

---

**CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

---

**MARIA VITÓRIA PEREIRA DAINEZI**

**ESTRATÉGIAS BIOTECNOLÓGICAS PARA  
AUMENTAR A TOLERÂNCIA DE MUDAS NATIVAS  
À SECA PARA FINS DE RESTAURAÇÃO  
FLORESTAL**



Rio Claro - SP  
2025

MARIA VITÓRIA PEREIRA DAINEZI

**ESTRATÉGIAS BIOTECNOLÓGICAS PARA AUMENTAR A  
TOLERÂNCIA DE MUDAS NATIVAS À SECA PARA FINS DE  
RESTAURAÇÃO FLORESTAL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biociências – Câmpus de Rio Claro, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, para obtenção do grau de Licenciada e Bacharela em Ciências Biológicas.

Orientador(a): Neidiquele Maria Silveira

Rio Claro - SP  
2025

D133e

Dainezi, Maria Vitória Pereira

Estratégias Biotecnológicas Para Aumentar A Tolerância De Mudanças Nativas À Seca Para Fins De Restauração Florestal / Maria Vitória Pereira Dainezi. -- Rio Claro, 2025  
35 p.

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado e licenciatura - Ciências Biológicas) -  
Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Rio Claro

Orientador: Neidiquele Maria Silveira

1. Mudanças Climáticas. 2. Jatobá. 3. Déficit Hídrico. 4. Óxido Nítrico. 5.  
Nanobiotecnologia.. I. Título.

MARIA VITÓRIA PEREIRA DAINEZI

**ESTRATÉGIAS BIOTECNOLÓGICAS PARA AUMENTAR A  
TOLERÂNCIA DE MUDAS NATIVAS À SECA PARA FINS DE  
RESTAURAÇÃO FLORESTAL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biociências, Câmpus de Rio Claro, da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", para obtenção do grau de Licenciada e Bacharela em Ciências Biológicas.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dra. Neidiquele Maria Silveira

Prof. Dr. Gustavo Habberman

Dra. Brenda Mistral

Aprovado em: 10 de novembro de 2025

Assinatura do discente

Assinatura do(a) orientador(a)

*À minha mãe, por todo colo e confiança em mim,  
E ao meu pai, que se foi no meio desse sonho, mas continua  
iluminando meus passos.*

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de expressar minha profunda gratidão às instituições e pessoas que tornaram este trabalho possível.

À Universidade Estadual Paulista (UNESP), ao Instituto de Biociências (IB), ao Departamento de Biodiversidade e ao corpo docente, por toda a formação acadêmica e pela infraestrutura disponível para a realização da pesquisa. O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Brasil. Processo nº 2024/04323-3. As opiniões, hipóteses e conclusões ou recomendações expressas neste material são de responsabilidade do(s) autor(es) e não necessariamente refletem a visão da FAPESP.

Agradeço ao CEPID Processo nº 2021/10639-5, ao qual este projeto está vinculado. Também expresso meus agradecimentos à empresa ReGreen pela doação das mudas de jatobá, material biológico essencial para a realização deste trabalho.

À minha orientadora, Neidiquele Maria Silveira, pela confiança, paciência, amizade e dedicação que foram fundamentais para a conclusão deste projeto.

À Naiara, pela inestimável ajuda técnica e pelo suporte emocional e boas risadas oferecido no cotidiano do laboratório, que foi fundamental para superar os desafios da pesquisa.

A minha mãe, por todo acolhimento ao longo desses 6 anos. Todo seu apoio, carinho e motivação foram o combustível para minha trajetória – perseguindo um sonho que sempre foi nosso. Sem ela, nada disso seria possível.

Aos familiares que me apoiaram e ouviram tantas lamúrias e histórias, Duda e Nana. E também à minha madrinha que deu um grande suporte nestes anos.

Ao meu namorado Vinícius, que, além de amor, ofereceu companheirismo diante da reta final, e sempre acreditou em mim, me motivando nos dias difíceis.

Aos meus amigos, em especial Caio Menele, Ana Mendes, Gabriel Felício, João Vitor, André, Victor Hugo e Catharina por toda jornada compartilhada. À Livinha, que

sempre esteve na porta ao lado com acolhimento e dentes de alho. À Ester, por todos os jantares de domingo, carinho e ajuda nos dias mais difíceis. Ao Pedrinho Zamps, que ouviu muitas incertezas e sempre ofereceu abrigo e risadas. Com eles pude entender o que é formar uma família e, sem eles, os dias de UNESP não seriam tão incríveis quanto foram.

Agradeço à Atlética da Biologia (AAABIO), por me acompanhar durante 6 anos, entre muitas gerações, com risadas, planilhas e, é claro, cerveja.

Agradeço também aos meus colegas de laboratório pela colaboração, especialmente ao Caio e Fernandinho por serem o melhor trio de trabalho que eu poderia pedir.

## RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial da aplicação exógena de S-nitrosoglutationa (GSNO) encapsulada em nanopartículas de quitosana, como uma estratégia para atenuar os efeitos do déficit hídrico em mudas de *Hymenaea courbaril* para fins de restauração florestal. A alta mortalidade de mudas após o plantio, amplificada por eventos de seca, representa um desafio tanto ecológico quanto econômico. O encapsulamento de doadores de óxido nítrico (NO) é uma abordagem promissora que visa proteger as moléculas da rápida degradação e permitir uma liberação controlada, prolongando seu efeito na planta. Para o experimento, mudas de jatobá foram submetidas a um déficit hídrico por 15 dias e pulverizadas com GSNO encapsulado em diferentes concentrações: 100, 500, 1000 e 2000  $\mu\text{M}$ . As análises envolveram a avaliação de parâmetros biométricos, fisiológicos e bioquímicos. Os resultados demonstram que a concentração de 1000  $\mu\text{M}$  de GSNO encapsulado foi a mais eficaz, promovendo maior incremento da altura relativa, maior taxa fotossintética e menor concentração de peróxido de hidrogênio em comparação com o tratamento sob déficit hídrico. No entanto, este tratamento não foi capaz de mitigar completamente o estresse, visto que essas melhorias não se refletiram em maior acúmulo de biomassa, e os níveis de malondialdeído (MDA) permaneceram inalterados.. Plantas tratadas com a concentração de 2000  $\mu\text{M}$  apresentaram sinais de toxicidade. De modo geral, os resultados sugerem que a aplicação de GSNO encapsulado pode ser uma estratégia promissora para atenuar os efeitos do déficit hídrico em mudas de *Hymenaea courbaril*, fornecendo informações para o aprimoramento de estratégias biotecnológicas na produção de mudas e para o sucesso de projetos de restauração florestal. Futuros estudos devem ampliar o tempo de exposição ao déficit hídrico e investigar de forma mais detalhada os mecanismos fisiológicos, bioquímicos e moleculares envolvidos na resposta ao NO sobre o crescimento e a fotossíntese.

**Palavras-chave:** mudanças climáticas, jatobá, déficit hídrico, óxido nítrico, nanobiotecnologia.

## ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the potential of exogenous S-nitrosoglutathione (GSNO), encapsulated in chitosan nanoparticles, as a strategy to mitigate the effects of water deficit in *Hymenaea courbaril* seedlings for forest restoration purposes. The high mortality of seedlings after planting, which is amplified by drought events, represents both an ecological and economic challenge. The encapsulation of nitric oxide (NO) donors is a promising approach designed to protect the molecules from rapid degradation and allow for a controlled release, thereby prolonging their effect on the plant. For the experiment, jatobá seedlings were subjected to a water deficit for 15 days and sprayed with encapsulated GSNO at concentrations of 100, 500, 1000, and 2000  $\mu\text{M}$ . The analyses involved the evaluation of biometric, physiological, and biochemical parameters. The results show that the 1000  $\mu\text{M}$  concentration of encapsulated GSNO was the most effective, promoting a greater increase in relative height, a higher photosynthetic rate, and a lower concentration of hydrogen peroxide compared to the water deficit treatment. However, this treatment was not able to completely mitigate the stress, as these improvements were not reflected in greater biomass accumulation and malondialdehyde (MDA) levels remained unaltered. Plants treated with the 2000  $\mu\text{M}$  concentration showed signs of toxicity. Overall, the results suggest that the application of encapsulated GSNO can be a promising strategy to mitigate the effects of water deficit in *Hymenaea courbaril* seedlings, providing information for the improvement of biotechnological strategies in seedling production and for the success of forest restoration projects. Future studies should extend the exposure time to water deficit and more deeply investigate the physiological, biochemical, and molecular mechanisms involved in the response to NO on growth and photosynthesis.

**Keywords:** Climate change; jatobá; water deficit; nitric oxide; nanobiotechnology.

**Title in english:** Nanotechnological strategies to increase the drought tolerance of native seedlings for forest restoration purposes.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>9</b>
a. Efeitos do déficit hídrico nas plantas e sinalização do óxido nítrico (NO).....	10
b. Estratégias nanotecnológicas para fins de restauração florestal.....	12
b) OBJETIVOS.....	13
a. Objetivo geral.....	13
b. Objetivos específicos.....	13
c) METODOLOGIA.....	14
a. Material biológico e suas características.....	14
b. Síntese de nanopartículas de quitosana com doador de NO.....	14
c. Estratégia experimental.....	15
d. Análises Realizadas.....	16
d) RESULTADOS.....	19
e) DISCUSSÃO.....	25
f) CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	28
REFERÊNCIAS.....	29

## 1 INTRODUÇÃO

Dentre as várias emergências que nossa sociedade vem enfrentando, as principais que afetam o planeta globalmente são: a crise na saúde, a crise da perda de biodiversidade e as mudanças climáticas. As diferenças entre as crises estão na questão temporal, enquanto a crise na saúde associada ao Sars-CoV-2 pode durar anos, o impacto das mudanças climáticas pode durar séculos, e a perda de biodiversidade é para sempre (Artaxo, 2020). Vale ressaltar que as mudanças climáticas estão relacionadas com a perda da biodiversidade observado em praticamente todos os ecossistemas (IPBES, 2019).

Projeções climáticas indicam maior variabilidade de precipitação ao longo deste século com extremos de seca cada vez mais frequentes, o que afetará ainda mais a biodiversidade florestal, devido aos impactos no funcionamento dos ecossistemas, nos padrões fotossintéticos, modificando os ciclos hidrológicos e a dinâmica do carbono em ecossistemas terrestres e marinhos (IPCC, 2021).

A restauração florestal com espécies nativas tem sido considerada uma estratégia importante na atualidade, especialmente quando a floresta perde a capacidade de se recuperar sozinha, ou seja, quando o ambiente sofre distúrbios em tamanha proporção que se torna impossível o retorno à condição de equilíbrio ambiental sem uma intervenção (Brançalion *et al.*, 2015). A restauração dessas áreas com espécies nativas recompõe o teor de matéria orgânica do solo, recuperando também a capacidade de retenção de água (Rodrigues *et al.*, 2007). Assim, a reconstrução de habitats, através de ações de restauração florestal podem potencializar a conservação da biodiversidade (Brançalion *et al.*, 2015).

Apesar da restauração florestal ser considerada uma importante estratégia, seu sucesso é dificultado pela alta mortalidade de mudas após o plantio, e esse problema é amplificado por eventos de seca. É comum essas áreas degradadas apresentarem condições ambientais estressantes como deficiência hídrica, o que irá interferir negativamente no estabelecimento destas espécies (Oliveira *et al.*, 2017, Silvestre *et al.*, 2017). Além do aspecto ambiental, esta alta mortalidade de mudas também não é interessante no aspecto econômico, tendo em vista o investimento dos viveiristas em água e energia para a produção das mesmas. Assim, estratégias

para melhorar a tolerância das mudas ao estresse, são, portanto, essenciais para aumentar o sucesso da restauração florestal (Nolan *et al.*, 2018).

### **1.1 Efeitos do déficit hídrico nas plantas e sinalização do óxido nítrico (NO)**

O déficit hídrico é o principal fator ambiental que influencia, de forma negativa, a germinação, o desenvolvimento e a sobrevivência das plantas (De Carvalho, 2008; Axelsson *et al.*, 2020). A resposta primária da planta ao déficit hídrico é o fechamento estomático para evitar a perda excessiva de água pela transpiração foliar. No entanto, essa resposta também diminui a disponibilidade de CO<sub>2</sub> para a fotossíntese e, conseqüentemente, reduz o acúmulo de biomassa e o crescimento das plantas. O déficit hídrico também afeta o conteúdo de clorofila foliar e inibe a atividade fotoquímica da fotossíntese (Kosar *et al.*, 2020; Raja *et al.*, 2020).

Além disso, o déficit hídrico também está associado à superprodução de espécies reativas de oxigênio (EROS), que leva ao estresse oxidativo (Kohli *et al.*, 2019; Tiepo *et al.*, 2020). EROS são formas reduzidas de oxigênio molecular, extremamente reativas, como o ânion superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), o peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), o radical hidroxil (HO•) e o oxigênio singleto (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>), que podem danificar os componentes celulares, incluindo proteínas, lipídios, DNA, podendo levar à morte celular (Mittler, 2002).

Como as plantas são sésseis, elas possuem capacidade de responder aos estresses abióticos, demonstrando alta plasticidade sob condições adversas. As plantas ativam uma complexa rede de múltiplas respostas em níveis moleculares, celulares e fisiológicos (Larcher, 2000). Tais respostas ocorrem porque as plantas possuem um sistema de sinalização eficaz, que processa e transfere informações sobre mudanças ambientais para outros órgãos e tecidos (Roshchina, 2001). Essas redes de sinalização ligadas ao estresse envolvem não apenas fitohormônios clássicos, mas também outras moléculas de sinalização, como o óxido nítrico (NO).

O NO é uma molécula sinalizadora multifuncional produzida por todas as plantas e possui uma ampla gama de efeitos nos processos metabólicos e fisiológicos, atuando na germinação, crescimento, floração e regulação de múltiplas respostas ao estresse (Santisree *et al.*, 2015). O NO age na tolerância de várias espécies vegetais a diversos tipos de estresses abióticos como estresse hídrico

(Tian e Lei, 2006), salino (Siddiqui *et al.*, 2017), metais pesados (Singh *et al.*, 2009) e estresse por alumínio (Wang e Yang, 2005). Em geral, o NO pode proteger as plantas do estresse oxidativo devido à indução de enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) (Silveira *et al.*, 2017; Ahanger *et al.*, 2020). Também pode regular a abertura estomática, aumentar a eficiência fotossintética, promover o acúmulo de osmólitos (como prolina e glicina betaína) e melhorar o grau de hidratação das plantas submetidas a condições de déficit hídrico (Silveira *et al.*, 2016, 2017, 2019a; Rezayian *et al.*, 2020).

Adicionalmente, o NO controla o crescimento e o desenvolvimento das raízes (Silveira *et al.*, 2016; Prakash *et al.*, 2020). Alguns estudos têm demonstrado que a pulverização de plantas com doadores de NO, em condições de déficit hídrico, aumentou significativamente a biomassa das raízes com consequente incremento na área de absorção de água, o que permitiu que as plantas mantivessem seu status hídrico sob tais condições (Silveira *et al.*, 2016, 2017). O NO foi nomeado como um intermediário na cascata de sinalização regulada pela auxina, influenciando a morfologia e fisiologia das raízes (Correa-Aragunde *et al.*, 2004). Além disso, tem sido relatado que o NO favorece a quebra de dormência de sementes de espécies florestais (Ataíde *et al.*, 2015).

Existem vários doadores de NO que diferem na composição, meia-vida, taxa de liberação de NO sob condições de luz e presença de agentes redutores (Seabra *et al.*, 2022). Um dos doadores de NO que vem sendo estudado é o S-nitrosoglutathione (GSNO). GSNO é um S-nitrosotiol endógeno que serve como fonte de NO, uma potente molécula sinalizadora capaz de aumentar a tolerância de plantas a estresses abióticos pela nitrosilação de proteínas (Silveira *et al.*, 2016, 2017a). A S-nitrosilação pode alterar a atividade, estabilidade e a conformação de proteínas alvo, além de interações com outras moléculas ou sua localização subcelular, regulando uma vasta gama de funções celulares e eventos de sinalização (Sevilla *et al.*, 2015). De fato, Silveira *et al.* (2017) demonstraram que o NO aumentou a atividade de carboxilação da Rubisco (enzima chave do processo fotossintético) em plantas sob déficit hídrico, sendo essa proteína um possível alvo da S-nitrosilação.

Deste modo, vários estudos têm demonstrado que plantas têm a sua performance melhorada em condições restritivas quando supridas com GSNO

(Silveira *et al.*, 2016, 2017, 2019b, 2021). Assim, mudas poderiam ser “preparadas” quando supridas com moléculas sinalizadoras, o chamado chemical priming, um campo promissor na fisiologia do estresse vegetal.

#### **a. Estratégias nanotecnológicas para fins de restauração florestal**

A combinação de doadores de NO com nanomateriais é uma abordagem promissora e relativamente nova que surgiu como estratégia para proteger moléculas da rápida degradação, visto que os doadores de NO são termicamente e fotoquimicamente instáveis (Shishido *et al.*, 2003). Além disso, o aprisionamento destes doadores de NO em nanomateriais permite uma liberação mais controlada, prolongando o efeito do NO na planta (Seabra *et al.*, 2015). Os doadores são incorporados em matrizes poliméricas, como as nanopartículas à base de quitosana (Cardozo *et al.*, 2014). A quitosana é um polissacarídeo biodegradável e biocompatível amplamente utilizado em aplicações de liberação de fármacos, particularmente como um sistema nanocarreador (Pieretti *et al.*, 2020).

Alguns estudos têm demonstrado o potencial uso de nanopartículas liberadoras de NO na atenuação dos efeitos do déficit hídrico em algumas culturas (Oliveira *et al.*, 2016; Silveira *et al.*, 2019b; 2021). Recentemente, um estudo mostrou que a aplicação no solo de nanopartículas de NO foi capaz de melhorar o sistema antioxidante e aumentar o teor relativo de água foliar em mudas de árvores (*Heliocarpus popayanensis* Kunth) sob estresse hídrico, induzindo também a formação de pelos radiculares (Do Carmo *et al.*, 2021). Vislumbra-se que a pulverização foliar com NO encapsulado poderá tornar a espécie menos suscetível a eventos de déficit hídrico durante o desenvolvimento inicial, período crucial de estabilização da plântula. Com isso, aliamos a pesquisa básica com a aplicada, sendo o setor florestal o principal beneficiário dos resultados desta pesquisa.

## **b) OBJETIVOS**

### **a. Objetivo geral**

Este estudo pretende avaliar o potencial da aplicação exógena de GSNO (doador de NO) encapsulado como estratégia para atenuar os efeitos do déficit hídrico em mudas nativas de interesse para a restauração florestal. A hipótese é que o NO seja capaz de mitigar a inibição do crescimento e da fotossíntese em plantas de *Hymenaea courbaril* submetidas ao déficit hídrico.

### **b. Objetivos específicos**

- 1 a pulverização foliar de GSNO encapsulado atenua os efeitos do déficit hídrico na inibição do crescimento inicial e na fotossíntese em mudas de *H. courbaril* de maneira dose-dependente;
- 2 a GSNO encapsulado potencializa os mecanismos antioxidativos enzimáticos, melhorando a fotossíntese e o crescimento inicial das mudas sob condições de baixa disponibilidade hídrica.

## c) METODOLOGIA

### a. Material biológico e suas características

Foram utilizadas sementes da espécie florestal *Hymenaea courbaril* L., mais conhecida como Jatobá. Pertencente à Família Fabaceae (subfamília Caesalpinioideae), essa espécie é uma árvore semidecídua, com distribuição geográfica ampla, sendo originalmente encontrada na Amazônia e Mata Atlântica com ocorrência natural desde o Piauí até o Norte do Paraná na floresta latifoliada semidecídua (Carvalho, 2003).

O uso de espécies arbóreas desempenha um papel crucial nas ciências florestais, contribuindo para o equilíbrio ecológico dos habitats e dos grupos ecológicos aos quais pertencem, nas comunidades florestais. São altamente recomendadas para integrar programas de recuperação de áreas degradadas ou sujeitas à degradação (Nascimento, 2009). Nesse sentido, o jatobá possui um potencial significativo na recuperação de sub-bosques, desempenhando sua função ecológica no fechamento do dossel, devido ao porte alto de seus indivíduos adultos (Tonini & Arco-Verde, 2005).

### b. Síntese de nanopartículas de quitosana com doador de NO

As nanopartículas de quitosana foram obtidas pelo método de gelificação ionotrópica, conforme descrito anteriormente (Silveira *et al.*, 2019b). Resumidamente, a quitosana foi dissolvida em ácido acético (1%) e 1,3 mmol L<sup>-1</sup> de GSH. Após 90 min de agitação magnética à temperatura ambiente, uma solução de tripolifosfato de sódio (TPP) a 0,6 mg mL<sup>-1</sup> foi adicionada gota a gota à solução. Para a mistura final agitou-se magneticamente por 90 min. A concentração final de GSH permaneceu igual a 1,0 mmol L<sup>-1</sup>. Para obter nanopartículas de quitosana contendo GSNO, uma quantidade 7 equimolar de nitrito de sódio foi adicionada à dispersão, e a solução final homogeneizada. A reação permaneceu por 90 min no escuro, e após sua preparação, utilizou-se a solução imediatamente.

### c. Estratégia experimental

Para os experimentos, as sementes foram adquiridas pela empresa ArboCenter LTDA. Em seguida, esterilizou-se, na superfície das mesmas, imersas em 1 litro de hipoclorito de sódio a 10% (v/v), durante 20 minutos e depois enxaguadas com água destilada. Posteriormente, as sementes foram submetidas ao processo de escarificação mecânica, uma vez que possuem dormência tegumentar (Guariz *et al.*, 2021). Em seguida, as mesmas foram dispostas em caixas tipo gerbox, sobre papel filtro umedecido com água, para iniciar a germinação. O processo ocorreu em uma câmara de germinação (BOD), sob temperatura constante de 30°C, com um fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro. Após a germinação, transferiu-se as plântulas para tubetes até que atingissem altura de 15 cm. Em seguida, as plantas foram transferidas para vasos plásticos (com capacidade de 3L) contendo substrato, cuja composição inclui: casca de arroz, casca de pinus, fibra de coco, superfosfato simples e nitrato de potássio (marca Vida Verde). As plantas foram irrigadas 3 vezes por semana, utilizando solução nutritiva elaborada segundo Hoagland & Arnold (1950).

O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação. Após três semanas, quando as plantas atingiram uma altura média de 20 cm, iniciou-se os tratamentos. A irrigação do grupo déficit hídrico foi cessada, e em seguida foram realizadas as pulverizações com as soluções de GSNO encapsulado nas concentrações de 100, 500, 1000 e 2000  $\mu\text{M}$ . Assim, a pulverização ocorreu um dia após a suspensão da rega, e a irrigação permaneceu suspensa por 15 dias. Aplicou-se um volume similar de 50 mL por planta/vaso, uma vez ao dia, no final da tarde, por 3 dias consecutivos.

Como controle, plantas pulverizadas apenas com água foram mantidas em condições de boa hidratação ou déficit hídrico. No total foram 6 tratamentos: (a) planta hidratada (controle); (b) planta sem irrigação (DH); (c) DH + pulverização de 100  $\mu\text{M}$  de GSNO encapsulado; (d) DH + pulverização de 500  $\mu\text{M}$  de GSNO; (e) DH + pulverização de 1000  $\mu\text{M}$  de GSNO; (f) DH + pulverização de 2000  $\mu\text{M}$  de GSNO. Foram 10 repetições para cada tratamento, totalizando 60 vasos. Foram avaliados as trocas gasosas, atividade fotoquímica, teor de clorofila, teor relativo de água (TRA) e biometria (altura, comprimento das raízes e massa seca de folhas e raízes). Além disso, folhas foram coletadas e congeladas e armazenadas em ultrafreezer,

para as análises laboratoriais como a quantificação de peróxido de hidrogênio, peroxidação lipídica e enzimas do metabolismo antioxidante.

#### **d. Análises Realizadas**

a) Atividade fotoquímica e pigmentos: A taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A), a condutância estomática (gs) e a taxa aparente de transporte de elétrons foram determinadas em folhas totalmente expandidas, acima do primeiro par expandido, utilizando um analisador de gases por infravermelho (LI-6400, LI-COR Inc., Lincoln, NE, EUA). As medições foram realizadas entre 10h00 e 12h30, sob radiação fotossinteticamente ativa de 1000  $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , temperatura ambiente e concentração de CO<sub>2</sub> no ar de 400  $\mu\text{mol mol}^{-1}$ . Um clorofil\u00f4metro da marca Falker foi usado para avaliar o conte\u00fado de clorofila a e b, e o conte\u00fado relativo de clorofila total (Chl) foi calculado como clorofila a + b.

b) An\u00e1lises biom\u00e9tricas: Para as avalia\u00e7\u00f5es do crescimento vegetativo, ra\u00edzes e folhas foram coletadas, colocadas em sacos de papel Kraft separadamente e levadas para estufa de circula\u00e7\u00e3o for\u00e7ada a 60\u00b0C. Ap\u00f3s 48h foram pesadas em uma balan\u00e7a de precis\u00e3o. No in\u00edcio do experimento, todas as plantas tamb\u00e9m foram caracterizadas quanto \u00e0 biometria, com medidas de suas alturas. Para tal, foi utilizado uma fita m\u00e9trica, posicionando-a na por\u00e7\u00e3o emergente do caule no substrato do vaso. Considerou-se o comprimento desta por\u00e7\u00e3o at\u00e9 o \u00faltimo par de folhas presente nos indiv\u00edduos.

c) Teor relativo de \u00e1gua (TRA): Utilizando 5 discos foliares, dispostos em uma pequena placa de petri, foi determinada a massa do tecido fresco (MF) em balan\u00e7a anal\u00edtica. Ap\u00f3s esse processo, a massa do tecido t\u00fargido (MT) foi obtida mediante a reidrata\u00e7\u00e3o dos discos em \u00e1gua deionizada por 24 h. Em seguida, foi obtida a massa do tecido seco (MS) ap\u00f3s secagem dos discos por 48 h a 80\u00b0C em estufa de circula\u00e7\u00e3o de ar for\u00e7ada. O TRA foi calculado conforme Jamaux *et al.* (1997):  $\text{TRA} = 100 \times [(\text{MF} - \text{MS}) / (\text{MT} - \text{MS})]$ .

d) Quantifica\u00e7\u00e3o de per\u00f3xido de hidrog\u00e9nio e peroxida\u00e7\u00e3o lip\u00eddica:

Para as duas quantificações, 0,02 g de folhas foram homogeneizadas com 2 mL de ácido tricloroacético (TCA) 0,1% (p/v) e centrifugadas a 12000 g por 20 minutos, coletando o sobrenadante como amostra para os procedimentos. Em relação ao peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), alíquotas de 30  $\mu$ L do sobrenadante foram adicionadas a uma microplaca, juntamente com um meio de reação (Gay e Gebicki, 2000), com tampão fosfato de potássio 10 mM (pH 7,0), contendo iodeto de potássio 1M homogeneizadas e somando 170  $\mu$ L, também adicionado à microplaca. Em seguida, a mistura foi incubada no leitor de microplacas a 30°C por 10 minutos. Para determinar a absorbância, as amostras pipetadas em microplaca foram submetidas ao leitor (SpectraMax ABS Plus) a 390 nm e a quantificação de  $H_2O_2$  foi realizada com base em curva de calibração utilizando concentrações padronizadas de  $H_2O_2$ .

Para quantificar a peroxidação lipídica, utilizou-se alíquotas de 300  $\mu$ L do sobrenadante coletado anteriormente, adicionando-as a 1,7 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,5 % (p/v) em tubos de ensaio. A mistura foi incubada em banho-maria, a 90°C, por 30 minutos, com a reação sendo interrompida em banho de gelo por 10 minutos. Em seguida, foi pipetado 250  $\mu$ L em microplaca, com a leitura do leitor determinada a 535 nm para determinar a absorbância. A turbidez inespecífica foi corrigida pela subtração da absorbância da mesma em 600 nm. Para os cálculos, adotou-se o coeficiente de extinção 155 para quantificar a concentração dos peróxidos de lipídios, e os resultados foram expressos em nmol MDA de massa fresca (Heath e Packer, 1968).

e) Enzimas do metabolismo antioxidante: Os extratos enzimáticos brutos para as determinações da atividade da catalase (CAT), da peroxidase do ascorbato (APX) e da superóxido dismutase (SOD) foram obtidos pela maceração de 0,02 g de folhas, e adicionados 1,5 mL de meio de homogeneização – com fosfato de potássio 400 mM pH 7,8, EDTA 10 mM, ácido ascórbico 200mM e água destilada – seguido de centrifugação a 13000 g por 20 min a 4°C. Sendo os meios de homogeneização da CAT e SOD descrito por Peixoto *et al.* (1999) e APX por Nakano e Asada (1981). Para a quantificação total de proteínas foi utilizado o método de Bradford (1976).

Superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1): a atividade da SOD foi determinada pela adição de 10  $\mu$ L do extrato enzimático a 190  $\mu$ L de meio de reação contendo fosfato de potássio 400 mM pH 7,8, metionina, EDTA 10  $\mu$ M, água, NBT

1mM e riboflavina 0,2 mM (Del Longo *et al.*, 1993). A reação foi conduzida numa câmara de reação sob iluminação de uma lâmpada fluorescente (15 W). Após 18 min de exposição à luz, a iluminação foi interrompida e a formazana azul produzida pela fotorredução do NBT, foi determinada pela medida da absorbância a 560 nm (Giannopolitis e Ries, 1977). Também foi realizada a leitura de amostras que ficaram no “escuro”, sem receber a iluminação. Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima necessária para inibir em 50% a fotorredução do NBT (Beauchamp e Fridovich, 1971).

Catalase (CAT, EC 1.11.1.6): a atividade da CAT foi determinada pela adição de 10 µL do extrato enzimático bruto a 170 µL de meio de reação – fosfato de potássio 200 mM pH 7,0 e água (Havir e McHale, 1987). A atividade enzimática foi iniciada com a adição de 20 µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> nos poços da microplaca. Durante a reação, com duração de 3 minutos, à 25°C, foi medido o decréscimo na absorbância a 240 nm, utilizando a diferença entre o maior e menor valor obtido. A atividade enzimática foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de 36 (Anderson *et al.*, 1995) e expressa em µmol de proteína.

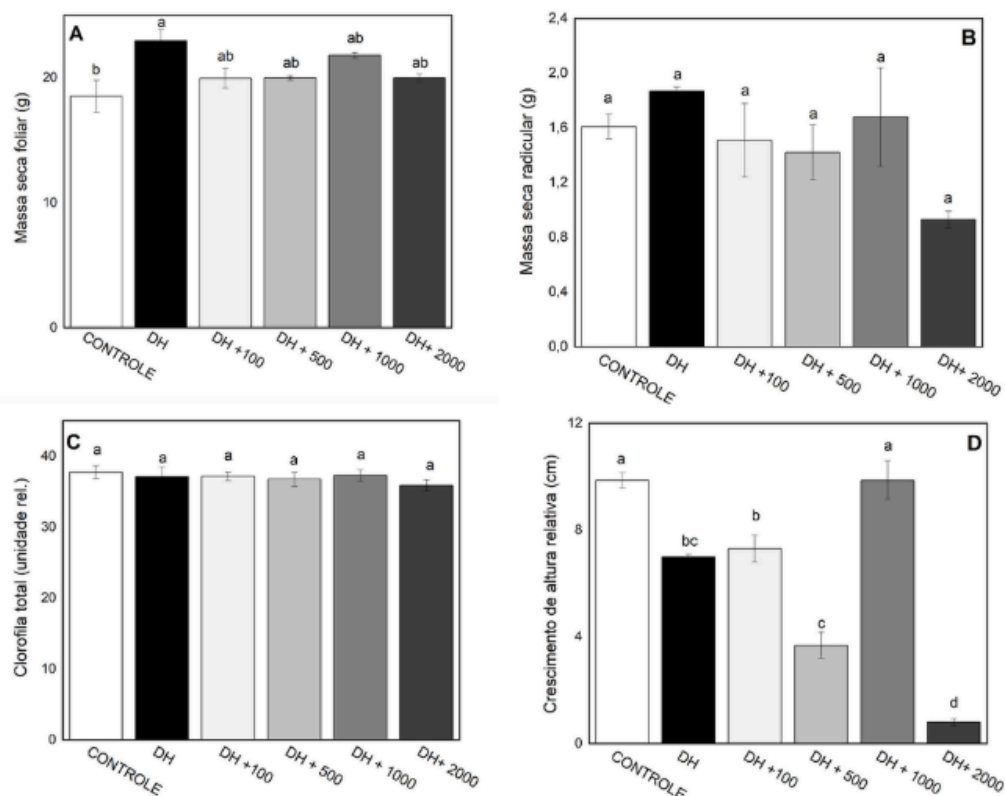
Ascorbato Peroxidase (APX, EC 1.11.1.11): A atividade da APX foi determinada pela adição de 10 µL do extrato enzimático bruto a 170 µL de meio de reação – fosfato de potássio 50 mM pH 7,0 e ácido ascórbico 2,5 mM. A reação, assim como a enzima anterior, foi iniciada com a adição de 20 µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e observado o decréscimo na absorbância a 290 nm, à 25°C, durante 3 minutos e usando o valor do delta para cálculos. A atividade enzimática foi calculada utilizando o coeficiente de extinção molar de 2,8 e expressa em µmol de proteína.

#### e. **Análise de resultados**

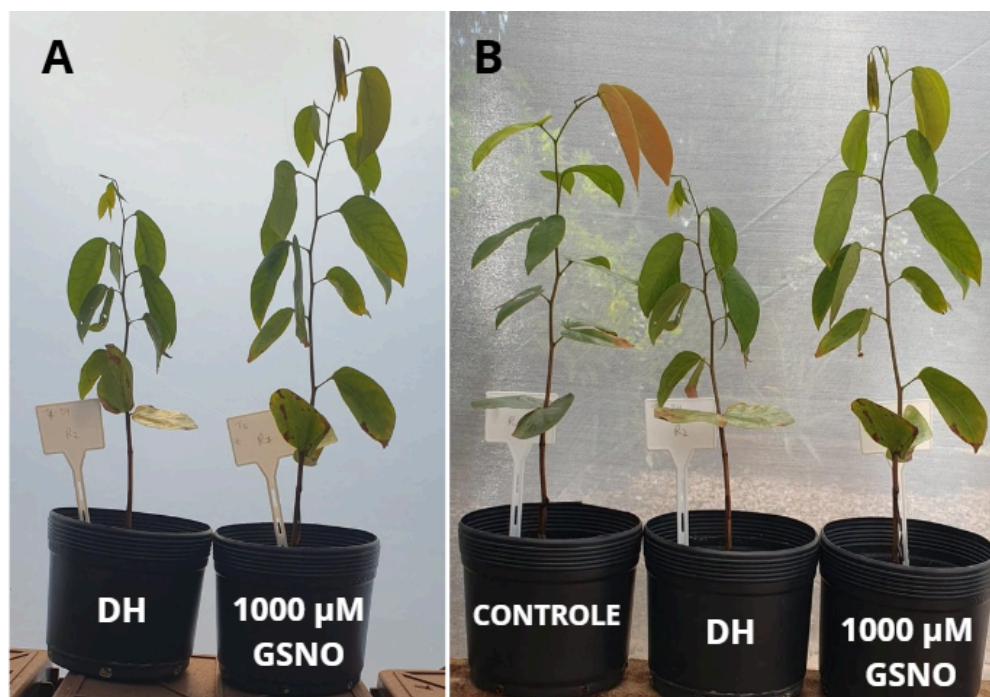
Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e, quando identificada diferença significativa entre os tratamentos ( $P < 0,05$ ), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, considerando de três a quatro repetições por tratamento ( $n = 3-4$ ).

#### **d) RESULTADOS**

Em relação às variáveis ambientais, durante o período do experimento a média da temperatura máxima foi de  $33,8^{\circ}\text{C} \pm 2,8$ , enquanto a mínima foi de  $25,2^{\circ}\text{C} \pm 2,2$  e a umidade relativa do ar foi em média de 56%. Em relação às análises biométricas realizadas ao final do experimento, de modo geral, não foram observadas diferenças entre os tratamentos nos parâmetros de massa seca de folhas, raízes e conteúdo de clorofila total. O crescimento relativo, calculado a partir da variação entre a altura inicial e final, foi o parâmetro que mais evidenciou diferenças: as plantas tratadas com  $1000 \mu\text{M}$  de GSNO apresentaram um incremento de 41% na altura em comparação ao grupo sob déficit hídrico que não recebeu a aplicação da nanopartícula (Figura 1). O aspecto visual geral das plantas evidencia esse maior crescimento das plantas que receberam  $1000 \mu\text{M}$  de GSNO (Figura 2).

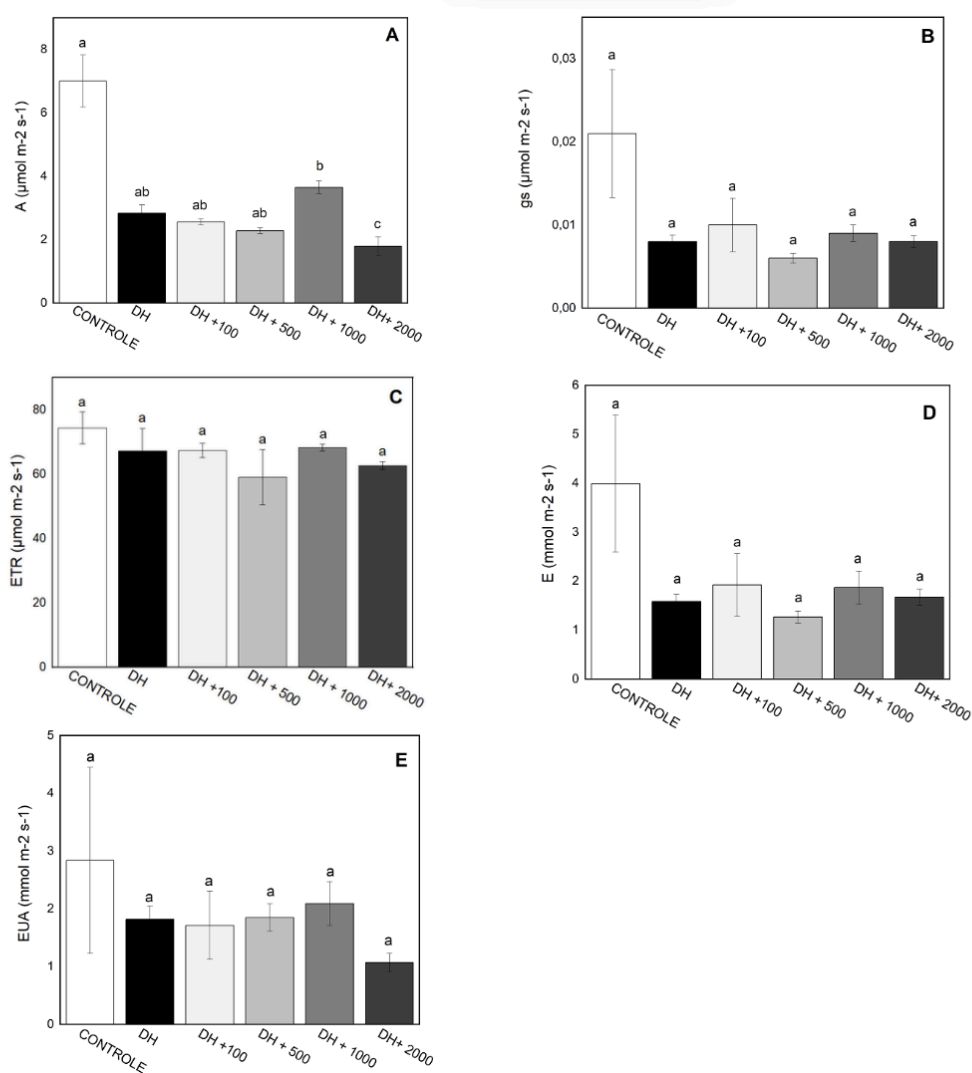


**Figura 1** - Massa seca foliar (em A), massa seca radicular (em B), conteúdo de clorofila total (em C) e altura relativa (em D) de plantas de *H. courbaril* ao final do experimento (14<sup>o</sup> dia). O controle representa o grupo mantido hidratado, DH: déficit hídrico, e os números na frente do DH representam a concentração de nanopartículas de quitosana com doadores de NO aplicadas em cada tratamento (100  $\mu$ M, 500  $\mu$ M, 1000  $\mu$ M e 2000  $\mu$ M, respectivamente). Os dados representam os valores médios de quatro repetições  $\pm$  erro padrão. As letras indicam a diferença estatística entre os tratamentos (Tukey,  $P < 0,05$ ).



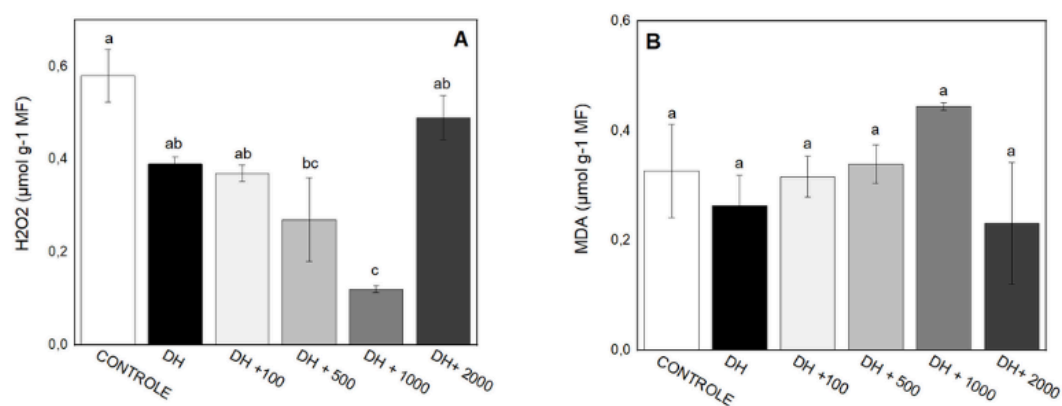
**Figura 2** - Aspecto visual de plantas de *H. courbaril* ao final do experimento (14<sup>o</sup> dia). Em (A) planta sob déficit hídrico (DH) e DH+1000 µM de GSNO encapsulado. Em (B) planta controle, DH e DH + 1000 µM de GSNO encapsulado.

Houve uma redução da taxa fotossintética nas plantas sob déficit hídrico em todos os tratamentos. No entanto, essa redução foi ligeiramente atenuada nas plantas que receberam 1000 µM de GSNO. Em contraste, as plantas que receberam 2000 µM apresentaram uma queda ainda maior na taxa fotossintética em comparação ao tratamento déficit hídrico (Figura 3A). Os demais parâmetros, como condutância estomática, transpiração e eficiência no uso da água, assim como a taxa de transporte de elétrons, não diferiram entre os tratamentos (Figura 3B-E).

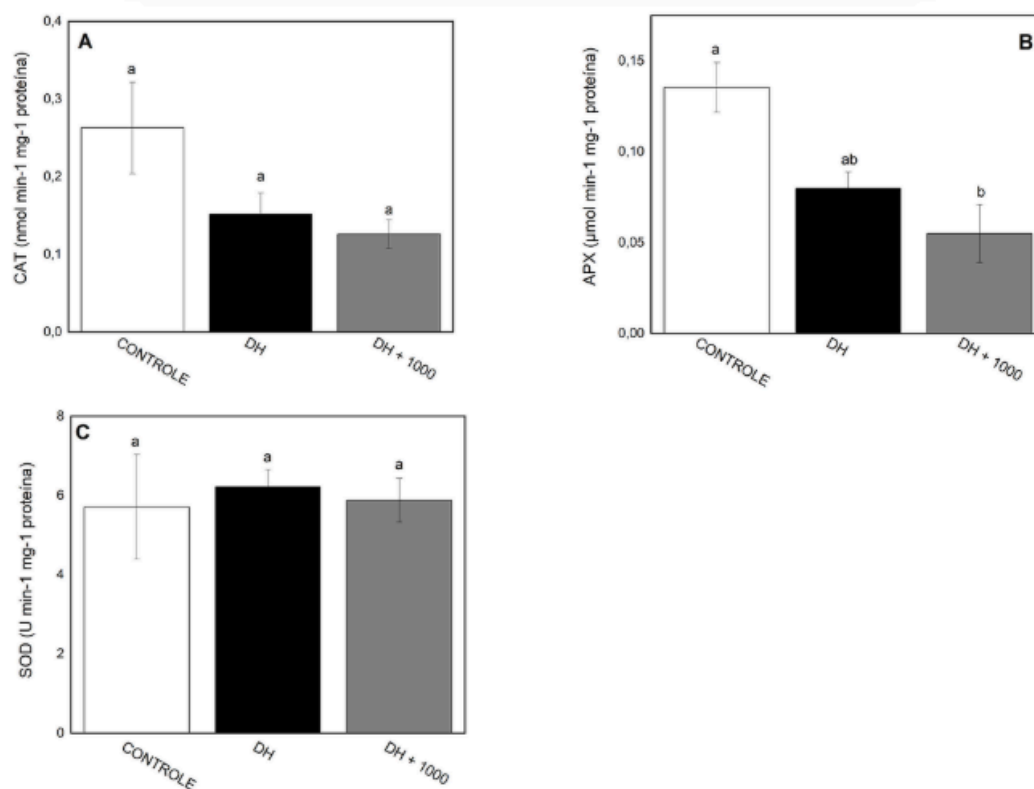


**Figura 3** - Taxa fotossintética (A) em  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (em A), condutância estomática (gs) em  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (em B), taxa aparente de transporte de elétrons (ETR), medido em  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (em C), transpiração (E) em  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (em D) e a eficiência no uso da água (EUA) em  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (em E) em plantas de *H. courbaril* ao final do experimento (14º dia). Os dados representam os valores médios de três repetições  $\pm$  erro padrão. As letras indicam a diferença estatística entre os tratamentos (Tukey,  $P < 0,05$ ).

Em relação aos dados de estresse oxidativo, de modo geral, a pulverização com 1000  $\mu\text{M}$  de GSNO reduziu os níveis de  $\text{H}_2\text{O}_2$  nas plantas, sugerindo um efeito atenuador do NO sobre o estresse oxidativo induzido pelo déficit hídrico. No entanto, essa redução não se refletiu em menor acúmulo de MDA, que se manteve estatisticamente semelhante entre os tratamentos, independentemente da condição hídrica (Figura 4). No sistema antioxidante, não foram observadas diferenças entre os tratamentos para a atividade das enzimas catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD). Apenas a atividade da peroxidase do ascorbato (APX) apresentou redução nos tratamentos sob déficit hídrico, independentemente da aplicação da nanopartícula (Figura 5).



**Figura 4** - Concentração de peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) (em A) e malondialdeído (MDA) em  $\mu\text{mol g}^{-1}$  massa fresca (MF) (em B) e concentração de  $\text{H}_2\text{O}_2$  em  $\mu\text{mol g}^{-1}$  MF (em B) em folhas de *H. courbaril* ao final do experimento (14<sup>o</sup> dia). Os dados representam os valores médios de quatro repetições  $\pm$  erro padrão. As letras indicam a diferença estatística entre os tratamentos (Tukey,  $P < 0,05$ ).



**Figura 5** - Atividade da catalase (CAT) em  $\text{nmol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  proteína (em A), da ascorbato peroxidase (APX) em  $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  proteína (em B) e da superóxido dismutase (SOD) em  $\text{U min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  proteína (em C) em folhas de *H. courbaril* ao final do experimento (14° dia). Os dados representam os valores médios de três repetições  $\pm$  erro padrão. As letras indicam a diferença estatística entre os tratamentos (Tukey,  $P < 0,05$ ).

## e) DISCUSSÃO

Os resultados mostraram que a aplicação de GSNO encapsulado na concentração de 1000  $\mu\text{M}$  apresentou o melhor desempenho na atenuação parcial dos efeitos do déficit hídrico em mudas de *Hymenaea courbaril*. Este tratamento se destacou por promover maior incremento da altura relativa, maior taxa fotossintética e menor concentração de peróxido de hidrogênio em comparação com o tratamento sob déficit hídrico. Esses achados sugerem que essa concentração ativou mecanismos de tolerância que beneficiaram o crescimento das mudas e sua capacidade de lidar com o estresse oxidativo causado pelo déficit hídrico.

Em relação ao incremento na altura das plantas que receberam 1000  $\mu\text{M}$  de GSNO, pode-se argumentar que o NO atua como regulador positivo da auxina, hormônio responsável pelo alongamento e crescimento do caule, refletindo o crescimento vertical da planta (Fernese *et al.*, 2016; Terrile *et al.*, 2012). Nesse contexto, essa regulação positiva pode justificar o aumento no crescimento relativo observado com a aplicação de 1000  $\mu\text{M}$  de GSNO, mesmo que a massa seca foliar e radicular não tenha apresentado diferenças neste estudo (Fig. 1). Guariz *et al.* (2025) observaram aumento da altura da parte aérea em plantas de *H. courbaril* tratadas com 1000  $\mu\text{M}$  de GSNO, além de incremento da massa seca foliar e radicular. No entanto, nesse estudo as plantas foram submetidas a uma etapa de rustificação em viveiro, e as nanopartículas foram aplicadas diretamente no substrato.

No presente estudo, observou-se uma atenuação na redução da fotossíntese em plantas tratadas com 1000  $\mu\text{M}$  de GSNO, em comparação ao tratamento sob déficit hídrico (Fig. 3A). Embora os parâmetros difusivos (condutância estomática e transpiração) e fotoquímicos (taxa aparente de transporte de elétrons) não tenham sido afetados, essa melhora provavelmente se deve a alterações na parte bioquímica. De fato, Silveira *et al.* (2019b) verificaram que plantas submetidas à aplicação de GSNO encapsulado apresentaram maior eficiência de carboxilação instantânea, concomitante a níveis elevados de S-nitrosotióis. Assim, é possível sugerir que o fornecimento de GSNO promoveu a S-nitrosilação de proteínas envolvidas no metabolismo fotossintético, estimulando a atividade de enzimas-chave como a Rubisco. Além disso, o acúmulo de NO nas células-guarda é uma resposta comum à seca, sendo considerado um intermediário nas vias de sinalização

mediadas pelo ácido abscísico que levam ao fechamento estomático (Santisree *et al.*, 2015; Cruz de Carvalho, 2008).

Em altas concentrações, o NO pode ter efeitos tóxicos nas plantas. Aqui, verificamos que as plantas tratadas com 2000  $\mu\text{M}$  apresentaram menor taxa fotossintética, menor crescimento relativo e aparência severamente afetada, indicando toxicidade. De fato, o NO pode induzir estresse nitrosativo e nitro-oxidativo, causando danos a proteínas, ácidos nucleicos e membranas celulares (Santisree *et al.*, 2015). Essa toxicidade pode resultar na deterioração dos cloroplastos, degradação de pigmentos e redução da atividade de enzimas fotossintéticas (Santisree *et al.*, 2015).

Em relação ao estresse oxidativo, de modo geral, a pulverização com 1000  $\mu\text{M}$  de GSNO reduziu os níveis de  $\text{H}_2\text{O}_2$  nas plantas, sugerindo um efeito atenuador do NO sobre o estresse oxidativo induzido pelo déficit hídrico. No entanto, essa redução não se refletiu em menor acúmulo de MDA, que se manteve estatisticamente semelhante entre os tratamentos, independentemente da condição hídrica (Fig. 4). O aumento de  $\text{H}_2\text{O}_2$  no tratamento controle pode ser explicado pelo papel dual dessa molécula, que atua tanto como agente citotóxico quanto como sinalizador essencial em respostas adaptativas (Farnese *et al.*, 2016).

Em relação ao sistema antioxidante, não foram observadas diferenças entre os tratamentos para a atividade das enzimas catalase e superóxido dismutase (Fig. 5A,C). Apenas a atividade da peroxidase do ascorbato apresentou redução nos tratamentos sob déficit hídrico, independentemente da aplicação do GSNO encapsulado (Fig. 5B). O NO pode estimular a expressão de genes relacionados ao sistema antioxidante enzimático, resultando em maior atividade dessas enzimas (Santisree *et al.*, 2015). Assim, a curta duração do experimento pode ter sido insuficiente para induzir mudanças gênicas responsáveis pelo aumento da atividade antioxidante enzimática. Embora muitos experimentos com aplicação exógena de GSNO encapsulado tenham mostrado estímulo da atividade de enzimas antioxidantes, é importante ressaltar que o efeito é dependente da espécie (Gomes *et al.*, 2022; Silveira *et al.*, 2019b). Além disso, o efeito antioxidante do NO não se limita apenas a mecanismos enzimáticos, estando também relacionado a melhorias do sistema antioxidante não enzimático, o qual não foi avaliado neste estudo.

A atuação do óxido nítrico é multifatorial e, por ser altamente reativo, pode interagir com diversas moléculas. Seus efeitos dependem de vários fatores,

incluindo a concentração, a espécie estudada e a forma de aplicação. A ausência de diferenças significativas nas plantas tratadas com nanopartículas em vários parâmetros fisiológicos e bioquímicos pode estar associada ao curto período de estresse imposto às mudas (14 dias), insuficiente para desencadear respostas mais acentuadas. Além disso, há evidências de que indivíduos de *H. courbaril* apresentam relativa tolerância à seca, visto que Nascimento *et al.* (2011) destacaram que o estresse hídrico afetou as plantas de jatobá somente a partir do 49º dia após a exposição ao déficit hídrico. Adicionalmente, Silva *et al.* (2016) constatam que as mudas de jatobá não paralisaram o crescimento sob baixa disponibilidade de água no solo, embora o crescimento tenha sido severamente afetado. Sem dúvidas, o uso dessa estratégia por meio da nanobiotecnologia em mudas nativas precisa ser melhor investigado.

## f) CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como conclusão, plantas tratadas com 1000  $\mu\text{M}$  de GSNO destacaram-se por melhorar alguns parâmetros, como maior incremento do crescimento relativo, atenuação da redução da fotossíntese e diminuição dos níveis de peróxido de hidrogênio nessas condições experimentais. No entanto, a mitigação do estresse foi parcial, visto que essas melhorias não se refletiram em maior acúmulo de biomassa. Os resultados sugerem que a aplicação de GSNO encapsulado pode ser uma estratégia promissora para atenuar os efeitos do déficit hídrico em mudas de *Hymenaea courbaril*, fornecendo informações valiosas para aprimorar estratégias biotecnológicas na produção de mudas e contribuindo para o sucesso de projetos de restauração florestal. Futuros estudos devem ampliar o tempo de exposição ao déficit hídrico e investigar mais detalhadamente os mecanismos fisiológicos, bioquímicos e moleculares envolvidos na resposta ao NO sobre o crescimento e a fotossíntese. Essas abordagens permitirão compreender melhor a ação do GSNO encapsulado em mudas nativas submetidas a déficit hídrico.

## REFERÊNCIAS

- AHANGER, M. A. et al. Influence of exogenous salicylic acid and nitric oxide on growth, photosynthesis, and ascorbate-glutathione cycle in salt stressed *Vigna angularis*. **Biomolecules**, v. 10, n. 1, p. 42, 2019.
- ANDERSON, M. D. et al. Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedlings. **Plant physiology**, v. 109, n. 4, p. 1247-1257, 1995.
- ARTAXO, P. As três emergências que nossa sociedade enfrenta: saúde, biodiversidade e mudanças climáticas. **Estudos avançados**, v. 34, p. 53-66, 2020.
- AXELSSON, E. P. et al. A pre-adaptive approach for tropical forest restoration during climate change using naturally occurring genetic variation in response to water limitation. **Restoration Ecology**, v. 28, n. 1, p. 156-165, 2020.
- BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Analytical biochemistry**, v. 44, n. 1, p. 276-287, 1971.
- BRANCALION, P. H. S. et al. **Restauração florestal**. Oficina de Textos, 2015.
- BRIGHT, J. et al. Pollen generates nitric oxide and nitrite: a possible link to pollen-induced allergic responses. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 47, n. 1, p. 49-55, 2009.
- CARDOZO, V. F. et al. Evaluation of antibacterial activity of nitric oxide-releasing polymeric particles against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* from bovine mastitis. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 473, n. 1-2, p. 20-29, 2014.
- CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo: Embrapa Florestas, 2003.
- CORREA-ARAGUNDE, N. et al. Nitric oxide plays a central role in determining lateral root development in tomato. **Planta**, v. 218, n. 6, p. 900-905, 2004.
- CRUZ DE CARVALHO, M. H. **Drought stress and reactive oxygen species: Production, scavenging and signaling**. **Plant Signaling and Behavior**. Landes Bioscience, 2008.
- DELGOBO, F. A. C. **Efeito da aplicação de S-nitrosoglutationa (GSNO) na propagação vegetativa de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze**. 2025. Tese (grau de Engenharia Agrônoma) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2025. Disponível em: [https://ri.uepg.br/monografias/bitstream/handle/123456789/388/TCC\\_F%c3%a1tima%20Adriana%20Carvalho%20Delgobo.pdf?sequence=1](https://ri.uepg.br/monografias/bitstream/handle/123456789/388/TCC_F%c3%a1tima%20Adriana%20Carvalho%20Delgobo.pdf?sequence=1). Acesso em: 26 ago. 2025.
- DO CARMO, G. C. et al. Nanoencapsulation improves the protective effects of a nitric oxide donor on drought-stressed *Heliocarpus popayanensis* seedlings. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 225, p. 112713, 2021.

FARNESE, F. S. et al. When bad guys become good ones: the key role of reactive oxygen species and nitric oxide in the plant responses to abiotic stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 471, 2016.

GAY, C.; GEBICKI, J. M. A critical evaluation of the effect of sorbitol on the ferric–xylenol orange hydroperoxide assay. **Analytical biochemistry**, v. 284, n. 2, p. 217-220, 2000.

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

GOMES, D. G. et al. Soil treatment with nitric oxide-releasing chitosan nanoparticles protects the root system and promotes the growth of soybean plants under copper stress. **Plants**, v. 11, n. 23, p. 3245, 2022.

GUARIZ, H. R. et al. Germination potential of *Hymenaea courbaril* L. in different maturation stages. 2021.

GUARIZ, H. R. et al. EFFECT OF FREE AND NANOENCAPSULATED NITRIC OXIDE DONOR ON THE RESPONSE OF TREE PLANTS DURING THE HARDENING OFF PROCESS. **Revista Arvore**, v. 49, 2025.

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

HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 125, n. 1, p. 189-198, 1968.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. **The water-culture method for growing plants without soil**. Berkeley: California Agricultural Experiment Station, 32 p. 1950.

IPBES. **Global assessment report of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services**. UN-IPBES, 2019.  
<https://ipbes.net/>.

IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). **Summary for Policymakers. Climate Change 2021: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change**. Cambridge University Press, 2021. 41 p.

JAMAUX, I. et al. Looking for molecular and physiological markers of osmotic adjustment in sunflower. **New Phytologist**, v. 137, n. 1, p. 117-127, 1997.

KOHLI, S. K. et al. Assessment of subcellular ROS and NO metabolism in higher plants: multifunctional signaling molecules. **Antioxidants**, v. 8, n. 12, p. 641, 2019.

KOSAR, F. et al. Impact of exogenously applied trehalose on leaf biochemistry, achene yield and oil composition of sunflower under drought stress. **Physiologia plantarum**, v. 172, n. 2, p. 317-333, 2021.

KOSHIBA, T. Cytosolic ascorbate peroxidase in seedlings and leaves of maize (*Zea mays*). **Plant and Cell Physiology**, v. 34, n. 5, p. 713-721, 1993.

LARCHER, W. *Ecofisiologia Vegetal*. São Carlos: Rima Artes e Textos, 2000. 531 p.

LORENZI, H. et al. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Instituto Plantarum, Nova Odessa, 2. ed. v.1, 352 p. 1998.

MIRANDA, M. T. et al. Root osmotic adjustment and stomatal control of leaf gas exchange are dependent on citrus rootstocks under water deficit. *Journal of Plant Growth Regulation*, v. 40, n. 1, p. 11-19, 2021.

MISRA, H. P.; FRIDOVICH, I. The generation of superoxide radical during the autoxidation of ferredoxins. *Journal of Biological Chemistry*, v. 246, n. 22, p. 6886-6890, 1971.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in plant science*, v. 7, n. 9, p. 405-410, 2002.

MOHAMMADI, M.; KARR, A. L. Superoxide anion generation in effective and ineffective soybean root nodules. *Journal of Plant Physiology*, v. 158, n. 8, p. 1023-1029, 2001.

NASCIMENTO, H. H. C. do. Caracterização ecofisiológica de mudas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) submetidas a déficit hídrico. 2009. 91 p. **Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais) - Universidade Federal Rural de Pernambuco**, Recife, 2009.

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

NOLAN, R. H. et al. Safeguarding reforestation efforts against changes in climate and disturbance regimes. *Forest Ecology and Management*, v. 424, p. 458-467, 2018.

OLIVEIRA, H. C. et al. Nitric oxide-releasing chitosan nanoparticles alleviate the effects of salt stress in maize plants. *Nitric oxide*, v. 61, p. 10-19, 2016.

PELEGRINO, M. T. et al. Nitric oxide-releasing nanoparticles: synthesis, characterization, and cytotoxicity to tumorigenic cells. *Journal of Nanoparticle Research*, v. 19, n. 2, p. 57, 2017.

PEIXOTO, P. H. P. et al. Aluminum effects on lipid peroxidation and on the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, v. 11, n. 3, p. 137-143, 1999.

PIERETTI, J. C. et al. Small molecules for great solutions: Can nitric oxide-releasing nanomaterials overcome drug resistance in chemotherapy?. *Biochemical pharmacology*, v. 176, p. 113740, 2020.

PRAKASH, V. et al. NO and ROS implications in the organization of root system architecture. *Physiologia plantarum*, v. 168, n. 2, p. 473-489, 2020.

RAJA, V. et al. Impact of drought and heat stress individually and in combination on physio-biochemical parameters, antioxidant responses, and gene expression in *Solanum lycopersicum*. **3 Biotech**, v. 10, n. 5, p. 208, 2020.

Reflora. Flora e Funga do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: < <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/> >. Acesso em: 19 mai. 2022

REISCH, R. D. N. O potencial brasileiro para gerar créditos de carbono através da conservação florestal, reflorestamento e produção agrícola sustentável. **Humboldt**, v. 1, n. 3, 2021.

RODRIGUES, G. B. et al. Dinâmica da regeneração do subsolo de áreas degradadas dentro do bioma Cerrado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 11, p. 73-80, 2007.

ROSHCHINA, V. V. **Neurotransmitters in plant life**. CRC Press, 2001.

SANTISREE, P. et al. NO to drought-multifunctional role of nitric oxide in plant drought: do we have all the answers?. **Plant Science**, v. 239, p. 44-55, 2015.

SANTOS, M. d C. et al. Synthesis, characterization and cytotoxicity of glutathione-and PEG-glutathione-superparamagnetic iron oxide nanoparticles for nitric oxide delivery. **Applied Surface Science**, v. 367, p. 26-35, 2016.

SEABRA, A. B. et al. Nitric oxide-releasing nanomaterials: from basic research to potential biotechnological applications in agriculture. **New Phytologist**, v. 234, n. 4, p. 1119-1125, 2022.

SHISHIDO, S. M. et al. Thermal and photochemical nitric oxide release from S-nitrosothiols incorporated in Pluronic F127 gel: potential uses for local and controlled nitric oxide release. **Biomaterials**, v. 24, n. 20, p. 3543-3553, 2003.

SIDDIQUI, M. H. et al. Exogenous application of nitric oxide and spermidine reduces the negative effects of salt stress on tomato. **Horticulture, Environment, and Biotechnology**, v. 58, n. 6, p. 537-547, 2017.

SILVA, M. A. et al. MECANISMOS DE TOLERÂNCIA EM PLANTAS DE *Hymenaea courbaril* L. e *Jatropha curcas* L. EM RESPOSTA AO DEFICIT HÍDRICO E CONTAMINAÇÃO POR DERIVADOS DE PETRÓLEO. **Revista Árvore**, v. 41, p. e410205, 2017.

SILVA, C. A. et al. Development of *Hymenaea courbaril* seedlings in function of containers and irrigation blades. **Revista árvore**, v. 40, n. 3, p. 487-498, 2016.

SILVEIRA, N. M. et al. Exogenous nitric oxide improves sugarcane growth and photosynthesis under water deficit. **Planta**, v. 244, n. 1, p. 181-190, 2016.

SILVEIRA, N. M. et al. S-nitrosoglutathione spraying improves stomatal conductance, Rubisco activity and antioxidant defense in both leaves and roots of sugarcane plants under water deficit. **Physiologia Plantarum**, v. 160, n. 4, p. 383-395, 2017a.

SILVEIRA, N. M. et al. Evidence towards the involvement of nitric oxide in drought tolerance of sugarcane. **Plant physiology and biochemistry**, v. 115, p. 354-359, 2017b.

SILVEIRA, N. M. et al. Nitric Oxide-Induced Tolerance in Plants under Adverse Environmental Conditions. In: **Approaches for Enhancing Abiotic Stress Tolerance in Plants**. CRC Press, p. 371-386. 2019a

SILVEIRA, N. M. et al. Encapsulation of S-nitrosoglutathione into chitosan nanoparticles improves drought tolerance of sugarcane plants. **Nitric Oxide**, v. 84, p. 38-44, 2019b.

SILVEIRA, N. M. et al. Chitosan-encapsulated nitric oxide donors enhance physiological recovery of sugarcane plants after water deficit. **Environmental and Experimental Botany**, v. 190, p. 104593, 2021.

SILVESTRE, W. V. D. et al. Differential tolerance to water deficit in two açai (Euterpe oleracea Mart.) plant materials. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 39, n. 1, p. 4, 2017.

TERRILE, M. C. et al. Nitric oxide influences auxin signaling through S-nitrosylation of the Arabidopsis TRANSPORT INHIBITOR RESPONSE 1 auxin receptor. **Plant Journal**, v. 70, n. 3, p. 492–500, mai 2012.

TIAN, X.; LEI, Y. Nitric oxide treatment alleviates drought stress in wheat seedlings. **Biologia plantarum**, v. 50, n. 4, p. 775-778, 2006.

TIEPO, A. N. et al. Plant growth-promoting bacteria improve leaf antioxidant metabolism of drought-stressed Neotropical trees. **Planta**, v. 251, n. 4, p. 83, 2020.

TONINI, H.; ARCO-VERDE, M. F. Morfologia da copa para avaliar o espaço vital de quatro espécies nativas da Amazônia. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 40, p. 633-638, 2005.

WANG, Y.; YANG, Z. Nitric oxide reduces aluminum toxicity by preventing oxidative stress in the roots of Cassia tora L. **Plant and Cell Physiology**, v. 46, n. 12, p. 1915-1923, 2005.

---

Discente

---

Orientador

