



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Campus de Botucatu



**ANDREW KIM LOPES FERRAZ**

**ÓXIDO NÍTRICO NA REDUÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO INDUZIDO  
POR HERBICIDA EM PLANTAS DE MELÃO**

**Botucatu**

**2021**



**ANDREW KIM LOPES FERRAZ**

**ÓXIDO NÍTRICO NA REDUÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO INDUZIDO  
POR HERBICIDA EM PLANTAS DE MELÃO**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Agronomia (Horticultura)

**Orientadora: Profa. Dra. Elizabeth Orika Ono**

**Botucatu**

**2021**

F381o Ferraz, Andrew Kim Lopes  
Óxido nítrico na redução do estresse oxidativo induzido por herbicida em plantas de melão / Andrew Kim Lopes Ferraz. – Botucatu, 2021  
88 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu  
Orientadora: Elizabeth Orika Ono

1. Fisiologia Vegetal. 2. Estresse oxidativo. 3. Melão. 4. Aminoácidos biogênicos. 5. Enzimas. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.


**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

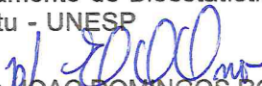
**TÍTULO DA TESE: ÓXIDO NÍTRICO NA REDUÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO INDUZIDO POR HERBICIDAS EM PLANTAS DE MELÃO**


**AUTOR: ANDREW KIM LOPES FERRAZ**

**ORIENTADORA: ELIZABETH ORIKA ONO**


Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AGRONOMIA (HORTICULTURA), pela Comissão Examinadora:

  
Profa. Dra. ELIZABETH ORIKA ONO (Participação Virtual)  
Departamento de Bioestatística, Biologia Vegetal, Parasitologia e Zoologia / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP

  
Prof. Dr. JOAO DOMINGOS RODRIGUES (Participação Virtual)  
Departamento de Bioestatística, Biologia Vegetal, Parasitologia e Zoologia / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP

  
Prof.ª Dr.ª GIUSEPPINA FACE PEREIRA LIMA (Participação Virtual)  
Ciências Químicas e Biológicas / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP

  
Profa. Dra. LUCIANE VILELA RESENDE (Participação Virtual)  
Dep. Agricultura / Universidade Federal de Lavras

  
Prof. Dr. HERNANDO FERRARI PUI II (Participação Virtual)  
Departamento de Engenharia de Biosistemas / Faculdade de Ciências e Engenharia de Tupã - UNESP

Botucatu, 02 de dezembro de 2021



*A minha família,*

*com muito amor,*

*dedico.*





## AGRADECIMENTOS

À Deus, pela saúde e oportunidade de viver e alcançar mais este objetivo.

Aos meus pais José Mário e Deise por todo amor e apoio incondicional em todos os momentos.

Aos meus irmãos Breno e Hillary, pelo amor, união e parceria de sempre.

À Patrícia por todo amor, paciência e parceria indescritível e indestrutível, ajudando sempre que pôde sem medir esforços e, assim, contribuindo diariamente e diretamente para a realização desta Tese.

À minha professora orientadora Dr<sup>a</sup> Elizabeth Orika Ono pela amizade antes de tudo, orientação, ensinamentos, competência, paciência e prontidão inabalável de sempre, estando sempre disposta a nos ajudar no que estivesse ao alcance.

Ao professor Dr. João Domingos Rodrigues também pela amizade e parceria constante, sempre disponível a ajudar no que for possível e aconselhando no que for impossível.

A professora Dr<sup>a</sup> Giuseppina P. P. Lima e Gean por toda ajuda e disposição nas análises de aminas hidrogenadas e na discussão do trabalho.

Ao professor Dr. Fernando Putti pela ajuda e prestatividade nas análises estatísticas e discussões relacionadas à tese.

Ao professor Dr. Caio Carbonari pela doação do herbicida glufosinato de amônio.

À professora Dr<sup>a</sup> Luciane Vilela Resende, pelo apoio, cuidado, dedicação, me inspirando já nos primeiros momentos da minha formação profissional.

Aos meus amigos Fabrício Palla e Eduardo Aires, que de irmãos de orientadora se tornaram irmãos da vida.

Aos meus amigos Ronald Weber e Walter Jacobelis pela parceria que, diretamente ou indiretamente, contribuíram nessa caminhada.

Aos demais orientados de Beth e Mingo que de alguma forma ajudaram na minha trajetória do Doutorado.

Aos funcionários e amigos da Fazenda Experimental da FCA - UNESP, de São Manuel por toda ajuda e amizade.

Aos demais amigos de Botucatu que levarei no coração para a vida toda.

À professora Dr<sup>a</sup> Elizabeth Weretilnyk que me recebeu de braços abertos durante meu intercâmbio na McMaster University no Canadá, com muita simpatia e disponibilidade em ajudar sempre.

Aos demais colaboradores e alunos da McMaster University, que me auxiliaram e me receberam muito bem durante o intercâmbio.

Aos meus amigos canadenses Nate e Amanda e aos brasileiros Bruno, Fernando, Peter, Gustavo e Bárbara que contribuíram para minha experiência internacional ser ainda mais especial.

À McMaster University pela receptividade e estruturas incríveis disponibilizadas durante o intercâmbio, contribuindo para meu crescimento pessoal e profissional.

À Sakata Seed Sudamérica pela doação das sementes.

À Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FCA/UNESP - Botucatu) pela contribuição à minha formação profissional.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos concedida, bem como ao programa CAPES-Print pela oportunidade de internacionalização da tese.

A todo povo brasileiro pelo financiamento de um ensino público de qualidade.

## RESUMO

O óxido nítrico (NO), além de possuir função sinalizadora em plantas, pode atuar como antioxidante. A finalidade de atuação deste composto ocorrerá de acordo com o tecido vegetal, idade da planta e tipo de estresse biótico ou abiótico. Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito atenuante da aplicação do doador de NO, nitroprussiato de sódio (SNP), em plantas de melão submetidas ao estresse oxidativo pela aplicação do herbicida glufosinato de amônio na concentração de 1,75% de i.a. sobre parâmetros fitotécnicos e fisiológicos da cultura do melão. O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental da Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade Estadual Paulista - UNESP, Campus de Botucatu - SP, em casa de vegetação. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, composto por sete tratamentos: T1- Herbicida (glufosinato de amônio); T2- Herbicida + 15 µmol de SNP; T3- Herbicida + 30 µmol de SNP; T4- Herbicida + 60 µmol de SNP; T5- Herbicida + 120 µmol de SNP; T6- Herbicida + 240 µmol de SNP; T7- tratamento controle (sem aplicação de herbicida e SNP). Foram realizadas duas aplicações de SNP, sendo uma no período vegetativo (48 dias após o plantio - DAP) e outra no reprodutivo (67 DAP). As aplicações das diferentes concentrações de SNP foram realizadas quatro horas após as aplicações de glufosinato de amônio, momento este em que há o pico de produção das espécies reativas de oxigênio por ação do herbicida. Analisaram-se parâmetros biométricos, fisiológicos e produtivos da planta e frutos. O SNP produziu efeito benéfico nas plantas, reduzindo a porcentagem de dano foliar, de 18,5% para 7,5%, não influenciando na produção e qualidade de frutos. As concentrações de SNP empregadas não influenciaram nas variáveis de fluorescência da clorofila *a* e trocas gasosas. Já para as análises enzimáticas, a aplicação dos tratamentos influenciou na atividade do sistema antioxidante, promovendo aumento da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase (POD) aos 49 DAP, além de interferir no conteúdo endógeno de aminas biogênicas e de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) nas folhas aos 68 DAP.

**Palavras-chave:** Nitroprussiato de sódio; enzimas antioxidativas; *Cucumis melo* L.; oxidação; reguladores vegetais; fisiologia vegetal.



## ABSTRACT

Nitric oxide (NO), in addition to having a signaling function in plants, can act as an antioxidant. The purpose of action of this compound will occur according to the plant tissue, plant age and type of biotic or abiotic stress. Thus, the aim of the present study was to evaluate the attenuating effect of the application of the NO donor, sodium nitroprusside (SNP), in melon plants subjected to oxidative stress by the application of the herbicide glufosinate ammonium at a concentration of 1.75% of ia on phytotechnical and physiological parameters of the melon crop. The experiment was carried out at the Experimental Farm of the Faculty of Agronomic Sciences of the Universidade Estadual Paulista - UNESP, Campus de Botucatu - SP, in a greenhouse. The experimental design was in randomized blocks, composed of seven treatments: T1- Herbicide (glufosinate of ammonium); T2- Herbicide + 15  $\mu\text{mol}$  SNP; T3- Herbicide + 30  $\mu\text{mol}$  SNP; T4- Herbicide + 60  $\mu\text{mol}$  SNP; T5- Herbicide + 120  $\mu\text{mol}$  SNP; T6- Herbicide + 240  $\mu\text{mol}$  SNP; T7- control treatment (without herbicide and SNP application). Two SNP applications were carried out, one in the vegetative period (48 days after planting - DAP) and another in the reproductive period (67 DAP). The applications of the different concentrations of SNP were carried out four hours after the applications of glufosinate ammonium, when there is the peak of production of reactive oxygen species by the action of the herbicide. Biometric, physiological and productive parameters of the plant and fruits were analyzed. The SNP produced a beneficial effect on the plants, reducing the percentage of leaf damage from 18.5% to 7.5%, not influencing fruit production and quality. The SNP concentrations used did not influence the variables of chlorophyll a fluorescence and gas exchange. As for the enzymatic analyses, the application of the treatments influenced the activity of the antioxidant system, promoting an increase in the activity of the enzyme Superoxide Dismutase (SOD), catalase (CAT) and peroxidase (POD) at 49 DAP, in addition to interfering with the endogenous content of amines and hydrogen peroxide ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) in the leaves at 68 DAP.

**Keywords:** Sodium nitroprusside; enzymes; *Cucumis melo* L.; oxidation; plant growth regulators; plant physiology.



## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>15</b>
<b>CAPÍTULO 1. Nitroprussiato de Sódio como atenuante de estresse provocado por deriva simulada de herbicida .....</b>	<b>32</b>
1.1 INTRODUÇÃO .....	33
1.2 MATERIAL E MÉTODOS .....	35
1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	38
1.4 CONCLUSÕES .....	49
LITERATURA CITADA.....	50
<b>CAPÍTULO 2. Nitroprussiato de Sódio afeta fisiologicamente o meloeiro sob condições de estresse oxidativo .....</b>	<b>53</b>
2.1 INTRODUÇÃO .....	55
2.2 MATERIAL E MÉTODOS .....	57
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	61
2.4 CONCLUSÕES .....	69
LITERATURA CITADA.....	70
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>76</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>77</b>





## INTRODUÇÃO GERAL

### A cultura do meloeiro

Situando-se como uma das principais olerícolas cultivadas, o meloeiro (*Cucumis melo* L.) atingiu mais de 27 milhões de toneladas produzidas no mundo em 2020. Neste mesmo ano, o Brasil figurou-se como o nono maior produtor mundial de frutos de melão, com 613.933 toneladas produzidas em 23.827 hectares plantados. Os maiores produtores mundiais desse fruto em 2020 foram China, Turquia e Índia (FAO, 2022).

Em 2018, na produção nacional de meloeiro destacou-se a região Nordeste, com 20.971 hectares plantados, majoritariamente em campo aberto, no qual somente o estado do Rio Grande do Norte correspondeu a quase 60% do total produzido no país (IBGE, 2020). Regiões brasileiras menos expressivas na produção de melão exploram outros nichos de mercado como os chamados ‘melões de cheiro’ ou aromáticos. Na região Sul, o cultivo do fruto se baseia predominantemente em campo aberto com variedades caipiras como o Gaúcho. Já na região Sudeste, são exploradas variedades mais nobres, como Pele-de-sapo e *Net melon* (FIGUEIREDO et al., 2017).

Apesar da grande expressividade na produção global, o Brasil ainda possui potencial para crescimento pelo, principalmente, incremento na produtividade, uma vez que a média mundial foi de 266,5 toneladas ha<sup>-1</sup> e a brasileira de 257,6 toneladas ha<sup>-1</sup> (FAO, 2022).

O meloeiro pertence à família Cucurbitaceae, gênero *Cucumis*, e sua origem ainda é especulativa, teorias apontam locais diversos como África (PURSEGLOVE, 1972) e Sul da Ásia, abrangendo a região do Himalaia até o extremo sul da Índia, onde podem ser encontrados materiais genéticos selvagens (BISWAS, 2006), sendo a Índia considerada o epicentro para a distribuição pelo resto do mundo (BRANDÃO FILHO; VASCONCELOS, 1998).

A cultura foi implantada comercialmente no Brasil no ano de 1960; antes disso, todo fruto consumido no país era importado, oriundo de países como Espanha e Chile. O início da produção no país se deu no Rio Grande do Sul e São Paulo, entretanto, as condições climáticas dessas regiões não favoreceram o cultivo, limitando quantitativa e qualitativamente sua produção (ARAÚJO; VILELA, 2003). As características

edafoclimáticas das regiões de origem apresentam similaridade com a região Nordeste do Brasil, como latitude e fotoperíodo, sendo este um dos indicativos da grande adaptabilidade da cultura e capacidade de produção nesta região brasileira.

Apesar de cultivada como espécie anual, o meloeiro é uma planta naturalmente perene. É uma dicotiledônea de caule herbáceo, de crescimento sarmentoso e raízes superficiais. Suas folhas são de tamanhos variados, pilosas e de crescimento alternado; o caule possui gemas nas axilas foliares de onde surgem novos ramos secundários e gavinhas (KIRKBRIDE JUNIOR, 1993).

Segundo a classificação de Robinson e Decker-Walters (1997), os meloeiros são divididos em dois principais grupos botânicos ou variedades, de acordo com os frutos: *Cucumis melo variedade inodorus*, como Amarelo e Pele de Sapo e *C. melo variedade cantalupensis*, como Gália e Cantaloupe.

Os frutos do meloeiro são classificados como tipo baga e, por possuir característica polimórfica, são encontrados frutos no formato redondo, comprido, oblongo, oval e de coloração variada como cinza, verde, amarelo, laranja, além de variações na coloração de polpa, textura da casca, sabor e aroma (FONTES; PUIATTI et al., 2005).

Dentre os vários ‘tipos cultivados’, como são chamados comercialmente, destacam-se no Brasil os da variedade *inodorus*, principalmente, Amarelo. De origem espanhola, o melão Amarelo possui variação de coloração de polpa de branca à verde-clara, casca amarela e características de rusticidade como espessura de casca, refletindo em firmeza de fruto e boa conservação pós-colheita (ROBINSON; DERECK-WALTERS, 1997; FIGUEIREDO et al., 2017).

O melão é um fruto de baixo valor energético (de 20 kcal a 62 kcal por 100 g de polpa), apresenta característica laxativa, diurética, alcalinizante e calmante (COSTA et al., 2017), além de rico em fibras e betacaroteno, com alta presença de vitaminas A, C e do complexo B (GOMES, 2007). Somado a isso, é também uma boa fonte de elementos minerais como potássio, cálcio, ferro e manganês (BARBIERE; STUMPF 2008).

O principal fator climático que influencia no desenvolvimento da planta e na qualidade do fruto é a temperatura. A faixa média ideal de temperatura diária possui pouca variação de acordo com o estágio fenológico, sendo estabelecida entre 25 e

35°C para germinação, 25 a 30°C para o crescimento e desenvolvimento e de 20 a 23°C para a indução da floração (COSTA, 2017).

Temperaturas abaixo de 12°C e acima de 40°C prejudicam o bom desenvolvimento da cultura, paralisando o crescimento da planta no caso de baixas temperaturas (CRISÓSTOMO et al., 2002). No caso de altas temperaturas, variações acima de 35°C já interferem negativamente, diminuindo a taxa fotossintética, porém, quando sujeita a temperaturas acima de 40°C, a cultura é afetada nas taxas de respiração, interferindo na abertura e fechamento estomático, além de causar abortamento de flores e frutos (FONTES et al., 2005; FEITOSA; GUIMARÃES, 2019).

A variação da temperatura influencia também na expressão sexual das flores, de modo que temperaturas mais elevadas (acima de 35°C) estimulam a formação de flores masculinas (COSTA et al., 2017) e temperaturas mais baixas, fotoperíodo curto, alta irradiação, dentre outros fatores, estimulam a formação de flores hermafroditas (FIGUEIREDO et al., 2017). Com relação à temperatura do solo, segundo Brandão Filho e Vasconcelos (1998) há bom crescimento radicular entre 14 e 40°C, sendo a temperatura ideal de 34°C.

O meloeiro é uma planta exigente também em luminosidade e possui grande adaptabilidade em regiões com alta intensidade luminosa. Reduções na exposição à luz resultam em redução do crescimento e florescimento, reduzindo a área foliar e, por consequência, a fixação de carbono (SILVA; COSTA, 2003). Regiões com exposição à luz solar entre 2 e 3 mil horas anuais é considerado fator essencial para o sucesso no manejo e produção da cultura (COSTA, 2017).

A umidade relativa do ar também possui grande influência na cultura do melão, interferindo na presença de patógenos, atuação de polinizadores, tamanho de fruto e qualidades físico-químicas dos frutos. Umidade relativa do ar entre 60 e 70% é considerada ideal, bem como, precipitação pluviométrica baixa (FEITOSA; GUIMARÃES, 2019).

A cultura se desenvolve bem em solos de textura média, com bom arejamento, bem drenados, soltos e com faixa de pH entre 5,8 e 7,2 (SILVA; COSTA, 2003). Salinidade alta afeta diretamente o desenvolvimento da cultura e condutividade elétrica da solução do solo igual a 4 dS m<sup>-1</sup> reduz em até 25% da produtividade, podendo chegar a 50% se a condutividade atingir 6 dS m<sup>-1</sup> (COSTA et al., 2017).

Condições ambientais adversas à ideal contribuem negativamente para seu cultivo, retardando o crescimento da planta e do fruto e estimulando a geração de radicais livres nas plantas. A produção desses radicais livres é frequente durante vários processos metabólicos, principalmente nas mitocôndrias, cloroplastos e peroxissomos (BARBOSA et al., 2014).

### **Geração e combate às espécies reativas de oxigênio (ERO)**

Algumas reações promovidas pelas plantas visam reduzir e amenizar os reflexos causados pelos estresses abiótico e/ou biótico. Dentre estas reações estão a resposta de hipersensibilidade (RH), resistência sistêmica adquirida (SAR), indução de proteínas relacionadas à patogênese (PR-Proteínas) e compostos sinalizadores, como por exemplo, o óxido nítrico (NO), ácido salicílico, peróxido de hidrogênio, etileno e ácido jasmônico (FERNANDES et al., 2009). Tais reações de defesa podem resultar de forma imediata na reorganização do citoesqueleto, fortificação da parede celular, geração de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO), espécies reativas de nitrogênio (ERN) e a síntese de fitoalexinas (NORITAKE et al., 1996; UMBREEN et al., 2018).

Apesar do enorme potencial de degradação, não se pode considerar as ERO como somente moléculas que danificam membranas e compostos. São também compostos metabólitos que atuam na sinalização celular (FOYER et al., 2017). Esta função das ERO como sinalizadora celular é baseada, principalmente, no balanço de produção e eliminação destes compostos nas organelas (MITTLER, 2017).

Nas plantas, a produção de ERO como um subproduto do metabolismo respiratório se dá pela transferência de energia livre para uma molécula de  $O_2$ . O oxigênio molecular em seu estado estável não possui capacidade de aceitar mais de um elétron por vez em seus orbitais. Quando isso ocorre, resulta na formação de compostos intermediários estáveis capazes de danificar compostos como lipídios e proteínas (FIGURA 1).

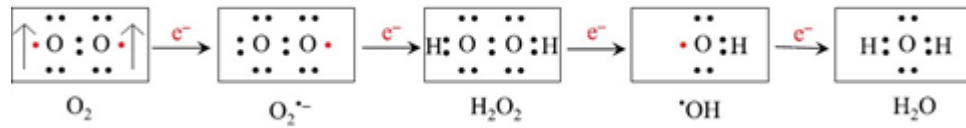


Figura 1. Redução sequencial do oxigênio, produzindo radicais livres e água (adaptado de Farooq et al., 2019).

A adição de energia no  $\text{O}_2$  torna essa molécula mais oxidante, transformando-a em oxigênio singlete ( $^1\text{O}_2$ ), por meio da reversão do *spin* de um elétron desemparelhado. O processo de redução do  $\text{O}_2$  resulta no radical aniônico superóxido ( $\text{O}_2^{\cdot -}$ ). É considerado como radical livre primário, pois dá origem a outros como o peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), que possui meia vida longa de 1000  $\mu\text{s}$  ou mais e o radical hidroxila ( $\text{OH}^{\cdot}$ ) que, apesar de possuir meia-vida curta (1 $\mu\text{s}$ ), possui grande capacidade de dano ao DNA, RNA, lipídios e proteínas (BHATTACHARJEE, 2010; BARBOSA et al., 2014; FAROOQ et al., 2019).

A produção de radicais livres nas plantas, assim como em outros organismos aeróbicos, é frequente durante vários processos metabólicos, principalmente, nas mitocôndrias, cloroplastos e peroxissomos (BARBOSA et al., 2014).

A formação de ERO nos cloroplastos ocorre sob condições luminosas, onde há absorção de energia pelo complexo-antena, direcionamento dessa energia para a cadeia transportadora de elétrons, resultando, dentre outras etapas do processo, na redução da plastohidroquinona em plastosemiquinona. Em condições normais, os elétrons da plastosemiquinona são transferidos para o citocromo-b6f, porém quando isso não é passível de ocorrer, ainda existe a necessidade de transferência dessa energia para que não ocorra dano no fotossistema II (FSII), sendo então, transferida para o  $\text{O}_2$ , formando e aumentando a presença de  $\text{O}_2^{\cdot -}$  (VETOSHKINA et al., 2017) e, por consequência, as demais ERO subsequentes.

Já nas mitocôndrias, a formação de ERO ocorre, principalmente, no complexo I e III da cadeia transportadora de elétrons (BOUCHE et al., 2003). Além de transportarem  $\text{H}^+$ , visando aumentar a concentração de prótons no espaço intermembranar, esses complexos carregam elétrons no sistema, oriundos do NADH e  $\text{FADH}_2$ , que podem ser direcionados ao  $\text{O}_2$ , resultando na formação de ERO.

Os peroxissomos, assim como cloroplastos e mitocôndrias, também produzem ERO. Tal fenômeno ocorre na matriz e membrana do peroxissomo, de modo que ocorre

a redução do  $O_2$  em  $O_2^{\cdot -}$  através da oxidação do NADH em  $NAD^+$  pela cadeia peroxissomal de transporte de elétrons (del RIO et al., 1989). Este processo de oxidação do NADH nos peroxissomos ocorre visando reutilizar e disponibilizar novamente  $NAD^+$  para os processos metabólicos peroxissomais (del RIO; DONALDSON, 1995).

Pelo fato das ERO, além de moléculas sinalizadoras, possuírem alto potencial de danos às células, de forma evolutiva, as plantas e demais organismos aeróbicos contam com mecanismos de defesa para catalisar e eliminá-las, a fim de garantir o balanço adequado e evitar maiores danos causados pelo estresse oxidativo. Tais mecanismos de defesa podem ser classificados como não enzimáticos e enzimáticos. Estima-se que 99% das ERO produzidas são metabolizadas por sistemas antioxidantes (FAROOQ et al., 2019).

Os compostos de defesa não enzimáticos envolvem flavonoides, carotenoides, aminas biogênicas, tocoferóis, glutathione, além de vitaminas como C e E (VALKO, 2007). Já os mecanismos de defesa enzimáticos estão presentes em diferentes locais intra e extracelular, os quais se têm como principais enzimas envolvidas a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POD), glutathione peroxidase (GPX), ascorbato peroxidase (APX), glutathione redutase (GR) e glutathione S-transferase (GSTs) (BARBOSA et al., 2014).

As SODs (SOD, EC 1.15.1.1) são as principais enzimas combatentes das ERO, pois atuam, primariamente, dismutando o  $O_2^{\cdot -}$  em  $H_2O_2$  e  $H_2O$  (del RIO et al., 2018). São metaloenzimas classificadas de acordo com o metal presente no grupo prostético, podendo ser o manganês (Mn-SOD), encontrada na matriz mitocondrial, ferro (Fe-SOD), encontrada nos cloroplastos ou cobre/zinco (Cu/Zn-SOD) encontrada no citosol (GIL; TUJETA, 2010). Desse modo, interferem na variação do nível de  $H_2O_2$  nesses compartimentos (BHATTACHARJEE, 2010).

As CATs (CAT, EC 1.11.1.6) são enzimas que dismutam rapidamente o  $H_2O_2$ , fazendo sua conversão em  $H_2O$  e  $O_2$ , apesar de fortemente presente nos peroxissomos, a atuação destas enzimas nos cloroplastos e mitocôndrias é pouca ou praticamente nula (TUZET et al., 2019). Esse grupo de enzimas pode ser classificado de acordo com o local de atuação. Catalases da classe um atuam nos tecidos fotossintéticos, as catalases da classe dois atuam nos tecidos vasculares e as da classe

três atuam mais frequentemente em plantas jovens e sementes, modulando o  $H_2O_2$  produzido na degradação dos ácidos graxos no glioxissoma (RESENDE et al., 2003).

As PODs (POD EC 1.11.1.7) são um grupo de enzimas óxidoredutases que catalisam a redução dos peróxidos, combatendo as ERO, principalmente, através da degradação do  $H_2O_2$  produzido durante o estresse oxidativo (HAMID; REHMAN, 2009), bem como, o produzido pela dismutação do  $O_2^{\cdot-}$  pela SOD (FAROOQ, 2019). Sua localização é constatada, principalmente, no vacúolo e parede celular e pode estar associada com a indução de resistência, pois sua presença em excesso também pode estar relacionada à diferenciação celular, lignificação e coloração de frutos e vegetais (DOGAN et al., 2007).

### **Óxido Nítrico (NO)**

O NO é um gás que apresenta difusividade elevada ( $4,8 \times 10^5 \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$  em água), exibindo propriedades hidrofóbicas. Mas, apesar de não passar facilmente pelas regiões hidrofílicas da célula, como o citoplasma, pode difundir-se facilmente pela fase lipídica das membranas. Ele reage rapidamente com o ar atmosférico, complexos de metais, especialmente centros ferro e ferro-enxofre de proteínas e outros radicais e, indiretamente, com DNA, proteínas e lipídios. O NO também pode reagir com as leghemoglobinas nas fabáceas sob condições aeróbicas, formando  $NO_3$ . Na presença de oxigênio, ele forma óxidos de nitrogênio ( $NO_2^{\cdot}$ ,  $N_2O_3$  e  $N_2O_4$ ), os quais podem reagir com aminas celulares e tióis, ou, hidrolisar em  $NO_2^-$  e  $NO_3^-$  (ARASIMOWICZ; FLORYSZAK-WIECZOREK, 2007; POPOVA; TUAN, 2010).

Sua atividade ocorre de forma variada, podendo agir diretamente com biomoléculas com metais ou radicais livres, ou, indiretamente, pela formação de espécies reativas de nitrogênio (ERN), através de reação com oxigênio e, subsequentemente, interagindo com proteínas, lipídios e outros compostos (BHATLA; LAL, 2018; UMBREEN et al., 2018).

Quanto à síntese de NO, ainda há necessidade de maior aprofundamento nos estudos. A existência de enzimas específicas de síntese de NO ainda é especulativa, porém, esta hipótese vem ganhando atenção e acredita-se que sua síntese ocorra através da oxidação de L-arginina em L-citrulina (SANTOLINI et al., 2017). Todavia,

considera-se que a principal via de síntese de NO é através da enzima nitrato redutase (NR). Esta enzima é capaz de produzir, além do peroxinitrito, o NO a partir do nitrito sob condições aeróbicas. Quando há disponibilidade deste composto como substrato, ambiente reduzido, presença de NADH, pH 7,0 e presença de nitrito, tal reação acontece, produzindo NO através da NR (YAMASAKI; SAKIHAMA, 2000) (figura 2).

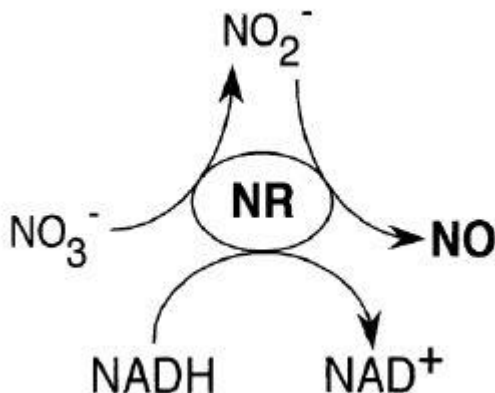


Figura 2. Esquema de formação de óxido nítrico (NO) a partir de nitrito pela enzima nitrato redutase, na presença de poder redutor NADH (adaptado de YAMASAKI; SAKIHAMA, 2000).

Outra enzima que também pode reduzir o nitrito a NO é a enzima peroxissômica xantina oxireductase. Esta enzima reduz o nitrito à NO através do uso de NADH ou xantina como substrato para a reação redutora (GODBER et al., 2000).

A S-nitrosilação é uma das rotas de metabolismo de NO nas plantas (ROMERO-PUERTAS et al., 2013). Para tanto, há ligação covalente de uma molécula de NO com uma proteína cisteína-tiol para formar um S-nitrosotiol (YU et al., 2014). Tal fato pode ser comprovado através da manipulação da presença de S-nitrosoglutationa redutase (AtSNOGR1), enzima esta que regula a S-nitrosilação. Feechan e colaboradores (2005), através de mutações que tornaram plantas de *Arabidopsis thaliana* deficientes nesta enzima, demonstraram que os níveis de NO foram alterados, comprometendo a resistência desta planta, tanto em condições normais como em situação de injúrias, fato este relacionado à redução dos níveis de S-nitrosilação.

É sabido que o NO possui função sinalizadora em plantas promovendo respostas fisiológicas, como no desenvolvimento, sinalização hormonal e defesa. A atuação deste

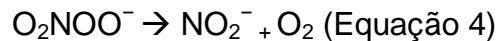


composto como sinalizador celular assemelha-se à produção de  $H_2O_2$  em situações de estresse, auxiliando também na senescência (NABI et al., 2019).

O NO possui função sinalizadora nas células-guarda, auxiliando na abertura e fechamento estomático, através da ação do ABA. Essa ação reduz os efeitos prejudiciais do estresse abiótico como déficit hídrico, além da atuação do NO em outros fatores de estresse como salinidade e estresse por metais pesados (NABI et al., 2019).

A ação antioxidante de NO ocorre em ambiente em que as ERO estão em níveis elevados, de modo prejudicial às células. O NO reage com o radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) formando o peroxinitrito ( $ONOO^-$ ), (Equação 1), o qual é instável na faixa de pH fisiológico, porém, pode ser danoso às plantas (HUIE; PADMAJA, 1993). Tal composto pode reagir com grupos tiol das proteínas, radicais poli-insaturados de ácidos graxos da membrana, DNA e proteínas, podendo causar sérios danos à célula (ARASIMOWICZ; FLORYSZAK-WIECZOREK, 2007).

O peroxinitrito formado pode protonar e gerar ácido peroxinitroso ( $ONOOH$ ) (Equação 2), (eventualmente pode ser fonte de dióxido de nitrogênio ( $NO_2^{\cdot}$ ) e radicais hidroxila ( $HO^{\cdot}$ ) (YAMASAKI et al., 1999; GODBER et al., 2000; ARASIMOWICZ; FLORYSZAK-WIECZOREK, 2007). Todavia, a formação de ácido peroxinitroso, quando se encontra num meio com a presença de outro radical livre ( $H_2O_2$ ), reage envolvendo a oxidação de um elétron do peróxido de hidrogênio pelo ácido, formando dioxoperoxonitrato(1-) ( $O_2NOO^-$ ),  $H^+$  e água (Equação 3). Então, ocorre a heterólise do  $O_2NOO^-$  em nitrito e uma molécula de oxigênio (Equação 4) (MARTINEZ et al., 2000).



O NO é um agente consideravelmente importante na sequência de reações que resultam na emissão de raízes laterais e na arquitetura do sistema radicular em si. Há aumento da presença de NO nas células das raízes laterais, de acordo com a atuação da auxina, principalmente, nos estádios iniciais e finais do desenvolvimento destas

raízes, demonstrando ser um composto envolvido na sinalização e atuação deste hormônio vegetal (CORREA-ARAGUNDE et al., 2004).

Tubérculos de batata tratados com NO apresentaram aumento na produção de rishitina, uma fitoalexina. As fitoalexinas também estão envolvidas na resistência das plantas aos estresses bióticos (NORITAKE et al., 1996). Entretanto, Kopyra e Gwózdź (2003) não constataram diferença no enraizamento de *Lupinus luteus* na presença de diferentes concentrações de nitroprussiato de sódio (SNP), uma substância liberadora de NO. Porém, quando sementes foram submetidas ao estresse por Pb, Cd e etileno houve influência positiva da presença de SNP na germinação e crescimento radicular.

Mudas de pepino submetidas ao estresse salino tiveram sintomas de estresse reduzidos pelo fornecimento de NO, pois este aumentou a atividade das enzimas antioxidantes, superóxido dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) e reduziu a peroxidação lipídica. Esse aumento da atividade de enzimas antioxidantes resultou em aumento do conteúdo de clorofila, taxa de assimilação de CO<sub>2</sub>, taxa de transpiração e condutância estomática em comparação às plantas sem a adição de NO (FAN et al., 2007).

Devido suas características, o NO possui alta versatilidade nas reações que desencadeia, produzindo diferentes produtos e subprodutos, podendo ser convertido em dióxido de nitrogênio, ácido nitroso, nitrito ou nitrato. De maneira contrária, o ácido nitroso, dióxido de nitrogênio e nitrito podem ser convertidos em NO. As taxas das reações e conversões nesses produtos são dependentes de vários fatores, como concentração de NO, presença e concentração de oxigênio no meio, presença de metais que atuam como catalisadores, pH da fase aquosa do meio em questão, dentre outros (BETHKE et al., 2007).

O NO possui alta versatilidade também na germinação de sementes. Compostos doadores desta molécula podem reduzir a dormência de sementes de espécies que possuem esta característica, substituir ou influenciar o efeito da luz na germinação de sementes fotodormentes, ou mesmo, aumentar a porcentagem da germinação em sementes que não tenham dormência (BETHKE et al., 2007).

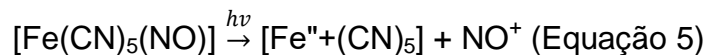
Os doadores de NO são compostos que, quando aplicados em sistemas biológicos, produzem NO, sendo capazes de imitar esta molécula produzida de forma

endógena, podendo ser um substituto na ausência ou deficiência deste composto (FLORYSZAK-WIECZOREK et al., 2006).

Têm sido amplamente utilizados compostos doadores de NO para simular e elucidar melhor o funcionamento de determinadas reações fisiológicas, as quais envolvem esta molécula, sendo o nitroprussiato de sódio (SNP) e a S-Nitroso-N-acetilpenicilamina (SNAP) os mais utilizados (FILIPPOU et al., 2012). Entretanto, o SNP demonstra maior potencial de atuação, possuindo meia vida de 12 horas. Já, o SNAP possui meia vida de 3 horas (FLORYSZAK-WIECZOREK et al., 2006).

O nitroprussiato de sódio (SNP,  $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]$ ) é um composto de cor vermelha escura doador de NO pertencente à classe de complexos de metais, é fotossensível e requer iluminação para a liberação de NO. Em sua composição, o NO é um forte ligante, onde o nitrogênio se liga ao metal (ferro) (FLORYSZAK-WIECZOREK et al., 2006).

A reação de liberação de NO pelo SNP ocorre de maneira variável. Quando há incidência de energia luminosa, a reação pode ocorrer conforme a Equação 5, descrita por Mitra e colaboradores (1963).



A liberação de cianeto pode ocorrer quando o produto é exposto à radiação ultravioleta, porém, quando submetido a comprimentos de ondas maiores, existe a liberação gradual de NO pelo SNP (SHISHIDO et al., 2001) (Equação 6).



O SNP é um composto largamente utilizado devido seu baixo custo, comparativamente a outros doadores, além de sua alta eficiência de reação em células vegetais (KUMAR et al., 2010; ZANDONADI et al., 2010).

### **Aminas biogênicas**

As aminas biogênicas (ABs) são moléculas, de baixa massa molecular, carregadas negativamente e presente em praticamente todas as células vivas (BHATLA; LAL, 2018). Por possuir característica policatiônica, pode interagir com vários compostos, como lipídios, proteínas, ATPs, DNA e RNA (MINOIS, 2014).

As aminas biogênicas mais comuns nos vegetais são Espermina (*N, N'*-bis(3-aminopropyl)butane-1,4-diamine), Espermidina (*N'*- (3-aminopropyl)butane-1,4-diamine) e Putrescina (butane-1,4-diamine) (MILLER-FLEMING et al., 2015). Tais compostos possuem diversas funções nas plantas, como divisão e crescimento celular, florescimento, desenvolvimento embrionário e celular, além de atuação direta na regulação gênica, como replicação de DNA e síntese de ácidos nucleicos (GROPPA; BENAVIDES, 2008).

As aminas biogênicas também tem atuação na manutenção da integridade de membranas, principalmente, pela ação osmótica e sua capacidade de atuar eliminando as ERO, graças à sua característica policatiônica (BOUCHEREAU et al., 1999; FUJISAWA; KADOMA, 2005). O combate ao estresse oxidativo, além da eliminação das ERO, também ocorre pela regulação da expressão de proteínas relacionadas as respostas ao estresse (HA et al., 1998; MARCO et al., 2011; SAHA et al., 2015; HASANUZZAMAN et al., 2019). Atua também retardando a senescência de plantas, através da inibição da enzima ácido aminociclopropano carboxílico sintase (ACC-sintase). Tal inibição ocorre, pois as ABs podem sequestrar o radical superóxido necessário na conversão de ACC em etileno (DROLET et al., 1986; SHARMA et al., 2017).

Os níveis de aminas biogênicas e o seu mecanismo de síntese são regulados por uma complexa interação de respostas ao estresse biótico e abiótico, transcrição e tradução de proteínas relacionadas, bem como interação com outras rotas metabólicas (MILLER-FLEMING et al., 2015).

Na via de síntese destas aminas biogênicas, a putrescina (diamina) é o primeiro composto a ser formado através da descarboxilação do aminoácido L-ornitina, pela enzima ornitina descarboxilase (ODC) (MILLER-FLEMING et al., 2015). A formação de putrescina também pode ocorrer indiretamente pela ação das enzimas arginina descarboxilase (ADC), que atua na L-arginina, resultando em agmatina. A agmatina, por sua vez, pode sofrer a ação da enzima agmatinase e resultar na putrescina, ou então, sofrer ação da agmatimeimino hidrolase e gerar N-carbamoil putrescina. Há então a ação da enzima N-carbamoil putrescina amino-hidrolase atuando neste último e, então, há a formação de putrescina (MILLER-FLEMING et al., 2015; DUNN, 2017; SHARMA et al., 2017).

A adição do grupo aminopropil à putrescina, através da atuação da enzima espermidina sintase, resulta na formação da espermidina (triamina), que após outra sucessiva adição de aminopropil pela enzima espermina sintase, forma espermina (tetramina) (SLOCUM et al., 1984; WIMALASEKERA et al., 2011). Os grupos aminopropil utilizados nas reações supracitadas são oriundos da atuação da enzima descarboxilase, que atua justamente na S-adenosilmetionina (SAM), composto este derivado da metionina (MILLER-FLEMING et al., 2015).

As aminas biogênicas possuem funções similares ao NO, principalmente, na sinalização e resposta ao estresse (TAKAHASHI; KAKEHI, 2010). A oxidação das aminas biogênicas pela ação das enzimas poliamina oxidase (PAO) e diamina oxidase (DAO) produzem peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) (MONTEIRO et al., 2019) que, assim como o NO, atua como molécula sinalizadora para ativação de sistemas de defesa da planta, como fechamento estomático pela ação do ABA e acúmulo de compostos fenólicos (WALTER, 2003; DESIKAN et al., 2004; JIMÉNEZ-BREMONT et al., 2014). Há correlação entre NO e ABs, onde a geração de  $H_2O_2$  pela atividade DAO e PAO pode estar vinculada à biossíntese de NO, através de sua atividade de sinalização do estresse (WANG et al., 2010). Entretanto, esta interação ainda não é bem elucidada.

Uma das moléculas precursoras da síntese de óxido nítrico é a L-arginina, porém, por uma rota de biossíntese ainda não elucidada (WIMALASEKERA et al., 2011). Com isso, a relação das ABs com o NO é estreita, principalmente, na biossíntese desses compostos. Tal relação sugere que as ABs podem ser uma fonte de NO através de uma possível e, ainda, desconhecida rota direta, ou então, pela atuação das enzimas, segundo Groppa e Benavides (2008). A relação ABs e NO ainda é muito especulativa em alguns pontos e quanto à síntese destes compostos há diversas vertentes. Tais compostos podem agir de forma competitiva.

Diversos trabalhos têm demonstrado a relação entre esses compostos. Em folhas de *Medicago truncatula* (Fabaceae) submetidas à infiltração a vácuo de solução de SNP verificou-se que houve aumento na atividade da enzima ADC, que resultou no acúmulo de Putrescina (Put), de maneira proporcional com o aumento da concentração de SNP (FILIPPOU et al., 2013).

Em mutantes de *A. thaliana* com deficiência na expressão da enzima arginase (responsável pela conversão de L-arginina em L-orinitina), houve alta presença de

óxido nítrico e putrescina e espermidina (SHI et al., 2013). De modo semelhante, também em *A. thaliana*, a alta atividade da enzima arginase reduzindo a presença de arginina no meio resultou em baixa produção de NO, demonstrando correlação entre estes compostos (GROß et al., 2017). O mesmo resultado também foi observado em arroz, onde o aumento da atividade da enzima arginase resultou na redução da produção de NO (MENG et al., 2015), demonstrando que a atividade da arginase é inversamente proporcional à produção de NO oriundo de L-arginina.

Segundo dados de Filipou e colaboradores (2013), a presença do NO doado pelo SNP promove processos metabólicos que modulam os níveis de biossíntese de aminas biogênicas e prolinas. Há diferentes respostas na síntese destes compostos de acordo com a concentração de SNP utilizada, sugerindo claramente a ligação entre estes compostos, porém, também ainda de forma não totalmente elucidada. Em cucurbitáceas houve aumento significativo no conteúdo de espermina (Spm), espermidina (Spd) e putrescina (Put), além do aumento da atividade da enzima PAO quando aplicado um doador de NO (FAN et al., 2010).

A relação das aminas biogênicas e NO se estreita nas respostas das plantas a diferentes situações de estresse. O tratamento de sementes de tomate com SNP aumentou a presença de espermidina e putrescina nas plantas, aumentando a expressão dos genes relacionados à síntese das enzimas arginina descarboxilase (ADC), ornitina descarboxilase (ODC) e espermidina sintase, responsáveis pela presença de compostos precursores na biossíntese de NO e ABs, bem como da própria espermidina (QIANNAN et al., 2017).

Em tomateiro, mais uma vez, a relação entre estes compostos é comprovada. Os efeitos danosos da salinidade no tomateiro foram atenuados com a aplicação exógena da amina biogênica espermidina e nitroprussiato de sódio (SNP), um doador de NO largamente utilizado. O efeito benéfico foi atenuado quando ambos foram aplicados simultaneamente, resultando na redução da peroxidação lipídica e aumentando a expressão das enzimas do sistema antioxidante (SIDDIQUI et al., 2017).

Apesar de comprovado, é necessário maior aprofundamento nos estudos que focam na relação entre NO e ABs, principalmente, buscando entender a atuação que o NO tem no aumento da atividade e presença das ABs em situações de estresse vegetal.

## Glufosinato de Amônio

O glufosinato de amônio é classificado como herbicida de contato, com amplo espectro de atuação e não seletivo. Sua aplicação pós-emergente é indicada no controle de plantas espontâneas nas culturas do milho, algodão e soja, todos transgênicos que expressam a enzima fosfinotricina acetiltransferase, que resulta na tolerância ao glufosinato de amônio. Este composto não possui atividade no solo, ele atua nas folhas através da inibição da enzima glutamina sintetase, segunda proteína mais abundante presente nas folhas, responsável pela transformação de glutamato e amônia em glutamina (BERNARD; HABASH, 2009).

A rota de síntese da glutamina/glutamato no interior das células (plastídeos e cloroplastos) inicia-se pela atuação da glutamina sintetase (GS) na conversão de  $\text{NH}_4^+$  e glutamato, com a utilização de um ATP, em glutamina. Com a presença deste composto no meio, há a possibilidade da reversão em glutamato com atuação da enzima glutamina 2-oxoglutarato aminotransferase (GOGAT). A GOGAT catalisa a reação com a utilização de NADPH ou uma ferredoxina, transformando a glutamina e 2-oxoglutarato em duas moléculas de glutamato (COETZER; AL-KHATIB, 2001; BOWSER et al., 2007; TAKANO et al., 2019).

A inibição da GS pela ação do herbicida ocorre pela competição pelo sítio de atuação entre a L-fosfinotricina e glutamato, na enzima (Figura 3).

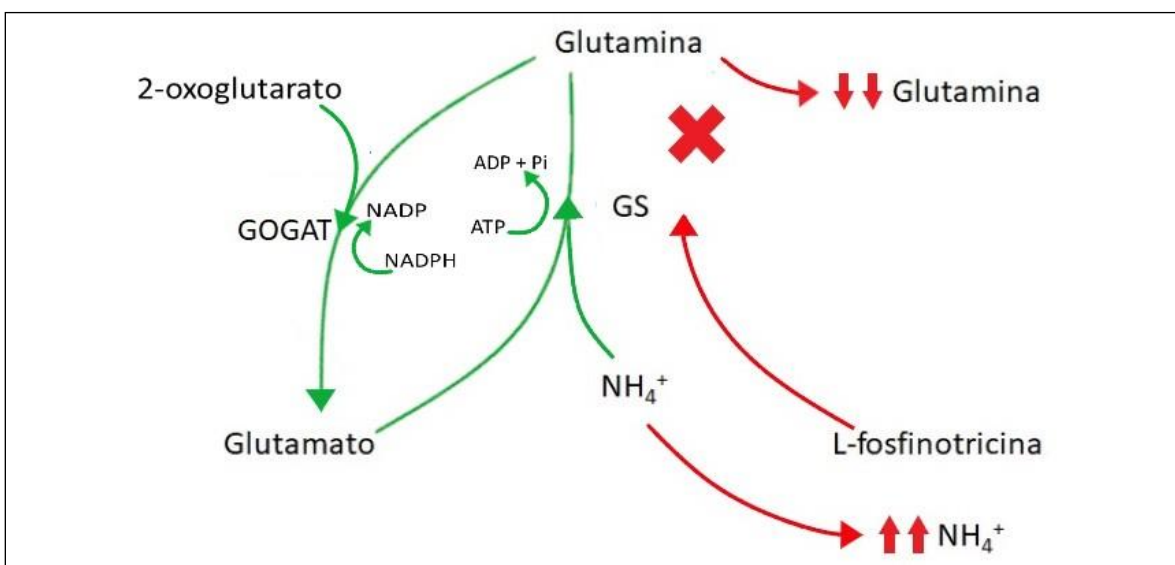


Figura 3. Mecanismo de atuação do Glufosinato de Amônio. O composto L-fosfinotricina inibe a atuação da Glutamina Sintetase (GS), resultando na redução de glutamato e

glutamina e aumentando a concentração de amônia nas células. Cor verde indica processo natural ocorrido na ausência do herbicida; cor vermelha indica processo ocorrido na presença de herbicida (Elaboração própria).

O composto L-fosfinotricina é uma das moléculas que compõe o glufosinato de amônio comercializado, juntamente com seu isômero D-fosfinotricina, entretanto, apenas o primeiro possui efeito herbicida (BAYER et al., 1972; GILL; EISENBERG, 2001).

A utilização do glufosinato de amônio resulta na redução da glutamina presente no tecido vegetal, bem como no acúmulo de amônia, refletindo negativamente na relação C/N. Tais consequências afetam a fotossíntese e o metabolismo de carbono (XIE et al., 2014). O acúmulo de amônia pode interferir na fotossíntese através da limitação de sua eficiência, uma vez que, esse acúmulo estimula a fotorrespiração, além de danificar membranas celulares e causar morte de tecidos (ESTEBAN et al., 2016).

Quando ocorre a fotorrespiração, há a formação do composto 2-fosfoglicolato (2 carbonos) e 3-fosfoglicerato (3 carbonos) a partir da ribulose 1,5-bifosfato, com 5 carbonos. Com a formação do 2-fosfoglicolato, há comprometimento do ciclo de Calvin pela redução da disponibilidade do 3-fosfoglicerato, composto intermediário utilizado para continuidade do ciclo. Isso ocorre pois ambas as moléculas são geradas a partir de uma mesma ribulose 1,5-bifosfato.

Dessa maneira, em condições de exposição à luz, o processo de formação de NADPH e ATP pela cadeia de transporte de elétrons fica comprometido, pois com o Ciclo de Calvin deficitário, a presença de  $\text{NADP}^+$  como acceptor de elétrons gerado por ele reduz. Assim, o  $\text{O}_2$  presente torna-se acceptor desses elétrons, formando primariamente o radical aniônico superóxido ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) e, então, os demais radicais livres (BHATLA; LAL, 2018; TAKANO, 2020).

Com a formação do composto 2-fosfoglicolato na fotorrespiração, este, ao sofrer ação da enzima glicolato fosfatase hidrolisando o grupo fosfato, gera glicolato. O glicolato é então transportado para os peroxissomos onde sofre ação da enzima glicolato oxidase, resultando em glioxilato, que é um composto tóxico para a enzima ribulose 1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco) e gerando também, peróxido de hidrogênio (TAIZ; ZEIGER, 2013; BHATLA; LAL, 2018).



Em condições normais, o glioxilato recebe um grupo amina oriundo do glutamato ou da serina e é convertido em glicina pela enzima glutamato-glioxilato aminotransferase ou serina-glioxilato aminotransferase. Quando há a ausência de glutamato, em decorrência da interferência do glufosinato de amônia no ciclo do glutamato/glutamina, tal reação não ocorre e, conseqüentemente, há acúmulo de glioxilato (WENDLER et al., 1992), este um inibidor da atividade da Rubisco (LU et al., 2014).

A produção de ERO em decorrência da atuação do glifosinato de amônio demonstrou-se dependente da luz. Folhas de *Amaranthus palmeri* submetidas à aplicação de 560 g ha<sup>-1</sup> de glifosinato de amônio, apresentaram acúmulo de ERO apenas quando expostas à luz (TAKANO et al., 2019)

Desta maneira, a aplicação do herbicida, além de aumentar a fotorrespiração reduzindo o acúmulo de carbono, interfere negativamente na própria fotorrespiração, refletindo na toxidez por acúmulo de glioxilato em decorrência da escassez de doadores do grupo amino (BLACKWELL et al., 1987) e gerando espécies reativas de oxigênio pelos fotossistemas I e II na cadeia de transporte de elétrons (TAKANO et al., 2019).

Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o possível efeito do doador de óxido nítrico, nitroprussiato de sódio (SNP), na redução do estresse em meloeiro proporcionado via aplicação do herbicida, glufosinato de amônio. Respostas fisiológicas relacionadas a trocas gasosas, atividade enzimática, conteúdo endógeno de compostos relacionados ao estresse, bem como fatores de produção e produtividade foram estudados buscando possíveis efeitos dos tratamentos.

## CAPÍTULO 1

### **Nitroprussiato de Sódio como atenuante de estresse provocado por deriva simulada de herbicida**

Capítulo elaborado segundo as diretrizes do periódico *Brazilian Journal of Agricultural Science*.

#### **Resumo**

O objetivo do presente trabalho foi avaliar possíveis efeitos atenuantes da aplicação do doador de óxido nítrico (NO), Nitroprussiato de Sódio (SNP), em plantas de melão submetidas ao estresse oxidativo via aplicação de subdoses de herbicida, sobre parâmetros fisiológicos e fitotécnicos da cultura. Conduzido em casa de vegetação, o delineamento experimental foi em blocos casualizados composto por sete tratamentos: T1- Herbicida (glufosinato de amônio); T2- Herbicida + 15  $\mu\text{mol}$  de SNP; T3- Herbicida + 30  $\mu\text{mol}$  de SNP; T4- Herbicida + 60  $\mu\text{mol}$  de SNP; T5- Herbicida + 120  $\mu\text{mol}$  de SNP; T6- Herbicida + 240  $\mu\text{mol}$  de SNP; T7- tratamento controle (sem aplicação de herbicida e SNP). Foram realizadas duas aplicações de SNP, sendo uma no estágio vegetativo e outra no estágio reprodutivo. Foram avaliados parâmetros fisiológicos de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*, além de análises biométricas e de produção de frutos. O SNP inibiu os danos causados pelo herbicida nas plantas, principalmente, reduzindo a porcentagem de dano foliar, de 18,5% para 7,5%. Houve influência positiva na integridade do fotossistema II (FSII), observada através do rendimento quântico do FSII ( $F_v/F_m$ ), porém não foi observado efeito nas demais variáveis relacionadas à fotossíntese.

**Palavras-Chave:** estresse oxidativo; óxido nítrico; meloeiro; produção; fisiologia vegetal.

#### **Abstract**

The aim of the present study was to evaluate possible attenuating effects of the application of the nitric oxide (NO) donor, Sodium Nitroprusside (SNP), in melon plants submitted to oxidative stress via application of sub-doses of herbicide, on physiological and phytotechnical parameters of the culture. Conducted in a greenhouse, the experimental design was in randomized blocks consisting of seven treatments: T1- Herbicide (glufosinate of ammonium); T2- Herbicide + 15  $\mu\text{mol}$  SNP; T3- Herbicide + 30  $\mu\text{mol}$  SNP; T4- Herbicide + 60  $\mu\text{mol}$  SNP; T5- Herbicide + 120  $\mu\text{mol}$  SNP; T6- Herbicide + 240  $\mu\text{mol}$  SNP; T7- control treatment (without herbicide and SNP application). Two applications of SNP were carried out, one in the vegetative stage and the other in the reproductive stage. Physiological parameters of gas exchange and chlorophyll a fluorescence were evaluated, in addition to biometric and fruit production analyses. The SNP inhibited the damage caused by the herbicide on the plants, mainly reducing the percentage of leaf damage, from 18.5% to 7.5%. There was a positive influence on the integrity of the PSII, observed through the variable (Fv/Fm), but there was no effect on the other variables related to photosynthesis.

**Keywords:** oxidative stress; nitric oxide; melon plant; production; plant physiology.

## INTRODUÇÃO

Em qualquer situação estressante há a formação de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) em células vegetais, assim como ocorre em plantas sujeitas à ação de herbicidas. O glufosinato de amônio é um herbicida de contato, com amplo espectro de atuação e não seletivo, atuando nas folhas por meio da inibição da enzima glutamina sintetase. Sabe-se que subdoses de herbicidas aplicadas como num processo de deriva simulada danificam as culturas olerícolas, reduzindo o crescimento e produtividade (Zangouejad et al., 2021).

O Óxido Nítrico (NO) é um gás que combate as ERO quando estão presentes em altos níveis. Estudos demonstram que o NO neutraliza a toxicidade das ERO gerada pela aplicação de herbicidas em diversas culturas. No entanto, são escassos os estudos em olerícolas como o meloeiro.

A formação de ERO nos cloroplastos ocorre sob condição luminosa. Há a absorção de energia luminosa pelo complexo-antena que, em seguida, é direcionada para a cadeia transportadora de elétrons, resultando, dentre outras etapas do processo, na redução da plastohidroquinona em plastosemiquinona. Em condições normais, os elétrons da plastosemiquinona são transferidos para o citocromo-b6f (Taiz; Zeiger, 2017; Goltsev et al., 2016), porém, quando isso não é passível de ocorrer por fatores diversos, a necessidade de transferência dessa energia, para que não ocorra danos no fotossistema II (FSII), ainda é necessária. Então, este elétron será transferido para o oxigênio ( $O_2$ ) presente no meio, formando o radical aniônico superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) (Vetoshkina et al., 2017) e, também, dando origem a outros radicais livres a partir do superóxido, como o radical hidroxila ( $OH^{\cdot}$ ), que possui grande capacidade em causar danos no DNA, RNA, lipídios e proteínas, além do peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) como outra ERO formada (Barbosa et al., 2014; Farooq et al., 2019).

O glufosinato de amônio é classificado como um herbicida de contato, com amplo espectro de atuação e não seletivo, atuando nas folhas por meio da inibição da enzima glutamina sintetase, responsável pela transformação de glutamato e amônia em glutamina (Bernard; Habash, 2009). A utilização do glufosinato de amônio resulta na redução da glutamina presente no tecido vegetal, bem como no acúmulo de amônia, refletindo negativamente na relação C/N. Tais consequências afetam a fotossíntese e o metabolismo de carbono das plantas (Xie et al., 2014).

A ação herbicida do glufosinato ocorre devido à ação do composto L-fosfinotricina que compete pelo mesmo sítio ativo da enzima glutamina sintetase. A aplicação do produto, além de aumentar a fotorrespiração reduzindo o acúmulo de carbono, pode interferir negativamente na própria fotorrespiração. O glioxilato é formado a partir do glicolato pela enzima glicolato oxidase, glicolato este oriundo do 2-fosfoglicolato formado na fotorrespiração (Bhatla; Lal, 2018). Em condições normais de fotorrespiração, o glioxilato recebe um grupo amina oriundo do glutamato ou da serina e é convertido em glicina, porém, com a ação do glufosinato de amônia, o ciclo do glutamato/glutamina torna-se deficitário de substratos, dentre eles, o próprio glutamato (Blackwell et al., 1987). Desta maneira, não ocorre a ligação da amina e, conseqüentemente, há acúmulo de glioxilato (Wendler et al., 1992), que inibi a atividade da enzima ribulose 1, 5-bifosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco), assim como seu precursor glicolato (Lu et al., 2014; Takano et al., 2020). Com a inibição da atividade da Rubisco, ocorre a geração exacerbada de espécies reativas de oxigênio pelo FSII, na cadeia de transporte de elétrons (Takano et al., 2019).

O Óxido Nítrico (NO) é um gás que apresenta difusividade elevada e pode ser solúvel em meios hidrofóbicos e hidrofílicos, podendo difundir-se facilmente pelas membranas lipídicas (Bhatla; Lal, 2018). O combate às ERO pelo NO ocorre em ambiente em que esses radicais livres estão presentes em altos níveis. O NO reage primeiramente com o radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) e gera peroxinitrito ( $ONOO^-$ ) que, por sua vez, ainda apresenta potencial de danos às plantas (Huie; Padmaja 1993; Bhatla; Lal, 2018). O peroxinitrito protonado gera ácido peroxinitroso ( $ONOOH$ ), podendo ser fonte de dióxido de nitrogênio ( $NO_2^{\bullet}$ ) e radicais hidroxila ( $HO^{\bullet}$ ) (Godber et al., 2000; Arasimowicz; Floryszak-Wieczorek, 2007). Em situação de estresse ainda há a presença de  $H_2O_2$  no meio e o ácido peroxinitroso formado reage com  $H_2O_2$ , envolvendo a oxidação de um elétron do peróxido de hidrogênio pelo ácido, formando dioxoperoxonitrato (1-) ( $O_2NOO^-$ ),  $H^+$  e água. Em seguida, há a heterólise do  $O_2NOO^-$  em nitrito e uma molécula de oxigênio (Martinez et al., 2000), neutralizando a ação destes radicais livres.

Sabe-se que subdoses de herbicidas aplicadas como num processo de deriva simulada danificam as culturas olerícolas como o melão, causando danos na planta e reduzindo a produtividade (Zangouejad et al., 2021). Estudos demonstram que o NO neutraliza a toxicidade das ERO gerada pela aplicação de herbicidas em batata (Beligni; Lamattina, 1999), arroz (Hung et al., 2002) e ervilha (Singh et al., 2017), mostrando alta capacidade de proteção às células. Entretanto, são escassos os estudos visando atenuar os danos nas culturas olerícolas causados pela deriva de herbicidas, observando possíveis efeitos atenuantes na produção final. Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito atenuante da aplicação do doador de óxido nítrico, nitroprussiato de sódio (SNP), em plantas submetidas ao estresse oxidativo via aplicação de herbicida, glufosinato de amônia, em parâmetros fisiológicos e fitotécnicos da cultura do melão.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido de maio a outubro de 2019 no município de São Manuel - SP, na área experimental da Fazenda Experimental de São Manuel, da Faculdade de Ciências Agrônomicas da Universidade Estadual Paulista - UNESP, Campus de Botucatu - SP (22° 44' S de latitude, 47° 34' W de longitude, 750 metros de altitude), localizada na cidade de São Manuel (SP). Conforme a classificação climática de Köppen, o clima da região é mesotérmico do tipo Cwa, subtropical úmido, com verão chuvoso e inverno seco (Alvares et al., 2013).

As plantas de meloeiro foram cultivadas em casa de vegetação, com 40 m de comprimento, 7 m de largura e altura de 3 m, coberto com filme de polietileno de baixa densidade de 150 micras aditivado e laterais de telado sombrite (50%). O sistema de irrigação foi por gotejamento e fertirrigação por injeção de fertilizantes utilizando-se tubo do tipo “Venturi”. Os tratamentos fitossanitários foram realizados de acordo com a necessidade da cultura.

A adubação de base foi realizada de acordo com recomendações de adubação da cultura, conforme análise de solo (Tabela 1), adicionando-se 23,7 kg de calcário, 12,45 kg de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 11,7 kg de K<sub>2</sub>O na área de cultivo. O plantio foi realizado no sistema de semeadura direta (espaçamento de 0,5 m entre plantas e 1,0 m entre linhas), utilizando sementes de melão híbrido Dalí (Sakata Seed Sudamérica Ltda). As plantas foram conduzidas de forma vertical, sustentadas em bambus e foi realizado o raleamento de frutos, de modo a deixar um fruto por planta.

Tabela 1: Atributos químicos do solo na área experimental de cultivo da Fazenda Experimental de São Manuel da Faculdade de Ciências Agrônomicas da Universidade Estadual Paulista – UNESP, São Manuel (SP).

pH	M.O.	P <sub>resina</sub>	H+Al	K	Ca	Mg	SB	CTC	V%
CaCl <sub>2</sub>	g/dm <sup>3</sup>	mg/dm <sup>3</sup>	-----mmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> -----						
5,1	4	45	14	2,4	18	5	25	40	64

M.O- Matéria Orgânica; SB- Soma de Bases; CTC- Capacidade de Troca de Cátions; V- Saturação por bases.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, com sete tratamentos e quatro blocos, com cada parcela experimental composta por seis plantas úteis. Os tratamentos consistiram em: T1- Herbicida; T2- Herbicida + 15 µmol de nitroprussiato de sódio (SNP); T3- Herbicida + 30 µmol de SNP; T4- Herbicida + 60 µmol de SNP; T5- Herbicida + 120 µmol de SNP; T6- Herbicida + 240 µmol de SNP; T7- tratamento controle (sem aplicação de herbicida e SNP).

O estresse oxidativo nas plantas foi provocado pela aplicação de subdose do herbicida glufosinato de amônio (produto comercial Liberty® da Basf com 200 g L<sup>-1</sup> de ingrediente ativo (i.a.)), em uma concentração de 1,75% de i.a. da dosagem comercial recomendada, o que corresponde a 61,25 mL ha<sup>-1</sup>. Este valor foi determinado previamente por meio de testes com diferentes concentrações do herbicida, de modo que foi possível observar ação herbicida e de produção de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e peroxidação lipídica nessa concentração, porém sem que houvesse morte das mesmas. A aplicação dos tratamentos foi realizada em dois momentos, um no estágio vegetativo (48 dias após o plantio - DAP) e outra no reprodutivo (67 DAP), analisando-os separadamente.

A aplicação foliar das diferentes concentrações de SNP foi realizada quatro horas após a aplicação do herbicida, momento este em que há o pico de produção das espécies reativas de

oxigênio por ação do herbicida (Takano et al., 2019). Foi utilizado nitroprussiato de sódio dihidratado, de massa molar de 297,95 g/mol e teor mínimo de pureza de 99%.

Tanto para aplicação do herbicida quanto do SNP, utilizou-se pulverizador manual de CO<sub>2</sub> pressurizado, com 0,3 kgf por 31 cm<sup>2</sup>, bicos cônicos cheios, utilizando-se cortina plástica entre os tratamentos para evitar a deriva, sendo utilizado adjuvante não iônico a 0,3% (v/v) na aplicação do herbicida e um volume de calda de 350 L ha<sup>-1</sup>.

As avaliações de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a* foram realizadas aos 49 DAP (fase vegetativa) e aos 68 DAP (fase reprodutiva), ambas 24 horas após a aplicação dos tratamentos.

Analisou-se a taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> ( $A$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ); taxa de transpiração ( $E$ ,  $\text{mmol vapor d'água m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ); condutância estomática ( $g_s$ ,  $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) e concentração interna de CO<sub>2</sub> na folha ( $C_i$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ ar}$ ). A eficiência do uso de água ( $EUA$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 (\text{mmol H}_2\text{O})^{-1}$ ) foi determinada pela razão entre  $A$  e  $E$ ; a eficiência de carboxilação ( $A/C_i$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} (\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1})^{-1}$ ) foi determinada pela razão entre  $A$  e  $C_i$ . Tais variáveis foram obtidas utilizando analisador de fotossíntese com medida de CO<sub>2</sub> e vapor d'água por radiação infravermelha (*Infra Red Gas Analyser* – IRGA, modelo LI-6400, LI-COR).

As medidas foram determinadas com base na diferença entre a concentração de CO<sub>2</sub> e vapor d'água do ar de referência (valor presente na câmara do equipamento sem a folha) e da amostra (valor com a folha presente na câmara), além de outros fatores inclusos na equação geral de trocas gasosas de Von Caemmerer e Farquhar (1981), através do programa de análise de dados do equipamento.

Os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* foram determinados com fluorômetro acoplado ao analisador de fotossíntese, pelo método do pulso saturado (Maxwell; Johnson, 2000). Foi avaliada a eficiência quântica potencial do FSII ( $F_v/F_m$ ) (rendimento quântico da fase fotoquímica da fotossíntese); eficiência quântica das antenas ( $F_v'/F_m'$ ) (eficiência de captura da excitação dos elétrons pelos centros de reação abertos do FSII); coeficiente de extinção fotoquímico ( $qP$ ) (energia direcionada para o metabolismo fotossintético do carbono); coeficiente de extinção não-fotoquímico ( $qNP$ ) (todas as outras formas de dissipação de energia) e taxa aparente de transporte de elétrons ( $ETR$ ). Para o cálculo de  $ETR$ , a fração de excitação de energia distribuída para o FSII foi considerada 0,5 e a fração de densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (DFFFA) absorvida pela folha considerou-se 0,84 (Björkman; Demmig, 1987).

A porcentagem de Dano Foliar (%DF) foi determinada aos 80 DAP, com uso do *software* de análise de imagens ImageJ<sup>®</sup>, por meio da relação entre a área foliar danificada pela ação do herbicida e a área total da folha, sendo cada parcela experimental composta pela média de três folhas. As fotos foram tiradas com a câmera de smartphone, juntamente com uma escala métrica ao lado da folha compondo cada imagem.

As análises biométricas de frutos consistiram das medidas da massa de fruto (MF), diâmetro horizontal do fruto (DH) e diâmetro vertical de fruto (DV). Para MF utilizou-se balança analítica de precisão em 1g; para DH e DV utilizou-se régua graduada. Cada parcela analisada em cada variável foi composta por quatro frutos maduros (coloração amarela padrão e sólidos solúveis (SS) acima de nove °Brix, este medido com refratômetro portátil. A produção total foi mensurada pela colheita do fruto de cada planta útil da parcela, sendo quatro plantas úteis em cada parcela. A produtividade foi estipulada pelo quociente da produção pela área ( $\text{kg ha}^{-1}$ ).

Testou-se a normalidade dos dados e, então, utilizou-se teste Dunnett a 5% de probabilidade para comparação entre o grupo que recebeu herbicida e a testemunha. Realizou-se teste de regressão linear e polinomial quadrática também a 5% de probabilidade para verificar o comportamento das crescentes concentrações aplicadas.

Os dados também foram submetidos à análise multivariada, onde se realizou a Análise de Componentes Principais (PCA). O teste de correlação de Pearson entre as variáveis foi aplicado a 5% de probabilidade. Para tais análises, utilizou-se o software AgroEstat - Sistema para Análises Estatísticas de Ensaio Agrônomicos (Barbosa; Maldonado Junior, 2015).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os efeitos das diferentes concentrações de SNP aplicadas, bem como do Herbicida, foram diagnosticados pela Análise de Componentes Principais (PCA), que explicou 74,05% da variância dos dados coletados aos 49 DAP. Nota-se que as diferentes concentrações de SNP apresentaram efeito sob as plantas de melão. Plantas que foram submetidas à aplicação de herbicida (T1 a T6) apresentaram menor relação com as variáveis de assimilação de carbono, como  $A$  e  $A/C_i$ , demonstrando que o estresse das plantas nesses tratamentos refletiu negativamente na assimilação de carbono, diferentemente de T7, que possui alta relação com ambas as variáveis. As plantas de T7 apresentaram também maior relação com a eficiência do uso de água ( $EUA$ ), contrastando diretamente com T1 e T6, os quais apresentaram maior efeito na



*E* e *Ci*. Isso demonstrou que estes tratamentos tendem a ter reduzida atuação da ribulose 1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco) (Figura 1).

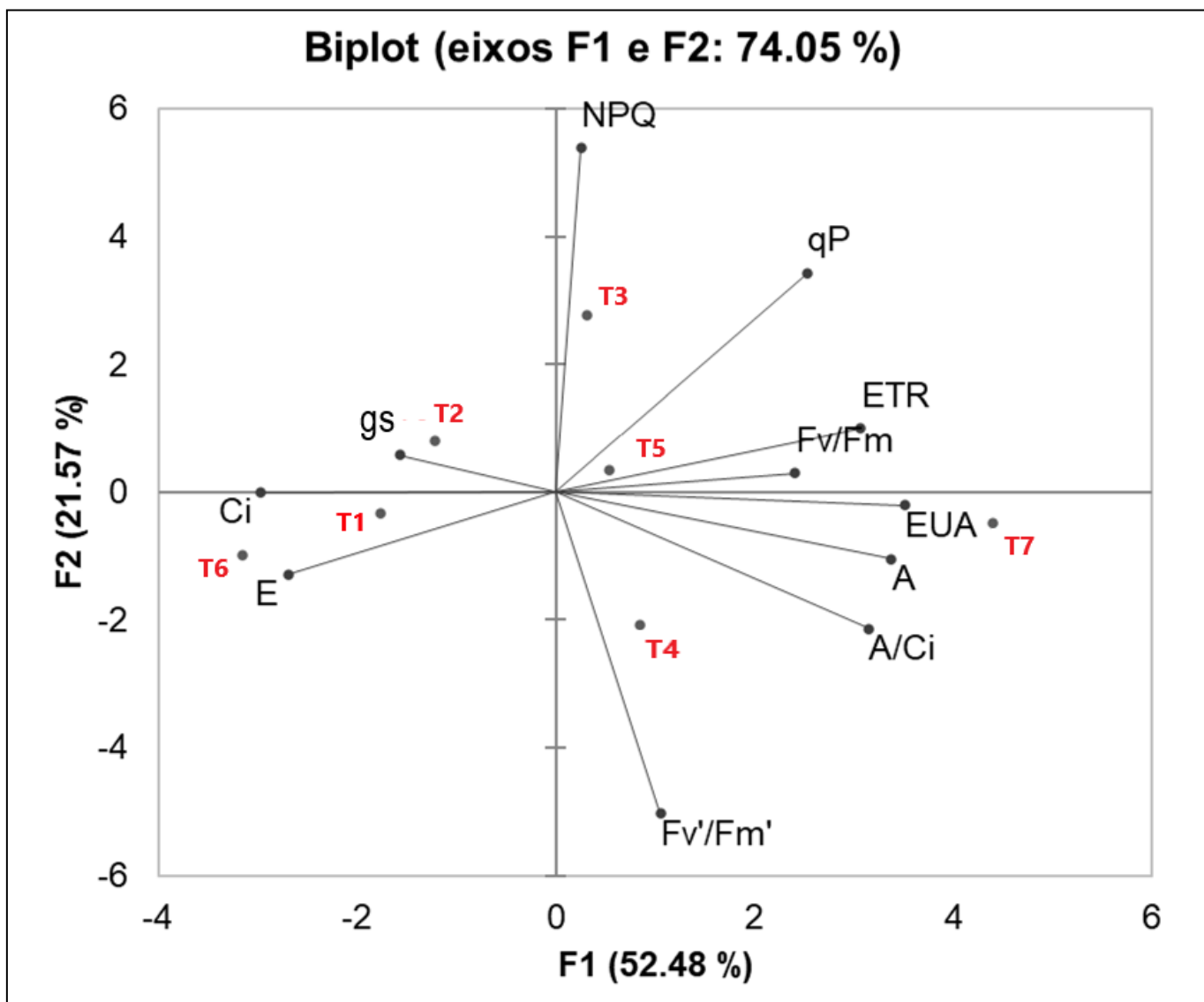
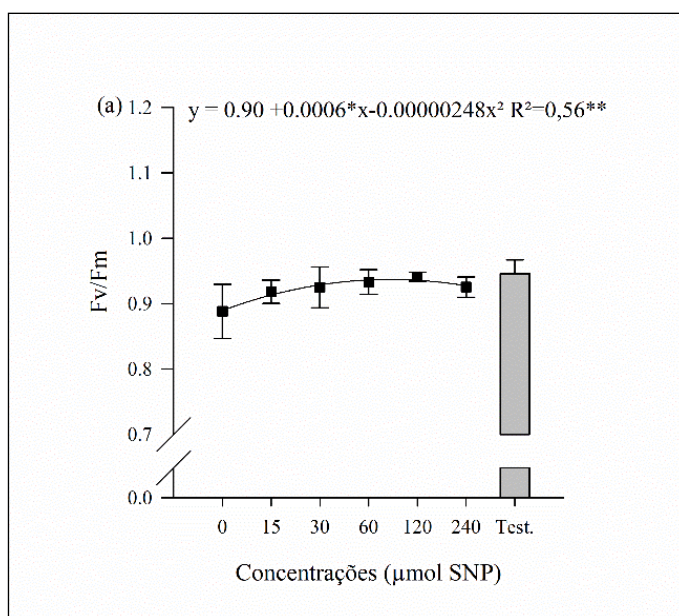


Figura 1. Análise de componentes principais (PCA), aos 49 DAP, da taxa de assimilação de  $\text{CO}_2$  ( $A$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ); taxa de transpiração ( $E$ ,  $\text{mmol vapor d'água m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ); condutância estomática ( $g_s$ ,  $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ); concentração interna de  $\text{CO}_2$  na folha ( $C_i$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ ar}$ ); eficiência do uso de água ( $EUA$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 (\text{mmol H}_2\text{O})^{-1}$ ); eficiência de carboxilação ( $A/C_i$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} \cdot (\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1})^{-1}$ ); eficiência quântica potencial do FSII ( $F_v/F_m$ ); eficiência quântica das antenas ( $F_v'/F_m'$ ); coeficiente de extinção fotoquímico ( $qP$ ); coeficiente de extinção não-fotoquímico ( $qNP$ ) e taxa aparente de transporte de elétrons ( $ETR$ ) em plantas de melão submetidas à aplicação de herbicida e diferentes concentrações de nitroprussiato de sódio (SNP), sendo: T1- herbicida; T2- herbicida + 15  $\mu\text{mol}$  de nitroprussiato de sódio (SNP); T3- herbicida + 30  $\mu\text{mol}$  de SNP; T4- herbicida + 60  $\mu\text{mol}$  de SNP; T5- herbicida + 120  $\mu\text{mol}$  de SNP; T6- herbicida + 240  $\mu\text{mol}$  de SNP; T7- tratamento controle (sem aplicação de herbicida e SNP).

Para que o processo de fotossíntese ocorra é necessário que o aparato fotossintético esteja íntegro, condição este, indiretamente medida pelas variáveis do rendimento quântico potencial do FSII ( $F_v/F_m$ ) e rendimento quântico efetivo do FSII ( $F_v'/F_m'$ ).

Apesar de não observar diferença estatística entre os grupos (com e sem herbicida) para as variáveis de fluorescência da clorofila *a* aos 49 e 68 DAP, nota-se que a aplicação de SNP nas plantas submetidas à ação do herbicida contribuiu para maior integridade do aparato fotossintético ( $F_v/F_m$ ) aos 49 DAP, de modo que o tratamento apenas com o herbicida apresentou menores valores, conforme comportamento quadrático ( $p < 0,05$ ) (Figura 2).

Figura 2. Rendimento quântico potencial do FSII ( $F_v/F_m$ ), aos 49 DAP, de folhas de meloeiro submetidas a primeira aplicação de herbicida (glufosinato de amônio) e ausência de nitroprussiato de sódio (SNP) (T1); herbicida e 15  $\mu\text{mol}$  de SNP (T2); herbicida + 30  $\mu\text{mol}$  de SNP (T3); herbicida + 60  $\mu\text{mol}$  de SNP (T4); herbicida + 120  $\mu\text{mol}$  de SNP (T5); herbicida + 240

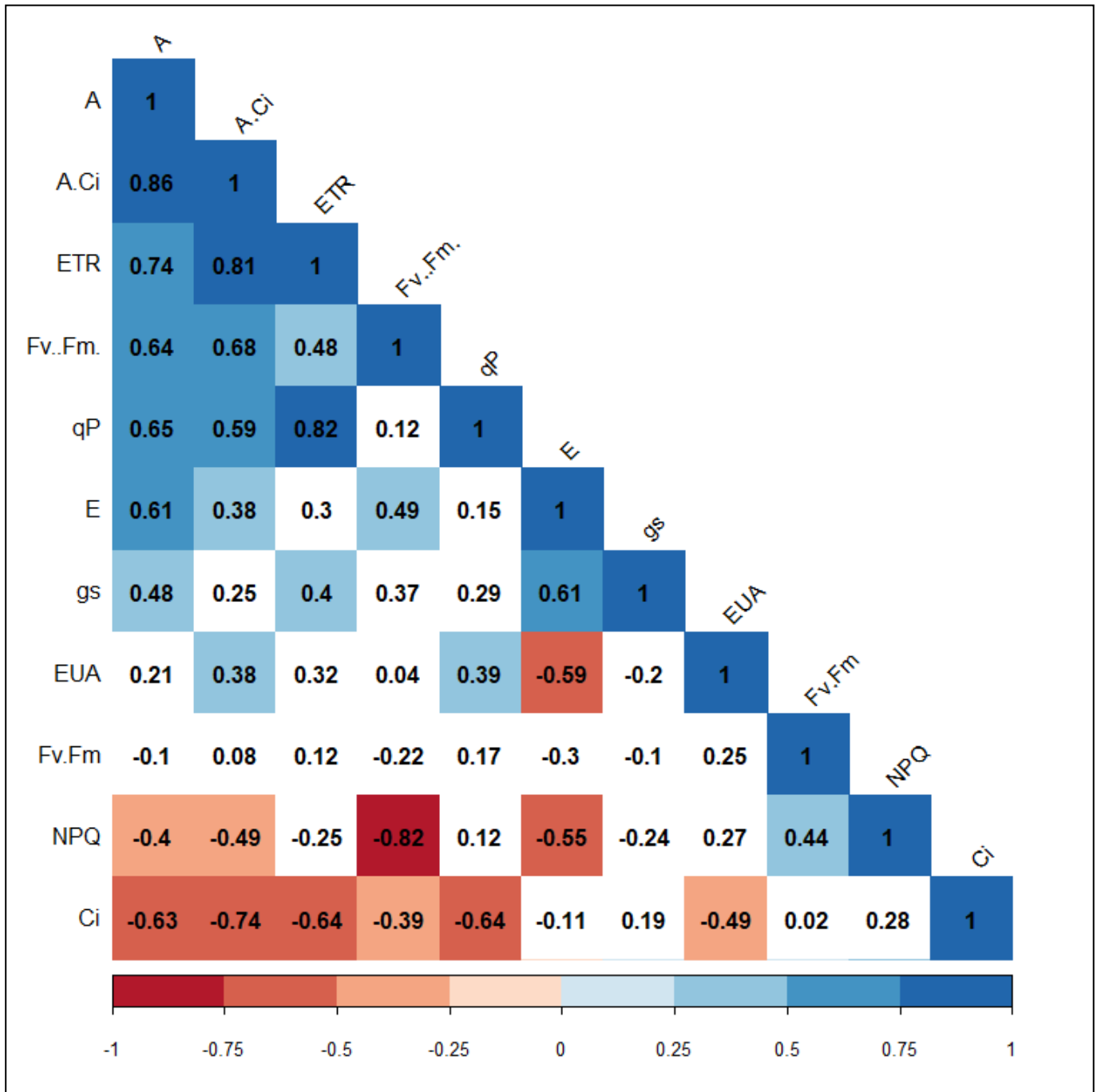


$\mu\text{mol}$  de SNP (T6) e ausência de herbicida e SNP (Testemunha).

Valores de 0,75 a 0,85 elétrons quantum<sup>-1</sup> indicam que a planta está com os FSII mais íntegro (Suassuna et al., 2010). Valores menores indicam maior situação de estresse, porém, diferentes espécies e condições de cultivo contribuem para valores fora do padrão médio. O  $F_v'/F_m'$  apresentou correlação significativa ( $p < 0,05$ ) com a taxa de assimilação de carbono (*A*), demonstrando que um aparato fotossintético íntegro, com maior rendimento efetivo, reflete na maior assimilação de carbono. O oposto também se aplica, uma vez que, há correlação negativa significativa ( $p < 0,05$ ) entre as variáveis  $F_v'/F_m'$  e  $qNP$ , ratificando que, com o aumento do

rendimento quântico efetivo do FSII, há redução da perda de energia dissipada de outras maneiras pela planta, que não o direcionamento para o metabolismo fotossintético (Tabela 1).

Tabela 1. Correlação de Pearson aos 49 DAP para taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> ( $A$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ); taxa de transpiração ( $E$ ,  $\text{mmol vapor d'água m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ); condutância estomática ( $g_s$ ,  $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ); concentração interna de CO<sub>2</sub> na folha ( $C_i$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ ar}$ ); eficiência do uso de água ( $EUA$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 (\text{mmol H}_2\text{O})^{-1}$ ); eficiência de carboxilação ( $A/C_i$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} \cdot (\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1})^{-1}$ ); eficiência quântica potencial do FSII ( $Fv/Fm$ ); eficiência quântica das antenas ( $Fv'/Fm'$ ); coeficiente de extinção fotoquímico ( $qP$ ); coeficiente de extinção não-fotoquímico ( $qNP$ ) e taxa aparente de transporte de elétrons ( $ETR$ ) em plantas de melão submetidas à aplicação de herbicida (glufosinato de amônio) e diferentes concentrações de nitroprussiato de sódio (SNP).



Presença de cores indica correlação significativa a 5% de probabilidade ( $p < 0,05$ ). Números indicam coeficiente de determinação ( $R^2$ ).

A aplicação de SNP pode interferir também na atividade da enzima Rubisco. Em tomateiro sob condições normais e sob déficit hídrico, a aplicação de SNP separadamente ou em associação com cloreto de cálcio aumentou em até 68% a atividade desta enzima (Siddiqui et al., 2017); em tabaco, a aplicação de SNP também resultou no aumento da atividade da Rubisco em plantas submetidas ao estresse por metais pesados (Khairy et al., 2016).

No presente trabalho não foi observado favorecimento à atividade da Rubisco em decorrência das concentrações de SNP aplicadas. Entretanto, destaca-se que houve correlação negativa ( $p < 0,05$ ) entre  $A/C_i$  e  $qNP$ , que demonstra que a redução da atividade de carboxilação pela enzima Rubisco influencia no aumento do coeficiente de extinção não fotoquímico, ou seja, energia não direcionada para a fase fotoquímica é perdida, principalmente, na forma de calor. O inverso também foi observado através da correlação positiva ( $p < 0,05$ ) entre  $A/C_i$  e  $qP$ . O aumento da eficiência de carboxilação reflete no aumento do aproveitamento energético das plantas, denotado no incremento da variável  $qP$  (Tabela 1). Apesar das correlações significativas ( $p < 0,05$ ), não houve efeito significativo da aplicação de SNP em nenhuma das variáveis da análise de trocas gasosas no estágio vegetativo e reprodutivo (49 e 68 DAP).

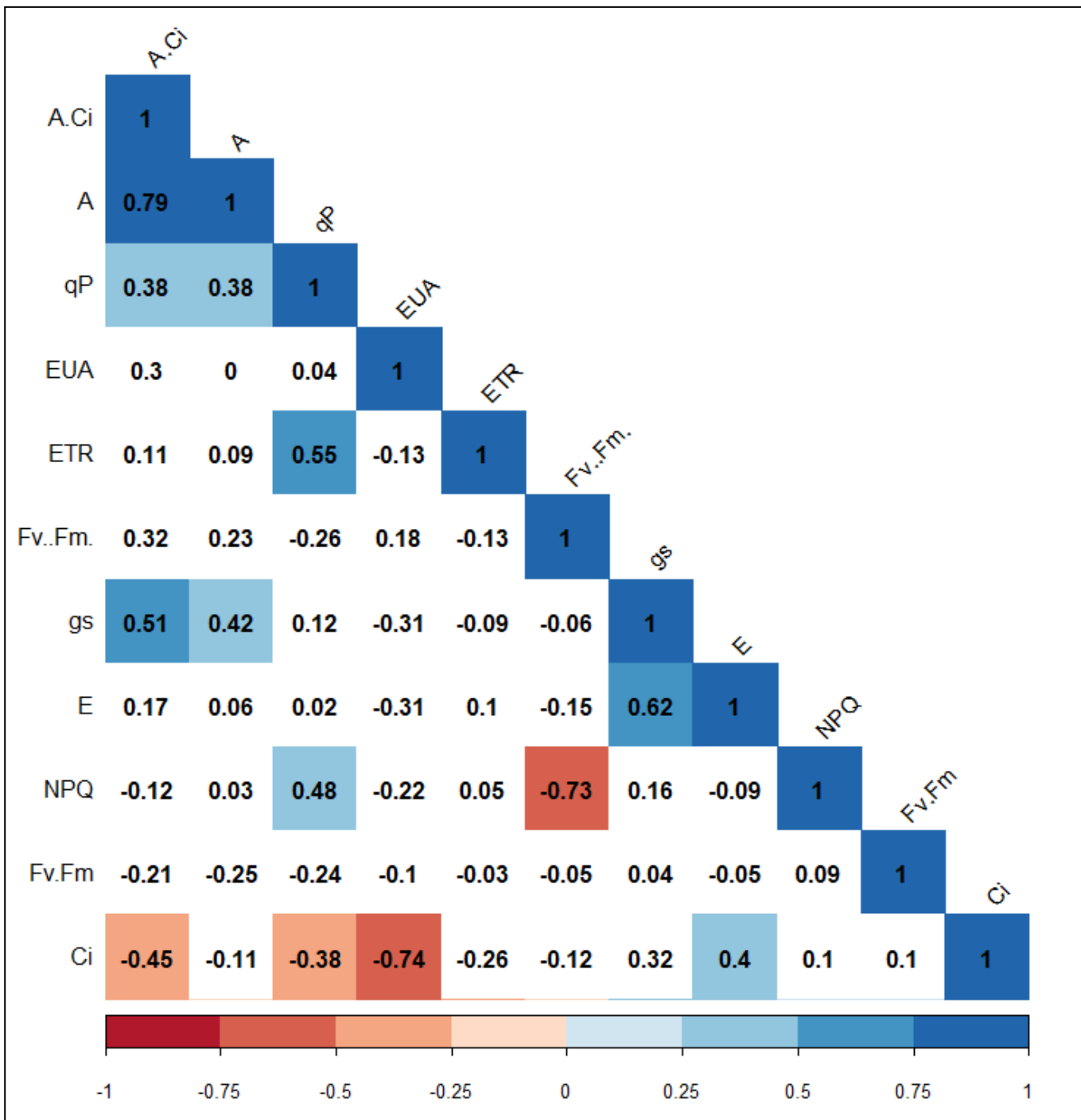
O óxido nítrico controla o processo de abertura e fechamento estomático. Isso ocorre, pois este composto interage com sinalizadores metabólicos, dentre eles o  $Ca^{2+}$ , altamente atuante no controle homeostático das células, incluindo células-guarda (García-Mata; Lamattina, 2002). Além disso, é comprovada que a associação de NO com o ácido abscísico (ABA) pode refletir na amplitude de abertura e fechamento estomático, conforme pequenas mudanças em suas concentrações (Hasanuzzaman et al., 2018). Todavia, tal efeito não foi observado no presente trabalho; não houve influência do NO no controle estomático das plantas nas avaliações realizadas. Com os estômatos permanecendo mais tempo abertos, maior é a perda de água por transpiração, não favorecendo numa melhor eficiência do uso da água, conforme correlação negativa ( $p < 0,05$ ) entre  $E$  e  $EUA$  (Tabela 1).

Juntamente com a abertura estomática e, conseqüentemente, a entrada de carbono atmosférico no mesófilo foliar, a atividade da enzima Rubisco no ciclo de Calvin-Benson é fundamental para a captura do dióxido de carbono (Bar-On; Milo, 2019). A não diferença estatística entre os tratamentos nas variáveis  $EUA$  e  $A/C_i$  refletiram também na similaridade dos dados das variáveis  $A$  e  $C_i$ , uma vez que, não havendo alteração na atividade da enzima Rubisco ( $A/C_i$ ), os níveis da  $A$  também tendem a não se alterar e, por consequência, a concentração de carbono disponível no mesófilo foliar ( $C_i$ ) também se mantêm.

Para a análise de fluorescência da clorofila *a* realizada no período reprodutivo (68 DAP), os resultados foram similares aos anteriores, não apresentando diferenças significativas dos tratamentos com e sem herbicida. Em citros, a aplicação isolada de 0,5mM de SNP também não apresentou efeito significativo quando comparadas ao controle para as mesmas variáveis de fluorescência da clorofila *a* analisadas (Khoshbakht et al., 2018); em brássica crambe (*Crambe abyssinica*), o resultado foi similar para plantas sem déficit hídrico, onde as aplicações de 75 e 150  $\mu$ M de SNP não foram significativamente semelhantes ao tratamento controle (Batista et al., 2019), mesmo resultado encontrado em nozes cultivada *in vitro* que, quando comparado à testemunha, o tratamento com concentração de 100  $\mu$ M de SNP não apresentou efeito significativo (Dong et al., 2018).

A tabela de correlações para a aplicação de SNP aos 68 DAP apresentou comportamento similar aos dados da avaliação aos 49 DAP. Entretanto, vale destacar que apesar de ter havido correlação positiva ( $P < 0,05$ ) entre *ETR* e *qP*, indicando que o aumento no fluxo de elétrons na cadeia de transporte de elétrons (CTE) aumentou também o metabolismo fotoquímico, ou seja, houve também perda desta energia como demonstrado pela correlação significativa de *qP* com *qNP* (Tabela 2).

Tabela 2. Correlação de Pearson aos 68 DAP entre taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> ( $A$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ); taxa de transpiração ( $E$ ,  $\text{mmol vapor d'água m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ); condutância estomática ( $g_s$ ,  $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ); concentração interna de CO<sub>2</sub> na folha ( $C_i$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ ar}$ ); eficiência do uso de água ( $EUA$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 (\text{mmol H}_2\text{O})^{-1}$ ); eficiência de carboxilação ( $A/C_i$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} \cdot (\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1})^{-1}$ ); eficiência quântica potencial do FSII ( $Fv/Fm$ ); eficiência quântica das antenas ( $Fv'/Fm'$ ); coeficiente de extinção fotoquímico ( $qP$ ); coeficiente de extinção não-fotoquímico ( $qNP$ ) e taxa aparente de transporte de elétrons ( $ETR$ ) em plantas de melão submetidas à aplicação de herbicida (glufosinato de amônio) e diferentes concentrações de nitroprussiato de sódio (SNP).



Presença de cores indica correlação significativa a 5% de probabilidade ( $p < 0,05$ ). Números indicam coeficiente de determinação ( $R^2$ ).

Isso demonstra que o aumento da energia presente na CTE (cadeia transportadora de elétrons), representado pela *ETR* não garantiu benefícios para a planta, podendo ser este excesso de energia um agente fisiologicamente estressante, refletido pela incapacidade de direcionamento dessa energia somente para *qP*.

A aplicação de SNP em plantas submetidas ao estresse oxidativo via aplicação do herbicida glufosinato de amônio, não apresentou efeito significativo quando comparado à testemunha em ambos os estádios fisiológicos.

Os efeitos nas variáveis de produção e produtividade nas plantas de meloeiro submetidas aos tratamentos com herbicida e/ou SNP também foram diagnosticados por meio da Análise de Componentes Principais (PCA), que explicou 88,4% da variância destes dados (Figura 3).

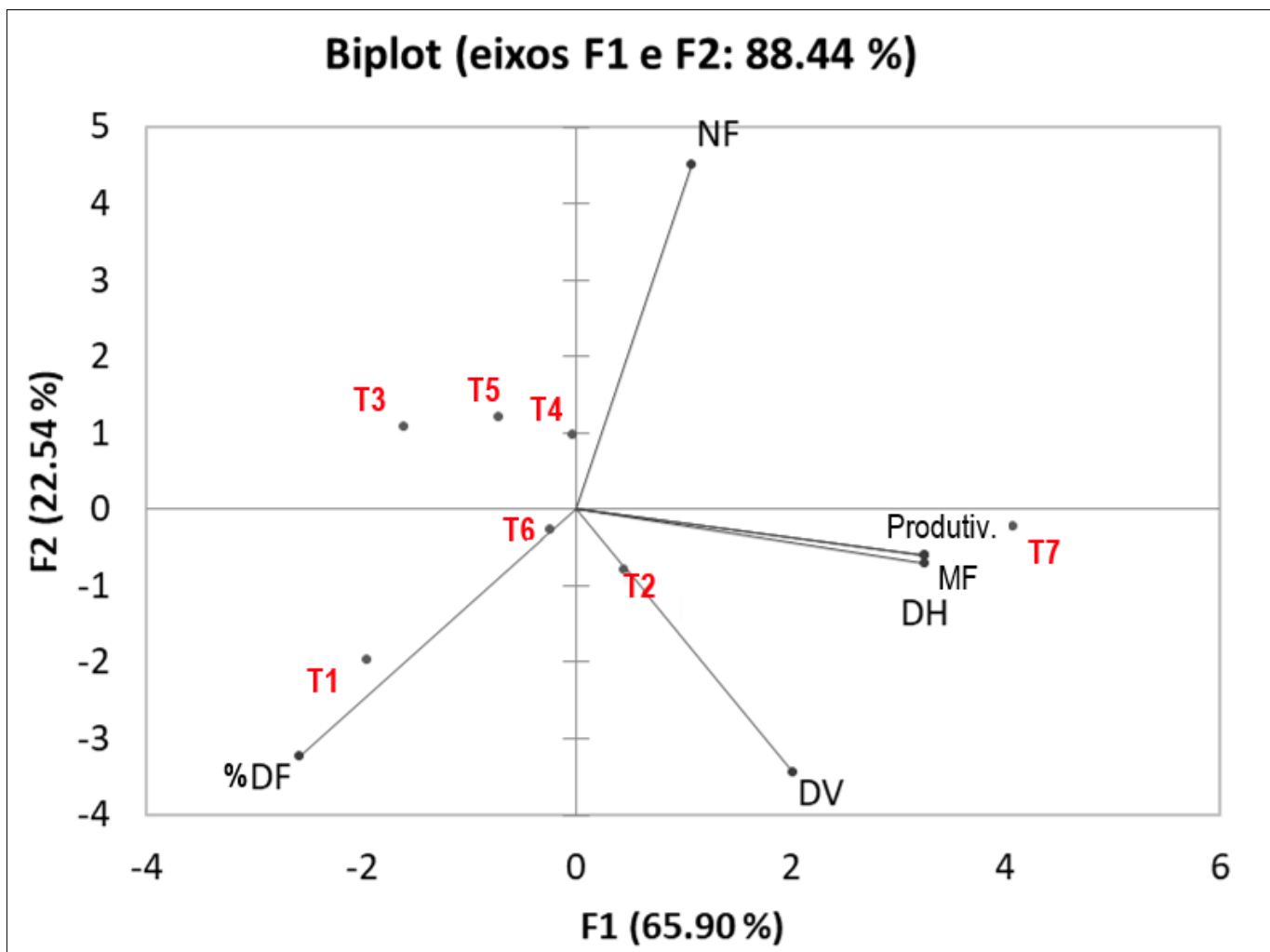


Figura 3. Análise de componentes principais (PCA) da Produtividade (Produtiv.), Massa de Frutos (MF), Diâmetro Horizontal de frutos (DH), Diâmetro Vertical de frutos (DV), número de folhas (NF) e Porcentagem de Dano Foliar (%DF) em plantas de melão submetidas à aplicação de herbicida (glufosinato de amônio) e diferentes concentrações de nitroprussiato de sódio (SNP), sendo T1- herbicida; T2- herbicida + 15  $\mu\text{mol}$  de nitroprussiato de sódio (SNP); T3- herbicida + 30  $\mu\text{mol}$  de SNP; T4- herbicida +



60  $\mu\text{mol}$  de SNP; T5- herbicida + 120  $\mu\text{mol}$  de SNP; T6- herbicida + 240  $\mu\text{mol}$  de SNP; T7- tratamento controle (sem aplicação de herbicida e SNP).

Nota-se que as variáveis de produção e produtividade apresentaram maior relação com T7 (testemunha), muito em função da alta relação deste tratamento com a taxa de assimilação de carbono (*A*) e o uso eficiente da água (*EUA*) no sistema, observados anteriormente em resultado da ausência de herbicida.

Além da ação deletéria na fotossíntese, a presença de herbicida nas plantas resulta num consequente dano foliar. Destaca-se maior %DF no T1, tratamento este que houve aplicação de herbicida mas ausência do liberador de NO, SNP (Figura 4).

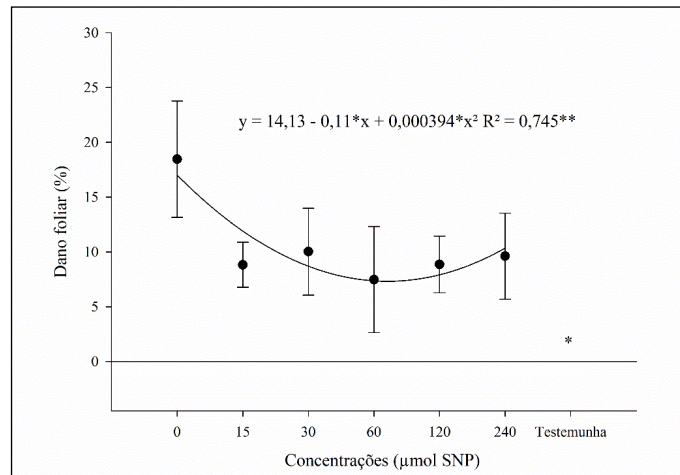


Figura 4. Dano Foliar (%DF) em plantas de melão submetidas à aplicação de herbicida (glufosinato de amônio) e ausência de nitroprussiato de sódio (SNP) (T1), herbicida e 15  $\mu\text{mol}$  de SNP (T2); herbicida + 30  $\mu\text{mol}$  de SNP (T3); herbicida + 60  $\mu\text{mol}$  de SNP (T4); herbicida + 120  $\mu\text{mol}$  de SNP (T5); herbicida + 240  $\mu\text{mol}$  de SNP (T6) e ausência de herbicida e SNP (Testemunha). \*\* significativo a 5%, \* significativo a 1% pelo teste Dunnet.

As plantas de melão submetidas à aplicação do herbicida com e sem o tratamento com Nitroprussiato de sódio (SNP) apresentaram significativamente maior Porcentagem de Dano Foliar (%DF), quando comparado às plantas do tratamento controle, de acordo com comportamento quadrático ( $p < 0,05$ ) (Figura 4). Evidenciou-se que a aplicação do herbicida glufosinato de amônio na concentração de 1,75% causou destruição de tecido foliar e este dano foliar foi atenuado com a aplicação de SNP, principalmente, na concentração de 60  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (T4).

A presença das ERO geradas pela aplicação do glufosinato de amônio causa destruição de membranas e, por consequência, de células e tecidos (Takano et al., 2019). O óxido nítrico possui capacidade de atenuação do estresse oxidativo, principalmente, por meio da eliminação dessas

ERO produzidas em situações adversas, reduzindo suas reatividades e seus efeitos deletérios. Tal capacidade se dá, principalmente, pela reação de NO com o radical superóxido, sendo este um radical livre primário (Arasimowicz; Floryszak-Wieczorek, 2007; Bhatla; Lal, 2018). Com a ausência ou redução da atividade oxidante gerada pelo herbicida em decorrência da presença de NO nos tratamentos (T2, T3, T4, T5, T6 e T7), os tecidos foliares mantiveram-se mais íntegros e com menores danos quando comparado ao tratamento só com a aplicação de herbicida (T1).

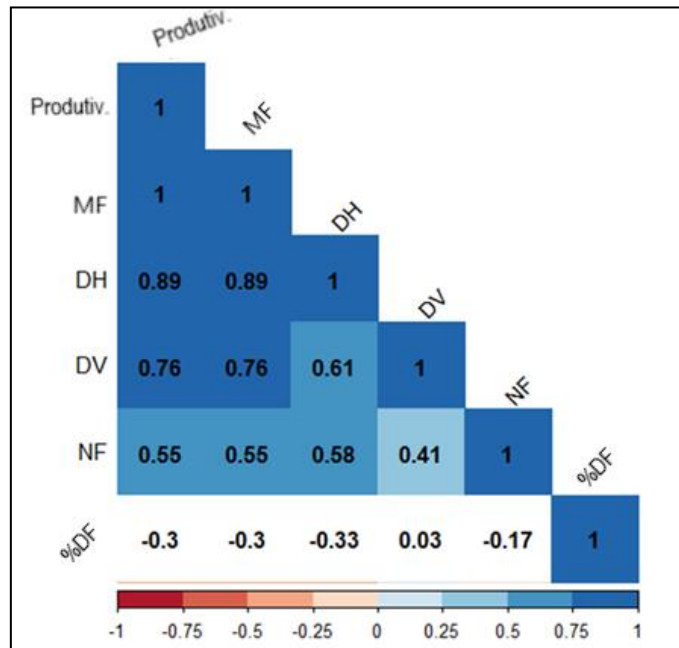
Apesar da diferença numérica na massa de frutos (MF) e produtividade das plantas submetidas à ação do herbicida, não houve efeito significativo dos tratamentos sobre estas variáveis, bem como para Diâmetro Horizontal (DH) e Vertical de frutos (DV) (Tabela 3) de melão.

Tabela 3. Número de Folhas (NF), Massa de Frutos (MF), Diâmetro Horizontal de frutos (DH), Diâmetro Vertical de frutos (DV) e Produtividade de plantas de melão submetidas à aplicação de herbicida (glufosinato de amônio) e diferentes concentrações de nitroprussiato de sódio (SNP).

Tratamentos	NF	MF (g)	DH (cm)	DV (cm)	Produtividade (kg/ha)
T1- herbicida	32	714,1 9	10,69	13,71	14284
T2- herbicida + 15µM de SNP	31	795,5 0	11,03	13,23	15910
T3- herbicida + 30µM de SNP	33	708,2 5	10,69	12,98	14165
T4- herbicida + 60µM de SNP	34	757,1 3	10,96	13,12	15143
T5- herbicida + 120µM de SNP	34	741,9 4	10,68	13,19	14839
T6- herbicida + 240µM de SNP	32	755,7 5	10,97	13,26	15115
T7- Testemunha	34	861,9 4	11,59	14,01	17239
CV (%)	0,1	12,66	4,64	6,28	12,66

A produção de frutos, em geral, está fortemente relacionada com a relação fonte:dreno e alterações nas folhas (fonte) tendem a refletir na produção de frutos (dreno) (Queiroga et al., 2008). Houve correlação positiva significativa da relação fonte: dreno do NF com as variáveis MF, DH, DV e produtividade. O aumento do NF está correlacionado com o aumento das variáveis de produção, ainda que não houvesse diferença estatística entre os tratamentos (Tabela 4).

Tabela 4. Correlação de Pearson entre Produtividade (Produtiv.), Massa de Frutos (MF), Diâmetro Horizontal de frutos (DH), Diâmetro Vertical de frutos (DV), número de folhas (NF) e Porcentagem de Dano Foliar (%DF) em plantas de melão submetidas à aplicação de herbicida (glufosinato de amônio) e diferentes concentrações de nitroprussiato de sódio (SNP).



Presença de cores indica correlação estatística significativa ( $p < 0,05$ ). Números indicam coeficiente de determinação ( $R^2$ ).

Tecidos mais íntegros possuem maior capacidade fotossintética, que reflete no maior acúmulo de carbono. A redução da área fotossinteticamente ativa em decorrência da ação do herbicida nas folhas dos tratamentos T1 a T6, expressa por meio da variável %DF, confirma a atividade deletéria do herbicida nas plantas, distanciando estes tratamentos da variável Produtividade (Figura 3).

## CONCLUSÕES

A aplicação de nitroprussiato de sódio (SNP) como doador de NO demonstrou efeito benéfico no combate ao estresse oxidativo provocado pela simulação de deriva de herbicida reduzindo os danos foliares no meloeiro e, por consequência, favorecendo o crescimento e desenvolvimento das plantas, de acordo com as análises de PCA.

A aplicação de SNP como doador de NO não influenciou significativamente nas variáveis de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a* das plantas de melão.

**LITERATURA CITADA**

Alvares, C. A.; Stape, J. L.; Sentelhas, P. C.; Gonçalves, J. L. M.; Sparovek, G. Koppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift*. v. 22. n. 6. p. 711–728. 2013.

Arasimowicz, M.; Floryszak-Wieczorek, J. Nitric oxide as a bioactive signalling molecule in plant stress responses. *Plant Science*, v.172. n.5. p.876-887, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2007.02.005>.

Barbosa, M. R.; Silva, M. M. A.; Willadino, L.; Ulisses, C.; Camara, T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. *Ciência Rural*. v.44. p. 453-460. 2014.

Barbosa, J. C.; Maldonado Junior, W. *AgroEstat: sistema para análises estatísticas de ensaios agrônômicos*. Jaboticabal, FCAV/UNESP. 396p, 2015.

Bar-On, Y. M.; Milo, R. The global mass and average rate of Rubisco. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 116, n. 10, p. 4738-4743, 2019. <https://doi.org/10.1073/pnas.1816654116>.

Beligni, M. V.; Lamattina, L. Nitric oxide protects against cellular damage produced by methylviologen herbicides in potato plants. *NITRIC OXIDE: Biology and Chemistry*. v. 3, n. 3, p. 199–208. 1999.

Bernard S. M; Habash D. Z. The importance of cytosolic glutamine synthetase in nitrogen assimilation and recycling. *New Phytologist*. v. 182:608–620. 2009.

Bhatla, S.C.; Lal, M.A. *Plant Physiology, Development and Metabolism*. Springer Nature Singapore Pte Ltd. p. 1237, 2018. <https://link.springer.com/book/10.1007%2F978-981-13-2023-1>.

Björkman, O.; Demmig, B. Photon yield of O<sub>2</sub> evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77K among vascular plants of diverse origins. *Planta*. v.170. p.504–589. 1987.

Blackwell, R. D; Murray, A. J. S.; Lea, P. J. Inhibition of photosynthesis in barley with decreased levels of chloroplastic glutamine synthetase activity. *Journal of Experimental Botany*. v. 38. p. 1799–1809. 1987.

Costa, N. D. (ed.). *Autores Salviano, A. M. et al. A cultura do melão*. 3ª edição. Brasília, DF. Embrapa, 2017. 202 p.

Zangoueinejad, R.; Sirooeinejad, B.; Alebrahim, M.T.; Bajwa, A.A. The Response of Iranian Melon (*Cucumis melo* L.) Accessions to 2,4-D Drift. *Plants*, v.10, p. 2442. 2021. <https://doi.org/10.3390/plants10112442>.

Dong, N.; Li, Y.; Qi, J.; Chen, Y.; Hao, Y. Nitric oxide synthase-dependent nitric oxide production enhances chilling tolerance of walnut shoots in vitro via involvement chlorophyll fluorescence and other physiological parameter levels. *Scientia Horticulturae*, v.230, p.68-77, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.11.016>.

FAO <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>. Janeiro, 2022.

Farooq, M. A.; Niazi, A. K.; Akhtar, J.; Saifullah; Farooq, M.; Souri, Z.; Karimi, N. Rengel, Z. Acquiring control: The evolution of ROS-Induced oxidative stress and redox signaling pathways in plant stress responses. *Plant Physiology and Biochemistry*. v. 141. p. 353–369. 2019.

García-Mata, C.; Lamattina, L. Nitric Oxide and Abscisic Acid Cross Talk in Guard Cells. *Plant Physiology*, v. 28, n.3, p.790-792, 2002. <https://doi.org/10.1104/pp.011020>.

Godber, B. L.; Doel, J. J.; Sapkota, G. P.; Blake, D. R.; Stevens, C. R.; Eisenthal, R.; Harrison, R.. Reduction of nitrite to nitric oxide catalyzed by xanthine oxidoreductase. *Journal of Biological Chemistry*. v. 275. p. 7757–7763. 2000.

Goltsev, V. N.; Kalaji, H. M., Paunov, M. Bąba, W.; Horaczek, T.; Mojski, J.; Kociel, H.; Allakhverdiev, S. I. Variable chlorophyll fluorescence and its use for assessing physiological condition of plant photosynthetic apparatus. *Russian Journal of Plant Physiology*, v. 63, p. 869–893. 2016. <https://doi.org/10.1134/S1021443716050058>

Hasanuzzaman, M.; Oku, H.; Nahar, K.; Bhuyan, M.B.; Al Mahmud, J.; Baluska, F.; Fujita, M. Nitric oxide-induced salt stress tolerance in plants: ROS metabolism, signaling, and molecular interactions. *Plant Biotechnology Reports*, v.12, p.77-92, 2018. <https://doi.org/10.1007/s11816-018-0480-0>.

Huie, R. E.; Padmaja, S. The Reaction of no With Superoxide. *Free Radical Research Communications*. v. 18. n. 4. p. 195-199. 1993.

Hung, K. T.; Kao, C. H. Nitric oxide counteracts the senescence of rice leaves induced by abscisic acid. *Journal of Plant Physiology*. v. 160. p. 871–879. 2003.

Khairy, A.I.H.; Oh, M.J.; Lee, S.M.; Kim, D.S.; Roh, K.S. Nitric oxide overcomes Cd and Cu toxicity in in vitro-grown tobacco plants through increasing contents and activities of rubisco and rubisco activase. *Biochimie Open*, v.2, p.41-51, 2016.: [10.1016/j.biopen.2016.02.002](https://doi.org/10.1016/j.biopen.2016.02.002).

Khoshbakht, D.D.; Asghari, M.R.; Haghghi, M. Effects of foliar applications of nitric oxide and spermidine on chlorophyll fluorescence, photosynthesis and antioxidant enzyme activities of citrus seedlings under salinity stress. *Photosynthetica*, v. 56, p. 1313–1325, 2018. <https://doi.org/10.1007/s11099-018-0839-z>.

Lu, Y.; Li, Y.; Yang, Q.; Zhang, Z.; Chen, Y.; Zhang, S.; Peng, X-X. Suppression of glycolate oxidase causes glyoxylate accumulation that inhibits photosynthesis through deactivating Rubisco in rice. *Physiologia Plantarum*. v. 150. n.3. p.463–476. 2014.

Martinez, G. R.; Di Mascio P.; Bonini M. G.; Augusto O., Briviba K.; Sies H.; Maurer P.; Röthlisberger U.; Herold S.; Koppenol W. H. Peroxynitrite does not decompose to singlet oxygen and nitryl (NO<sup>-</sup>). *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. v. 97, p. 10307–10312. 2000.

Queiroga, R.C.F.; Puiatti, M.; Fontes, P.C.R.; Cecon, P.R. Produtividade e qualidade do melão cantaloupe, cultivado em ambiente protegido, variando o número e a posição dos frutos na

planta. *Bragantia*, v. 67, n. 4, p. 911-920, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0006-87052008000400013>.

Siddiqui, M.H.; Alamri, S.; Al-Khaishany, M.; Al-Qutami, M.; Ali, H.; Khan, M. Nitric oxide and calcium induced physio-biochemical changes in tomato (*Solanum lycopersicum*) plant under heat stress. *Fresenius Environmental Bulletin*, v. 26, n. 2, p. 1663-1672, 2017.

Singh, H.; Singh, N. B.; Singh, A.; Hussain, I.; Yadav, V. Physiological and biochemical roles of nitric oxide against toxicity produced by glyphosate herbicide in *Pisum sativum*. *Russian Journal of Plant Physiology*, v. 64, p. 518–524. 2017.

Taiz, L.; Zeiger, E. *Fisiologia vegetal*. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

Takano, H. K.; Beffa, R.; Preston, C.; Westra, P.; Dayan, F. E. A novel insight into the mode of action of glufosinate: how reactive oxygen species are formed. *Photosynthesis Research*. v. 144. p. 361–372. 2020.

Takano, H.K.; Beffa, R.; Preston, C.; Westra, P.; Dayan, F.E. Reactive oxygen species trigger the fast action of glufosinato. *Planta*, v. 249, p. 1837–1849, 2019. <https://doi.org/10.1007/s00425-019-03124-3>.

Vetoshkina, D. V.; Ivanov, B. N.; Khorobrykh, S. A.; Iproskuryakov, I. I. Borisova-Mubarakshina, M. M. Involvement of the chloroplast plastoquinone pool in the Mehler reaction. *Physiologia Plantarum*. v. 161. p. 45–55. 2017.

Von Caemmerer, S.; Farquhar, G.D. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta*. v. 153. p. 376–387. 1981.

Wendler, C.; Putzer, A.; Wild, A. Effect of Glufosinate (Phosphinothricin) and Inhibitors of Photorespiration on Photosynthesis and Ribulose-1,5-Bisphosphate Carboxylase Activity. *Journal of Plant Physiology*. v. 139. p. 666-671. 1992.

Xie, J.; Bai, X. C.; Sun, C. C.; Qian, H. F.; Fu, Z. W. The effect of glufosinate on nitrogen assimilation at the physiological, biochemical and molecular levels in *Phaeodactylum tricorutum*. *Ecotoxicology*. v. 23. p. 1430–1438. 2014.

## CAPÍTULO 2

### **Nitroprussiato de Sódio afeta fisiologicamente o meloeiro sob condições de estresse oxidativo**

Capítulo elaborado segundo as diretrizes do periódico *Brazilian Journal of Agricultural Science*.

#### **Resumo**

O objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos fisiológicos da aplicação de Nitroprussiato de Sódio (SNP) como doador de Óxido Nítrico (NO) em plantas de meloeiro submetidas ao estresse oxidativo causado pela aplicação de subdoses de herbicida. Conduzido em casa de vegetação, o delineamento experimental foi em blocos casualizados, composto por sete tratamentos: T1- Herbicida (glufosinato de amônio); T2- herbicida + 15  $\mu\text{mol}$  de SNP; T3- herbicida + 30  $\mu\text{mol}$  de SNP; T4- herbicida + 60  $\mu\text{mol}$  de SNP; T5- herbicida + 120  $\mu\text{mol}$  de SNP; T6- herbicida + 240  $\mu\text{mol}$  de SNP; T7- tratamento controle (sem aplicação de herbicida e SNP). Foi realizada uma aplicação de SNP, no estágio reprodutivo (67 DAP) e avaliou-se a atividade de enzimas antioxidantes, teor de peróxido de hidrogênio, peroxidação lipídica, conteúdo de aminas biogênicas, triptofano, 5-hidroxitriptofano e triptamina. Segundo os resultados, o SNP interferiu fisiologicamente nas plantas em situação de estresse oxidativo, promovendo aumento da atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase (POD) e interferindo no conteúdo endógeno de aminas biogênicas. Houve também redução da presença de triptofano, 5-hidroxitriptofano e triptamina, de acordo com o incremento das concentrações de SNP aplicadas.

**Palavras-Chave:** Óxido nítrico; melão; atividade antioxidante; aminas biogênicas; enzimas.

**Sodium Nitroprusside has physiological action on melon plants under conditions of oxidative stress.**

**Abstract**

The aim of this study was to evaluate the physiological effects of the application of Sodium Nitroprusside (SNP) as a donor of Nitric Oxide (NO) in melon plants subjected to oxidative stress caused by the application of sub-doses of herbicide. Conducted in a greenhouse, the experimental design was in randomized blocks, consisting of seven treatments: T1- Herbicide; T2- herbicide + 15  $\mu\text{mol}$  SNP; T3- herbicide + 30  $\mu\text{mol}$  SNP; T4- herbicide + 60  $\mu\text{mol}$  SNP; T5- herbicide + 120  $\mu\text{mol}$  SNP; T6- herbicide + 240  $\mu\text{mol}$  SNP; T7- control treatment (without herbicide and SNP application). An application of SNP was carried out at the reproductive stage (67 DAP) and the activity of antioxidant enzymes, hydrogen peroxide content, lipid peroxidation, content of biogenic amines, tryptophan, 5-hydroxytryptophan and tryptamine were evaluated. According to the results, the SNP interfered physiologically in plants under oxidative stress, promoting an increase in the activity of the enzyme Superoxide Dismutase (SOD), catalase (CAT) and peroxidase (POD) and interfering with the endogenous content of biogenic amines. There was also a reduction in the presence of tryptophan, 5-hydroxytryptophan and tryptamine, according to the increase in SNP concentrations applied.

**Keywords:** SNP; melon; antioxidant activity; biogenic amines; enzymes.



## INTRODUÇÃO

As plantas possuem diferentes mecanismos de combate ao estresse, oxidativo ou não, e não diferentemente, o melão por estar sujeito, principalmente, a fatores abióticos de estresse, como temperatura alta e excesso de luminosidade, é uma cultura que constantemente precisa ativar seus mecanismos de combate ao estresse oxidativo. Dentre estes mecanismos, têm-se compostos de defesa não enzimáticos, como flavonoides, carotenoides, aminas biogênicas, tocoferóis, glutatona, aminoácidos, além de vitaminas. Já os mecanismos de defesa enzimáticos estão presentes em diferentes locais intra e extracelular, os quais se têm como principais enzimas envolvidas a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POD), glutatona peroxidase (GPX), ascorbato peroxidase (APX), glutatona redutase (GR) e glutatona S-transferase (GSTs) (Barbosa et al., 2014).

Atuando como compostos não enzimáticos de combate ao estresse, as aminas biogênicas (ABs) são moléculas carregadas positivamente que possuem baixa massa molecular e estão presentes em praticamente todas as células vivas (Bhatla; Lal, 2018). Tais compostos possuem diversas funções nas plantas, como divisão e crescimento celular, florescimento, desenvolvimento embrionário e celular, além da atuação direta na regulação gênica, como replicação de DNA e síntese de ácidos nucleicos. Estas também apresentam atuação na manutenção da integridade de membranas, pela ação osmótica e pela sua capacidade de atuar eliminando as espécies reativas de oxigênio (ERO) pela característica policatiônica (Fujisawa, 2005).

O combate ao estresse oxidativo pelas aminas biogênicas, além da eliminação das ERO, também ocorre pela regulação da expressão de proteínas relacionadas às respostas ao estresse (Hasanuzzaman et al., 2019). Atua também, retardando a senescência de plantas por meio da inibição da atividade da enzima ácido aminociclopropano carboxílico sintase (ACC-sintase), pois as ABs podem sequestrar o radical superóxido necessário na conversão de ACC em etileno (Sharma et al., 2017).

Os níveis de ABs e o seu mecanismo de síntese são regulados por uma complexa interação de respostas aos estresses biótico e abiótico, transcrição e tradução de proteínas relacionadas, bem como interação com outras rotas metabólicas (Miller-Fleming et al., 2015). A oxidação das ABs pela ação das enzimas poliamina oxidase (PAO) e diamina oxidase (DAO) produzem peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) (Monteiro et al., 2019) que, assim como o NO, atua como molécula sinalizadora para ativação de sistemas de defesa da planta, como no fechamento

estomático via ácido abscísico (ABA) e acúmulo de compostos fenólicos auxiliando em situações de déficit hídrico (Desikan et al., 2004; Jiménez-Bremont et al., 2014). Há correlação entre o NO e ABs nesta geração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pela atividade da DAO e PAO, que pode estar vinculada à biossíntese de NO visando atividade de sinalização do estresse (Wang et al., 2010); entretanto, esta interação ainda não é bem elucidada.

Tais compostos podem agir de forma competitiva quando considerados os precursores em suas respectivas biossínteses. Uma das moléculas precursoras da síntese de NO é a L-arginina, composto esse também precursor de ABs (Wimalasekera et al., 2011). A síntese de NO pela L-arginina, através da atuação da enzima óxido nítrico sintase utilizando oxigênio como cofator, resulta no composto L-citrulina (Astier et al., 2018; Lokesh et al., 2019).

O Nitroprussiato de sódio (SNP) é um composto doador de NO largamente utilizado devido seu baixo custo, comparativamente a outros doadores, além de sua alta eficiência de reação em células vegetais (Kumar et al., 2010; Zandonadi et al., 2010).

Diversos trabalhos têm demonstrado a relação entre esses compostos em folhas de *Medicago truncatula* (Fabaceae) submetidas à infiltração à vácuo de solução de SNP. Os resultados mostraram que houve aumento na atividade da enzima arginina descarboxilase (ADC), enzima esta, envolvida na síntese de ABs via arginina, que resulta no acúmulo de putrescina de maneira proporcional com o aumento da concentração de SNP (Filippou et al., 2013). Em mutantes de *Arabidopsis thaliana* com deficiência na expressão da enzima arginase (esta responsável pela conversão de L-arginina em L-ornitina) houve alta presença de óxido nítrico, putrescina e espermidina (Shi et al., 2013). De modo semelhante, também em *A. thaliana*, a alta atividade da enzima arginase, reduzindo a presença de arginina no meio, resultou em baixa produção de NO, demonstrando correlação entre estes compostos (Groß et al., 2017). O mesmo resultado também foi observado em arroz, onde o aumento da atividade da enzima arginase resultou na redução da produção de NO (Meng et al., 2015), demonstrando que a atividade da arginase é inversamente proporcional a produção de NO oriundo de L-arginina.

Em cucurbitáceas houve aumento significativo no conteúdo de espermina, espermidina e putrescina, além do aumento da atividade da enzima PAO quando aplicado um doador de NO (Fan et al., 2013). Há alta complexidade na interação de NO e ABs, pois algumas vezes são compostos coexistentes e síncronos em sua atuação, ou, concorrentes quando considerado algumas rotas de síntese.

O triptofano é um aminoácido altamente ativo no combate ao estresse oxidativo por ser precursor de diversos compostos, como serotonina e melatonina (indolamina biogênica), sendo este último fortemente ativo de forma antioxidante nas plantas (Arnao; Hernández-Ruiz, 2015).

Além disso, o triptofano pode combater o estresse através do aumento da síntese de auxina e indiretamente agindo na abscisão de órgãos através do balanço nos níveis de ácido abscísico com a própria auxina (Mustafa et al., 2018). Os compostos derivados do triptofano como a melatonina, além de combater o estresse oxidativo, contribui para a manutenção de clorofila, bem como auxilia na manutenção da integridade do Fotossistema II e na assimilação de CO<sub>2</sub> (Arnao; Hernández-Ruiz, 2015)

O melão, por ser cultivado em uma região próximo a linha do Equador, está constantemente submetido a temperaturas altas, alta luminosidade e por vezes cultivado em solos salinos. Tais fatores são responsáveis pela redução da produtividade e geração de ERO e encontrar soluções de manejo que reduzam os danos causados por fatores de estresse é crucial para incremento na produtividade. Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar os possíveis efeitos do NO no combate direto ao estresse oxidativo proporcionado pela aplicação de herbicida, ou indireto, através da possível influência na ação de enzimas do sistema antioxidante, bem como, sua interferência no conteúdo endógeno de aminas biogênicas, de triptofano, 5-hidroxitriptofano e triptamina em meloeiro.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido de maio a outubro de 2019 no município de São Manuel - SP, na área experimental da Fazenda Experimental de São Manuel da Faculdade de Ciências Agrônomicas da Universidade Estadual Paulista - UNESP, Campus de Botucatu - SP (22° 44'S de latitude, 47° 34' W de longitude, 750 metros de altitude). Conforme a classificação climática de Köppen, o clima da região é mesotérmico do tipo Cwa, subtropical úmido, com verão chuvoso e inverno seco (Alvares et al., 2013).

As plantas de meloeiro foram cultivadas em casa de vegetação, com 40 m de comprimento, 7 m de largura e altura de 3 m, coberto com filme de polietileno de baixa densidade de 150 µmol aditivado e laterais de telado sombrite (50%). O sistema de irrigação foi por gotejamento e fertirrigação por injeção de fertilizantes utilizando-se tubo do tipo "Venturi". Os tratamentos fitossanitários foram realizados de acordo com a necessidade da cultura.

A adubação de base foi realizada de acordo com recomendações de adubação para a cultura, conforme análise de solo (Tabela 1), adicionando-se 23,7 kg de calcário, 12,45 kg de  $P_2O_5$  e 11,7 kg de  $K_2O$  na área de cultivo. O plantio foi realizado no sistema de semeadura direta (espaçamento de 0,5 m entre plantas e 1,0 m entre linhas), com sementes de meloeiro híbrido Dalí (Sakata Seed Sudamérica Ltda.) e as plantas foram conduzidas de forma vertical, sustentadas em bambus e foi realizado o raleamento de frutos, de modo a deixar um fruto por planta.

Tabela 1: Atributos químicos do solo na área experimental de cultivo, Fazenda Experimental de São Manuel da Faculdade de Ciências Agrônomicas da Universidade Estadual Paulista - UNESP, São Manuel - SP. 2019.

pH	M.O.	P <sub>resina</sub>	H+Al	K	Ca	Mg	SB	CTC	V%
	CaCl <sub>2</sub>	g/dm <sup>3</sup>	mg/dm <sup>3</sup>	----- mmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> -----					
5,1	4	45	14	2,4	18	5	25	40	64

M.O - Matéria Orgânica; SB - Soma de Bases; CTC - Capacidade de Troca de Cátions; V - Saturação por bases.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com sete tratamentos e quatro blocos e cada parcela experimental consistiu de seis plantas úteis. Os tratamentos consistiram em: T1- herbicida (glufosinato de amônio); T2- herbicida + 15  $\mu$ mol de nitroprussiato de sódio (SNP); T3- herbicida + 30  $\mu$ mol de SNP; T4- herbicida + 60  $\mu$ mol de SNP; T5- herbicida + 120  $\mu$ mol de SNP; T6- herbicida + 240  $\mu$ mol de SNP; T7- tratamento controle (sem aplicação de herbicida e SNP).

O estresse oxidativo nas plantas foi provocado através da aplicação do herbicida glufosinato de amônio (produto comercial Finale® - BASF, contendo 200 g L<sup>-1</sup> do ingrediente ativo (i.a.)), em uma concentração de 1,75% de ingrediente ativo. Este valor foi determinado através de testes prévios com diferentes concentrações pelos quais foi possível observar níveis detectáveis consideráveis de produção de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e peroxidação lipídica, porém sem que houvesse danos à planta e morte da mesma. A aplicação dos tratamentos com herbicida foi realizada no estágio reprodutivo, aos 67 DAP (dias após plantio).

A aplicação das diferentes concentrações de SNP p.a. foi realizada quatro horas após a aplicação do herbicida, momento este em que há o pico de produção das espécies reativas de oxigênio por ação do herbicida (Takano et al., 2019).

Tanto para aplicação do herbicida quanto do SNP, utilizou-se pulverizador manual de CO<sub>2</sub> pressurizado, com 0,3 kgf por 31 cm<sup>2</sup>, bicos cônicos cheios, utilizando-se cortina plástica entre os tratamentos para evitar a deriva, sendo utilizado adjuvante não iônico a 1% (v/v) na aplicação do herbicida e volume de calda de 350 L ha<sup>-1</sup>.

Para a determinação dos teores de aminas biogênicas (putrescina, espermina, espermidina e triptamina), bem como, de triptofano e 5-hidroxitriptofano, utilizou-se a metodologia de Flores e Galston (1982), modificada por Lima e colaboradores (2008). O tecido foliar foi coletado 24 horas após aplicação dos tratamentos e congelado imediatamente em nitrogênio líquido. Após, as amostras devidamente pesadas foram homogeneizadas em ácido perclórico (5% v/v) e mantidas em banho ultrassônico por 30 minutos a 4°C e, então, centrifugadas ( $6.000 \times g$ , 20 minutos a 4°C). Extraíu-se o sobrenadante, adicionando-se a ele  $4,5 \text{ mol L}^{-1}$  de carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) e  $9,3 \text{ mmol L}^{-1}$  de cloreto de 5-naftaleno-1-sulfonil (Cloreto de dansyl) em acetona. As amostras foram incubadas no escuro por uma hora a 60°C, após, adicionou-se  $0,87 \text{ mol L}^{-1}$  de prolina (99%) e, então, foram mantidas no escuro por mais uma hora em temperatura ambiente.

Para a extração de aminas biogênicas, adicionou-se tolueno (1 mL), seguido de homogeneização. Após, retirou-se o sobrenadante para secagem em nitrogênio. Após secas, foram ressuspensas em 1,5 mL de acetonitrila ( $\text{C}_2\text{H}_3\text{N}$ ). Por fim, injetou-se 20  $\mu\text{L}$  do composto no HPLC (Ultimate 3000 BioRS, Dionex-Thermo Fisher Scientific Inc., USA), equipado com detector de diodo (DAD—3000RS) a 225 nm, coluna ACE 5 C18 (Advanced Chromatography Technologies, UK) (5  $\mu\text{m}$ , 25 cm  $\times$  4,6 mm) e um gradiente de fluxo de  $0,7 \text{ mL min}^{-1}$  a 25°C (Dadáková et al., 2009).

O gradiente do cromatógrafo foi estabelecido com diferentes proporções de (A) acetonitrila 100% e (B) acetonitrila a 50%, na sequência: 0-2 min, 40% A; 2-4 min, 60% A; 4-8 min, 65% A; 8-12 min, 85% A; 12-15 min, 95% A; 15-21 min, 85% A; 21-22 min, 75% A; 22-25 min, 40% A. A identificação das aminas biogênicas foi realizada comparando o tempo de retenção e o espectro UV de cada composto com seu padrão comercial. Foram preparadas curvas de calibração para cada padrão.

Para as análises de quantificação enzimática e de peróxido de hidrogênio foram coletadas folhas quatro e 24 horas após as aplicações dos tratamentos. Determinou-se a quantificação das proteínas solúveis no extrato das amostras, de acordo com metodologia proposta por Bradford (1976). O sistema de reação foi composto por 50  $\mu\text{L}$  de extrato enzimático e 2500  $\mu\text{L}$  de reativo de Bradford. A reação foi conduzida à temperatura ambiente por 15 minutos e fez-se a leitura de absorbância em espectrofotômetro a 595 nm. Foi utilizada solução de caseína a 1% para confecção da curva padrão.

A determinação da atividade da SOD foi realizada pelo método de Giannopolitis e Reis (1977) e leva em consideração a capacidade da enzima em inibir a fotorredução do NBT (azul de

cloreto de nitrotetrazólio). A atividade foi determinada pela adição de 50  $\mu\text{L}$  de extrato bruto, a uma solução contendo 13 mM de metionina, 75  $\mu\text{L}$  de NBT, 100 nM de EDTA e 2  $\mu\text{M}$  de riboflavina em 3,0 mL de tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7,8. A reação iniciou-se pela iluminação dos tubos em câmara composta por lâmpadas fluorescentes (15 W) a 25°C. Após 5 minutos de incubação, o final da catálise foi determinado pela interrupção da luz e, então, foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 560 nm. Uma unidade de SOD é definida como a atividade da enzima necessária para a inibição de 50% da fotorredução do NBT. Para o cálculo da atividade específica da enzima considera-se a porcentagem de inibição obtida, o volume da amostra e a concentração de proteína solúvel da amostra ( $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$ ).

Realizou-se a determinação da atividade da CAT em espectrofotômetro em comprimento de onda de 240 nm pelo monitoramento da variação da absorção do peróxido de hidrogênio, conforme Peixoto e colaboradores (1999). Para o teste, 50  $\mu\text{L}$  de extrato bruto foram adicionados a 950  $\mu\text{L}$  de tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7,0, suplementado com peróxido de hidrogênio à concentração final de 12,5 mM. A variação da absorção foi calculada num intervalo de 80 segundos, sendo a atividade da enzima calculada utilizando-se coeficiente de extinção molar de 39,434  $\text{mM cm}^{-1}$ . A atividade específica ( $\mu\text{Kat } \mu\text{g prot}^{-1}$ ) da catalase foi calculada levando em consideração a concentração de proteína solúvel na amostra.

A atividade da POD foi determinada de acordo com Teisseire e Guy (2000). O sistema de reação foi composto de 30  $\mu\text{L}$  de extrato enzimático diluído (1:10 em tampão de extração); tampão fosfato de potássio 50  $\text{mmol L}^{-1}$  pH 6,5; pirogalol (1,2,3-benzenotriol) 20  $\text{mmol L}^{-1}$  e peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) 5  $\text{mmol L}^{-1}$ ; totalizando um volume de 1,0 mL. A reação foi conduzida à temperatura ambiente por 5 minutos. A formação de purpurogalina foi medida em espectrofotômetro UV-visível a 430 nm e seu coeficiente de extinção molar (2,5  $\text{mmol L}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ) foi usado para calcular a atividade específica da enzima, expressa em  $\mu\text{mol de purpurogalina min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  de proteína.

A peroxidação de lipídios (MDA) foi determinada pela técnica descrita por Heath e Packer (1968). Foram utilizadas 300 mg de folhas frescas congeladas, as quais foram colocadas em almofariz e trituradas em nitrogênio líquido. Em seguida, homogeneizou-se o material vegetal em 5 mL de solução contendo ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,25% e ácido tricloroacético (TCA) 10%. A solução extraída foi incubada em banho-maria a 90°C por 60 minutos. Após o resfriamento, a solução foi centrifugada a 10000 x g por 15 minutos, à temperatura ambiente (25°C). Em seguida, o sobrenadante coletado de cada amostra foi submetido à leitura de

absorbância em espectrofotômetro a 560 e 600 nm. Para os cálculos, utilizou-se o coeficiente de extinção molar do malondialdeído ( $155 \text{ mmol L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ).

Realizou-se a determinação do teor de peróxido de hidrogênio, segundo método de Alexieva e colaboradores (2001). Foram utilizadas 0,1 g de amostras maceradas e congeladas em nitrogênio líquido, as quais foi adicionado 1 mL de TCA 0,1% e agitadas em vórtex. Em seguida, foram centrifugadas a 12000 g por 15 minutos a 4°C. A reação iniciou-se com a adição de 0,5 mL de extrato, 0,5 mL de tampão fosfato 0,1 M de pH 7,0 e 2,0 mL de iodeto de potássio a 1 M. O conteúdo foi incubado no escuro por uma hora e realizou-se a leitura em espectrofotômetro com comprimento de onda de 390 nm. Calculou-se a concentração de peróxido de hidrogênio nas amostras, através de curva do peróxido de hidrogênio.

Primeiro testou-se a normalidade dos dados e, então, utilizou-se o teste Dunnett a 5% de probabilidade para comparação entre o grupo que recebeu herbicida e a testemunha. Realizou-se o teste de regressão linear e polinomial quadrático também a 5% de probabilidade para verificar o comportamento das crescentes concentrações aplicadas.

Os dados também foram submetidos à análise multivariada, onde realizou-se a Análise de Componentes Principais (PCA). Realizou-se o teste de correlação de Pearson entre as variáveis, também a 5% de probabilidade. Para tais análises, utilizou-se o software AgroEstat - Sistema para Análises Estatísticas de Ensaios Agronômicos (Barbosa; Maldonado Junior, 2015).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os efeitos das diferentes concentrações de SNP aplicadas, bem como do herbicida, nas atividades enzimáticas foram diagnosticados pela Análise de Componentes Principais (PCA), que explicou 64,45% da variância dos dados coletados às quatro e 24 horas após as aplicações dos tratamentos (Figura 2).

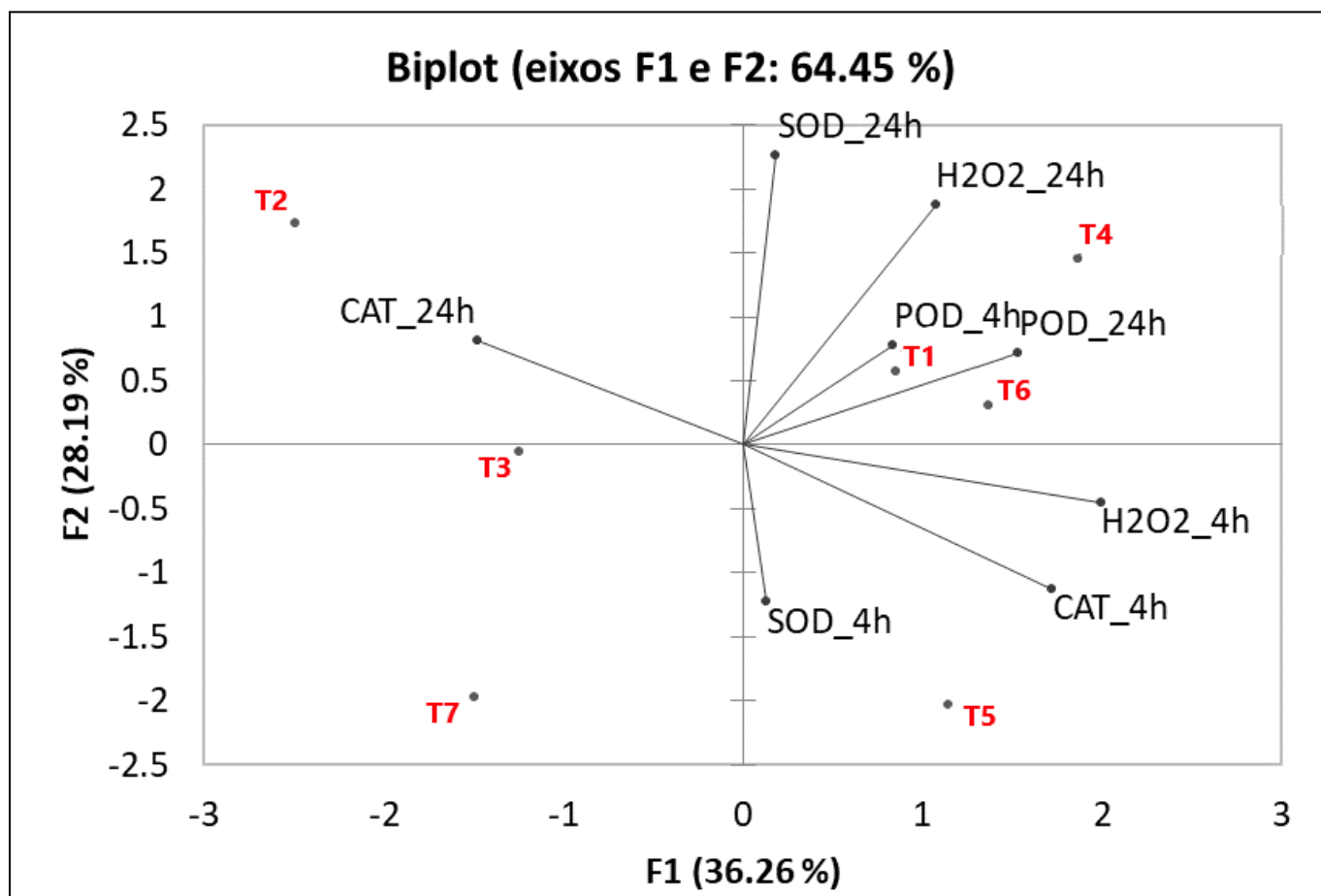


Figura 2. Análise de componentes principais (PCA), aos 68 DAP, da atividade da enzima Catalase (CAT), Superóxido Dismutase (SOD), Peroxidase (POD) e teor de  $H_2O_2$  quatro e 24 h após aplicação dos tratamentos em plantas de melão, sendo: T1- herbicida (glufosinato de amônio); T2- herbicida + 15  $\mu\text{mol}$  de nitroprussiato de sódio (SNP); T3- herbicida + 30  $\mu\text{mol}$  de SNP; T4- herbicida + 60  $\mu\text{mol}$  de SNP; T5- herbicida + 120  $\mu\text{mol}$  de SNP; T6- herbicida + 240  $\mu\text{mol}$  de SNP; T7- tratamento controle (sem aplicação de herbicida e SNP).

A testemunha (T7) apresentou menor relação com a presença de  $H_2O_2$ , atividade das enzimas SOD e POD, isso em função da ausência de herbicida nesse tratamento e como consequência, menor estresse. A PCA demonstra também que houve maior relação para estas variáveis nos tratamentos T1, T4 e T6, além de que a atividade da enzima CAT não mostrou ser influenciada pela disponibilidade de  $H_2O_2$  por parte da atividade de dismutação da SOD, diferentemente da POD. Tal fato se dá pela atuação da CAT ocorrer de forma majoritariamente nos peroxissomos, ao contrário da SOD, que possui atuação no citosol, cloroplastos e mitocôndria, estes últimos, principais locais de geração de ERO (Tuzet et al., 2019).

O estresse oxidativo provocado pela aplicação de herbicida foi observado, dentre outras maneiras, através da quantificação do malondialdeído (MDA) nas amostras, que reage com o



ácido tiobarbitúrico e é um dos compostos secundários mais estudados e relacionados com injúrias em membranas celulares. Nota-se que as crescentes concentrações de SNP influenciaram na redução da presença deste composto 24 horas após sua aplicação, de acordo com regressão quadrática significativa ( $p < 0,005$ ) (Figura 3A). Tal resultado demonstra que maiores concentrações de SNP contribuíram para a maior integridade das membranas celulares dentre os tratamentos com herbicida e, por consequência, menor extravasamento do conteúdo celular em função do dano causado pelas ERO. O  $H_2O_2$  apresentou comportamento similar ao MDA, reduzindo sua presença, de acordo com o aumento das concentrações de SNP aplicadas, sendo que o tratamento que recebeu apenas herbicida, se diferenciou estatisticamente da testemunha (Figura 3B).

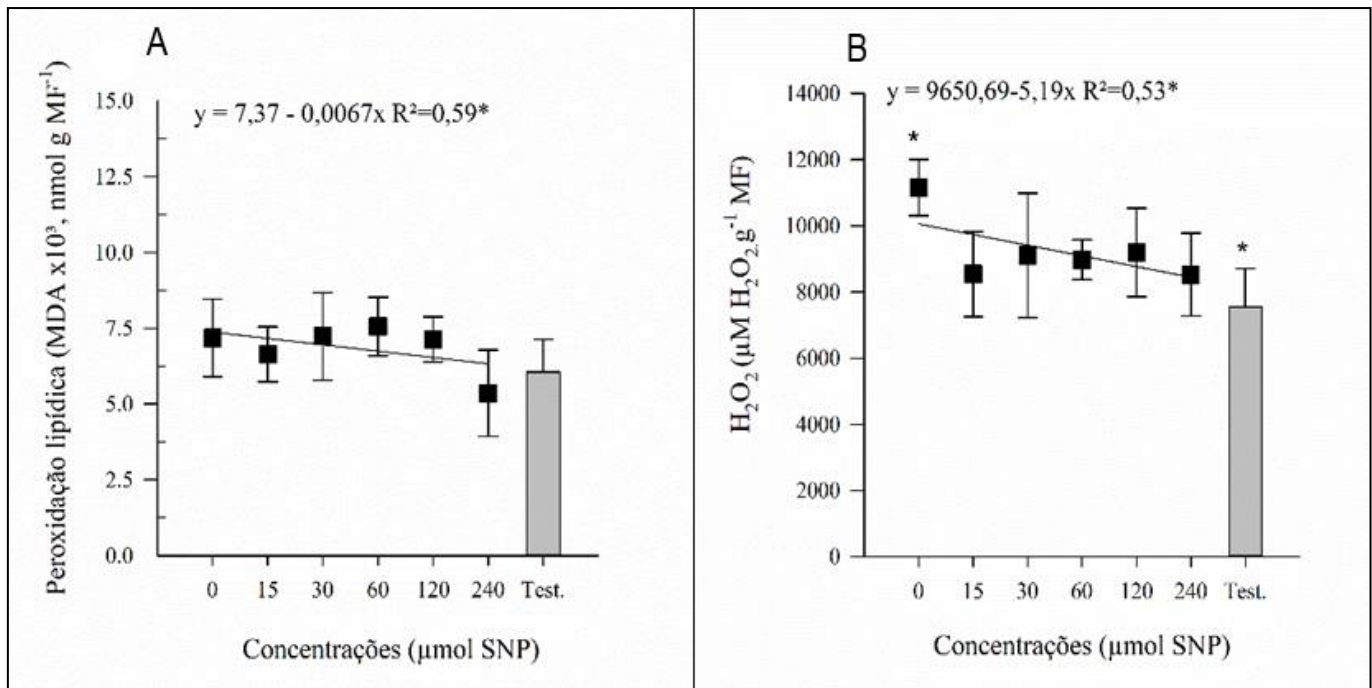


Figura 3. Peroxidação lipídica (MDA x  $10^3$  nmol g MF<sup>-1</sup>) (A) e Teor de Peróxido de Hidrogênio ( $\mu$ M  $H_2O_2$  g massa fresca<sup>-1</sup>) (B) em folhas de meloeiro tratados ou não com herbicida (glufosinato de amônio) e 24 horas após aplicação dos tratamentos (68 DAP) com nitroprussiato de sódio (SNP). \*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste Dunnet.

Às quatro horas após aplicação dos tratamentos não houve diferença estatística entre os dados para o teor de  $H_2O_2$ , provavelmente, devido à atividade da SOD ainda não ter se elevado neste período, como visto na Figura 4. A redução do teor de  $H_2O_2$ , 24 horas após aplicação dos tratamentos, ocorreu devido à atividade antioxidante direta do NO, bem como, sua influência na atividade enzimática antioxidante, principalmente, nos tratamentos T4, T5 e T6, corroborando com o demonstrado pela PCA (teor de  $H_2O_2$  às quatro e 24 horas). A redução dos teores de  $H_2O_2$

e, possivelmente, de outros radicais livres como reflexo provável da atividade antioxidante do NO, bem como a atividade enzimática observada, favoreceu a integridade das membranas celulares, refletindo na menor peroxidação lipídica das células, 24 horas após aplicação dos tratamentos.

Essa ação do NO ocorre em ambiente em que as ERO estão em níveis elevados nas células e o NO reage com o radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) formando o peroxinitrito ( $ONOO^-$ ), o qual é instável na faixa de pH fisiológico (Huie; Padmaja, 1993). O peroxinitrito formado pode protonar e gerar ácido peroxinitroso ( $ONOOH$ ) (Khan et al., 2015). Todavia, a formação de ácido peroxinitroso, quando se encontra em um meio na presença de outro radical livre ( $H_2O_2$ ), reage envolvendo a oxidação de um elétron do peróxido de hidrogênio pelo ácido, formando dioxoperoxonitrato(1-) ( $O_2NOO^-$ ),  $H^+$  e água. Então, ocorre a heterólise do  $O_2NOO^-$  em nitrito e uma molécula de oxigênio (Martinez et al., 2000).

Nota-se que houve atividade efetiva das enzimas SOD, POD e CAT do sistema antioxidante quando se fez o uso de SNP, principalmente, na concentração de 60  $\mu\text{mol}$  avaliada. No tratamento T4 há aumento da atividade da enzima SOD, porém não foi significativa. Já para a atividade da enzima POD, T4 diferenciou-se significativamente do tratamento testemunha (T7), apresentando maior atividade da enzima. O mesmo comportamento foi observado para CAT, onde houve comportamento quadrático significativo ( $p < 0,005$ ) dos dados da atividade desta enzima, sendo o maior valor observado em plantas que receberam 60  $\mu\text{mol}$  de SNP (Figura 4).

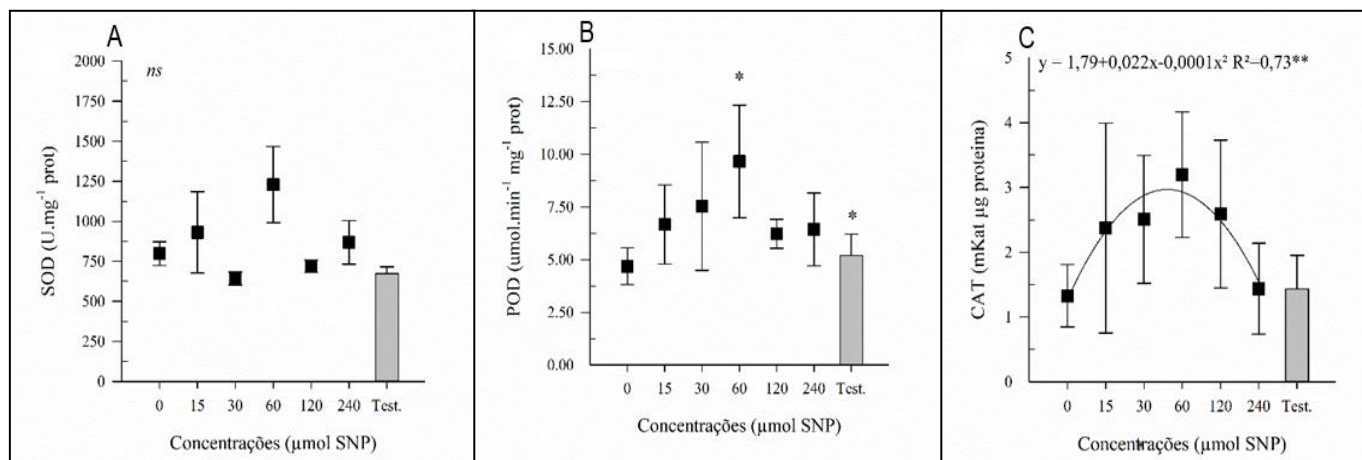


Figura 4. Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD,  $\times 10^{-3}$ , U mg de proteína<sup>-1</sup>) (A), peroxidase (POD,  $\mu\text{mol}$  de purpurogalina  $\text{min}^{-1}$  mg<sup>-1</sup> de proteína) (B) e catalase (CAT,  $\mu\text{Kat}$   $\mu\text{g}$  de proteína<sup>-1</sup>) (C) em folhas de meloeiro 4 horas após a primeira aplicação dos tratamentos com herbicida (glufosinato de amônio) e ausência de nitroprussiato de sódio (SNP) (T1); herbicida e 15  $\mu\text{mol}$  de SNP (T2); herbicida + 30  $\mu\text{mol}$  de SNP (T3); herbicida + 60  $\mu\text{mol}$  de SNP (T4); herbicida + 120  $\mu\text{mol}$  de

SNP (T5); herbicida + 240  $\mu$ mol de SNP (T6) e ausência de herbicida e SNP (Test.). \*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste Dunnet.

Não houve diferença estatística significativa nas análises de atividade das enzimas SOD, CAT e POD 24 horas após aplicação dos tratamentos com SNP. Esse comportamento, provavelmente, ocorreu em função da atividade antioxidante observada anteriormente, onde houve alteração na atividade, principalmente, da CAT e POD (quatro horas após aplicação) e posterior estabilização da atividade das mesmas (24 horas após a aplicação). Resultados similares também foram observados em outras culturas; houve aumento da atividade das enzimas antioxidantes com a aplicação de SNP, diminuindo o dano celular causado pela atuação de radicais livres, na gramínea *Lolium perenne* L.) (Wang et al., 2013) e em feijoeiro mungo (*Vigna radiate*) quando aplicado em tratamento de sementes (Nahar et al., 2016). Em pepino a aplicação de SNP reduziu o estresse oxidativo através do aumento da atividade das enzimas antioxidantes (Shi et al., 2007). A atuação do NO vem sendo associada nas mais diversas moléculas de herbicidas, como atrazina, paraquat e glifosato, sempre influenciando a síntese e atividade de enzimas antioxidantes (Hung et al., 2002; Qian et al., 2009; Singh et al., 2017) e, agora, pode-se acrescentar o glufosinato de amônio à essa lista, somando-se à atuação direta no combate às ERO.

De maneira similar à atividade enzimática, a PCA explicou 80,34% da variância dos dados coletados aos 68 DAP relacionados à presença das AB. Nota-se que as plantas que receberam tratamentos com diferentes concentrações de SNP, bem como as plantas que receberam apenas herbicida mostraram maior relação com todas as ABs. De modo contrário, a testemunha (T7) apresentou menor relação com as ABs (Figura 5).

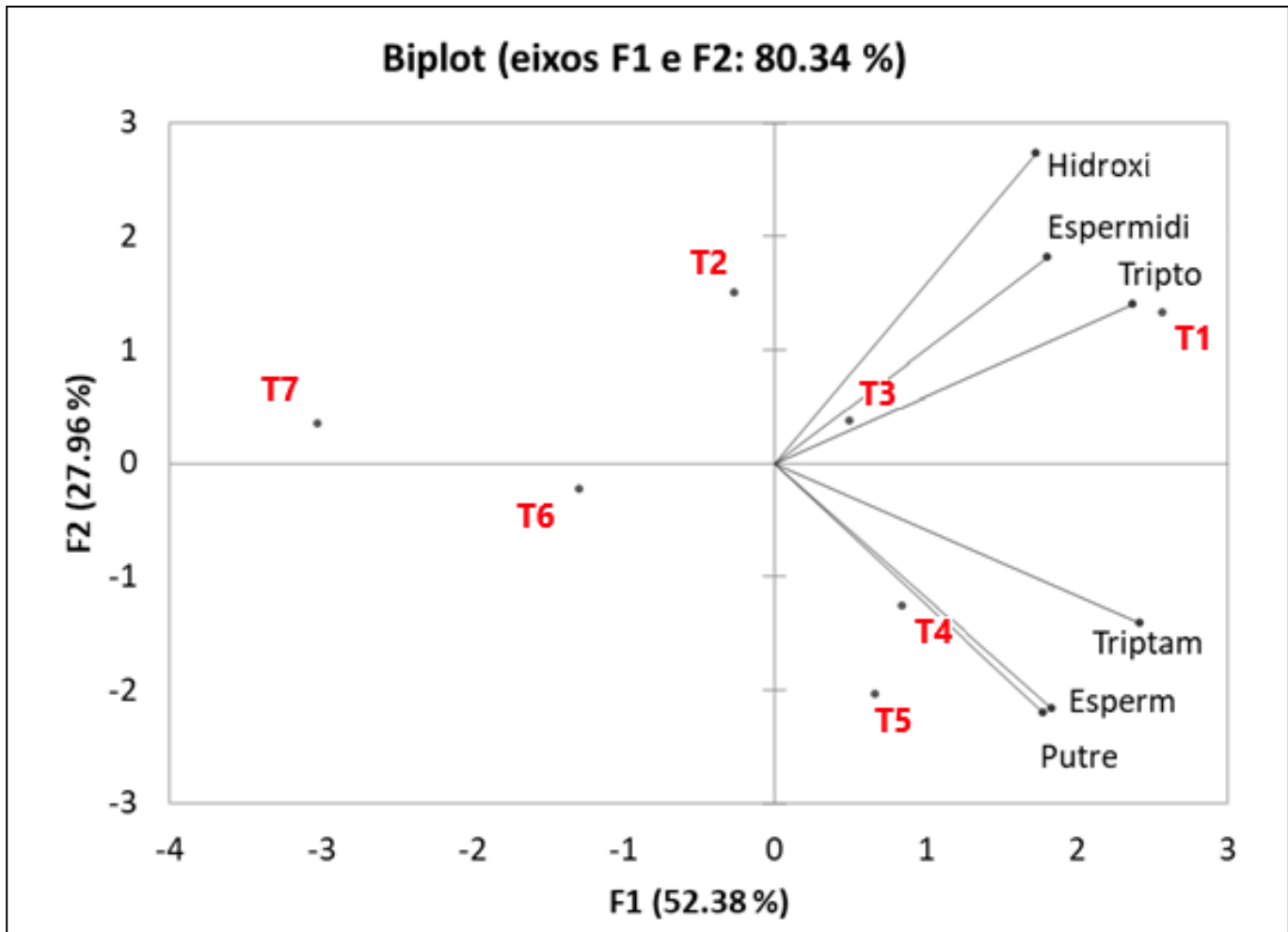


Figura 5. Análise de componentes principais (PCA), aos 67 DAP, da presença de Putrescina (Put), Espermina (Spm), Espermidina (Spd), Triptofano (Tripto), 5-hidroxitriptofano (Hidroxi) e triptamina (Triptam) 24 h após aplicação dos tratamentos em plantas de melão. T1- herbicida (glufosinato de amônio); T2- herbicida + 15  $\mu\text{mol}$  de nitroprussiato de sódio (SNP); T3- herbicida + 30  $\mu\text{mol}$  de SNP; T4- herbicida + 60  $\mu\text{mol}$  de SNP; T5- herbicida + 120  $\mu\text{mol}$  de SNP; T6- herbicida + 240  $\mu\text{mol}$  de SNP; T7- tratamento controle (sem aplicação de herbicida e SNP).

O teor de putrescina (Put) apresentou comportamento quadrático ( $p < 0,05$ ), no qual o tratamento com herbicida + 60  $\mu\text{mol}$  de SNP (T4) apresentou valores mais elevados. O tratamento apenas com herbicida (T1) e àqueles com herbicida e com SNP a 15, 30, 60 e 120  $\mu\text{mol}$  (T2, T3, T4 e T5, respectivamente) se diferenciaram significativamente da testemunha, apresentando maiores concentrações desta AB. Já o teor de espermidina (Spd) apresentou comportamento linear ( $p < 0,05$ ), de modo que reduziu sua presença, de acordo com o aumento das concentrações de SNP (Figura 6). Para esta variável, os tratamentos com herbicida, herbicida + 15  $\mu\text{mol}$  de SNP e herbicida + 120  $\mu\text{mol}$  de SNP (T1, T2 e T5) diferenciaram-se significativamente da testemunha, apresentando acúmulo maior desta AB. Para o teor de

Espermina (Spm), os tratamentos com herbicida, herbicida + 60  $\mu\text{mol}$  de SNP e herbicida + 120  $\mu\text{mol}$  de SNP (T1, T4 e T5) também se distinguíram estatisticamente da testemunha (Figura 6).

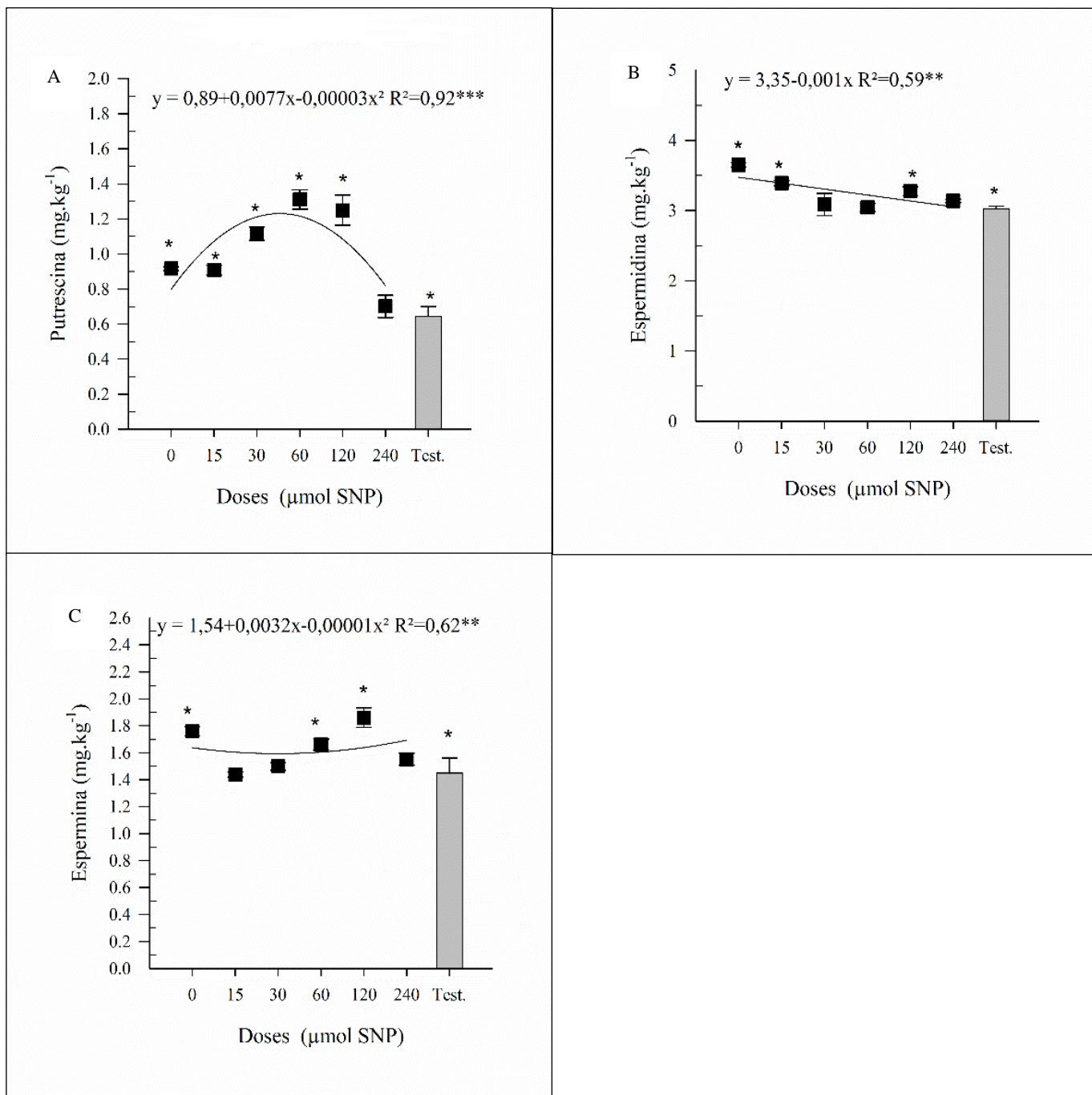


Figura 6. Teores médios de Putrescina (A), Espermidina (B) e Espermina (C) em  $\text{mg.kg}^{-1}$  de folhas de meloeiro tratados com herbicida (glufosinato de amônio) e após 24 horas aplicação dos tratamentos (68 DAP) com nitroprussiato de sódio (SNP) nas doses de 15, 30, 60, 120 e 240  $\mu\text{mol}$ . \*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste Dunnet.

A interação entre ABs e NO é complexa e ainda incerta, indo além da proximidade de biossíntese, onde a rota destes compostos se cruzam por meio da L-arginina, aminoácido precursor em ambos. Destaca-se também, a própria geração de óxido nítrico como resultado do catabolismo das ABs pela enzima poliamina oxidase (PAO) e diamina oxidase (DAO) (Gao et al., 2009; Wimalasekera et al., 2011). Esses fatores contribuem para os variados resultados, uma vez que, em algumas rotas metabólicas os compostos competem entre si (como biossíntese), em outras os compostos atuam de forma similar (como sinalizadores metabólicos) e, ainda, sendo dependentes um do outro, como na geração de NO via PAO e DAO. Essas variações corroboram com as encontradas na literatura. A aplicação de crescentes concentrações de SNP em mudas de pepino não alterou significativamente a presença de Putrescina, Espermina e espermidina até 10 horas após a aplicação (Arasimowicz-Jelonek et al., 2009). Já a aplicação de 100  $\mu\text{M}$  de SNP reduziu a presença de aminas biogênicas em plântulas de pepino (Fan et al., 2013), resultado similar ao encontrado no presente trabalho.

Os tratamentos também interferiram na presença do aminoácido Triptofano e seus derivados Triptamina e 5-hidroxitriptofano. As crescentes concentrações aplicadas de SNP, bem como, a ausência de herbicida refletiram na redução da presença destes compostos, de acordo com regressão linear significativa ( $p < 0,005$ ). Os tratamentos que receberam herbicida se diferenciaram significativamente da testemunha quanto à presença de triptofano, bem como T1, T2 e T3 para a presença de 5-hidroxitriptofano. Para Triptamina, apenas T2 não diferenciou-se estatisticamente da testemunha ( $p < 0,005$ ) (Figura 7).

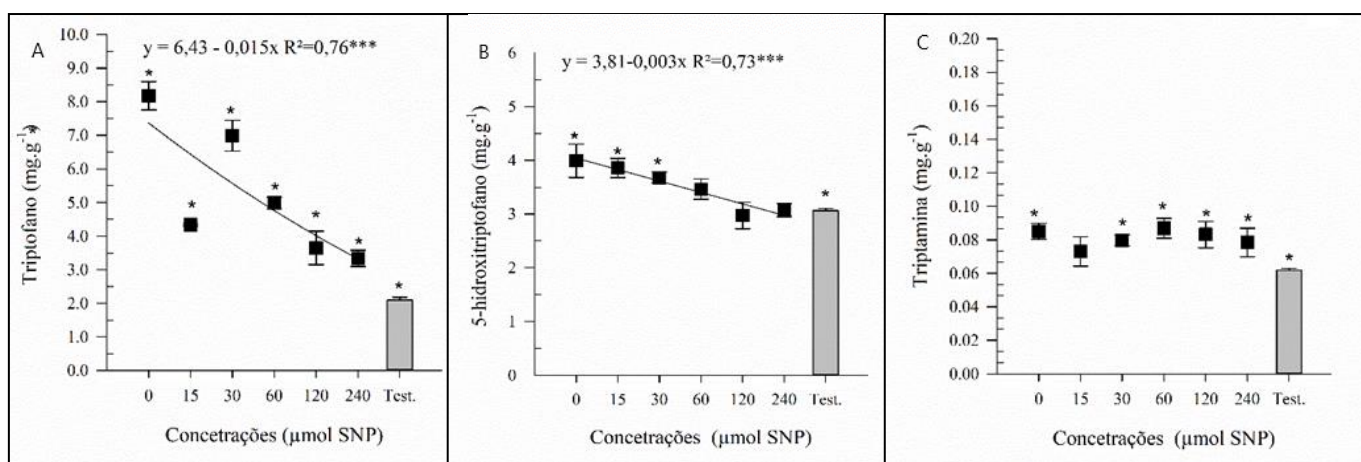


Figura 7. Teores médios de Triptofano (A), 5-hidroxitriptofano (B) e triptamina (C) em  $\text{mg kg}^{-1}$  de folhas de meloeiro tratados com herbicida (glufosinato de amônio) e após 24 horas aplicação dos tratamentos (68 DAP) com nitroprussiato de sódio (SNP). \*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste Dunnet.

A biossíntese de triptofano, como de qualquer outro aminoácido, demanda nitrogênio e consumo energético pela planta, além do que, para a própria incorporação do N no sistema via nitrato redutase também há gasto energético (Taiz; Zeiger, 2017). O fornecimento de NO via SNP, atuando como antioxidante permite combate ao estresse oxidativo sem que haja necessidade da síntese destes aminoácidos e seus derivados. Isso, possivelmente, pode ser mostrado pela redução do teor de triptofano e 5-hidroxitriptofano de acordo com o aumento das concentrações de NO, resultando em redução de gasto energético para a planta.

A redução da presença de triptofano conseqüentemente reflete na presença de 5-hidroxitriptofano, pois a enzima triptofano hidroxilase também reduz sua atuação, que consiste em catalisar a hidroxilação do triptofano e converter no próprio de 5-hidroxitriptofano. O mesmo acontece com a l-triptofano descarboxilase, que descarboxila o triptofano e converte em triptamina. Assim, reduzindo o triptofano também há redução dos demais compostos analisados, conforme observado na Figura 7.

Houve efeito da aplicação de diferentes concentrações de SNP em plantas de melão submetidas ao estresse oxidativo pela aplicação do herbicida glufosinato de amônio, principalmente, nas primeiras horas após a aplicação de SNP. Esse efeito é pouco perceptível nas primeiras 24 h. Tal fato, se deve pelo NO ser um radical livre que possui curto período de atuação (< 6 segundos) e sua atuação ser dependente de inúmeros fatores, como concentração do próprio composto, pH e local de atuação, interferindo ainda mais em seu efeito (Bethke et al., 2006; Khan et al., 2015).

## CONCLUSÕES

O SNP utilizado como doador de NO apresenta efeitos fisiológicos benéficos quando aplicado no meloeiro, após a ação do herbicida glufosinato de amônio em meloeiro, estimulando a atuação de enzimas do sistema antioxidante no combate à ação danosa dos radicais livres, contribuindo positivamente para a integridade das células.

A aplicação de SNP interferiu nos níveis endógenos de ABs no meloeiro.

O tratamento das plantas de melão com SNP reduziu os teores de triptofano e seus compostos sucessores 5-hidroxitriptofano e triptamina.

A aplicação de SNP como doador de NO tem potencial para ser utilizada para reduzir os danos causados pela deriva do herbicida glufosinato de amônio em meloeiro.

**LITERATURA CITADA**

Alexieva, V.; Sergiev, I.; Mapelli, S.; Karanov, E. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant, Cell and Environment*, v.24, p.1337–1344. 2001. <<https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2001.00778.x>>.

Arasimowicz-Jelonek, M.; Floryszak-Wieczorek, J.; Kubiś, J. Interaction Between Polyamine and Nitric Oxide Signaling in Adaptive Responses to Drought in Cucumber. *Journal of Plant Growth Regulation*, v.28, p.177–186, 2009. <<https://doi.org/10.1007/s00344-009-9086-7>>.

Arnao, M. B.; Hernández-Ruiz, J. Functions of melatonin in plants: a review. *Journal of Pineal Research*, v.59, n.2, p.133-150. 2015. <<https://doi.org/10.1111/jpi.12253>>.

Astier, J.; Gross, I.; Durner, J. Nitric oxide production in plants: an update. *Journal of Experimental Botany*, v.69, n.14, p.3401–3411, 2018. <<https://doi.org/10.1093/jxb/erx420>>.

Barbosa, M. R.; Silva, M. M. A.; Willadino, L.; Ulisses, C.; Camara, T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. *Ciência Rural*. v.44. p. 453-460. 2014.< <https://doi.org/10.1590/S0103-84782014000300011>>.

Barbosa, J. C.; Maldonado Junior, W. *AgroEstat: sistema para análises estatísticas de ensaios agrônômicos*. Jaboticabal, FCAV/UNESP. 396p, 2015.

Bethke, P.C.; Badger, M.R.; Jones, R.L. Apoplastic synthesis of nitric oxide by plant tissues. *Plant Cell*, v.16, p.332–341, 2004.< <https://doi.org/10.1105/tpc.017822>>.

Bhatla, S.C.; Lal, M.A. *Plant Physiology, Development and Metabolism*. Springer Nature Singapore Pte Ltd. p. 1237. 2018.

Bradford, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, v.72, p.248-254, 1976. <[https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)>.

Dadáková, E.; Křížek, M.; Pelikánová, T. Determination of biogenic amines in foods using ultra-performance liquid chromatography (UPLC). *Food Chemistry*, v.116, n.1, p.365-370, 2009. <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.02.018>>.



Del Rio, L.A.; Corpas, F.J.; Lopez-Huertas, E.; Palma, J.M. Plant superoxide dismutases: function under abiotic stress conditions. In: Gupta (Ed.), *Antioxidants and Antioxidant Enzymes in Higher Plants*. Suíça: Springer, p.1-26. 2018. <[https://doi.org/10.1007/978-3-319-75088-0\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-75088-0_1)>.

Desikan, R.; Cheung, M.K.; Clarke, M.K.; Golding, S.; Sagi, M.; Fluhr, R.; Rock, C.; Hancock, J.; Neill. S.ABA, hydrogen peroxide and nitric oxide signalling in stomatal guard cells. *Journal of Experimental Botany*, v.55, p.205–212, 2004. <<https://doi.org/10.1093/jxb/erh033>>.

Fan, H.F.; Du, C.X.; Guo, S.R. Nitric oxide enhances salt tolerance in cucumber seedlings by regulating free polyamine content. *Environmental and Experimental Botany*, v.86, p.52-59, 2013. <<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.09.007>>.

Filippou, P.; Antoniou, C.; Fotopoulos, V. The nitric oxide donor sodium nitroprusside regulates polyamine and proline metabolism in leaves of *Medicago truncatula* plants. *Free Radical Biology and Medicine*, v.56, p.172–183, 2013. <<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2012.09.037>>.

Flores, H.E.; Galston, A.W. Analysis of polyamines in higher plants by high performance liquid chromatography. *Plant Physiology*, v.69, n.3, p.701-706, 1982. <<https://doi.org/10.1104/pp.69.3.701>>.

Floryszak-Wieczorek, J.; Milczarek, G.; Arasimowicz, M.; Ciszewski, A. Do nitric oxide donors mimic endogenous NO-related response in plants?. *Planta*, v.224, p.1363–1372, 2006. <<https://doi.org/10.1007/s00425-006-0321-1>>.

Fujisawa, S.; Kadoma Y. Kinetic evaluation of polyamines as radical scavengers. *Anticancer Research*, v.25, p.965–969, 2005.

Gao, H.J.; Yang, H.Q.; Wang, J.X. Arginine metabolism in roots and leaves of apple (*Malus domestica* Borkh.): the tissue-specific formation of both nitric oxide and polyamines. *Scientia Horticulturae*, v.119, p.147–152. 2009. <<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2008.07.034>>.

Giannopolitis, C.N; Reis, S.K. Superoxide dismutase: I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, v.59, p.309-314, 1977. <<https://doi.org/10.1104/pp.59.2.309>> .

Groß, F.; Rudolf, E.E.; Thiele, B.; Durner, J.; ASTIER, J. Copper amine oxidase 8 regulates arginine-dependent nitric oxide production in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Experimental Botany*, v.68, p.2149–2162, 2017. <<https://doi.org/10.1093/jxb/erx105>>.

Hasanuzzaman, M.; Alhaithloul, H.; Parvin, K.; Bhuyan, M.; Tanveer, M.; Mohsin, S. M.; Nahar, K.; Soliman, M. H.; Mahmud, J. A.; Fujita, M. Polyamine Action under Metal/Metalloid Stress: Regulation of Biosynthesis, Metabolism, and Molecular Interactions. *International journal of molecular sciences*, v.20, n.13, p.3215, 2019. <<https://doi.org/10.3390/ijms20133215>>.

Heath, R.L.; Packer, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v.125, p.189–198, 1968. <[https://doi.org/10.1016/0003-9861\(68\)90654-1](https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1)>.

Huie, R.E.; Padmaja, S. The Reaction of  $\text{NO}$  With Superoxide. *Free Radical Research Communications*. v. 18. n. 4. p. 195-199. 1993. <<https://doi.org/10.3109/10715769309145868>>.

Hung, K.T., Chang, C.J., and Kao, C.H., Paraquat toxicity is reduced by nitric oxide in rice leaves. *Journal of Plant Physiology*, v. 159, p. 159–166, 2002. <<https://doi.org/10.1078/0176-1617-00692>>.

Jiménez-Bremont, J.F.; Marina, M.; Guerrero-González, M.; Rossi, F.R.; Sánchez-Rangel, D.; Rodríguez-Kessler, M.; Ruiz, O.A.; Gárriz, A. Physiological and molecular implications of plant polyamine metabolism during biotic interactions. *Frontiers in plant science*, v.5, p.95, 2014. <<https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00095>>.

Khan, M.N.; Mobin, M.; Mohammad, F.; Corpas, F.J. Nitric Oxide Action in Abiotic Stress Responses in Plants. Suíça: Springer, 2015. 252p. <[https://doi.org/10.1007/978-3-319-17804-2\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-319-17804-2_6)>.

Lima, G.P.P.; Da Rocha, S.A.; Takaki, M.; Ramos, P.R.R.; Ono, E.O. Comparison of polyamine, phenol and flavonoid contents in plants grown under conventional and organic methods. *International Journal of Food Science and Technology*, v.43, n.10, p.1838-1843, 2008. <<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2008.01725.x>>.

Lokesh, V.; Manjunatha, G.; Hegde, N. S.; Bulle, M.; Puthusseri, B.; Gupta, K. J.; Neelwarne, B. Polyamine Induction in Postharvest Banana Fruits in Response to NO Donor SNP Occurs via l-

Arginine Mediated Pathway and Not via Competitive Diversion of S-Adenosyl-l-Methionine. *Antioxidants*, v.8, p.358, 2019. <<https://doi.org/10.3390/antiox8090358>>.

Martinez, G.R.; Di Mascio, P.; Bonini, M.G.; Augusto, O.; Briviba, K.; Sies, H.; Maurer, P.; Röthlisberger, U.; Herold, S.; Koppenol, W.H. Peroxynitrite does not decompose to singlet oxygen and nitroxyl (NO<sup>-</sup>). *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. v.97, p.10307–10312, 2000. <<https://doi.org/10.1073/pnas.190256897>>.

Meng, Z.; Meng, Z.; Zhang, R.; Liang, C.; Wan, J.; Wang, Y.; Zhai, H.; Guo, S. Expression of the rice arginase gene OsARG in cotton influences the morphology and nitrogen transition of seedlings. *PLoS One*, v.10, e0141530, 2015. <<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0141530>>.

Miller-Fleming, L.; Olin-Sandoval, V.; Campbell, K.; Ralser, M. Remaining Mysteries of Molecular Biology: The Role of Polyamines in the Cell. *Journal of Molecular Biology*, v.427, n.21, p.3389-3406, 2015. <<https://doi.org/10.1016/j.jmb.2015.06.020>>.

Monteiro, G.C.; Goto, R.; Minatel, I.O.; Silva, E.S.; da Silva, E.G.; Vianello, F.; Lima, G.P.P. Grafting, Agrochemicals, and Oxidative Enzymes as Factor for Plant Biotic Resistance. In: ANSARI, R. A.; MAHMOOD, I. *Plant Health Under Biotic Stress*. Springer, Singapore, 2019. <[https://doi.org/10.1007/978-981-13-6043-5\\_2](https://doi.org/10.1007/978-981-13-6043-5_2)>.

Mustafa, A.; Imran, M.; Ashraf, M.; Mahmood, K. Perspectives of Using L-Tryptophan for Improving Productivity of Agricultural Crops: A Review. *Pedosphere*, v.28,n.1, p. 16-34. 2018. <[https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(18\)60002-5](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(18)60002-5)>.

Nahar, K.; Hasanuzzaman, M.; Alam, M.M.; Rahman, A.; Suzuki, T.; Fujita, M. Polyamine and nitric oxide crosstalk: Antagonistic effects on cadmium toxicity in mung bean plants through upregulating the metal detoxification, antioxidant defense and methylglyoxal detoxification systems. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v.126, p.245-255, 2016. <<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.12.026>>.

Peixoto, H.P.P.; Cambraia, J.; Sant'anna, R.; Mosquim, P.R.; Moreira, M. A. Aluminium effects on lipid peroxidation and the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, v.11, p.137-143. 1999.

Qian, H.; Chen, W.; Li, J.; Wang, J.; Zhou, Z.; Liu, W.; Fu, Z. The effect of exogenous nitric oxide on alleviating herbicide damage in *Chlorella vulgaris*. *Aquatic Toxicology*, v. 92, n. 4, p. 250–257. 2009. <<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2009.02.008>>.

Qiannan, D.; Yongjun, S.; Dongmei, S.; Hongyan, Q. Interaction of Polyamines, Abscisic Acid, Nitric Oxide, and Hydrogen Peroxide under Chilling Stress in Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Seedlings *Frontiers in Plant Science*, v.8, p.203, 2017. <<https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00203>>

Sharma, S.; Pareek, S.; Sagar, N.A.; Valero, D.; Serrano, M. Modulatory Effects of Exogenously Applied Polyamines on Postharvest Physiology, Antioxidant System and Shelf Life of Fruits: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, v.18, p.1789, 2017. <<https://doi.org/10.3390/ijms18081789>>.

Shi, H.; Ye, T.; Chen, F.; Cheng, Z.; Wang, Y.; Yang, P.; Zhang, Y.; Chan, Z. Manipulation of arginase expression modulates abiotic stress tolerance in Arabidopsis: effect on arginine metabolism and ROS accumulation. *Journal of Experimental Botany*, v.64, p.1367–1379, 2013. <<https://doi.org/10.1093/jxb/ers400>>.

Shi, Q.; Ding, F.; Wang, X.; Wei, M. Exogenous nitric oxide protect cucumber roots against oxidative stress induced by salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, v.45, n.8, p.542-50, 2007. <<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2007.05.005>>.

Siddiqui, M.H.; Alamri, S.A.; Al-Khaishany, M.Y; Al-Qutami, M.A.; Ali, H.M.; Al-Rabiah, H.; Mkalaji, H.M. Exogenous application of nitric oxide and spermidine reduces the negative effects of salt stress on tomato. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, v.58, p.537–547, 2017. <<https://doi.org/10.1007/s13580-017-0353-4>>.

Singh, H.; Singh, N. B.; Singh, A.; Hussain, I.; Yadav, V. Physiological and Biochemical Roles of Nitric Oxide Against Toxicity Produced by Glyphosate Herbicide in *Pisum sativum*. *Russian Journal of Plant Physiology*, v.64, n.4, p. 518-524. 2017. <<https://doi.org/10.1134/S1021443717040136>>.

Tailor, A.; Tandon, R.; Bhatla, S.C. Nitric oxide modulates polyamine homeostasis in sunflower seedling cotyledons under salt stress, *Plant Signaling & Behavior*, v.14, n.11, 2019.<<https://doi.org/10.1080/15592324.2019.1667730>>.

Takano, H.K.; Beffa, R.; Preston, C.; Westra, P.; Dayan, F.E. Reactive oxygen species trigger the fast action of glufosinato. *Planta*. v. 249, p. 1837–1849. 2019. <<https://doi.org/10.1007/s00425-019-03124-3>>.

Teisseire, H.; Guy, V. Copper-induced changes in antioxidant enzymes activities in fronds of duckweed (*Lemna minor*). *Plant Science*, v.153, p.65–72, 2000. <[https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(99\)00257-5](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(99)00257-5)>.

Tun, N.N.; Santa-Catarina, C.; Begum, T.; Silveira, V.; Handro, W.; Floh, E.I.; Scherer, G.F. Polyamines induce rapid biosynthesis of nitric oxide (NO) in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Plant and Cell Physiology*, v.47, n.3, p.346-54, 2006. <https://doi.org/10.1093/pcp/pci252>.

Tuzet, A.; Rahantaniaina, M. S.; Noctor, G. Analyzing the function of catalase and the ascorbate-glutathione pathway in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> processing: insights from an experimentally constrained kinetic model. *Antioxidants Redox Signal*, v. 30 n. 9, p. 1238–1268. 2019. <https://doi.org/10.1089/ars.2018.7601>>.

Wang, P.; Du, Y.; Li, Y.; Ren, D.; Song, C. P. Hydrogen peroxide-mediated activation of MAP Kinase 6 modulates nitric oxide biosynthesis and signal transduction in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, v.22, p.2981–2998, 2010. <<https://doi.org/10.1105/tpc.109.072959>>.

Wang, Q.; Liang, X.; Dong, Y.; Xu, L.; Zhang, X.; Hou, J.; Fan, Z. Effects of exogenous nitric oxide on cadmium toxicity, element contents and antioxidative system in perennial ryegrass. *Journal of Plant Growth Regulation*, v.69, p.11–20, 2013. <<https://doi.org/10.1007/s10725-012-9742-y>>.

Wimalasekera, R.; Tebartz, F.; Scherer, G.F.E. Polyamines, polyamine oxidases and nitric oxide in development, abiotic and biotic stresses. *Plant Science*, v.181, n.5, p.593-603, 2011.<<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.04.002>>.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O doador de óxido nítrico, nitroprussiato de sódio (SNP), quando aplicado em plantas de melão submetidas à situação de estresse oxidativo provocado pelo herbicida glufosinato de amônio, desencadeou respostas fisiológicas positivas na planta.

Foi observado redução no dano foliar causado pelo herbicida, aumento da atividade de enzimas relacionadas ao sistema antioxidante. Houve também alterações nos níveis endógenos de amins biogênicas (ABs) e aminoácidos. Tais efeitos contribuíram para amenizar o estresse oxidativo.

Os tratamentos utilizados não interferiram na fotossíntese das plantas, conseqüentemente, não favorecendo a produção e qualidade dos frutos.

São necessários mais estudos que envolvam diferentes concentrações de NO daquelas empregadas no presente trabalho, bem como em diferentes situações de estresse a fim de fundamentar o uso deste composto como uma ferramenta no combate ao estresse oxidativo nas plantas.

## REFERÊNCIAS

- PEIXOTO, H. P. P.; CAMBRAIA, J.; SANT'ANNA, R.; MOSQUIM, P. R.; MOREIRA, M. A. Aluminium effects on lipid peroxidation and the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.11, p. 137-143, 1999.
- ARASIMOWICZ, M.; FLORYSZAK-WIECZOREK, J. Nitric oxide as a bioactive signalling molecule in plant stress responses. **Plant Science**, v. 172, n. 5, p. 876-887, 2007.
- ARAÚJO, J. L. P.; VILELA, N. J. Aspectos Socioeconômicos. In: SILVA, H.R.; COSTA, N.D. (Ed.). **Melão, produção aspectos técnicos**. Brasília: EMBRAPA Hortaliças - EMBRAPA Semi-Árido. EMBRAPA Informação Tecnológica. p.15-18. 2003.
- BARBIERE, R. L.; STUMPF, E. R. T. Origem e evolução de plantas cultivadas. *In*: Ferreira, M. A. J. F. (Org.). **Abóboras e morangas: das Américas para o mundo**. Brasília, Embrapa. p. 59-88, 2008.
- BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M. A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, v.44, p.453-460, 2014.
- BAYER, E.; GUGEL, K. H.; HÄGELE, K.; HAGENMAIER, H.; JASSIPOW, S.; KÖNIG, W. A.; ZÄHNER, H. Stoffwechselprodukte von mikroorganismen. Phosphinothricin und phosphinothricyl-alanyl-alanin. **Helvetica Chimica Acta**, v. 55, p. 224–239, 1972.
- BERNARD, S. M.; HABASH, D. Z. The importance of cytosolic glutamine synthetase in nitrogen assimilation and recycling. **New Phytologist**, v. 182, p. 608–620. 2009.
- BETHKE, P. C.; LIBOUREL, I. G. L.; JONES, R. L. Nitric oxide in seed dormancy and germination. In: Bradford, K. J.; Nonogaki, H. **Seed Development, Dormancy and Germination**. Oxford: Blackwell Publishing Ltd, p.153-175, 2007.
- BHATLA, S. C.; LAL, M. A. **Plant Physiology, Development and Metabolism**. Singapore, Springer Nature, Pte Ltd., 1237p. 2018.

BHATTACHARJEE, S. Sites of generation and physicochemical basis of formation of reactive oxygen species in plant cell. In: GUPTA, S.D. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. Enfield: Science Publishers, p.1-30. 2010.

BISWAS, P. K. **Encyclopaedia of medicinal plant**, v. 3, Nova Delhi, Dominant publishers and distributors, 585 p. 2006.

BLACKWELL, R. D.; MURRAY, A. J. S.; LEA, P. J. Inhibition of photosynthesis in barley with decreased levels of chloroplastic glutamine synthetase activity. **Journal of Experimental Botany**, v. 38, p.1799–1809, 1987.

BOUCHE, N., FAIT, A., BOUCHEZ, D., MØLLER, S.G., Fromm, H., 2003. Mitochondrial succinic semialdehyde dehydrogenase of the  $\gamma$ -aminobutyrate shunt is required to restrict levels of reactive oxygen intermediates in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100, 6843–6848.

BOUCHEREAU, A.; AZIZ, A.; LARHER, F.; MARTIN-TANGUY, J. Polyamines and environmental challenges: recent development. **Plant Science**, v. 140, p. 103–125. 1999.

BOWSHER, C. G.; LACEY, A. E.; HANKE, G. T.; CLARKSON, D. T.; SAKER, L. R.; STULEN, I.; EMES, M. J.. The effect of Glc6P uptake and its subsequent oxidation within pea root plastids on nitrite reduction and glutamate synthesis. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, p. 1109–1118, 2007.

BRANDÃO FILHO, J. V. T.; VASCONCELLOS, M. A. S. A. Cultura do meloeiro. In: GOTO, R.; TIVELLI, S. W. (Ed.). **Produção de hortaliças em ambiente protegido: condições subtropicais**. São Paulo: Fundação Editora da UESP, p. 161-193. 1998.

COETZER, E.; AL-KHATIB, K. Photosynthetic inhibition and ammonium accumulation in Palmer amaranth after glufosinate application. **Weed Science**, v. 49, n. 4, p. 454-459, 2001.

Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2003. cap. 5, p. 23-28.



CORREA-ARAGUNDE, N.; GRAZIANO, M.; LAMATTINA, L. Nitric oxide plays a central role in determining lateral root development in tomato. **Planta**, v. 218, p. 900–905, 2004.

COSTA, N. D. (ed.). Autores SALVIANO, A. M. et al. **A cultura do melão**. 3ª edição. Brasília, DF. Embrapa, 202 p. 2017.

CRISÓSTOMO, L. A.; SANTOS, A. A. dos; HAJI, B. V.; FARIA, C. M. B. de; SILVA, D. J. da; FERNANDES, F. A. M.; SANTOS, F. J. de S.; CRISÓSTOMO, J. R.; FREITAS, J. de A. D. de; HOLANDA, J. S. de; CARDOSO, J. W.; COSTA, N. D. **Adubação, irrigação, híbridos e práticas culturais para o meloeiro no Nordeste**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical. 21 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Circular técnica, Ed. 14. 2002.

DADÁKOVÁ, E.; KŘÍŽEK, M.; PELIKÁNOVÁ, T. Determination of biogenic amines in foods using ultra-performance liquid chromatography (UPLC). **Food Chemistry**, v.116, n. 1, p. 365-370, 2009.

DEL RIO, L. A.; DONALDSON, R. P. Production of superoxide radicals in glyoxysomal membranes from castor bean endosperm. **Journal of Plant Physiology**, v. 146, p. 283–287. 1995.

DEL RIO, L. A., CORPAS, F. J., LOPEZ–HUERTAS, E., PALMA, J. M. Plant superoxide dismutases: function under abiotic stress conditions. In: Gupta (Ed.), **Antioxidants and Antioxidant Enzymes in Higher Plants**. Springer, Cham, Switzerland, p. 1–26. 2018.

DEL RIO, L. A., FERNANDEZ, V. M., RUPEREZ, F. L., SANDALIO, L. M., Palma, J.M. NADH induces the generation of superoxide radicals in leaf peroxisomes. **Plant Physiology**, v. 89, p. 728–731. 1989.

DESIKAN, R.; CHEUNG, M. K.; CLARKE, M. K.; GOLDING, S.; SAGI, M.; FLUHR, R.; ROCK, C.; HANCOCK, J.; NEILL, S. ABA, hydrogen peroxide and nitric oxide signalling in stomatal guard cells. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, p. 205–212. 2004.

DOGAN S P. TURAN, M; DOGAN, ARSLAN, O.; ALKAN, M. 2007. Partial characterization of peroxidase from leaves of thymbra plant (*Thymbra spicata* L. var. *spicata*). **Eur. Food Res. Technol.** 225: 865-871.

DROLET, G.; DUMBROFF, E. B.; LEGGE, R. L.; THOMPSON, J. E. Radical scavenging properties of polyamines. **Phytochemistry**, v. 25, p. 367–371. 1986.

DUNN, M. F. Rhizobial Amino Acid Metabolism: Polyamine Biosynthesis and Functions. In: Editors F. D'Mello. **The Handbook of Microbial Metabolism of Amino Acids**, Publisher: CABI International Publishers. 2017.

ESTEBANA, R.; ARIZB, I.; CRUZB, C.; MORANA, J. F. Review: Mechanisms of ammonium toxicity and the quest for tolerance. **Plant Science**, v. 248, p. 92–101, 2016.

FAN, H. GUO, S.; JIAO, Y.; ZHANG, R.; LI, J. Effects of exogenous nitric oxide on growth, active oxygen species metabolism, and photosynthetic characteristics in cucumber seedlings under NaCl stress. **Frontiers of Agriculture in China**, v. 1, n. 3, p. 308-314, 2007.

FAN, H.F.; DU, C.X.; GUO, S.R. Nitric oxide enhances salt tolerance in cucumber seedlings by regulating free polyamine content. **Environmental and Experimental Botany**, v. 86, p. 52-59, 2013.

FAO - Food and Agriculture Organization. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>. Acesso em janeiro de 2022.

FAROOQ, M. A.; NIAZI, A. K.; AKHTAR, J.; SAIFULLAH; FAROOQ, M.; SOURI, Z.; KARIMI, N. RENGEL, Z. Acquiring control: The evolution of ROS-Induced oxidative stress and redox signaling pathways in plant stress responses. **Plant Physiology and Biochemistry**. v. 141. p. 353–369. 2019.

FEITOSA, F. R. C.; GUIMARÃES, M. A. **Condições Climáticas e Época de Plantio**. Produção de Melão. Viçosa, MG. Ed. UFV, 2019.

FERNANDES, C.F. et al. Mecanismos de defesa de plantas contra o ataque de agentes fitopatogênicos. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. Centro de Pesquisa

Agroflorestal de Rondônia, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Porto Velho, RO, 2009.

FERREIRA, L. C.; CATANEO, A. C. Nitric oxide in plants: a brief discussion on this multifunctional molecule. **Scientia Agricola**, v. 67, p. 236-243, 2010.

FIGUEIREDO, M. C. B. De; GONDIM, R. S.; ARAGAO, F. A. S. de. **Produção de melão e mudanças climáticas**: sistemas conservacionistas de cultivo para redução das pegadas de carbono e hídrica. Brasília, DF. Embrapa. 302 p. 2017.

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

FILIPPOU, P.; ANTONIOU, C.; YELAMANCHILI, S.; FOTOPOULO, V. NO loading: Efficiency assessment of five commonly used application methods of sodium nitroprusside in *Medicago truncatula* plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 60, p. 115-118, 2012.

FLORYSZAK-WIECZOREK, J.; MILCZAREK, G.; ARASIMOWICZ, M.; CISZEWSKI, A. Do nitric oxide donors mimic endogenous NO-related response in plants? **Planta**, v. 224, p. 1363–1372, 2006.

FONTES, P. C. R.; PUIATTI, M.. Cultura do melão. *In*: Fontes, P.C.R. **Olericultura: teoria e prática**. UFV. Viçosa – MG, p. 407-428, 2005.

FOYER, C.H., HALLIWELL, B. The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism. **Planta** 133, 21–25. 1976.

FUJISAWA, S.; KADOMA, Y. Kinetic evaluation of polyamines as radical scavengers. **Anticancer Research**, v. 25, p. 965–969. 2005.

GIL, S. S.; TUJETA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.48, p.909-930, 2010.

GILL, H. S.; EISENBERG, D. The crystal structure of phosphinothricin in the active site of glutamine synthetase illuminates the mechanism of enzymatic inhibition. **Biochemistry**, v. 40, p. 1903–1912, 2001.

GODBER, B. L.; DOEL, J. J.; SAPKOTA, G. P.; BLAKE, D. R.; STEVENS, C. R.; EISENTHAL, R.; HARRISON, R. Reduction of nitrite to nitric oxide catalyzed by xanthine oxidoreductase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 275, p. 7757–7763, 2000.

GOMES, P. **Fruticultura Brasileira**, 13ª edição. São Paulo: Nobel, 2007.

GROPPIA, M. D.; BENAVIDES, M. P. Polyamines and abiotic stress: recent advances. **Amino acids**, v. 34, n. 1, p. 35-45. 2008.

GROß, F.; RUDOLF, E. E.; THIELE, B.; DURNER, J.; ASTIER, J. Copper amine oxidase 8 regulates arginine-dependent nitric oxide production in *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Experimental Botany**, v. 68, p. 2149–2162, 2017.

HA, H. C.; SIRISOMA, N. S.; KUPPUSAMY, P.; ZWEIER, J. L.; WOSTER, P. M.; CASERO, R.A. The natural polyamine spermine functions directly as a free radical scavenger, **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 95, n. 19, p. 11140-11145. 1998.

HAMID, M. and K. REHMAN. Potential application of peroxidases. **Food Chem.**, v. 115, p. 1177-1186. 2009.

HASANUZZAMAN, M.; ALHAITHLOUL, H. A. S.; PARVIN, K. M. H. M.; BHUYAN, B.; , TANVEER, M.; MOHSIN, S. M.; NAHAR, K.; H. SOLIMAN, M. H.; AI MAHMUD, J.; FUJITA, M. Polyamine Action under Metal/Metalloid Stress: Regulation of Biosynthesis, Metabolism, and Molecular Interactions. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, p. 3215. 2019.

HUIE, R. E.; PADMAJA, S. The Reaction of  $NO$  With Superoxide. **Free Radical Research Communications**. v. 18, n. 4, p. 195-199, 1993.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1612>. Acesso em março de 2020.

JIMÉNEZ-BREMONT, J. F.; MARINA, M.; GUERRERO-GONZÁLEZ, M. L.; ROSSI, F. R.; SÁNCHEZ-RANGEL, D.; RODRÍGUEZ-KESSLER, M.; RUIZ, O. A.; GÁRRIZ, A. Physiological and molecular implications of plant polyamine metabolism during biotic interactions. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, p. 95. 2014.

KIRKBRIDE JUNIOR, J. H. **Biosystematics monograph of the genus *Cucumis* (Cucurbitaceae): botanical identification of cucumbers and melons**. North Carolina: Parkway, 159 p. 1993.

KOPYRA, M.; GWÓZDZ, E. A. Nitric oxide stimulates seed germination and counteracts the inhibitory effect of heavy metals and salinity on root growth of *Lupinus luteus*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 41, p. 1011–1017, 2003.

KUBIŚ, J. Exogenous spermidine differentially alters activities of some scavenging system enzymes, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and superoxide radical levels in water-stressed cucumber leaves, **Journal of Plant Physiology**, v. 165, v. 4, p. 397-406, 2008.

KUMAR, P.; TEWARI, R.; SHARMA, P. Sodium nitroprusside-mediated alleviation of iron deficiency and modulation of antioxidant responses in maize plants. **AoB plants**, plq002, 2010.

LESHEM, Y. A. Nitric oxide in biological systems. **Plant Growth Regulation**, v. 18, n. 3, p. 155-159, 1996.

LIMA, G. P. P.; Da ROCHA, S. A.; TAKAKI, M.; RAMOS, P. R. R.; ONO, E. O. Comparison of polyamine, phenol and flavonoid contents in plants grown under conventional and organic methods. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 43, n. 10, p. 1838-1843, 2008.

LU, Y.; LI, Y.; YANG, Q.; ZHANG, Z.; CHEN, Y.; ZHANG, S.; PENG, X. X. Suppression of glycolate oxidase causes glyoxylate accumulation that inhibits photosynthesis through deactivating Rubisco in rice. **Physiologia Plantarum**, v. 150, n. 3, p. 463–476, 2014.

MARCO, F.; ALCÁZAR, R.; TIBURCIO, A. F., CARRASCO, P. Interactions between polyamines and abiotic stress pathway responses unraveled by transcriptome analysis

of polyamine overproducers. **OMICS: A Journal of Integrative Biology**, v. 15, p. 775–781. 2011

MARTINEZ, G. R.; Di MASCIO, P.; BONINI, M. G.; AUGUSTO, O.; BRIVIBA, K.; SIES, H.; MAURER, P.; RÖTHLISBERGER, U.; HEROLD, S.; KOPPENOL, W. H. Peroxynitrite does not decompose to singlet oxygen and nitryl (NO<sup>-</sup>). **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, v. 97, p. 10307–10312, 2000.

MENG, Z.; MENG, Z.; ZHANG, R.; LIANG, C.; WAN, J.; WANG, Y.; ZHAI, H.; GUO, S. Expression of the rice arginase gene OsARG in cotton influences the morphology and nitrogen transition of seedlings. **PLoS One**, v. 10, e0141530, 2015.

MILLER-FLEMING, L.; OLIN-SANDOVAL, V.; CAMPBELL, K.; RALSER, M. Remaining Mysteries of Molecular Biology: The Role of Polyamines in the Cell. **Journal of Molecular Biology**, v. 427, n. 21, p. 3389-3406, 2015.

MINOIS, N. Molecular basis of the 'anti-aging' effect of spermidine and other natural polyamines - A mini-review. **Gerontology**, v. 60, 319–326. 2014.

MITRA, R. P.; JAIN, D. V. S.; BANERJEE, A. K.; CHARI, K. V. R. Photolysis of sodium nitroprusside and nitroprussic acid. **Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry**, v. 25, p. 1263-1266, 1963.

MITTLER, R., ROS are good. **Trends in Plant Science**, v. 22, n. 1, p. 11–19. 2017.

MONTEIRO, G. C.; GOTO, R.; MINATEL, I. O.; da SILVA, E. S.; da SILVA, E. G. VIANELLO, F.; LIMA, G. P. P. Grafting, Agrochemicals, and Oxidative Enzymes as Factor for Plant Biotic Resistance. In: R. A. Ansari, I. Mahmood. **Plant Health Under Biotic Stress**. Springer, Singapore. 2019.

NORITAKE, T.; KAWAKITA, K.; DOKE, N. Nitric oxide induces phytoalexin accumulation in potato tuber tissues. **Plant and cell physiology**, v. 37, n. 1, p. 113-116, 1996.

NABI, R. B. S.; TAYADE, R.; HUSSAIN, A.; KULKARNI, K. P.; IMRAN, Q. M.; MUN, B-G.; YUN, B-W. Nitric oxide regulates plant responses to drought, salinity, and heavy metal stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 161. P. 120–133. 2019.

POPOVA, L.; TRAN, A. T. Nitric oxide in plants: Properties, biosynthesis and physiological functions. **Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science**, v. 34, p. 173-183, 2010.

PURSEGLOVE, J. W. **Tropical Crops. Dicotyledons. Cucurbitaceae**. Essex: Longman, p. 100-138, 1972.

QIANNAN, D.; YONGJUN, S.; DONGMEI, S.; HONGYAN, Q.. Interaction of Polyamines, Abscisic Acid, Nitric Oxide, and Hydrogen Peroxide under Chilling Stress in Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **Seedlings Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 203, 2017.

RESENDE, M. L. V.; SALGADO, S. M. L.; CHAVES, Z. M. Espécies Ativas de Oxigênio na Resposta de Defesa de Plantas a Patógenos. **Fitopatologia brasileira**, v.28, p.123-130, 2003.

ROBINSON, R. W.; DECKER-WALTERS, D. S. Evolution and exploitation. In: ROBINSON, R. W.; DECKER-WALTERS, D. S. (Ed.). **Curcubis**. New York: CAB International, p. 35, 1997.

ROMERO-PUERTAS, M. C.; RODRÍGUEZ-SERRANO, M.; SANDALIO, L. M. Protein S-nitrosylation in plants under abiotic stress: an overview. **Front Plant Science**, v. 20, n. 4, p. 373, 2013.

SAHA, J.; BRAUER, E. K.; SENGUPTA, A.; POPESCU, S. C.; GUPTA, K.; GUPTA, B. Polyamines as redox homeostasis regulators during salt stress in plants. **Frontiers in Environmental Science**, v. 3, p. 21. 2015.

SANTOLINI, J.; ANDRÉ, F.; JEANDROZ, S.; WENDEHENNE, D. Nitric oxide synthase in plants: Where do we stand? **Nitric Oxide**, v. 63, p. 30-38. 2017.

SHARMA, S.; PAREEK, S.; SAGAR, N. A.; VALERO, D.; SERRANO, M. Modulatory Effects of Exogenously Applied Polyamines on Postharvest Physiology, Antioxidant System and Shelf Life of Fruits: A Review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, p.1789. 2017.

SHI, H.; YE, T.; CHEN, F.; CHENG, Z.; WANG, Y.; YANG, P.; ZHANG, Y.; CHAN, Z. Manipulation of arginase expression modulates abiotic stress tolerance in Arabidopsis: effect on arginine metabolism and ROS accumulation. **Journal of Experimental Botany**, v. 64, p. 1367–1379. 2013.

SHISHIDO, S. M.; de OLIVEIRA, M. G. Photosensitivity of aqueous sodium nitroprusside solutions: nitric oxide release versus cyanide toxicity. **Progress in Reaction Kinetics and Mechanism**, v. 26, p. 239–261, 2001.

SIDDIQUI, M. H.; ALAMRI, S. A.; AL-KHAISHANY, M. Y.; AL-QUTAMI, M. A.; ALI, H. M.; AL-RABIAH, H.; MKALAJI, H. M. Exogenous application of nitric oxide and spermidine reduces the negative effects of salt stress on tomato. **Horticulture, Environment, and Biotechnology**, v. 58, p. 537–547, 2017.

SILVA, H. R da; COSTA, N. D.; CARRIJO, O. A. Exigências de clima e solo e época de plantio. In: SILVA, H. R. da; COSTA, N. D. (Ed.). Melão, produção aspectos técnicos. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças; Embrapa Informação Tecnológica; Petrolina: Embrapa Semi-árido, 144 p. 2003.

SLOCUM, R. D.; KAUR-SAWHNEY, R.; GALSTON, A. W. The physiology and biochemistry of polyamines in plants, Arch. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 235, p. 283–303. 1984.

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

TAKAHASHI, T.; KAKEHI, J. Polyamines: ubiquitous polycations with unique roles in growth and stress responses, **Annals of Botany**, v. 105, p. 1–6. 2010.

TAKANO, A. H. K.; BEFFA, R.; PRESTON, C.; WESTRA, P.; FRANCK E. Reactive oxygen species trigger the fast action of glufosinate. **Planta**, v. 249, p. 1837–1849, 2019.

TAKANO, H. K.; BEFFA, R.; PRESTON, C.; WESTRA, P.; DAYAN, F. E. A novel insight into the mode of action of glufosinate: how reactive oxygen species are formed. **Photosynthesis Research**, v. 144, p. 361–372, 2020.



TASHIBANA, K.; WATANABE, T.; SEKIZAWA, Y.; TAKEMATSU, T. Inhibition of glutamine synthetase and quantitative changes of free acids in shoots of bialaphos treated Japanese barnyard millet. **Journal of Pest Science**, v. 11, n. 3, p. 27-31, 1986.

TUZET, A., RAHANTANIAINA, M. S., NOCTOR, G. Analyzing the function of catalase and the ascorbate-glutathione pathway in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> processing: insights from an experimentally constrained kinetic model. **Antioxidants Redox Signal**, v. 30 n. 9, p. 1238–1268. 2019.

UMBREEN. S.; LUBEGA, J.; CUI, B.; PAN. Q.; JIANG, J.; LOAKE, G. J. Specificity in nitric oxide signaling. **Journal of Experimental Botany.**, v. 69, p. 3439-3448. 2018.

VETOSHKINA, D. V., IVANOV, B. N., KHOROBRYKH, S. A., PROSKURYAKOV, I. I., BORISOVA-MUBARAKSHINA, M. M. Involvement of the chloroplast plastoquinone pool in the Mehler reaction. **Physiology Plantarum**, v. 161, p. 45–55. 2017.

WALTER, D. R., Resistance to plant pathogens: possible roles for free polyamines and polyamine catabolism. **New Phytologist**, v. 159, p. 109–115. 2003.

WANG, P.; DU, Y.; LI, Y.; REN, D.; SONG, C. P. Hydrogen peroxide-mediated activation of MAP Kinase 6 modulates nitric oxide biosynthesis and signal transduction in Arabidopsis. **Plant Cell**, v. 22, p. 2981–2998. 2010.

WENDLER, C.; PUTZER, A.; WILD, A. Effect of Glufosinate (Phosphinothricin) and Inhibitors of Photorespiration on Photosynthesis and Ribulose-1,5-Bisphosphate Carboxylase Activity. **Journal of Plant Physiology**, v. 139. p. 666-671, 1992.

WIMALASEKERA, R.; TEBARTZ, F.; SCHERER, G. F. E. Polyamines, polyamine oxidases and nitric oxide in development, abiotic and biotic stresses. **Plant Science**, v. 181, p. 593– 603. 2011.

XIE, J.; BAI, X.C.; SUN, C.C.; QIAN, H. F.; FU, Z. W. The effect of glufosinate on nitrogen assimilation at the physiological, biochemical and molecular levels in *Phaeodactylum tricornutum*. **Ecotoxicology**, v. 23, p. 1430–1438, 2014.

YAMASAKI, H.; SAKIHAMA, Y. Simultaneous production of nitric oxide and peroxynitrite by plant nitrate reductase: in vitro evidence for the NR-dependent formation of active nitrogen species. **The FEBS journal**, v. 468, p. 89–92, 2000.

YU, M.; LAMATTINA, L.; SPOEL, S. H.; LOAKE, G. J. Nitric oxide function in plant biology: a redox cue in deconvolution. **New Phytologist**, v. 202, p. 1142–1156, 2014.

ZANDONADI, D. B.; SANTOS, M. P.; DOBBSS, L. B.; OLIVARES, F. L.; CANELLAS, L. P.; BINZEI, M. L.; OKOROKOVA-FAÇANHA, A. L.; FAÇANHA, A. R. Nitric oxide mediates humic acids induced root development and plasma membrane H<sub>p</sub>-ATPase activation. **Planta**, v. 23, p. 1025-1036, 2010.