}_2\text{O}_2$ , medeia a organogênese de raízes laterais (Lewis et al., 2011; Bielach et al., 2012; Giehl et al., 2012). Relatos recentes mostram que o  $\text{H}_2\text{O}_2$  age nessa rede de sinalização ajustando o desenvolvimento das raízes, isso ocorre por meio de processos que alteram o transporte de auxinas direta ou indiretamente, sendo esta ação dependente dos níveis de  $\text{H}_2\text{O}_2$  na planta (Fernández-Marcos et al., 2013). Nossos resultados mostraram que em condições de deficiência de  $\text{NO}_3^-$ , há maior produção de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , assim como maior peroxidação lipídica no sistema radicular do tomateiro (Figura 9a e b). No entanto, nessa condição de N, o sistema radicular apresentou maior crescimento. Interessantemente, quando foi adicionado exogenamente a enzima catalase (CAT) à solução nutritiva, a mesma agiu inibindo o acúmulo das moléculas de  $\text{H}_2\text{O}_2$  no sistema radicular das plantas (Figura 9a), assim como o conteúdo de MDA (Figura 9b) foi reduzido. A redução dos níveis de  $\text{H}_2\text{O}_2$  do sistema radicular das plantas cultivadas em solução nutritiva com



deficiência de  $\text{NO}_3^-$  resultou em menor crescimento do sistema radicular (Figura 7b, c e d), fator que evidencia a modulação do crescimento radicular do tomateiro sob deficiência de  $\text{NO}_3^-$  pelas auxinas de forma dependente de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Diante do exposto, nossos resultados vão ao encontro das hipóteses de que dependendo dos níveis, o  $\text{H}_2\text{O}_2$  é crucial para a biossíntese, metabolismos, distribuição e transporte de auxinas como é descrito por Pasternak (2005) e Blomster (2011).

## 6. CONCLUSÕES

As concentrações de  $\text{NO}_3^-$  ( $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$  e  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ ) respectivamente promoveram deficiência e suficiência nutricional de N nas plantas. A deficiência de  $\text{NO}_3^-$  por sua vez, aumentou a produção de  $\text{H}_2\text{O}_2$  nas plantas de tomateiro e isso desencadeou respostas que resultaram em maior crescimento do sistema radicular.

O uso de um inibidor do transporte de auxinas (TIBA) a  $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  inibiu o transporte polar de auxina nas plantas em ambas as condições de  $\text{NO}_3^-$  e deixou fenotipicamente evidente a importância da presença das auxinas para as respostas das raízes à deficiência de  $\text{NO}_3^-$ .

A enzima catalase ( $200 \text{ U mL}^{-1}$ ) adicionada exogenamente à solução nutritiva, reduziu o conteúdo de  $\text{H}_2\text{O}_2$  nas raízes do tomateiro sob deficiência de  $\text{NO}_3^-$ , conseqüentemente, reduziu o crescimento do sistema radicular dessas plantas, fato que consistentemente evidencia que as auxinas agem de forma dependente do  $\text{H}_2\text{O}_2$  para modular o crescimento do sistema radicular do tomateiro sob deficiência de  $\text{NO}_3^-$ .

## 7. REFERÊNCIAS

Alboresi A, Gustin C, Leydecker MT, Bedu M, Meyer C, Truong HN (2005) Nitrate, a signal relieving seed dormancy in Arabidopsis. **Plant, cell and environment**. 28: 500-512. doi.org/10.1111/j.1365-3040.2005. 01292.x

Alexieva V, Sergiev I, Mapelli S, Karanov E (2001) The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant Cell and Environment**. 24: 1337-1344. doi.org/10.1046/j.1365-3040.2001. 00778.x

Aloni R, (2013) Role of hormones in controlling vascular differentiation and the mechanism of lateral root initiation. **Planta**. 238: 819-830. doi.org/10.1007/s00425-013-1927-8

Andrade CA, Souza KRD, Oliveira SM, Silva DM, Alves JD (2018) Hydrogen peroxide promotes the tolerance of soybeans to waterlogging. **Scientia Horticulturae**. 232: 40-45. doi.org / 10.1016/j.scienta.2017.12.048

Bagheri M, Gholami M, Baninasab B (2019) Hydrogen peroxide-induced salt tolerance in relation to antioxidant systems in pistachio seedlings. **Scientia Horticulturae**. 243: 207-213. doi.org/ 10.1016/j.scienta.2018.08.026

Bailly A, Sovero V, Vincenzetti V, Santelia D, Bartnik D, Koenig BW, Mancuso S, Martinoia E, Geisler M (2008) Modulation of P-glycoproteins by auxin transport inhibitors is mediated by interaction with immunophilins. **The Journal of Biological Chemistry**. 283: 21817-21826. doi: 10.1074/jbc.M709655200

Barbosa JC, Maldonado Júnior W (2015) Software AgroEstat: **Sistema de análises estatísticas de ensaios agrônômicos**. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, SP.

Barreto RF (2019) **Interação entre silício e citocininas nas respostas do tomateiro à toxicidade de amônio**. Tese (Doutorado em Agronomia-Produção vegetal) - UNESP, Jaboticabal. <http://hdl.handle.net/11449/182116>

Bhardwaj D, Medici A, Gojon A, Lacombe B, Tuteja N (2015) A new insight into root responses to external cues: paradigm shift in nutrient sensing. **Plant Signal Behav**. 10. doi.org/10.1080/15592324.2015.1049791

Caba MJ, Centeno LM, Fernández B, Gressboff MP, Ligeró F (2000) Inoculation and nitrate alter phytohormone levels in soybean roots: differences between a supernodulating mutant and the wild type. **Planta**. 211: 98-104. doi.org/10.1007/s004250000265

Campos ML, Carvalho RF, Benedito VA, Peres LEP (2010) Small and remarkable The Micro-Tom model system as a tool to discover novel hormonal functions and interactions. **Plant Signaling e Behavior**. 5: 267-270. doi.org/10.4161/psb.5.3.10622

Carvalho RF, Campos ML, Pino LE, Crestana SL, Zsögön A, Lima JE, Benedito VA, Peres LEP (2011) Convergence of developmental mutants into a single tomato model system: 'Micro-Tom' as an effective toolkit for plant development research. **Plant Methods**. 7. doi.org/10.1186/1746-4811-7-18>.

Castro-Rodríguez V, Cañas RA, de La Torre F N, Pascual MB, Avila C, Cánovas F FM (2017) Molecular fundamentals of nitrogen uptake and transport in trees. **Journal of Experimental Botany**. 68: 2489–2500. doi.org/10.1093/jxb/erx037

Cerný M, Habánová H, Berka M, Luklová M, Brzobohatý B (2018) Hydrogen Peroxide: Its Role in Plant Biology and Crosstalk with Signalling Networks. **International Journal of Molecular Sciences**. 19: 2812. doi: 10.3390/ijms19092812

Choi W G, Miller G, Wallace L, Harper J, Mittler, R, Gilroy S (2017) Orchestrating rapid long-distance signaling in plants with Ca<sup>2+</sup>, ROS and electrical signals. **The Plant Journal**. 90: 698-707. doi: 10.1111/tpj.13492

Cohen I, Moshe Halpern M, Yermiyahu U, Bar-Tal A, Tanya Gendler T, Shimon Rachmilevitch S (2019) CO<sub>2</sub> and nitrogen interaction alters root anatomy, morphology, nitrogen partitioning and photosynthetic acclimation of tomato plants. **Planta**. 250: 1423-1432. doi.org/10.1007/s00425-019-03232-0

Delbarre A, Muller P, Imhoff V, Guern J (1996) Comparison of mechanisms controlling uptake and accumulation of 2,4-dichlorophenoxy acetic acid, naphthalene-1-acetic acid, and indole-3-acetic acid in suspension-cultured tobacco cells. **Planta**. 198: 532–541.

Depta H, Eisele KH, Hertel R (1983) Specific inhibitors of auxin transport - action on tissue segments and *in vitro* binding to membranes from maize coleoptiles. **Plant Science Letters**. 31: 181–192. doi.org/10.1007/BF00384978

Dunand C, Crèveceur M, Penel C (2007) Distribution of superoxide and hydrogen peroxide in *Arabidopsis* root and their influence on root development: possible interaction with peroxidases. **New Phytologist**. 174: 332–341. doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.01995.x

Fageria NK, Moreira A. (2011) The role of mineral nutrition on root growth of crop plants. In Donald L. Sparks (ed) **Advances in Agrônoma**. 110: 251-331. ISBN: 978-0-12-385531-2

Fageria VD (2006) Nutrient interactions actions in crop. **Journal of Plant Nutrition**. 24:1269-1290. doi.org/10.1081/PLN-100106981

Fernández-Marcos M, Sanz L, Lewis RD, Muday KG, Lorenzo O (2011) Nitric oxide causes root apical meristem defects and growth inhibition while reducing PIN-FORMED 1 (PIN1)-dependent acropetal auxin transport. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. 108: 18506-11. doi: 10.1073/pnas.1108644108.

Flores R A, Borges BMMN, Almeida H, Prado RDM (2016) Growth and Nutritional Disorders of Coffee Cultivated in Nutrient Solutions with Suppressed Macronutrients. **Journal of Plant Nutrition**. 39: 1578-1588. doi.org/10.1080/01904167.2016.1161777

Forde B, Lorenzo H (2001) The nutritional control of root development. **Plant Soil**. 232: 51–68. Doi.org/ 10.1023/A:1010329902165

Foyer CH, Noctor G (2012) Managing the cellular redox hub in photosynthetic organisms. **Plant Cell and Environmental**. 35:199–201. doi.org/10.1111/j.1365-3040.2011.02453.x

Fujita H, Syōno K (1996) Genetic analysis of the effect of polar transport inhibitors on root growth in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Cell Physiol**. 37 1094–1101. doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a029059

Fusconi A (2014) Regulation of root morphogenesis in arbuscular mycorrhizae: what role do fungal exudates, phosphate, sugars and hormones play in lateral root formation? **Annals of Botany**. 113: 19–33. doi.org/10.1093/aob/mct258

Gaion LA (2017 a) **Uso de um mutante em giberelinas na enxertia de tomateiro para estudar o papel desse hormônio na sinalização entre a raiz e parte aérea durante o déficit hídrico**. Tese (Doutorado em Agronomia-Produção vegetal) - UNESP, Jaboticabal.

Gaion LA, Baldo A, Júnior DDF, D'amico-Damião V, Carvalho RF (2017b) Ethylene modulates tomato growth during drought stress. **HOLOS Environment** (Online), v. Suplem, p. 8195.

Gaion LA, Júnior JCM, Barreto RF, D'amico-Damião V, Prado RM, Carvalho RF (2019) Amplification of gibberellins response in tomato modulates calcium metabolism and blossom end rot occurrence. **Scientia Horticulturae**. 246: 498-505. 10.1016/j.scienta.2018.11.032

Gaion LA, Monteiro CC, Cruz FJR, Rossato DR, López-Díaz I, Carrera E, Lima JE, Perez LEP, Carvalho RF (2018) Constitutive gibberellin response in grafted tomato modulates root-to-shoot signaling under drought stress. **Journal of plant Physiology**. 221 11-21. doi.org/10.1016/j.jplph.2017.12.003

Garnett T, Conn V, Kaiser BN (2009) Root based approaches to improving nitrogen use efficiency in plants. **Plant, cell and environment**. 32 1272-1283. doi.org/10.1111/j.1365-3040.2009.02011.x

Ge XM, Cai HL, Lei X, Zou X, Yue ME, He JM (2015) A proteína G heterotrimérica medeia o fechamento estomático induzido por etileno via síntese de peróxido de hidrogênio em Arabidopsis. **Plant J**. 82:138-150. doi: 10.1111 / tpj.12799

Giehl RFH, Gruber BD, von Wirén N (2014) It's time to make changes: modulation of root system architecture by nutrient signals. **J Exp Bot** 65:769–778

Gilroy S, Bialasek M, Suzuki N, Górecka M, Devireddy AR, Karpiński S, Mittler R (2016) ROS, calcium, and electric signals: key mediators of rapid systemic signaling in plants. **Plant Physiology**. 171:1606-1615. doi: 10.1104/pp.16.00434

Gojon A, Krouk G, Walker-Perrine F, Laugier E (2011) Nitrate transceptors in plants. **Journal of Experimental Botany**. 62: 2299-2308. doi.org/10.1093/jxb/erq419

Gratão PL, Monteiro CC, Carvalho RF, Tezotto T, Piotto FA, Peres LEP, Azevedo RA (2012) Biochemical dissection of diageotropica and never ripe tomato mutants to Cd stressful conditions. **Plant Physiol. Biochem**. 56:79-96.

Guan P, (2017) Dancing with Hormones: A Current Perspective of Nitrate Signaling and Regulation in Arabidopsis. **Frontiers in Plant Science**. doi.org/10.3389/fpls.2017.01697

Guo Q, Love J, Roche J, Song J, Turnbull MH, Jameson PE (2017) A RootNav analysis of morphological changes in *Brassica napus* L. roots in response to

different nitrogen forms. **Plant Growth Regulation**. 83: 83-92. Doi: 10.1007/s10725-017-0285-0

Guo Y, Chen F, Zhang F, Mi G (2005) Auxin transport from shoot to root is involved in the response of lateral root growth to localized supply of nitrate in maize. **Plant Science**. 169: 894-900. dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2005.06.007

Hak R, Rinderlezimmer U, Lichtenthaler HK, Natr L (1993) Chlorophyll-a fluorescence signatures of nitrogen deficient barley leaves. **Photosynthetica**. 28: 151–159. ISSN: 0300-3604

Hasanuzzaman M, Nahar K, Gill SS, Alharby HF, Razafindrabe BH, Fujita M (2017) Hydrogen peroxide pretreatment mitigates cadmium-induced oxidative stress in *Brassica napus* L.: an intrinsic study on antioxidant defense and glyoxalase systems. **Frontiers in plant science**. 8:115. doi: 10.3389/fpls.2017.00115

Heath RL, Packer L (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplast I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**. 125: 2141–2145. doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1

Hernández-Barrera A, Velarde-Buendía A, Zepeda I, Sanchez F, Quinto C, Sánchez-Lopez R, Cardenas L (2015) Hyper, a hydrogen peroxide sensor, indicates the sensitivity of the Arabidopsis root elongation zone to aluminum treatment. **Sensors**. 15:855-867. doi: 10.3390 / s150100855

Hirel B, Le Gouis J, Ney B, Gallais A (2007) The challenge of improving nitrogen use efficiency in crop plants: towards a more central role for genetic. **Journal of Experimental Botany**. 58: 2369–2387. doi.org/10.1093/jxb/erm097

Ho CH, Lin SH, Hu HC, Tsay YF. 2009. CHL1 functions as a nitrate sensor in plants. **Cell**. 138: 1184–1194. doi.org/10.1016/j.cell.2009.07.004

Hoagland DR. Arnon DI (1950) The water culture method for growing plants without soils. Berkeley: **California Agricultural Experimental Station**, 347p.

Huang K, Liao Y, Dong T, Yang Y, He J, Huan H, Zhang Q, Xu X (2018) Sex-specific responses of tree-ring growth to climate in the dioecious tree *Populus cathayana*. **Journal of Plant Ecology**. 11: 771–779. doi.org/10.1093/jpe/rtx048

Hung SH, Yu CW, Lin CH (2005) Hydrogen peroxide function as a stress signal in plants. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**. 46: 1–10.

Ishibashi Y, Aoki N, Kasa S, Sakamoto M, Kai K, Tomokiyo R, Watabe G, Yuasa T, Iwaya-Inoue M (2017) The interrelationship between abscisic acid and reactive oxygen species plays a key role in barley seed dormancy and germination. **Frontiers in plant science**. 8:275. doi:org/10.3389/fpls.2017.00275

Ishibashi Y, Yamaguchi H, Yuasa T, Iwaya-Inoue M, Arima S, Zheng SH (2011) Hydrogen peroxide spraying alleviates drought stress in soybean plants. **Journal of plant physiology**. 168:1562-1567. doi: 10.1016/j.jplph.2011.02.003

Ivanchenko GM, Os den D, Monshausen BG, Dubrovsky GJ, Bednárova A, Krishnan, N (2013) Auxin increases the hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) concentration in tomato (*Solanum lycopersicum*) root tips while inhibiting root growth. **Annals of Botany**. 112: 1107-1116. Doi: 10.1093/aob/mct181

Joo JH, Bae YS, Lee JS (2001) Role of auxin-induced reactive oxygen species in root gravitropism. **Plant Physiology**. 126: 1055-1060. doi.org/10.1104%2Fpp.126.3.1055

Jung JKH, McCouch S (2013) Getting to the roots of it: genetic and hormonal control of root architecture. **Front. Plant Sci**. 18: 186. doi: 10.3389/fpls.2013.00186

Kapulnik Y, Resnick N, Mayzlish-Gati E, Kaplan Y, Winiger S, Hershenhom J, Koltai H (2011) Strigolactones interact with ethylene and auxin in regulating root-hair elongation in Arabidopsis. **Journal of Experimental Botany**. 62: 2915–2924. doi: 10.1093/jxb/erq464.

Khan TA, Yusuf M, Fariduddin Q (2018) Hydrogen peroxide in regulation of plant metabolism: Signalling and its effect under abiotic stress. **Photosynthetica**. 1-12. doi:org/10.1007/s11099-018-0830-8

Kiba T, Kudo T, Kojima M, Sakakibara H (2011) Hormonal control of nitrogen acquisition: roles of auxin, abscisic acid, and cytokinin. **J. Exp. Bot**. 62: 1399-1409. doi: 10.1093/jxb/erq410

Klima P, Lankova M, Zazimalova E. 2016. Inhibitors of plant hormone transport. **Protoplasma**. 253: 1391–1404. doi.org/10.1007/s00709-015-0897-z

KOOHKAN, H.; MAFTOUN, M. (2016) Effect of Nitrogen–Boron Interaction on Plant Growth and Tissue Nutrient Concentration of Canola (*Brassica napus* L.). **Journal of Plant Nutrition**. 39: 922-931. dx.doi.org/10.1080/01904167.2016.1143492>.

KOORNNEEF M, MEINKE D (2010) The development of Arabidopsis as a model plant. **The Plant Journal**. 61: 909-921. doi: 10.1111/j.1365-313X.2009.04086.x.

Krouk G (2016) Hormones and nitrate: a two-way connection. **Plant Mol. Biol.** 91, 599–606. doi: 10.1007/s11103-016-0463-x.

Krouk G, Lacombe B, Bielach A, Walker-Perrine F, Malinska K, Mounier E, Hoyerova K, Tillard P, Leon S, Ljung K, Zazimalova E, Benkova E, Nacry P, Gojon A (2010) Nitrate-regulated auxin transport by NRT1.1 defines a mechanism for nutrient sensing in plants. **Developmental Cell**. 18: 927-937. doi: 10.1016/j.devcel.2010.05.008.

Krouk G, Ruffel S, Gutierrez RA, Gojon A, Crawford NM, Coruzzi GM (2011) A framework integrating plant growth with hormones and nutrients. **Trends Plant Sci**. 16: 178–182. doi: 10.1016/j.tplants.2011.02.004.

Léran S, Edel KH, Pervent M, Hashimoto K, Corratgé-Faillie C, Offenborn JN, Lacombe B (2015) Nitrate sensing and uptake in Arabidopsis are enhanced by ABI2, a phosphatase inactivated by the stress hormone abscisic acid. **Scientia Signal**. 8. doi.org/10.1126/scisignal.aaa4829>.

Li S, Su LR, Ma SY, Shi ZZ, Yang X M (2015) Initial exploration of the mechanism underlying H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced root horizontal bending in pea. **Sci. Bull.** 60: 1298-1300.

Lima CCA, Silva LJ, Castro WS (2006) Apostila de morfologia externa vegetal. **UFU – Instituto de Biologia**. 7. Disponível em: <http://www.anatomiavegetal.ib.ufu.br/pdf/recursosdidaticos/morfvegetalorgaRAIZ.pdf> >. Acesso em 15 ago. 2019.

Linkohr BI, Williamson LC, Fitter AH, Leyser OHM (2002) Nitrate and phosphate availability and distribution have different effects on root system architecture of Arabidopsis. **The Plant Journal**. 29: 751-760. doi.org/10.1046/j.1365-313x.2002.01251.x



Liu J, Na X, Cheng L, Chen F, Bao J, Yuan L, Zhang F, Mi G (2010) Auxin transport in maize roots in response to localized nitrate supply. **Annals of Botany**. 106: 1019–1026. doi: 10.1093/aob/mcq202

Liu KH, Niu Y, Konishi M, Wu Y, Du H, Chung HS (2017) Discovery of nitrate–CPK–NLP signalling in central nutrient–growth networks. **Nature**. 545: 311–316. doi: 10.1038/nature22077

Liu KH, Tsay YF (2003) Switching between the two action modes of the dual-affinity nitrate transporter CHL1 by phosphorylation. **The Embo Journal**. 22: 1005–1013. doi.org/10.1093/emboj/cdg118

Luo J, Zhou JJ (2019) Growth performance, photosynthesis, and root characteristics are associated with nitrogen use efficiency in six poplar species. **Environmental and Experimental Botany**. 164: 40–51. ISSN:0098-8472

Lynch J (1995) Root architecture and plant productivity. **Plant Physiology**. 109: 7–13. doi.org/10.1104/pp.109.1.7

Ma W, Li J, Qu B, He X, Zhao X, Li B, Tong Y (2014) Auxin biosynthetic gene TAR2 is involved in low nitrogen-mediated reprogramming of root architecture in Arabidopsis. **The Plant Journal**. 78: 70–79. dx.doi.org/10.1111/tpj.12448

Marschner H. (2012) **Mineral nutrition of higher plants**. 3. ed. Oxford: Elsevier, 643 p.

Meissner R, Jacobson Y, Melamed S, Levyatuv S, Shaley G, Ashri A, Elkind Y, Levy A (1997) A new model system for tomato genetics. **Plant Journal**. 12: 1465–1472. doi.org/10.1046/j.1365-3113x.1997.12061465.x

Mendes AFS, Cidade LC, Otoni WC, Soares-filho WS, Costa MGC (2011) Role of auxins, polyamines and ethylene in root formation and growth in sweet orange. **Biologia Plantarum**. 55: 375–378.

Michalke W, Katekar GF, Geissler AE (1992) Phytotropin-binding sites and auxin transport in *Cucurbita pepo*: evidence for two recognition sites. **Planta**. 187: 254–260.

Mounier E, Pervert M, Ljung K, Gojon A, Nacry P (2014) Auxin - mediated nitrate signalling by NRT1.1 participates in the adaptive response of Arabidopsis root architecture to the spatial heterogeneity of nitrate availability. **Plant, Cell and Environment**. 37: 162-174. doi: 10.1111/pce.12143.

Mravec J, Kubes M, Bielach A (2008) Interaction of PIN and PGP transport mechanisms in auxin distribution-dependent development. **Development** 135: 3345–3354. doi.org/10.1242/dev.021071

Muday GK, Brunn SA, Haworth P, Subra-Manian M (1993) Evidence for a single naphthylphthalamic acid binding site on the zucchini plasma membrane. **Plant Physiol**. 103: 449–456. doi.org/10.1104/pp.103.2.449

Muños S, Cazettes C, Fizames C, Gaymard F, Tillard P, Lepetit M, Lejay L, Gojon A (2004) Transcript profiling in the *chl1-5* mutant of Arabidopsis reveals a role of the nitrate transporter NRT1.1 in the regulation of another nitrate transporter, NRT2.1. **Plant Cell**. 16, p. 2433–2447. doi.org/10.1105/tpc.104.024380

Nil L, Liao W (2016) Hydrogen Peroxide Signaling in Plant Development and Abiotic Responses: Crosstalk with Nitric Oxide and Calcium. **Front Plant Sci**. 4:7:230. doi: 10.3389/fpls.2016.00230

Noguero M, Lacombe B (2016) Transporters Involved in Root Nitrate Uptake and Sensing by Arabidopsis. **Frontiers in Plant Science**. 7: 1391.

Orozco-Cardenas ML, Narvaez-Vasquez J, Ryan CA (2001) Hydrogen peroxide acts as a second messenger for the induction of defense genes in tomato plants in response to wounding, systemin, and methyl jasmonate. **Plant Cell**. 13: 179-191. P

Pei ZMY, Murata G, Benning S, Thomine B, Klusener G J, Allen E (2000) Calcium channels activated by hydrogen peroxide mediate abscisic acid signalling in guard cells. **Nature**. 406: 731-734. doi.org/10.1038/35021067

PRADO, R. M. (2008) **Nutrição de plantas**. Editora Unesp.

Qin F, Liu G, Huang G, Dong T, Liao Y, Xu X (2018) Zinc application alleviates the adverse effects of lead stress more in female *Morus alba* than in males. **Environ. Exp. Bot**. 146: 68–76. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2017.10.003

Rincon A, Priha O, Sotta B, Bonnet ML, Tacon F (2003) Comparative effects of auxin transport inhibitors on rhizogenesis and mycorrhizal establishment of spruce seedlings inoculated with *Laccaria bicolor*. **Tree Physiol.** 23: 785–791. doi.org/10.1093/treephys/23.11.785

Ristova D, Carre C, Pervent M (2016) Combinatorial interaction network of transcriptomic and phenotypic responses to nitrogen and hormones in the *Arabidopsis thaliana* root. **Sci. Signal.** 9: rs13. doi.org/10.1126/scisignal.aaf2768

Rodrigues O, Reshetnyak G, Grondin A, Saijo Y, Leonhardt N, Maurel C, Verdoucq L (2017) Aquaporins facilitate hydrogen peroxide entry into guard cells to mediate ABA-and pathogen-triggered stomatal closure. **Proceedings of the National Academy of Sciences.** 114: 9200-9205. doi.org/10.1073/pnas.1704754114.

Rubery PH. 1990. Phytotropins: receptors and endogenous ligands. Symposia of the Society for Experimental Biology 44: 119–146.

Rubio V, Bustos R, Irigoyen LM, Cardona-López X, Rojas-Triana M, Paz-Ares J (2009) Plant hormones and nutrient signaling. **Plant Molecular Biology.** 69: 361-373. doi: 10.1007/s11103-008-9380-y.

Saniewski M, Góraj J, Węgrzynowicz-Lesiak E, Miyamoto K, Ueda J (2014) Differential effect of auxin transport inhibitors on rooting in some Crassulaceae species. **Acta Agrobot.** 67: 85–92. doi.org/10.5586/aa.2014.028

Saniewski M, Góraj-Koniarska J, Gabryszewska E, Miyamoto K, Ueda J (2017) Differential effects of *N*-1- naphthylphthalamic acid (NPA) and 2,3,5-triiodobenzoic acid (TIBA) on auxin control of swelling of the shoots of *Bryophyllum calycinum* Salisb. **Acta Agrobot.** 70: 1723. doi.org/10.5586/aa.1723

Santos LCN (2016) Uso de um mutante em auxina no estudo da desordem nutricional de nitrogênio em tomateiro. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Jaboticabal. <http://hdl.handle.net/11449/150819>

Scott JW, Harbaugh BK (1989) Micro-Tom: a miniature dwarf tomato. Florida: Florida Agricultural Experimental Station Circular, 1989, 6 p. (**University of Florida, Agricultural Experimental Station, S-370**).

Sewelam N, Kazan K, Schenk PM (2016) Global plant stress signaling: reactive oxygen species at the cross-road. **Frontiers in plant science**. 7:187. doi: 10.3389/fpls.2016.00187.

Si T, Wang X, Zhao C, Huang M, Cai J, Zhou Q, Jiang D (2018) The role of hydrogen peroxide in mediating the mechanical wounding-induced freezing tolerance in wheat. **Frontiers in plant science**. 9:327. doi: 10.3389/fpls.2018.00327

Sies H (2017) Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule in physiological oxidative stress: oxidative eustress. **Redox biology**. 11: 613-619. doi: 10.1016/j.redox.2016.12.035.

Sozzani R, Lyer-Pascuzzi A (2014) Postembryonic Control of root meristema growth and development. **Current Opinion in Plant Biology**. 17: 7-12. doi.org/10.1016/j.pbi.2013.10.005

Sun CH, Yu JQ and Hu D G (2017) Nitrate: a crucial signal during lateral roots development. **Front Plant Sci**. 8: 485. doi.org/10.3389/fpls.2017.00485

Sun J e Zheng N (2015) Molecular mechanism underlying the plant NRT1.1 dual-affinity nitrate transporter. **Front Physiol**. 6: 386. doi.org/10.3389/fphys.2015.00386

Sussman MR, Goldsmith MH (1981) The action of specific inhibitors of auxin transport on uptake of auxin and binding of N-1-naphthylphthalamic acid to a membrane site in maize coleoptiles. **Planta**. 152: 13–18.

Tamaki V, Mercier H (2007) Cytokinins and auxin communicate nitrogen availability as long-distance signal molecules in pineapple (*Ananas comosus*). **Journal of Plant Physiology**. 164: 1543 –1547. doi.org/10.1016/j.jplph.2007.01.010

Teale W, Palme K (2018) Naphthylphthalamic acid and the mechanism of polar auxin transport. **Journal of Experimental Botany**. 69: 303 – 312. doi:10.1093/jxb/erx323

Tewari RK, Kumar P, Tewari N, Srivastava S, Sharma PN (2004) Macronutrient deficiencies and differential antioxidant responses - Influence on the activity and expression of superoxide dismutase in maize. **Plant Science** 166: 687– 694. DOI: 10.1016/j.plantsci.2003.11.004

Trevisan S, Trentin AR, Ghisi R, Masi A, Quaggiotti S (2019) Nitrate affects transcriptional regulation of UPBEAT1 and ROS localization in roots of *Zea mays* L. **Physiologia Plantarum**. 166: 794–811. doi.org/10.1111/ppl.12839

Tsay YF, Chiu CC, Tsai CB, Ho CH, Hsu PK (2007). Nitrate transporters and peptide transporters. **FEBS Letters**. 581: 2290-2300. doi.org/10.1016/j.febslet.2007.04.047

Tsay YF, Schroeder JI, Feldmann KA, Crawford NM (1993) The herbicide sensitivity gene CHL1 of *Arabidopsis* encodes a nitrate-inducible nitrate transporter. **Cell**. 72: 705-713. doi.org/10.1016/0092-8674(93)90399-b

Veal E, Day A (2011) Hydrogen Peroxide as a Signaling Molecule. **Antioxidants & redox signaling**. 15: 1. doi.org/10.1089/ars.2011.3968

Vidal EA, Álvarez JM, Moyano TC, Gutiérrez RA (2015) Transcriptional networks in the nitrate response of *Arabidopsis thaliana*. **Curr. Opin. Plant Biol.** 27: 125-132. doi.org/10.1016/j.pbi.2015.06.010

White PJ, George TS, Gregory PJ, Bengough AG, Hallett PD, McKenzie BM (2013) Matching roots to their environment. **Ann Bot.** 112: 207–222. doi.org/10.1093/aob/mct123

Wojtyla L, Lechowska K, Kubala S, Garnczarska M (2016b) Molecular processes induced in primed seeds—increasing the potential to stabilize crop yields under drought conditions. **Journal of plant physiology**. 203:116-126. doi.org/10.1016/j.jplph.2016.04.008

Won C, Shen X, Mashiguchi K, Zheng Z, Dai X, Cheng Y (2011) Conversion of tryptophan to indole-3-acetic acid by TRYPTOPHAN AMINOTRANSFERASES OF ARABIDOPSIS and YUCCAs in *Arabidopsis*. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.** 108: 18518-18523. doi.org/10.1073/pnas.1108436108

Xu G, Fan X, Miller AJ (2012) Plant nitrogen assimilation and use efficiency. **Annual Review of Plant Biology**. 63: 153-182. doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105532

Ye YJ, Tian WH, Jin CW (2019) A reevaluation of the contribution of NRT1.1 to nitrate uptake in *Arabidopsis* under low-nitrate supply. **Federation of European Biochemical Societies**. doi.org/10.1002/1873-3468.13473

Yu LH, Miao ZQ, Qi GF, Wu J, Cai XT, Mao JL (2014) MADS-Box transcription factor AGL21 regulates lateral root development and responds to multiple external and physiological signals. **Mol. Plant.** 7: 1653-1669. doi.org/10.1093/mp/ssu088

Zhao FY, Han MM, Zhang SY, Wang K, Zhang CR, Liu T, Liu W (2012) Hydrogen peroxide-mediated growth of the root system occurs via auxin signaling modification and variations in the expression of cell-cycle genes in rice seedlings exposed to cadmium stress. **Journal of Integrative Plant Biology.** 54: 991-1006. doi.org/10.1111/j.1744-7909.2012.01170.x

Zhou L, Hou H, Yang T, Yuke Lian Y, Sun Y, Zhiyuan Bian Z, Wang C (2018) Exogenous hydrogen peroxide inhibits primary root gravitropism by regulating auxin distribution during Arabidopsis seed germination. **Plant Physiology and Biochemistry.** 128: 126-133. doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.05.014

Zhu J, Hui F, Li M, Ma Y, Yu H, Jiang W (2015) Effect of different nitrogen concentrations on roots architecture and nitrogen use efficiency in potting tomato seedling. **Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering.** 31: 131-137. doi.org/10.11975/j.issn.1002-6819.2015.23.017

## 8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos resultados obtidos neste trabalho e considerando que eles servem de base para linear novas hipóteses e perguntas sobre esse complexo mecanismo da interações entre  $\text{NO}_3^-$ , auxinas e  $\text{H}_2\text{O}_2$  para que ocorra a modulação e o controle hormonal e nutricional do crescimento do sistema radicular das plantas, fator de extrema importância para produção agrícola, é muito importante que com base no que foi evidenciado, novos estudos sejam realizados, buscando por meio de técnicas e ferramentas como o uso do sistema de genes reporte DR5:GUS para auxinas, detecção de  $\text{H}_2\text{O}_2$  in situ, análises referente a transdução de sinais e bases genéticas e proteomica, deixar mais claro os mecanismos bioquímicos e moleculares envolvidos nessas respostas.