

PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS DE PLANTAS DE MILHO CULTIVADO SOB ESTRESSE SALINO E *SEED PRIMING* DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINCO

Lucyelly Dâmela Araújo Borborema¹, Josinaldo Lopes Araujo Rocha², Wesley Bruno Belo de Souza³, Thais Aparecida Rocha da Costa⁴, Smyth Trotsk de Araújo⁵, Yohanna Macêdo de Farias Pinto⁶

RESUMO: A utilização de priming de sementes é uma tecnologia considerada eficaz no processo de tratamento de sementes, podendo promover a germinação e o desenvolvimento eficiente, contribuindo para um melhor desempenho das culturas na mitigação dos efeitos negativos ocasionados por estresses abióticos. Sendo assim, objetivou-se avaliar o efeito do *seed priming* com nanopartículas de óxido de zinco nos teores de pigmentos fotossintéticos de plantas de milho, submetidas a estresse salino. Os tratamentos foram constituídos por dois níveis de condutividade elétrica de irrigação (0,4 e 3,0 dS m⁻¹) e seis concentrações de nanopartículas de óxido de zinco (0; 50; 100; 150; 200 e 250 mg L⁻¹), distribuídos em delineamento de blocos casualizados em esquema fatorial de 2 x 6, com quatro repetições e uma planta por parcela. O uso de *seed priming* com nanopartículas de óxido de zinco (NPZnO) influencia a síntese de pigmentos fotossintéticos em plantas de milho irrigadas com água salobra. A clorofila a apresentou os maiores valores nos tratamentos com CEa de 3,0 dS m⁻¹ e a clorofila b e clorofila total responderam positivamente a determinadas concentrações de NPZnO sob estresse salino. Os resultados indicam que o efeito das nanopartículas varia conforme o pigmento, a salinidade e a dose aplicada, sendo necessário um manejo adequado para potencializar os benefícios do uso de NPZnO em plantas sob estresses abióticos.

PALAVRAS-CHAVE: Aparato fotossintético; NPZnO; *Zea Mays* L.

¹ Msc. em Engenharia Agrícola, UFCG, Campina Grande-PB. Fone: (83) 99954-2268. e-mail: lucyellyd@gmail.com.

² Prof. Doutor, Depto de Agronomia, UFCG, Campus Pombal, PB.

³ Msc em Engenharia Agrícola, UFCG, Campina Grande-PB.

⁴ Agrônoma, UFCG, Campus Pombal, PB.

⁵ Msc em Engenharia Agrícola, UFCG, Campina Grande-PB.

⁶ Msc em Engenharia Agrícola, UFCG, Campina Grande-PB.

PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS IN MAIZE PLANTS GROWN UNDER SALT STRESS AND *SEED PRIMING* WITH ZINC OXIDE NANOPARTICLES

ABSTRACT: The use of *seed priming* is considered an effective technology in the seed treatment process, as it can promote germination and efficient development, contributing to improved crop performance in mitigating the negative effects caused by abiotic stresses. Therefore, this study aimed to evaluate the effect of *seed priming* with zinc oxide nanoparticles on the levels of photosynthetic pigments in maize plants subjected to salt stress. The treatments consisted of two levels of irrigation water electrical conductivity (0.4 and 3.0 dS m⁻¹) and six concentrations of zinc oxide nanoparticles (0, 50, 100, 150, 200, and 250 mg L⁻¹), arranged in a randomized block design in a 2 × 6 factorial scheme, with four replications and one plant per plot. The use of *seed priming* with zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) influenced the synthesis of photosynthetic pigments in maize plants irrigated with saline water. Chlorophyll a showed the highest values under the 3.0 dS m⁻¹ treatments, while chlorophyll b and total chlorophyll responded positively to specific ZnO NP concentrations under saline stress. The results indicate that the effect of nanoparticles varies depending on the pigment, salinity level, and applied dose, highlighting the need for proper management to maximize the benefits of ZnO NPs in plants under abiotic stress conditions.

Keywords: Photosynthetic apparatus; NPZnO; *Zea Mays* L.

INTRODUÇÃO

Por consequência da escassez hídrica recorrente no semiárido nordestino, as águas salobras são utilizadas na agricultura, porém, o uso desse tipo de água pode ocasionar danos às plantas, bem como necessidades hídricas reduzidas na medida em que se aumenta o nível de estresse salino (Lima et al., 2022).

O excesso de sais de Na⁺ e Cl⁻ na solução do solo diminui seu potencial osmótico, o que leva as plantas a fecharem parcialmente os seus estômatos como mecanismo de defesa para evitar a perda excessiva de água para a atmosfera e, como consequência, ocorrem restrições na transpiração e reduções nas taxas de fotossíntese, comprometendo o crescimento e o desempenho fisiológico das plantas (Andrade et al., 2019).

Para solucionar tal problemática, são utilizadas estratégias no intuito de atenuar os efeitos que os sais causam nas culturas, a exemplo do uso de nanopartículas (NPs), em que é uma

tecnologia promissora na agricultura, especialmente na biofortificação de alimentos e no aumento da produtividade com menor uso de agroquímicos (Esper Neto et al., 2020). Apesar do avanço em outras áreas, o uso de NPs na agricultura ainda é recente, em que as NPs possuem alta reatividade devido à grande área superficial, podendo gerar efeitos positivos ou negativos em sistemas biológicos (Dimkpa & Bindrabam, 2017).

Dentre os nanofertilizantes, o óxido de zinco (ZnO) tem se destacado como fonte eficiente de zinco (Zn), no entanto, frequentemente, os resultados sobre os efeitos benéficos e prejudiciais dessas aplicações podem ser bastante contrastantes (Liu & Lau, 2015). Dentre as culturas de maior relevância global, o milho se destaca por apresentar alta exigência em Zn, micronutriente que, por sua vez, possui grande potencial para se tornar limitante ao seu crescimento e desenvolvimento (Esper Neto et al., 2020).

A aplicação de Zn durante a embebição de sementes de milho, por meio da técnica de *seed priming*, tem se mostrado uma estratégia eficaz para melhorar a germinação e o desempenho inicial das plântulas, em que esse micronutriente atua como cofator essencial de diversas enzimas envolvidas no metabolismo energético e na quebra de reservas, como a α -amilase, favorecendo a mobilização dos compostos de reserva do endosperma (Tamindzic et al., 2021).

No entanto, a quantidade de Zn requerida pela cultura é relativamente pequena, o que dificulta a aplicação uniforme nas concentrações ideais. Nesse contexto, a aplicação de Zn por meio do *seed priming* surge como uma alternativa promissora de manejo para proporcionar a mitigação do estresse salino na cultura do milho.

Sendo assim, objetivou-se avaliar o efeito do *seed priming* com nanopartículas de óxido de zinco nos teores de pigmentos fotossintéticos de plantas de milho, submetidas a estresse salino.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação, pertencente à Unidade Acadêmica de Engenharia Agrícola - UAEA da Universidade Federal de Campina Grande - UFCG. Foi utilizado o delineamento em blocos casualizados, com arranjo fatorial 2×6 , sendo dois níveis de condutividade elétrica da água de irrigação (0,4 e 3,0 dS m⁻¹) e seis concentrações de nano

partículas de óxido de zinco (0; 50; 100; 150; 200 e 250 mg L⁻¹) com quatro repetições e uma planta por parcela.

As águas salobras foram preparadas mediante adição de sais NaCl, CaCl₂.2H₂O e MgSO₄.7H₂O na água de abastecimento local (CEa = 0,4 dS m⁻¹), mantendo a proporção equivalente de 7:2:1 de Na, Ca e Mg, respectivamente, que representa a composição média das águas do semiárido nordestino (Medeiros, 1992). No preparo das águas de irrigação, foi considerada a relação entre CEa e a concentração de sais (Richards, 1954), conforme a Equação 1. A irrigação com água salobra iniciou-se aos 10 dias após a semeadura (DAS), realizada diariamente.

$$Q \approx CEa \times 10 \quad (1)$$

Onde: Q - quantidade de sais (mmolc L⁻¹); e

CEa - condutividade elétrica da água de irrigação (dS m⁻¹).

Foram escolhidas sementes vigorosas de milho da cultivar NTX 668 PRO2, desinfetadas com solução de hipoclorito de sódio (1%) por 2 minutos e, em seguida, lavadas diversas vezes com água destilada. A aplicação das nanopartículas de zinco (NPZnO) foram realizadas através do método de preparo das sementes (*seed priming*) de acordo com a metodologia proposta por Esper Neto et al (2020), em que as sementes foram inseridas em um béquer com 1L de água destilada, juntamente com cada concentração de NPZnO (0; 50; 100; 150; 200 e 250 mg L⁻¹). Ao longo de 8 horas, as sementes permaneceram emergidas na solução e a cada 1 hora era realizado a mistura da solução, para em seguida ficarem aptas para a semeadura.

Posteriormente, foi realizado a semeadura, utilizando-se de quatro sementes por vaso, distribuídas de forma equidistante, em uma profundidade padrão de \cong 3cm, sendo realizado o desbaste cinco dias após a semeadura.

As adubações com nitrogênio, fósforo e potássio foram realizadas conforme recomendação para experimentos em vaso, de acordo com Novais et al (1991). Os fertilizantes usados foram a ureia (45% N), fosfato monoamônico (12% N; 61% P₂O₅) e KCl (60% K₂O).

Aos 35 dias após a semeadura (DAS), foi determinado os teores de pigmentos fotossintéticos: clorofila a, clorofila b, clorofila total e carotenoides, quantificado seguindo a metodologia proposta por Arnon (1949), na qual foram coletadas amostras foliares e, em seguida, levadas ao Laboratório de Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Campina Grande, campus Campina Grande. A extração da clorofila foi realizada em recipientes contendo

8 mL de acetona 80% e um disco foliar de peso conhecido e área de 113 mm² (diâmetro de 12 mm) o qual foi mantido no escuro e em refrigerador durante 48 horas, devido à grande oxidação que as folhas sofrem. A quantificação dos teores de clorofila a, b, total e de carotenoides foram procedidos por espectrofotometria de emissão a 470 nm, 646 nm e 663 nm de absorvância, respectivamente, sendo calculadas por meio das Equações 2, 3, 4 e 5.

$$\text{Clorofila } a (Cl_a) = (12,21 \times \text{ABS}_{663}) - (2,81 \times \text{ABS}_{646}) \quad (2)$$

$$\text{Clorofila } b (Cl_b) = (20,13 \times \text{ABS}_{646}) - (5,03 \times \text{ABS}_{663}) \quad (3)$$

$$\text{Clorofila total } (Cl_t) = (7,15 \times \text{ABS}_{663}) + (18,71 \times \text{ABS}_{646}) \quad (4)$$

$$\text{Car} = \frac{(1000 \times \text{ABS}_{470}) - (1,82Cl_a - 85,02Cl_b)}{198} \quad (5)$$

Os valores obtidos para os teores de clorofila a, b, total e carotenoides (Car) nas folhas foram expressos em µg mL⁻¹.

Os dados coletados foram submetidos ao teste de normalidade e homogeneidade (teste de Shapiro-Wilk e teste de Bartlett) e posteriormente à análise de variância pelo teste F ($p \leq 0,05$). Nos casos de significância, as variáveis afetadas pela salinidade foram submetidas ao teste de comparação de médias (teste F), enquanto aquelas significativamente influenciadas pelas concentrações de nanopartículas de óxido de zinco e pela interação entre os dois fatores (condutividade elétrica da água de irrigação e concentrações de nanopartículas de óxido de zinco) feita uma análise de regressão polinomial linear e quadrática, utilizando-se o software estatístico SISVAR 5.6 (FERREIRA et al., 2019).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com o resumo da análise de variância, houve efeito significativo ($p \leq 0,01$) da interação entre os níveis da condutividade elétrica da água de irrigação e as concentrações de nanopartículas de óxido de zinco sobre todas as variáveis referentes aos pigmentos fotossintéticos das plantas de milho, aos 35 dias após a semeadura (Tabela 1).

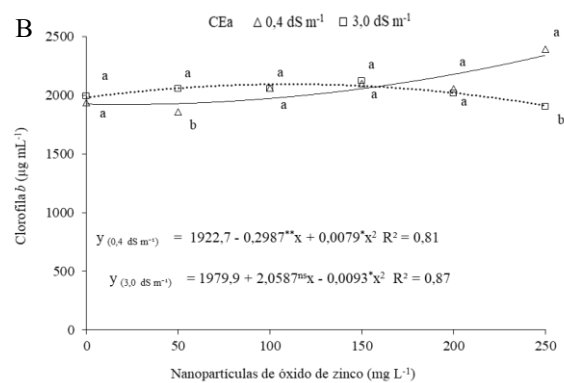
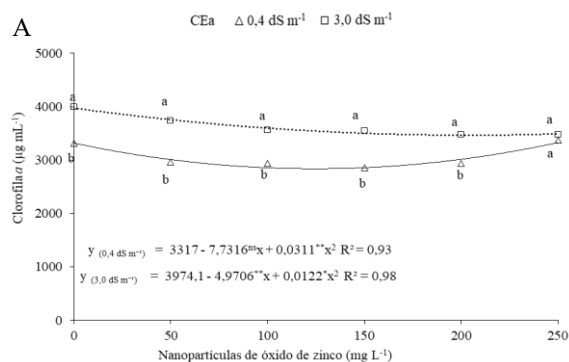
Tabela 1. Resumo da análise de variância para a clorofila a (Cl a), clorofila b (Cl b), clorofila total (Cl t) e carotenoides (Car) do milho em função da interação entre a condutividade elétrica da água de irrigação (CEa) e concentrações de nano partículas de óxido de zinco (NPZnO) aos 35 dias após a semeadura.

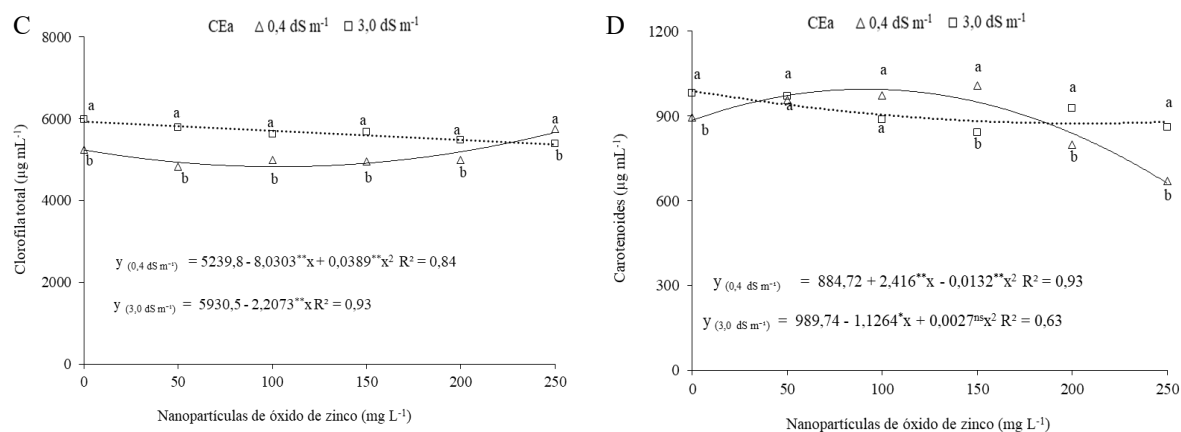
Fonte de variação	GL	Quadrados médios			
		Cl a	Cl b	Cl t	Car
Condutividade elétrica da água de irrigação (CEa)	1	3880319,75**	21533,28 ^{ns}	3323721,34**	9570,25 ^{ns}
Concentrações de NPZnO	5	242987,39**	48004,38*	204130,26**	42218,54**
Regressão linear	1	314231,74**	169509,41**	22156,90 ^{ns}	155333,52**
Regressão quadrático	1	872067,98**	1012,02 ^{ns}	813660,20**	51332,47**
Interação (CEa× NPZnO)	5	112967,70**	108368,43**	440204,65**	35971,44**
Bloco	3	49029,84 ^{ns}	15921,08 ^{ns}	117630,74*	1883,23 ^{ns}
Resíduo	33	26057,46	13507,57	28441,60	4537,82
CV (%)		4,82	5,68	3,13	7,50

GL - Grau de liberdade; CV - Coeficiente de variação; **, ns - Significativo a $p \leq 0,01$ e não significativo, respectivamente.

Observa-se que, plantas irrigadas com CEa de $3,0 \text{ dS m}^{-1}$ apresentaram um maior valor de Cl a ($3974,1 \mu\text{g mL}^{-1}$), resultando em incrementos de $16,53\%$ ($657,10 \mu\text{g mL}^{-1}$), ao comparar com plantas irrigadas com $0,4 \text{ dS m}^{-1}$ (Figura 1.A). O maior valor de Cl a ($3317 \mu\text{g mL}^{-1}$) sob o nível de CEa de $0,4 \text{ dS m}^{-1}$ foi observado na concentração testemunha (Figura 1.A), da mesma forma, ao utilizar o nível de CEa de $3,0 \text{ dS m}^{-1}$, o maior valor constatado ($3974,10 \mu\text{g mL}^{-1}$) foi na concentração testemunha (0 mg L^{-1}), não tendo acréscimos com o uso do NPZnO.

Para a Cl b (Figura 1.B), as plantas irrigadas com CEa de $0,4 \text{ dS m}^{-1}$ obtiveram maior valor constatado ($2341,77 \mu\text{g mL}^{-1}$) na concentração de 250 mg L^{-1} de NPZnO e, para a CEa de $3,0 \text{ dS m}^{-1}$, o maior valor de Cl b ($2093,83 \mu\text{g mL}^{-1}$) foi até a concentração de $110,68 \text{ mg L}^{-1}$ de NPZnO.





X e Y representam concentrações de nanopartículas de óxido de zinco e variáveis analisadas, respectivamente.

*, ** e ns significativo a $p \leq 0,05$, $p \leq 0,01$ e não significativo respectivamente. Para mesma concentração nano partículas de óxido de zinco, as médias seguidas por letras diferentes indicam diferenças significativas entre os níveis de salinidade de água (CEa).

Figura 1. Clorofila a (A), clorofila b (B), clorofila total (C) e carotenoides (D) de plantas de milho em função da interação entre a condutividade elétrica da água de irrigação (CEa) e concentrações de nano partículas de óxido de zinco (NPZnO) aos 35 dias após a semeadura.

Para a Cl t (Figura 1.C), ao comparar os níveis de CEa, o maior valor observado foi na CEa de $3,0 \text{ dS m}^{-1}$ ($593,5 \mu\text{g mL}^{-1}$), resultando em incrementos de 11,65% ($690,70 \mu\text{g mL}^{-1}$). Já o aumento das concentrações de NPZnO proporcionou uma redução de 0,04% ($2,37 \mu\text{g mL}^{-1}$) por incremento unitário sob nível de CEa de $0,4 \text{ dS m}^{-1}$, entretanto, para a CEa de $3,0 \text{ dS m}^{-1}$, o maior valor constatado ($5663,47 \mu\text{g mL}^{-1}$) foi na concentração de 250 mg L^{-1} de NPZnO. Para os valores de Car (Figura 1.D), ao utilizar da irrigação com CEa de $0,4 \text{ dS m}^{-1}$, o maior valor observado ($8995,27 \mu\text{g mL}^{-1}$) foi até a concentração de $91,51 \text{ mg L}^{-1}$ de NPZnO, entretanto, para a CEa de $3,0 \text{ dS m}^{-1}$, o maior valor de Car foi na concentração testemunha.

Estudos realizados por Sangh et al (2022) demonstraram que o uso de 50 mg L^{-1} de NPZnO em plantas de arroz submetidas a estresse salino proporciona um aumento nos teores de pigmentos fotossintéticos, tal resultado pode ser devido à regulação positiva de enzimas de eliminação de EROS que degradam rapidamente os radicais ROS presentes nas membranas tilacóides dos cloroplastos (Yasmin et al., 2020; Fathi et al., 2017).

O Zn participa ativamente da função de diversas enzimas, como RNA e DNA polimerases, desidrogenases, transfosforilases e proteinases, além disso, atua na manutenção da integridade das membranas celulares, na divisão celular, na biossíntese da clorofila e na otimização do funcionamento do aparato fotossintético das plantas (Vaghar et al., 2020; Davarpanaha et al., 2016; Abbasifar et al., 2020).

CONCLUSÕES

A clorofila a apresentou os maiores valores nos tratamentos com CEa de 3,0 dS m⁻¹ e a clorofila b e clorofila total responderam positivamente a determinadas concentrações de NPZnO sob estresse salino. Os resultados indicam que o efeito das nanopartículas varia conforme o pigmento, a salinidade e a dose aplicada, sendo necessário um manejo adequado para potencializar os benefícios do uso de NPZnO em plantas sob estresses abióticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBASIFAR, A.; SHAHRABADI, F.; VALIZADEHKAJI, B. Effects of green synthesized zinc and copper nano-fertilizers on the morphological and biochemical attributes of basil plant. **Journal of Plant Nutrition**, v. 43, p. 1104–1118, 2020.
- ANDRADE, E. M. G.; LIMA, G. S. de; LIMA, V. L. A. de; SILVA, S. S. da; GHEYI, H. R.; SILVA, A. A. R. da. Gas exchanges and growth of passion fruit under saline water irrigation and H₂O₂ application. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 23, p. 945-951, 2019.
- ARNON, D. I. Copper enzymes in isolated chloroplasts: Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, v. 24, p. 1-15, 1949.
- DAVARPANAHA, S.; TEHRANIFARA, A.; DAVARYNEJADA, G.; ABADÍA, J.; KHORASANIC, R. Effects of foliar applications of zinc and boron nano-fertilizers on pomegranate (*Punica granatum* cv. Ardestani) fruit yield and quality. **Scientia Horticulturae**, v. 210, p. 57-64, 2016.
- DIMKPA, C. O.; BINDRABAN, P. S. Nanofertilizers: New products for the industry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, p. 6462-6473, 2017.
- ESPER NETO, M.; BRITT, D. W.; LARA, L. M.; CARTWRIGHT, A.; SANTOS, R. F.; INOUE, T. T.; BATISTA, M. A. Initial Development of Maize Seedlings after *Seed priming* with Nanoscale Synthetic Zinc Oxide. **Agronomy**, v. 10, 307p, 2020.
- FATHI, A.; ZAHEDI, M.; TORABIAN, S.; KHOSHGOFTAR, A. Response of wheat genotypes to foliar spray of ZnO and Fe₂O₃ nanoparticles under salt stress. **Journal of Plant Nutrition**, v. 40, p. 1376–1385, 2017.

FERREIRA, D. F. SISVAR: A computer analysis system to fixed effects split-plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, v. 37, p. 529-535, 2019.

LIMA, G. S. DE; PINHEIRO, F. W. A.; GHEYI, H. R.; SOARES, L. A. DOS A.; SOUSA, P. F. N.; FERNANDES, P. D. Saline water irrigation strategies and potassium fertilization on physiology and fruit production of yellow passion fruit. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 26, p. 180-189, 2022.

LIU, R.; LAL, R. Potentials of engineered nanoparticles as fertilizers for increasing agronomic productions. **Science of The Total Environment**, v. 514, p.131-139, 2015.

MEDEIROS, J. F. **Qualidade de água de irrigação e evolução da salinidade nas propriedades assistidas pelo GAT nos Estados de RN, PB e CE**. 1992. 196f. (Dissertação de Mestrado em Engenharia Agrícola), Universidade Federal da Paraíba Campina Grande, 1992.

NOVAIS, R. F.; NEVES, J. C. L.; BARROS, N. F. Ensaio em ambiente controlado. In: Oliveira, A. J.; GARRIDO, W. E.; ARAÚJO, J. D.; LOURENÇO, S. (ed). **Métodos de pesquisa em fertilidade do solo**. Brasília: Embrapa, 1991. p. 189-198.

RICHARDS, L. A. **Diagnosis and improvement of saline and alkali soils**. Washington: U. S. Department of Agriculture, 1954. 160p.

TAMINDZIC, G.; MILOSEVIC, D.; KOSTIC, L.; ZELJKO, D.; IGNJATOV, M.; NIKOLIC, Z.; JOVICIC, D.; SAVIC, J. *Seed priming* with zinc improves field performance of maize hybrids grown on calcareous chernozem. **Italian Journal of Agronomy**, v. 16, 2021.

VAGHAR, M. S.; SAYFZADEH, S.; ZAKERIN, H. R.; KOBRAEE, S.; VALADABADI, S. A. Foliar application of iron, zinc, and manganese nano-chelates improves physiological indicators and soybean yield under water deficit stress. **Journal of Plant Nutrition**, v. 43, p. 2740–2756, 2020.

YASMIN, H.; NAEEM, S.; BAKHTAWAR, M.; JABEEN, Z.; NOSHEEN, A.; NAZ, R.; KEYANI, R.; MUMTAZ, S.; HASSAN, M. N. Halotolerant rhizobacteria *Pseudomonas pseudoalcaligenes* and *Bacillus subtilis* mediate systemic tolerance in hydroponically grown soybean (*Glycine max* L.) against salinity stress. **Plos One**, v. 15, e0231348, 2020.