

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

ANA CAROLINA PEREIRA DE VASCONCELOS

NUTRIÇÃO E ANÁLISE DO PERFIL TRANSCRIPTÔMICO POR RNA-seq EM
ARROZ SUBMETIDO À APLICAÇÃO DE BIOESTIMULANTES

UBERLÂNDIA
MINAS GERAIS – BRASIL
2023

ANA CAROLINA PEREIRA DE VASCONCELOS

NUTRIÇÃO E ANÁLISE DO PERFIL TRANSCRIPTÔMICO POR RNA-seq EM
ARROZ SUBMETIDO À APLICAÇÃO DE BIOESTIMULANTES

Tese apresentada à Universidade Federal de Uberlândia,
como parte das exigências do Programa de Pós-graduação
em Agronomia – Doutorado, área de concentração em
Fitotecnia, para obtenção do título de “Doutor”.

Orientador

Prof. Dr. Hamilton Seron Pereira

UBERLÂNDIA
MINAS GERAIS – BRASIL
2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

V331n Vasconcelos, Ana Carolina Pereira de, 1980-
2023 Nutrição e análise do perfil transcriptômico por RNA-seq em arroz
submetido à aplicação de bioestimulantes [recurso eletrônico] / Ana
Carolina Pereira de Vasconcelos. - 2023.

Orientador: Hamilton Seron Pereira.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa
de Pós-Graduação em Agronomia.

Modo de acesso: Internet.

Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.te.2023.8053>

Inclui bibliografia.

1. Agronomia. I. Pereira, Hamilton Seron, 1968-, (Orient.). II.
Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em
Agronomia. III. Título.

CDU: 631

André Carlos Francisco
Bibliotecário - CRB-6/3408

ANA CAROLINA PEREIRA DE VASCONCELOS

NUTRIÇÃO E ANÁLISE DO PERFIL TRANSCRIPTÔMICO POR RNA-seq EM
ARROZ SUBMETIDO À APLICAÇÃO DE BIOESTIMULANTES

Tese apresentada à Universidade Federal de Uberlândia,
como parte das exigências do Programa de Pós-graduação
em Agronomia – Doutorado, área de concentração em
Fitotecnia, para obtenção do título de “Doutor”.

APROVADA em 02 de Março de 2023.

Prof^a. Dr^a. Regina Maria Quintão Lana

UFU

Prof. Dr. Lísias Coelho

UFU

Prof. Dr. Antônio Chalfun Junior

UFLA

Eng. Agr. Dr. João Eduardo Melo de Almeida

AGRICHEM



Prof. Dr. Hamilton Seron Pereira
ICIAG-UFU
(Orientador)

UBERLÂNDIA
MINAS GERAIS – BRASIL
2023

Aos meus avós paternos e maternos e aos meus irmãos que não ficaram. (*In memoriam*)

Dedico.

“Atrás de mim estão todos os meus ancestrais me dando força. A vida passou através deles até chegar a mim. E em honra a eles eu a viverei plenamente.” – Bert Hellinger.

*“Debaixo do céu há um momento para tudo, e
tempo certo para cada coisa.”*

- *Eclesiastes 3:1*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pois só Ele nos conhece e sabe o que passa dentro de nós, nos dando força para prosseguimos com fé e perseverança. Obrigada meu Pai, por sempre estar ao meu lado, me guiando e protegendo, pelo Seu amor incondicional pude concluir mais esta etapa da minha vida.

Agradeço especialmente a minha filha Ana Clara, que sempre foi guerreira nessa vida e é meu maior orgulho. Agradeço pelo amor e compreensão nos momentos em que a dedicação aos estudos foi exclusiva, pela paciência e força a mim despendida. Seu amor, companheirismo e simplesmente sua existência foram minha inspiração para que eu conseguisse alcançar essa realização. Não tenho palavras para descrever o quanto sou grata por ter você em minha vida.

Aos meus pais, Marcília e Teodulo, aos meus irmãos Daniel e Fábio e a toda minha família que, com muito carinho, me apoiaram, sonharam comigo e não mediram esforços para me ajudar no que fosse preciso.

Ao Thiago Prudente, que me ajudou imensamente desde que passou a fazer parte da minha vida, dando todo o apoio que necessitava em todos os momentos, todo amor, respeito e companheirismo. Seu apoio foi fundamental para que eu chegasse até aqui.

Ao professor Hamilton Seron, pela orientação, auxílio, disponibilidade, apoio e por toda atenção neste momento tão importante da minha vida acadêmica e profissional.

Ao professor Jonas Jäger (*in memoriam*), que com seu olhar de verdadeiro mestre, enxergou todo o meu potencial e me fez perceber meu valor enquanto estudante e o despertar para a ciência. Meu eterno agradecimento.

Ao professor Antônio Chalfun, pela disposição, atenção, orientação e contribuição para o desenvolvimento desta tese.

Ao colega Manoel Linhares, por toda a sua disposição em ajudar, seu apoio, atenção e disponibilidade foram fundamentais para a realização desta tese.

Ao Grupo de Pesquisa “Silício na Agricultura” da UFU e aos profissionais do Laboratório de Fisiologia Molecular de Plantas da UFLA, pelo apoio dispendido.

À EMBRAPA Arroz e Feijão pela disponibilização das sementes de arroz.

À Universidade Federal de Uberlândia, ao Instituto de Ciências Agrárias e professores pela contribuição para minha formação.

À CAPES pela concessão de bolsa durante o período de realização do doutorado e ao CNPq e FAPEMIG pelo apoio financeiro e incentivo à pesquisa.

A todos que de alguma forma me ajudaram e contribuíram para o meu crescimento e formação profissional.

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
1 Introdução Geral	3
2 Hipótese e Objetivos	6
2.1 Hipótese.....	6
2.2 Objetivo geral	6
2.3 Objetivos específicos.....	6
3 Justificativa	7
REFERÊNCIAS.....	8
CAPÍTULO 1 - A cultura do arroz, agroquímicos de controle hormonal e sequenciamento de RNA: percalços e perspectivas.....	11
1 Importância econômica e social do arroz	13
2 Genômica do arroz.....	15
3 Transcriptoma por Sequenciamento de Nova Geração	16
4 Agroquímicos de regulação hormonal	21
4.1 Bioestimulantes.....	23
4.2 Legislação	25
REFERÊNCIAS.....	27
CAPÍTULO 2 – Aspectos nutricionais da aplicação foliar de bioestimulantes e silício em arroz de terras altas	36
1 Introdução	38
2 Material e Métodos	39
3 Resultados e Discussão	44
4 Conclusões	57
REFERÊNCIAS.....	58
CAPÍTULO 3 - Expressão diferencial de genes em arroz sob aplicação de bioestimulante.....	71
1 Introdução	74
2 Material e Métodos	76
3 Resultados e Discussão	82

3.1 <i>Deep sequencing</i> (sequenciamento em grande escala): Expressão diferencial por RNA-seq.....	82
3.2 Comparação entre os transcriptomas usando a categorização do Gene Ontology.....	85
3.3 Caracterização dos genes diferencialmente expressos	93
4 Conclusões	131
5 Considerações finais e perspectivas futuras.....	131
REFERÊNCIAS.....	133
Anexo I - Análises de qualidade, controle de qualidade, alinhamento ao genoma e quantificação e análise de expressão diferencial.	165
i. Análises de Qualidade	165
ii. Controle de Qualidade	168
iii. Alinhamento ao Genoma e Quantificação.....	168
iv. Análise da Expressão Diferencial.....	169
REFERÊNCIAS.....	170
Anexo II - Protocolo de extração de RNA com QIAzol (Adaptado).....	171
Anexo III - Protocolo de tratamento com DNase	174

VASCONCELOS, ANA CAROLINA PEREIRA DE. **Nutrição e análise do perfil transcriptômico por RNA-seq em arroz submetido à aplicação de bioestimulantes.** 2023. 185 f. Tese (Doutorado em Agronomia, Concentração em Fitotecnia) – Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia. 2023.¹

RESUMO

Apesar de já terem sido realizados estudos com o uso de bioestimulantes em diferentes culturas, os resultados obtidos têm sido controversos e com pouca base científica, havendo a necessidade de maiores investigações a respeito da eficiência nutricional e expressão de genes, para melhor elucidação dos resultados obtidos. O objetivo deste trabalho foi estudar o uso de bioestimulantes em plantas de arroz (*Oryza sativa* L.), investigando seus efeitos nas respostas nutricionais, no crescimento vegetativo e na expressão gênica por meio de análises de sequenciamento de RNA (RNA-seq). O primeiro capítulo teve a finalidade de, a partir de uma revisão bibliográfica, discutir o uso, os conceitos, os percalços e os benefícios dos bioestimulantes na agricultura brasileira e o uso da técnica de análise transcriptômica para identificar e validar biomarcadores potenciais, bem como a importância e a utilização de *Oryza sativa* L. como planta modelo para estudos gênicos. Os capítulos seguintes consistiram na apresentação e discussão dos dados obtidos neste estudo. Assim, no Capítulo 2, foram avaliados dois bioestimulantes em suas doses comerciais, um ácido monossilícico (em fase de testes para posterior registro junto ao Ministério da Agricultura) e uma testemunha. O experimento foi realizado em casa de vegetação pertencente à Universidade Federal de Uberlândia (UFU). Foram utilizados vasos com 10 dm³ de solo classificado como Neossolo Quartzarênico, utilizando-se a cultivar BRS Primavera. Os produtos foram aplicados via foliar, no estágio de desenvolvimento V4. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com seis repetições. Foram determinadas a massa de matéria seca da parte aérea e os teores e acúmulo de macro e micronutrientes. Foram testadas as pressuposições estatísticas dos dados obtidos com os testes de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e de homogeneidade das variâncias de Levene, ambos a 0,01 de significância e submetidos à análise de variância pelo teste de Tukey, a 0,05 de significância. De modo geral, a aplicação de bioestimulantes e ácido monossilícico altera os teores foliares de cálcio, manganês, boro e cobre. Já no Capítulo 3, o experimento foi realizado em casa de vegetação, pertencente à UFU. Foram utilizados vasos com 10 dm³ de solo classificado como Neossolo Quartzarênico, utilizando-se a cultivar BRS Primavera. Foi avaliado um bioestimulante, aplicado via foliar, no estágio de desenvolvimento V4. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três repetições biológicas. A coleta de material vegetal foi realizada no estágio reprodutivo (R4). As amostras foram colhidas e imediatamente congeladas em N₂ líquido, armazenadas a -80° C e encaminhadas para realização das análises de RNA-seq. Para a análise dos dados moleculares foi realizada a análise de bioinformática. Foram identificados 498 genes diferencialmente expressos em tecido foliar de *Oryza sativa* L., quando tratadas com o bioestimulante. Para os genes regulados positivamente, observou-se o aumento de expressão de genes intimamente relacionados a mecanismos de defesa, respostas a estresses, floração, regulação de transcrição/tradução gênica e metabolismo vegetal. Já para os genes regulados negativamente, pôde-se observar principalmente genes relacionados à fotossíntese, respostas a estresses, desenvolvimento e regulação floral.

Palavras-chave: Agroquímicos de regulação hormonal; defesa vegetal; floração; fotossíntese; nutrição mineral; *Oryza sativa*; RNA-seq; termotolerância; transcriptoma.

¹ Orientador: Prof. Dr. Hamilton Seron Pereira

VASCONCELOS, ANA CAROLINA PEREIRA DE. **Nutrition and transcriptomic profile analysis by RNA-seq in rice submitted to biostimulant application**. 2023. 185 f. Thesis (Doctorate's degree in Agronomy, Focus on Crop Sciences) – Institute of Agricultural Sciences, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia. 2023.¹

ABSTRACT

Although studies have already been conducted with the use of biostimulants in different cultures, the results obtained have been controversial and with little scientific basis, with the need for further investigations regarding nutritional efficiency and gene expression, for better elucidation of the results obtained. The objective of this work was to study the use of biostimulants in rice plants (*Oryza sativa* L.), investigating their effects on nutritional responses, vegetative growth and gene expression through RNA sequencing analyses (RNA-seq). The first chapter aimed, from a literature review, to discuss the use, concepts, setbacks and benefits of biostimulants in Brazilian agriculture and the use of the transcriptomic analysis technique to identify and validate potential biomarkers, as well as the importance and use of *Oryza sativa* L. as a model for gene studies. The following chapters consisted of the presentation and discussion of the data obtained in this study. Thus, in Chapter 2, two biostimulants in their commercial doses, a monosylícic acid (in the testing phase for later registration with the Ministry of Agriculture) and a control were evaluated. The experiment was carried out in a greenhouse, belonging to the Federal University of Uberlândia (UFU). Pots with 10 dm³ of soil classified as Quartzarenic Neosol were used, using the cultivar BRS Primavera. The products were applied via leaf, in the V4 development stage. The experimental design was completely randomized, with six replications. The dry matter mass of the shoots and the contents and accumulation of macro and micronutrients were determined. The statistical assumptions of the data obtained were tested, with the Kolmogorov-Smirnov normality tests and the homogeneity of levene variances, both at 0.01 significance and submitted to variance analysis by Tukey test, at 0.05 of significance. In general, the application of biostimulants and monosylícic acid alters the leaf contents of calcium, manganese, boron and copper. In Chapter 3, the experiment was carried out in a greenhouse, belonging to the UFU. Pots with 10 dm³ of soil classified as Quartzarenic Neosol were used, using the cultivar BRS Primavera. A biostimulant was evaluated, applied via leaf, in the development stage V4. The experimental design was completely randomized, with three biological replications. The collection of plant material was performed at the reproductive stage (R4). The samples were collected and immediately frozen in liquid N₂, stored at -80° C and sent for cell transcriptome (RNA-seq). Bioinformatics analysis was performed for the analysis of molecular data. Differential expression analyses identified 498 genes differentially expressed in leaf tissue of *Oryza sativa* L., when treated with the biostimulant. For up-regulated genes, it was observed the increase in gene expression closely related to defense mechanisms, stress responses, flowering, gene transcription/translation regulation and plant metabolism. For down-regulated genes, it was possible to observe mainly genes related to photosynthesis, stress responses, plant development and floral regulation.

Keywords: Flowering. Hormonal regulation agrochemicals. Mineral nutrition. *Oryza sativa*. Photosynthesis. Plant defense. RNA-seq. Thermotolerance. Transcriptome.

¹ Supervisor: Prof. Dr. Hamilton Seron Pereira

1 INTRODUÇÃO GERAL

O estabelecimento de uma agricultura sustentável que preserve o meio ambiente e proporcione segurança alimentar futura é um fator primordial para o desenvolvimento da humanidade ante as mudanças climáticas e o declínio das reservas energéticas não renováveis. Diante desse cenário, novas tecnologias e sistemas de produção sustentáveis vêm sendo estudados, desenvolvidos e adotados em todo o mundo, visando alcançar maiores produtividades sem aumentar a abertura para exploração de novas áreas (LANA; VASCONCELOS, 2015).

Associados a esses sistemas, tem-se observado o uso crescente de agroquímicos de regulação hormonal. Levando em conta a fisiologia da planta, intensificaram-se estudos sobre os efeitos de substâncias orgânicas modificadoras do desenvolvimento vegetal, capazes de aumentar significativamente a produtividade. Esse emprego na agricultura vem se tornando prática viável com o objetivo de explorar o potencial produtivo das culturas (SILVA et al., 2012).

A evolução do conhecimento em nutrição de plantas e práticas racionais de adubação tem possibilitado o contínuo crescimento da produtividade dos cultivos e contribuído de forma decisiva para a produção de alimentos com maior qualidade (CASTRO, 2009). Neste contexto, a biotecnologia pode fornecer meios para o aumento da produção agrícola pela aplicação do conhecimento molecular em função dos genes e das redes regulatórias envolvidas na tolerância a estresses, desenvolvimento e crescimento vegetal (TAKEDA; MATSUOKA, 2008).

Assim, o uso de produtos que contêm reguladores hormonais, como os bioestimulantes, em doses adequadas, melhora a eficiência da planta em inúmeros processos, conferindo-lhe maior capacidade de expressar seu potencial produtivo. Esses agroquímicos de regulação hormonal são, em sua maior parte, substâncias orgânicas complexas capazes de atuar em fatores de transcrição e expressão gênica, em proteínas de membrana e em enzimas metabólicas incidentes sobre o metabolismo secundário, de modo a modificar a nutrição mineral e produzir precursores de hormônios vegetais, levando à sínteses hormonais e à resposta da planta a nutrientes e hormônios (CASTRO, 2006).

Neste contexto, o arroz é considerado uma planta modelo para estudos fisiológicos, genéticos e evolutivos (SHIMAMOTO; KYOZUKA, 2002), apresentando um genoma relativamente pequeno, além de possuir grande colinearidade em relação às

outras gramíneas, isto é, conservação de genes e de blocos ordenados de genes nos cromossomos (GALE; DEVOS, 1998).

O sequenciamento do genoma do arroz revolucionou os estudos genéticos e moleculares da espécie, tornando públicas informações que passaram a serem utilizadas para o desenvolvimento de marcadores moleculares, predições da função de sequências regulatórias e/ou de genes e dos polipeptídeos por eles codificados, dentre outros (TYAGI et al., 2004). No entanto, embora centenas de genes já tenham sido identificados em arroz, a função de muitos desses genes ainda não foi validada (WANG et al., 2011), principalmente no que diz respeito a eficiência nutricional dessa espécie.

À vista disto, a análise de transcriptoma da célula, ao contrário do genoma, é dinâmico e específico para um determinado estágio de desenvolvimento celular ou condição fisiológica. Dessa forma, estudar o transcriptoma é primordial para interpretar os elementos funcionais do genoma e revelar os constituintes moleculares das células, possibilitando a descoberta e o estudo de novos genes promissores que podem participar na melhoria de muitas espécies de plantas economicamente importantes, sendo o reflexo direto da expressão gênica, permitindo catalogar transcritos, identificar e determinar a estrutura dos genes e quantificar mudanças nos níveis de expressão gênica sob diferentes condições (WANG et al., 2009), incluindo estados nutricionais de diferentes culturas.

A técnica de sequenciamento em larga escala (RNA-seq) é utilizada para este fim e se caracteriza, em síntese, por converter RNA em uma biblioteca de fragmentos de cDNA, de forma que cada molécula pode ser sequenciada gerando pequenas sequências (*reads*) com tamanho variando entre 21 e 500 bp e não necessita do conhecimento prévio das sequências dos genes do organismo em estudo, utilizando diretamente a contagem das sequências dos RNAs sequenciados como medida de expressão de cada gene, apresentando assim maior reprodutibilidade de resultados (WANG et al., 2009).

Dessarte, apesar de já terem sido realizados estudos com o uso de bioestimulantes em diferentes culturas, os resultados obtidos até agora têm sido controversos e com pouca base científica. Neste contexto, há a necessidade de maiores investigações a respeito do uso desses agroquímicos de regulação hormonal a nível molecular, estudando mecanismos bioquímicos, fisiológicos e de expressão de gênica, para melhor elucidação dos resultados obtidos, no que diz respeito ao aumento da eficiência nutricional e agrônômica das culturas (VASCONCELOS, 2016).

Também, devido ao rápido crescimento do uso na agricultura, a regulamentação dos bioestimulantes comercializados vem sendo cada vez mais urgente. No Brasil, mesmo com todas as perspectivas de desenvolvimento e melhorias de produtos, um dos principais paradigmas para o crescimento desse mercado ainda é a legislação a que esses produtos estão submetidos, que ainda se coloca extremamente restritiva e morosa ao licenciamento, o que é dificultado, principalmente, pela falta de clareza e de protocolos padronizados e bem regulamentados, gerando, por consequência, um excesso de burocracia e processos ineficientes (VASCONCELOS, 2016).

Diante deste cenário, dados científicos e a compreensão mais detalhada dos principais atributos que afetam o desempenho dos bioestimulantes são necessários para que essa categoria de produto atinja todo o seu potencial mercadológico. No entanto, a falta de informações a respeito da atividade molecular e fisiológica dos bioestimulantes é um fator contribuinte para essas questões de legislação. Várias pesquisas já estudaram o desempenho de diferentes bioestimulantes em plantas, no entanto, há pouquíssimos dados relacionando sua atividade bioestimulante e as alterações ocorridas a nível molecular.

Neste contexto, com a quantificação de genes diferencialmente expressos, as vias de sinalização ativadas e envolvidas na estimulação da resposta das plantas a aplicação do bioestimulante são identificadas, confirmando os diferentes níveis de expressão dos genes potencialmente envolvidos para, além do posterior uso em abordagens biotecnológicas, haver a comprovação do efeito bioestimulante, podendo-se, futuramente, posicionar estes produtos estrategicamente no mercado, evitando-se a problemática de registro, burocracia e falta de metodologia adequada, agilizando-se o processo do registro desses produtos.

2 HIPÓTESE E OBJETIVOS

2.1 Hipótese

Esse estudo foi proposto com base na hipótese de que bioestimulantes podem desencadear mecanismos moleculares envolvidos em respostas protetivas e/ou adaptativas em plantas de arroz (*Oryza sativa* L.), via regulação de aspectos nutricionais, vegetativos e da expressão gênica.

2.2 Objetivo geral

Compreender o efeito de um bioestimulante na expressão diferencial de genes e, *a posteriori*, indicar potenciais biomarcadores visando, em pesquisas futuras, proporcionar a indicação e validação de uma possível metodologia para análise de bioestimulantes.

2.3 Objetivos específicos

Avaliar a influência de bioestimulantes em parâmetros biométricos e nutricionais de *Oryza sativa* L.;

Avaliar e determinar o enriquecimento funcional de redes gênicas de *Oryza sativa* L. em função da aplicação de bioestimulante.

3 JUSTIFICATIVA

Os impactos da utilização excessiva de defensivos agrícolas e fertilizantes, a maior incidência de estresses abióticos, como oscilações climáticas, e bióticos, como pragas e doenças e, ainda, a perda da fertilidade natural dos solos são alguns dos fatores que vêm impulsionando o desenvolvimento de novas tecnologias de produção a serem adotadas na mitigação desses problemas na agricultura. Neste cenário, a utilização de produtos com o efeito denominado “bioestimulante” vem ganhando cada vez mais espaço no mercado de insumos agrícolas.

Apesar das controvérsias a respeito do tema, discussões conceituais e sobre avaliação de eficiência, os bioestimulantes desempenham um papel importante tanto na questão de legalização destes produtos, como também na prospecção, pesquisa científica e obtenção de novos produtos a serem lançados no mercado. Devido a sua composição diversa e a falta de métodos padronizados, os bioestimulantes vêm sendo há muito tempo registrados e comercializados, em diferentes países, em diferentes classes de produtos como inoculantes, biofertilizantes, dentre outros.

Ainda, atualmente, observa-se uma discrepância entre a extensa lista de produtos comerciais e os estudos científicos sobre mecanismos e avaliação de eficiência de uso, se tornando imprescindíveis maiores e aprofundados estudos acerca das vias de sinalização ativadas pelo bioestimulante, envolvidas na resposta das plantas a aplicação destes produtos. Como consequência, a falta de metodologia adequada implica na problemática de registro e excesso de burocracia para inclui-los na legislação.

Dessa forma, o conhecimento dos mecanismos envolvidos em alterações na expressão gênica, em resposta à aplicação de bioestimulante, possibilitaria indicar e validar uma metodologia para análise de bioestimulantes, agilizando-se o processo do registro desses produtos.

REFERÊNCIAS

- CASTRO, P. R.C. **Princípios da adubação foliar**. Jaboticabal: FUNEP, 2009. 42 p.
- CASTRO, P.R.C. **Agroquímicos de controle hormonal na agricultura tropical**. Piracicaba: ESALQ, 2006. 46 p.
- GALE, M.D.; DEVOS, K.M. Comparative genetics in the grasses. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 95, p. 1971–1974. 1998. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.95.5.1971>.
- LANA, R.M.Q.; VASCONCELOS, A.C.P. Uso de bioestimulantes e ácidos húmicos e fúlvicos na agricultura. **Campo & Negócios**, Uberlândia, v. 07, p. 30-32, 2015.
- SILVA, L. C. F.; MANIERO, M. A.; CASAGRANDE, J. C.; STOLF, R.; PIEDADE, S. M. S. Agricultura bioestimulada. **Cultivar Grandes Culturas**, Pelotas, v. 14, p. 34-35, 2012.
- SHIMAMOTO, K.; KYOZUKA, J. Rice as a model for comparative genomics of plants. **Annual Review of Plant Biology**, v 53, p. 399-419, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.53.092401.134447>.
- TAKEDA, S.; MATSUOKA, M. Genetic approaches to crop improvement: responding to environmental and population changes. **Nature Reviews Genetics**, New York, v. 9, p. 44-57, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrg2342>.
- TYAGI, A.K.; KHURANA, J.P.; KHURANA, P.; RAGHUVANSHI, S.; GAUR, A.; KAPUR, A.; GUPTA, V.; KUMAR, D.; RAVI, V.; VIJ, S.; KHURANA, P.; SHARMA, S. Structural and functional analysis of rice genome. **Journal of Genetics**, Bangalore, v. 83, p. 79-99, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF02715832>.
- VASCONCELOS, A.C.P de. **Bioestimulantes contendo silício e micronutrientes aplicados via foliar em arroz de sequeiro**. 2016. 119 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia. 2016.
- WANG, D.; PAN, Y.; ZHAO, X.; ZHU, L.; FU, B.; LI, Z. Genome-wide temporal-spatial gene expression profiling of drought responsiveness in rice. **Genomics**, [s.l.], v. 12, p. 149, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2164-12-149>.

WANG, Z.; GERSTEIN, M.; SNYDER, M. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. **Nature Reviews Genetics**, Londres, v. 10, p. 57-63, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrg2484>.

CAPÍTULO 1

A CULTURA DO ARROZ, AGROQUÍMICOS DE CONTROLE HORMONAL E SEQUENCIAMENTO DE RNA: PERCALÇOS E PERSPECTIVAS

A CULTURA DO ARROZ, AGROQUÍMICOS DE CONTROLE HORMONAL E SEQUENCIAMENTO DE RNA: PERCALÇOS E PERSPECTIVAS

Ana Carolina Pereira de Vasconcelos¹; Hamilton Seron Pereira²

RESUMO

Novas tecnologias e sistemas de produção sustentáveis vêm sendo estudados, desenvolvidos e adotados nas várias regiões do mundo, visando alcançar maiores produtividades sem aumentar a abertura para exploração de novas áreas, principalmente em países com pequena extensão territorial. Associados a esses sistemas, tem-se observado o uso crescente de agroquímicos de regulação hormonal, como os bioestimulantes, nos quais os avanços tecnológicos têm propiciado a síntese de novas moléculas que, aplicadas às plantas, mostram-se eficientes para a sua proteção e geração de aumentos em produtividade. A finalidade desta revisão bibliográfica é discutir o uso, os conceitos, os percalços e os benefícios dos bioestimulantes na agricultura brasileira e o uso da técnica de análise transcriptômica para analisar a expressão de genes, bem como a importância e a utilização de *Oryza sativa* L. como planta modelo para estudos gênicos. Não obstante, a maioria das culturas se desenvolve bem quando o ambiente é favorável e, nessas situações, os efeitos benéficos dos bioestimulantes podem não ser fáceis de identificar. No entanto, culturas tratadas com estes produtos apresentam melhor desempenho por desenvolverem um sistema de defesa mais eficiente, aparentemente devido a níveis mais altos de antioxidantes. Apesar disso, no Brasil, o principal paradigma ao crescimento do mercado desses produtos é a legislação, que se demonstra extremamente restritiva e morosa ao licenciamento, pela falta de protocolos padronizados e bem regulamentados, em grande parte devido ao fato de que, apesar de já terem sido realizados estudos com o uso de bioestimulantes em diferentes culturas, os resultados obtidos até agora têm sido controversos e com pouca base científica, necessitando de maiores investigações a respeito do uso desses produtos a nível molecular. Por conseguinte, o arroz é considerado uma planta modelo para estudos fisiológicos, genéticos e evolutivos e, à vista disto, a análise de transcriptoma da célula é dinâmico e específico para um determinado estágio de desenvolvimento celular ou condição fisiológica, uma vez que a alteração nos níveis de expressão está diretamente relacionada a modificações na fisiologia, metabolismo e consequentemente ao processo de tolerância/aclimatação das plantas, sendo promissor para estudos de eficiência nutricional, nos quais ainda são escassos estudos envolvendo agroquímicos de regulação hormonal e expressão de genes.

Palavras-chave: Bioestimulante; nutrição de plantas; *Oryza sativa* L.; regulador hormonal; RNA-seq; transcriptoma.

¹ Doutoranda em Fitotecnia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG.

² Doutor, Professor Titular, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG.

RICE CULTURE, HORMONAL CONTROL FARMING AND RNA SEQUENCING: BOOKS AND PROSPECTS

ABSTRACT

New technologies and sustainable production systems have been studied, developed and adopted in various regions of the world, aiming to achieve greater productivity without increasing the openness for exploration of new areas, especially in countries with small territorial extension. Associated with these systems, there has been a growing use of hormonal control agrochemicals, such as biostimulants, in which technological advances have led to the synthesis of new molecules, which, applied to plants, are efficient for their protection and generation of increases in productivity. The purpose of this literature review is to discuss the use, concepts, mishaps and benefits of biostimulants in Brazilian agriculture and the use of the transcriptomic analysis technique to analyze gene expression, as well as the importance and use of *Oryza sativa* L. as a model plant for gene studies. Most cultures grow well when the environment is favorable, and in these situations the beneficial effects of biostimulants may not be easy to identify. However, cultures treated with these products perform better because they develop a more efficient defense system, apparently due to higher antioxidant levels. However, in Brazil, the main paradigm for the market growth of these products is the legislation, which proves to be extremely restrictive and slow to licensing, due to the lack of standardized and well-regulated protocols, largely due to the fact that, although already. Although studies with the use of biostimulants in different cultures have been performed, the results obtained so far have been controversial and with little scientific basis, requiring further investigation regarding their use at the molecular level. That said, rice is considered a model plant for physiological, genetic and evolutionary studies. In view of this, cell transcriptome analysis is dynamic and specific to a particular stage of cell development or physiological condition, since the change in expression levels is directly related to changes in physiology, metabolism and consequently the process of cell adaptation. It is promising for nutritional efficiency studies, in which there are still few studies involving hormonal control agrochemicals and gene expression.

Keywords: Hormonal regulator. *Oryza sativa*. Plant biostimulant. Plant growth regulator. Plant nutrition. RNA-seq. Transcriptome.

1 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA E SOCIAL DO ARROZ

O arroz (*Oryza sativa* L.) é a base da dieta e principal fonte de proteínas e carboidratos para mais da metade da população mundial (HUANG et al., 2010) e sua importância relativa é mais evidenciada em países pobres e em desenvolvimento (LEE et al., 2011), tais como o Brasil, desempenhando papel estratégico em níveis econômico e social.

Apenas uma pequena quantidade de arroz é consumida como ingrediente em produtos processados, sendo seu maior consumo na forma de grão, sendo excelente fonte de energia devido a alta concentração de amido, fornecendo também proteínas, vitaminas e minerais e possuindo baixo teor de lipídios (WALTER et al., 2008). Dessa forma, devido a importância do arroz na dieta de grande parte da população, sua qualidade nutricional afeta diretamente a saúde humana.

Segundo Alcochete (2005), além do consumo pelo homem e da utilização como ração animal, o grão e a planta de arroz podem ser transformados em uma grande variedade de produtos, como a casca do arroz, que é utilizada, por exemplo, na Tailândia, como combustível para os geradores vaporizados. Além disso, o farelo do arroz é extremamente nutritivo e fonte natural de vitamina E, sendo que 40% do farelo é usado na extração de óleo e 60% é utilizado na alimentação animal. Ainda, cerca de 70% de arroz quebrado é utilizado na produção de ingredientes ou na produção de “noodles” instantâneos ou aperitivos.

Segundo Coêlho (2021), o Brasil é o décimo maior produtor do grão, não havendo grandes excedentes exportáveis, como ocorre com outros grãos, e a região Sul é a maior região produtora, com 8,93 milhões de toneladas, detendo também a maior produtividade (7835 kg ha⁻¹). É importante ressaltar que a situação de pandemia da COVID-19, que assolou o mundo nos últimos anos, não afetou a produção brasileira, mas houve aumento do consumo, devido ao isolamento social e a necessidade de se fazer as refeições em casa, restringindo a oferta e, com isso, um aumento nos preços no primeiro ano de pandemia.

No atual cenário, a produção de grãos no Brasil é estimada em 272,5 milhões de toneladas (Figura 1) para o ciclo 2021/22 (CONAB, 2022), destacando-se como único país não-asiático entre os 10 maiores produtores (FAO, 2022).

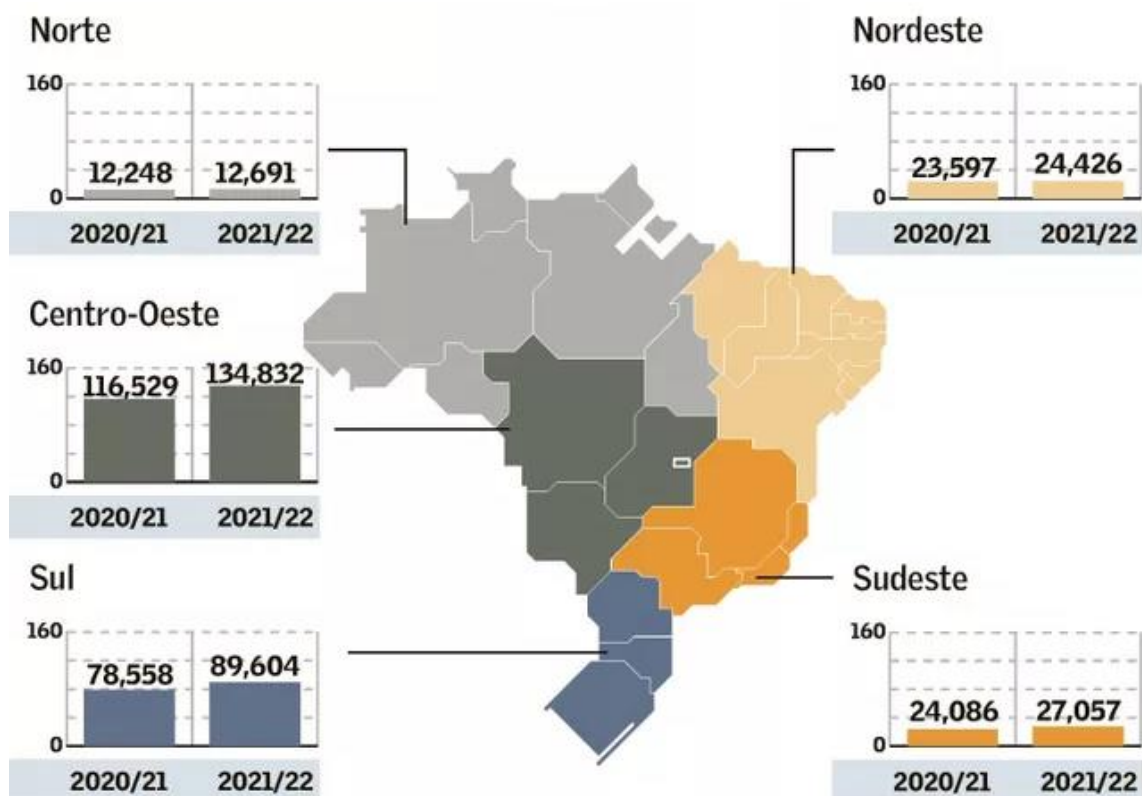


Figura 1 – Mapa da produção agrícola de arroz no Brasil (milhões de toneladas), produção por região (CONAB, 2022).

Ainda, o Brasil é o país com maior consumo de arroz fora do continente asiático, em torno de 12 milhões de toneladas anuais em casca, o que equivale a 8 milhões de toneladas de arroz beneficiado (CONAB, 2020). A nível mundial, os principais centros de consumo deste cereal são Ásia e Oceania, onde vivem 70% da população total dos países em desenvolvimento e cerca de dois terços da população subnutrida mundial.

No entanto, segundo o acompanhamento da safra brasileira de grãos (CONAB, 2022), em relação às principais áreas produtoras no país, na safra 2021/22, houve uma redução na produtividade das lavouras, devido a condição de estiagem e a consequente escassez nos níveis dos reservatórios para a irrigação, que, consequentemente, provocaram também a perda na qualidade dos grãos, dependendo da região. Em algumas áreas, as altas temperaturas no período crítico da floração prejudicaram o potencial produtivo das lavouras. Além disso, houve regiões em que a finalização da colheita atrasou devido ao excesso de chuvas.

No final da década de 1990, Fischer (1998) fez uma projeção na qual a produção de arroz deveria aumentar dramaticamente para atender a demanda projetada para 2025.

Se as tecnologias para a utilização de nutrientes pela cultura do arroz se mantiverem inalteradas, irá se exigir um aumento de aproximadamente 300% na produção.

2 GENÔMICA DO ARROZ

O arroz, como outras gramíneas, possui blocos de genes conservados, tanto com relação a organização quanto a similaridade em conteúdo e sequência. Dessa forma, o conhecimento do genoma do arroz pode ser aplicado a outras monocotiledôneas de interesse agrônômico, como o milho e o trigo. Assim, o arroz é considerado uma planta modelo para os cereais por apresentar o genoma relativamente pequeno quando comparado a outras gramíneas, de 389 milhões de pares de bases (Mb), cerca de um sexto do tamanho do genoma do milho e 40 vezes menor que o do trigo (JUNG et al. 2008), além de possuir grande colinearidade em relação às outras gramíneas, isto é, conservação de genes e de blocos ordenados de genes nos cromossomos (DEVOS; GALE, 1997; GALE; DEVOS, 1998).

O número de genes atualmente identificados no genoma do arroz é de cerca de 32.000, possuindo um total de 55.986 locos com funções preditas, incluindo 39.045 locos de não-ETs (elementos não transponíveis) codificando 49.066 modelos gênicos e 16.941 locos de ETs (elementos transponíveis) codificando 17.272 modelos gênicos (KAWAHARA et al., 2013).

O sequenciamento do genoma do arroz revolucionou os estudos genéticos e moleculares da espécie, tornando públicas informações que passaram a ser utilizadas para o desenvolvimento de marcadores moleculares, capazes de amostrar virtualmente qualquer região do genoma, predição da função de sequências regulatórias e/ou genes e dos polipeptídeos por eles codificados, localização de marcas moleculares nos mapas genéticos e físicos, entre outras (TYAGI et al., 2004).

Com a conclusão do sequenciamento do genoma, foi criado o Banco de Dados do Projeto de Anotação do Arroz (Rice Annotation Project Database, RAP-DB). Com isso, foi possível prover uma anotação com alta precisão e confiabilidade, reunindo não somente sequências, mas também outras informações relacionadas que pudessem ser úteis a pesquisadores de arroz e outros cereais (RICE ANNOTATION PROJECT, 2008).

Entretanto, grande parte das sequências geradas pelos projetos de sequenciamento do genoma do arroz ainda não possuem função conhecida. Portanto, a

determinação da função específica de cada um dos 20 mil a 40 mil genes preditos é um grande desafio. Vários estudos de genômica funcional em arroz têm utilizado diferentes metodologias, como macro e microarranjos (KAWASAKI et al., 2001; RABBANI et al., 2003), RT-qPCR (real time quantitative polymerase chain reaction), SAGE (análise serial de expressão gênica), MPSS (massive parallel signature sequencing) (NOBUTA et al., 2007) e, mais recentemente, RNA-seq (sequenciamento de transcriptoma em larga escala). Porém, o grande desafio da genômica funcional está em identificar e determinar a atividade de todos os elementos funcionais do genoma do arroz. Assim, para que ocorra o sucesso da pesquisa neste campo é fundamental uma grande disponibilidade de informação detalhada de dados de transcriptoma em arroz (ZHANG et al., 2012).

3 TRANSCRIPTOMA POR SEQUENCIAMENTO DE NOVA GERAÇÃO (RNA-seq)

O transcriptoma pode ser definido como sendo o conjunto completo de transcritos em uma célula e suas quantidades, em um estágio específico do desenvolvimento ou condição fisiológica (NOBUTA et al., 2007), incluindo o RNA codificante (mRNA) e não codificante (rRNA, tRNA, RNA estrutural, RNA regulatório, dentre outros) (WANG et al., 2009). No processo de transcrição nas células, a alteração nos níveis de expressão está diretamente relacionada às modificações na fisiologia, metabolismo e conseqüentemente ao processo de adaptação celular (VAN VLIET, 2010). Conhecer o transcriptoma de um organismo ou tecido é essencial para entender como o genoma é expresso e como o metabolismo funciona na condição estudada (SANTOS, 2014).

Para estudar o transcriptoma de um organismo, o método que tem sido utilizado atualmente é a nova geração de sequenciamento de DNA, denominada RNA-seq, permitindo a medição de milhares de genes simultaneamente (Figura 2). Neste método, o mRNA é utilizado para a síntese de cDNA (DNA complementar), que é então sequenciado em equipamento de altíssima produtividade (SANTOS, 2014).

Primeiro, de acordo com Kukurba; Montgomery (2015), o RNA é extraído do material biológico de escolha, como células, tecidos, dentre outros. Após, subconjuntos de moléculas de RNA são isolados utilizando um protocolo específico e, em seguida, o RNA é convertido em cDNA por transcrição reversa e os adaptadores de

sequenciamento são ligados às extremidades dos fragmentos de cDNA. Após amplificação por PCR, a biblioteca RNA-seq estará pronta para o sequenciamento.

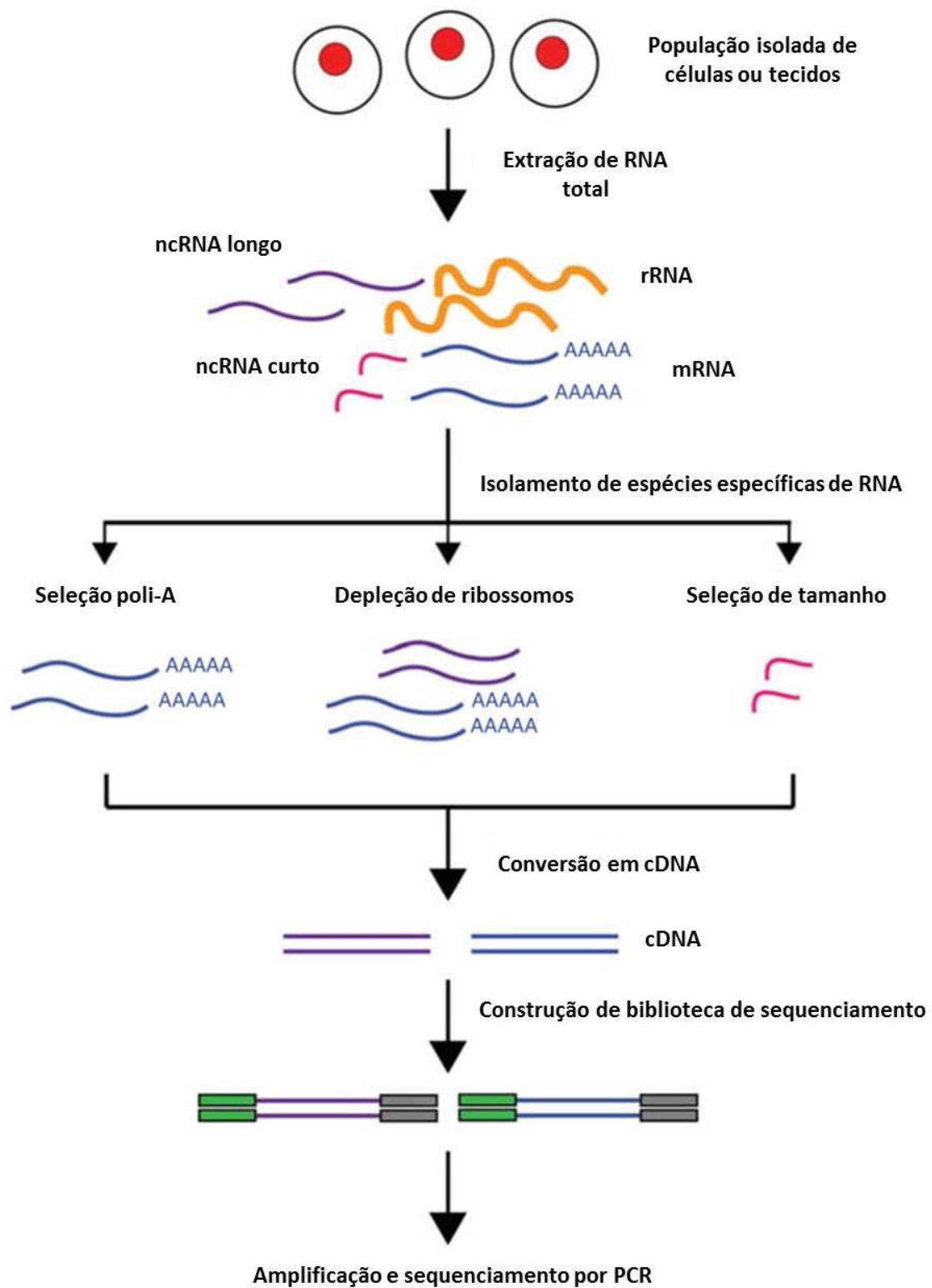


Figura 2 - Visão geral do sequenciamento de nova geração, através da técnica de RNA-seq. Adaptado de Kukurba; Montgomery (2015).

O sequenciamento de transcriptoma surgiu como uma alternativa eficiente para solucionar algumas limitações metodológicas da técnica de microarranjos de DNA (BLOOM et al., 2009), além de possibilitar a análise e interpretação dos dados de sequenciamento sem a necessidade de ter uma sequência genômica de referência previamente descrita, como no caso de microarranjos, onde se utiliza sequências conhecidas para mensurar a expressão gênica. No entanto, o genoma de referência é de extrema importância para estudos de transcriptoma, porque permite que seja feita a identificação dos genes que estão sendo expressos em uma dada condição (SANTOS, 2014). Ademais, o sequenciamento do transcriptoma por técnicas convencionais, como por exemplo, sequenciamento por “Sanger”, é muito dispendiosa e, por vezes, inviável economicamente devido ao grande número de sequências a serem geradas (SILVEIRA, 2019). Além disso, estes ensaios são insensíveis a medição dos níveis de expressão das isoformas de emenda e não podem ser usados para a descoberta de novos genes (KUKURBA; MONTGOMERY, 2015).

Assim, ao contrário do genoma, o transcriptoma celular é dinâmico e específico para um determinado estágio de desenvolvimento e condição fisiológica. A compreensão do transcriptoma é essencial na interpretação dos elementos funcionais do genoma e no desenvolvimento de constituintes moleculares celulares. Essa metodologia tem se mostrado útil para descobrir novas transcrições, identificações de mutações, deleções e inserções, *splicings* alternativos e oferece uma cobertura elevada (XU et al., 2012).

Assim, em consonância com Wang et al. (2009), a metodologia de RNA-seq pode ser descrita, de uma forma simplificada, pelas seguintes etapas: uma quantidade de RNA é convertida em uma biblioteca contendo fragmentos de cDNA; em seguida estes fragmentos recebem adaptadores (bases de DNA) e passam pelo sequenciamento, gerando uma sequência curta (na ordem de 30 a 400 pares de base); essas leituras são alinhadas a um genoma de referência (ou outro transcriptoma) ou até mesmo remontadas sem um genoma de referência a fim de criar um mapa em escala genômica que é composto pela estrutura transcricional ou o nível de expressão de cada gene individualmente (Figura 3).

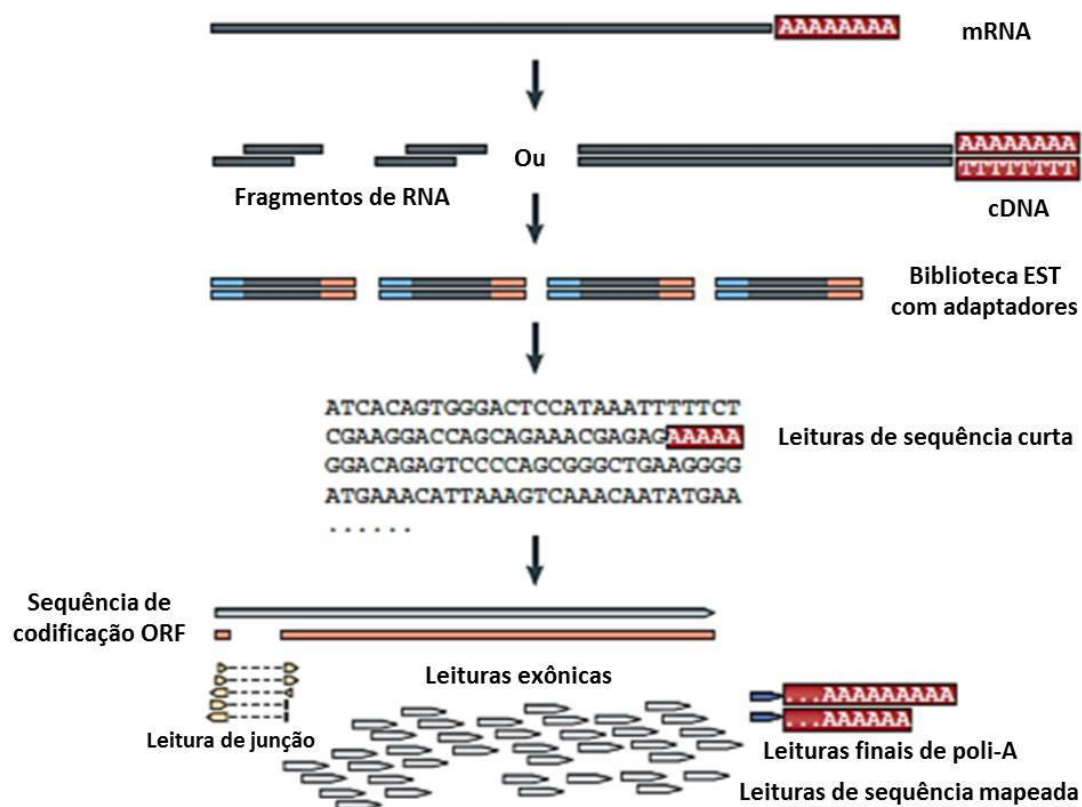


Figura 3 - Um experimento típico de RNA-seq. Adaptado de Wang et al. (2009).

O RNA-seq fornece uma visão mais detalhada e quantitativa da expressão genética, *splicing* alternativo e expressão específica de alelo. Avanços recentes no fluxo de trabalho do RNA-seq, desde a preparação da amostra até as plataformas de sequenciamento até a análise dos dados bioinformáticos, permitiram o perfilamento profundo do transcriptoma e a oportunidade de elucidar diferentes condições fisiológicas e patológicas (KUKURBA; MONTGOMERY, 2015). Na Figura 4 observamos uma visão geral da análise de dados RNA-seq.

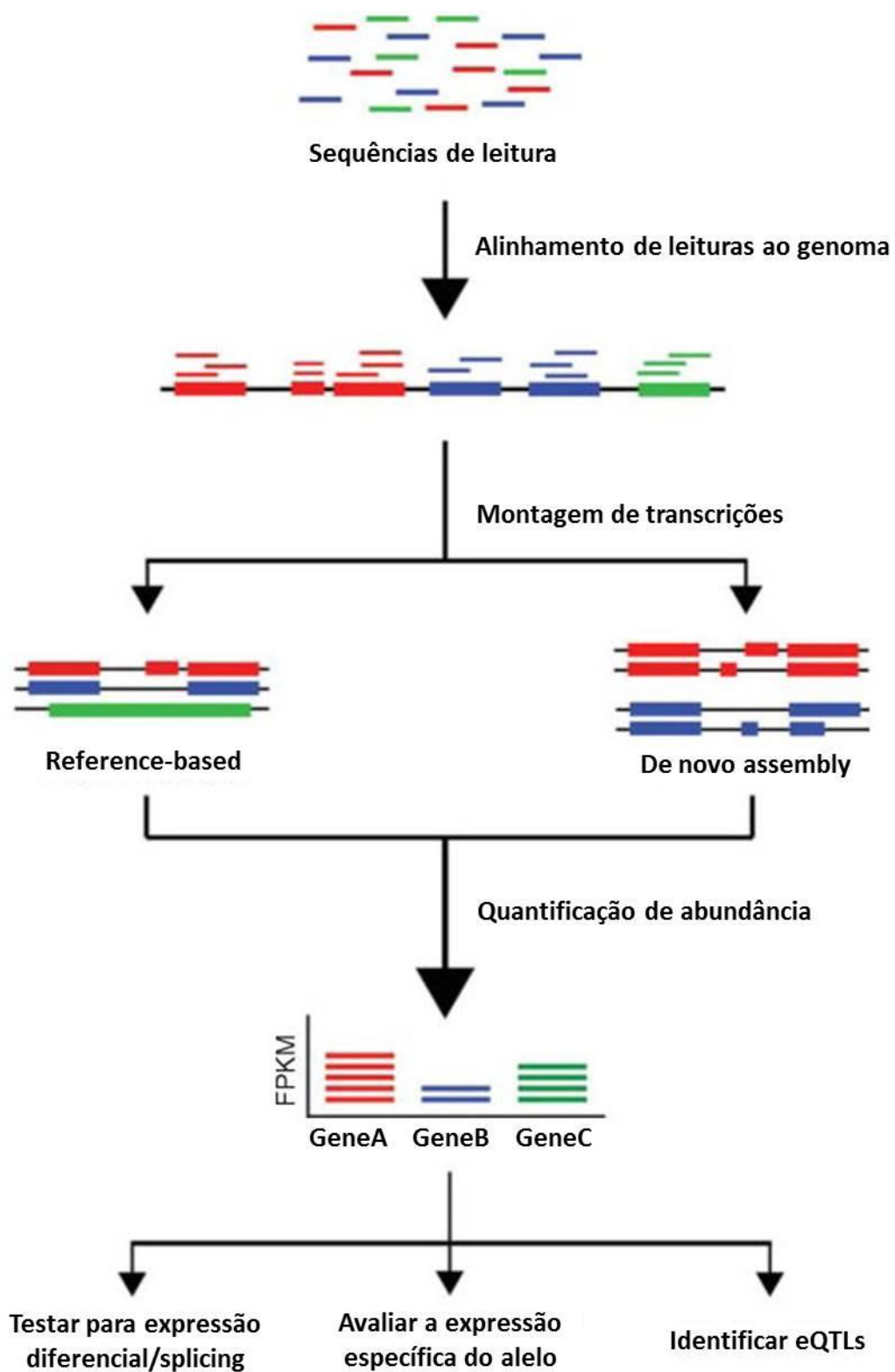


Figura 4 - Visão geral da análise de dados RNA-seq. Adaptado de Kukurba; Montgomery (2015).

Não obstante, vários estudos têm demonstrado que dados de RNA-seq representam de maneira fidedigna as complexas redes integradas da biologia celular vegetal (BLEEKER et al., 2011). Ademais, progressos significativos têm sido alcançados com esta tecnologia para o entendimento da expressão gênica em arroz (GAO et al., 2013) e a respostas a estresses bióticos e abióticos (KAWAHARA et al., 2012).

4 AGROQUÍMICOS DE REGULAÇÃO HORMONAL

Os vegetais desenvolvem-se em ambientes com elevada e constante pressão natural. Esta condição fez com que estes indivíduos sésseis desenvolvessem sofisticados mecanismos para suportar o estresse e, assim, sobreviverem (HOPKINS; HÜNER, 2004). Dentre esses mecanismos, os hormônios vegetais participam ativamente como sinalizadores no crescimento, diferenciação e desenvolvimento das plantas (DAVIES, 1995). Eles destacam-se pela eficaz sinalização entre os diferentes órgãos vegetais, conferindo-lhes eficientes mecanismos de defesa.

Assim, os sinais químicos são responsáveis por realizar a comunicação entre partes diferentes das plantas (TAIZ et al., 2015). Esses sinais são em sua maioria pequenas moléculas que em baixas concentrações permitem a regulação e coordenação do desenvolvimento vegetal, face as mudanças internas (fatores endógenos) e externas (fatores ambientais) (RIGAL et al., 2014). Dentre as moléculas com efeito sinalizador nos vegetais, temos destaque para cinco metabólitos, que são considerados hormônios vegetais clássicos: auxinas, giberelinas, citocininas, etileno e ácido abscísico e, atualmente, com o crescente investimento em novas ferramentas tecnológicas, pesquisadores ao redor do mundo tem descrito novas moléculas com potencial sinalizador nos vegetais, como o ácido salicílico, ácido jasmônico, brassinoesteróides, estrigolactonas, poliaminas e polissacarídeos (MACEDO; CASTRO, 2015).

Os hormônios vegetais são mensageiros químicos que regulam o desenvolvimento normal das plantas, como crescimento de raízes e parte aérea, além de regularem as respostas ao ambiente onde elas se encontram (LONG, 2006). Ademais, segundo Davies (2004), hormônios vegetais são um grupo de ocorrência natural, sendo substâncias orgânicas que influenciam processos fisiológicos em baixas concentrações. Os processos influenciados consistem principalmente no crescimento, diferenciação e

desenvolvimento, entretanto, outros processos, como o movimento estomatal, podem ser afetados.

Segundo Cato e Castro (2006), os hormônios vegetais desempenham um papel importante, podendo uniformizar a germinação, controlar o desenvolvimento vegetativo, aumentar a fixação de flores e frutos, bem como antecipar ou atrasar a maturação dos produtos de interesse comercial. Essas substâncias são sinalizadoras, responsáveis por efeitos marcantes no desenvolvimento, atuando em concentrações bastante pequenas. Além disso, todos os aspectos do desenvolvimento radicular são influenciados pelos hormônios vegetais, com fortes efeitos atribuídos à auxina, à citocinina e ao etileno. Existe grande evidência de que a arquitetura radicular é um aspecto fundamental da produtividade das plantas, especialmente nos ambientes caracterizados por baixa disponibilidade de água e nutrientes (LYNCH, 1995; FAGAN et al., 2015).

A evolução do conhecimento em nutrição de plantas e práticas racionais de adubação tem possibilitado o contínuo crescimento da produtividade dos cultivos e contribuído de forma decisiva para a produção de alimentos com maior qualidade (CASTRO, 2009). Dessa forma, a biotecnologia pode fornecer meios para o aumento da produção agrícola pela aplicação do conhecimento molecular em função dos genes e das redes regulatórias envolvidas na tolerância a estresses, desenvolvimento e crescimento vegetal (TAKEDA; MATSUOKA, 2008).

Assim, moléculas sintéticas com atividades similares aos hormônios vegetais foram desenvolvidas (CASTRO et al., 2009) e a utilização destes produtos vem aumentando na agricultura, devido a crescente evolução nas técnicas de cultivos. Estas moléculas vêm sendo utilizadas na composição de produtos conhecidos como agroquímicos de regulação hormonal. Segundo Castro (2010), estes produtos são denominados como biorreguladores, bioestimulantes e bioativadores, que além de fitoquímicos antiestressantes e complexantes, são condicionadores do sistema solo-planta e têm apresentado crescente importância na agricultura.

O não aproveitamento desses produtos pode restringir a evolução do manejo dos cultivos e a maior economicidade do sistema de produção agrícola. Atualmente, com o alto potencial genético das cultivares, é de suma importância utilizar essas tecnologias por meio do uso racional de agroquímicos de regulação hormonal. Essas tecnologias são eficientes principalmente para melhorar o equilíbrio hormonal das plantas, proporcionando, ainda, uma melhor relação entre raízes e parte aérea, visto que todas as

espécies vegetais têm seus processos regulados por hormônios (VASCONCELOS, 2016).

4.1 Bioestimulantes

Os reguladores vegetais são definidos como substâncias naturais ou sintéticas que, quando aplicadas às plantas, possuem ações similares aos compostos vegetais conhecidos, alterando seus processos vitais e estruturais. Assim, são compostos orgânicos, não nutrientes, que aplicados em baixas concentrações promovem, inibem ou modificam processos morfológicos e fisiológicos dos vegetais. Como resultado da utilização de um regulador vegetal ou por uma mistura de reguladores vegetais (como os bioestimulantes, como explanado a seguir), obtêm-se incrementos de produção, melhoria de manejo e facilidade de colheita (CASILLAS et al., 1986; LACABUENDIA, 1989; FAGAN et al., 2015; TAIZ; ZEIGER, 2017).

A mistura de dois ou mais reguladores vegetais ou a mistura de pelo menos um deles com outras substâncias de natureza bioquímica, como aminoácidos, vitaminas e nutrientes, são designadas como bioestimulantes (VIEIRA, 2001). Os bioestimulantes possuem em sua composição diferentes substâncias como aminoácidos, nutrientes e vitaminas, que em contato com a planta podem atuar na formação de enzimas, hormônios e clorofilas. Ainda, auxiliam no armazenamento e transporte de nitrogênio, modificando os processos fisiológicos das plantas e promovendo crescimento, desenvolvimento e produtividade (LIMA, 2017).

Os bioestimulantes são descritos por Russo e Berlyn (1992) como produtos não nutricionais, que podem reduzir o uso de fertilizantes e aumentar a produção e a resistência aos estresses causados por temperatura e déficit hídrico. Ono et al. (1999), por sua vez, definem bioestimulantes como complexos que promovem o equilíbrio hormonal das plantas, favorecendo a expressão do seu potencial genético e estimulando o desenvolvimento do sistema radicular. Ferrini e Nicese (2002) destacam que a utilização de bioestimulantes serve como alternativa potencial a aplicação de fertilizantes para estimular a produção de raízes, especialmente em solos com baixa fertilidade e disponibilidade de água.

A utilização de bioestimulantes como alternativa de manejo visando favorecer a expressão do potencial genético das plantas tem crescido nos últimos anos (KOLLING et al., 2016). Os bioestimulantes podem ser utilizados no tratamento de sementes, sulco

de semeadura ou em aplicações foliares (ABRANTES et al., 2011). A aplicação desses produtos nos estádios iniciais de desenvolvimento das culturas favorece o crescimento de raízes, contribui para rápida recuperação em situações de estresse hídrico, melhora a resistência contra pragas e doenças e promove o estabelecimento rápido e uniforme das plantas, melhorando a sua capacidade de obter nutrientes favorecendo um maior rendimento (IZIDÓRIO et al., 2015).

Os bioestimulantes possuem substâncias orgânicas complexas modificadoras do desenvolvimento vegetal, capazes de atuar na transcrição e expressão gênica da planta, de modo a alterar, inclusive, a nutrição mineral, aumentando a resposta das plantas aos nutrientes (CASTRO, 2010), atuando ainda, na expressão de genes responsáveis pela síntese e ativação de enzimas metabólicas relacionadas ao crescimento da planta, alterando a produção de aminoácidos precursores de hormônios vegetais (CASTRO et al., 2007; ROSSETO, 2008).

Muitos dos efeitos benéficos dos bioestimulantes são baseados na sua habilidade de influenciar a atividade hormonal das plantas, que é responsável por regular o desenvolvimento normal dos vegetais e as suas respostas ao ambiente onde se encontram (LONG, 2006). Não obstante, a maioria das culturas se desenvolve bem quando o ambiente é favorável. Nessas situações, os efeitos benéficos destes produtos podem não ser fáceis de identificar. No entanto, culturas tratadas com bioestimulantes apresentam melhor desempenho por desenvolverem um sistema de defesa mais eficiente, aparentemente devido a níveis mais altos de antioxidantes.

Assim, a ação mútua dos compostos orgânicos de bioestimulantes com a nutrição de plantas, relacionados com aumento da eficiência no transporte e absorção dos nutrientes, tem evidências de que os compostos orgânicos apolares, como dos bioestimulantes, aumentam a capacidade de circulação de substância através das membranas que são polares (FLOSS; FLOSS, 2007). Por ocorrer uma alteração no metabolismo secundário da planta, em decorrência da ação dos bioestimulantes, há indução de precursores de fitormônios e síntese fito-hormonal, aprimorando a resposta das plantas aos nutrientes e melhorando o desenvolvimento vegetal (SIQUEIRA; SIQUEIRA, 2013).

Hoje, com modernas técnicas de marcadores moleculares, é possível identificar genes envolvidos na resposta da planta a vários estresses, incluindo foto-oxidação, frio, salinidade, seca e a resposta a aplicação de bioestimulantes. As vias de sinalização ativadas por bioestimulantes envolvidos na estimulação da resposta das plantas a

nutrientes e/ou estresses são identificadas, ligadas a genes de importância agronômica cujos fenótipos são de difícil avaliação, e permitem acelerar o processo de investigação dos efeitos bioestimulantes dos produtos. Assim, é possível determinar processos pelos quais uma célula diminui a quantidade de um componente celular, como RNA ou proteína, em resposta a uma variável externa (*down-regulation*), ou o contrário, com um aumento relativo de um componente celular (*up-regulation*).

Apesar disso, os mecanismos de ação dos bioestimulantes ainda não foram completamente elucidados. É comum identificar a presença de moléculas similares aos hormônios vegetais nestes produtos, como a giberelina (CONSELVAN et al., 2017), o ácido indolacético (QUAGGIOTTI et al., 2004; ZANDONADI et al., 2007) e a citocinina (ZHANG et al., 2016) e correlacionar com seus efeitos nas plantas. Contudo, determinados bioestimulantes não têm esses hormônios, no entanto, são capazes de alterar o metabolismo das plantas, aumentando sua produtividade (ELENA et al., 2009; JANNIN et al., 2012). Destarte, a resposta das plantas a aplicação de bioestimulantes vai além da sinalização por moléculas com estruturas semelhantes aos fitormônios presentes nos bioestimulantes. Desta forma, é necessário ampliar a compreensão do modo de ação destes produtos a nível molecular e transcricional (XU; GEELEN, 2018).

4.2 Legislação

Em sua maioria, esses produtos são registrados como fertilizantes para aplicação via foliar, via irrigação localizada, aplicação no sulco de plantio ou aplicação nas sementes. Isso se deve ao fato de essas substâncias possuírem, entre suas propriedades, a capacidade de complexar cátions, a exemplo dos polissacarídeos do ácido algínico e seus grupos carboxílicos. São contempladas como compostos naturais autorizados como aditivos ou agentes quelantes/complexantes para fertilizantes minerais (MÓGOR, 2010).

Segundo Rodrigues et al. (2015), no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) existem 41 reguladores vegetais registrados no Brasil para utilização em diferentes cultivos, como soja, milho, algodão, cana-de-açúcar, várias frutíferas e hortaliças. Portanto, diversos tipos de reguladores vegetais encontram-se disponíveis na forma de um grupo hormonal específico ou como combinação de diferentes grupos hormonais ou grupos hormonais com minerais (FAGAN et al., 2015).

Apesar de todos os benefícios que podem ser obtidos com a utilização desses agroquímicos de regulação hormonal, especificamente o termo “bioestimulante” ainda não é contemplado pela legislação brasileira. Em sua maioria, como já dito, esses produtos são registrados como fertilizantes para aplicação via foliar, via irrigação localizada, aplicação no sulco de plantio ou aplicação nas sementes (SILVA et al., 2012). No âmbito legal, são qualificados como produtos que contém ingrediente ativo capaz de melhorar, direta ou indiretamente, o desenvolvimento das plantas (BRASIL, 2008). Ademais, os produtos contendo reguladores vegetais sintéticos, ou a sua mistura, são registrados no MAPA na classe “Regulador do Crescimento Vegetal”, seguindo a Legislação dos Agrotóxicos (MÓGOR, 2011).

Nunes (2010) destaca que o registro desses produtos para uso no território nacional é dificultado pela demora, burocracia e grau de exigência dos órgãos governamentais (MAPA, Ibama e Anvisa). Embora produtos compostos por extratos vegetais, extratos de algas, aminoácidos, polissacarídeos, ácidos húmicos e fúlvicos, dentre outros, já estejam classificados na legislação de várias formas, como fertilizantes minerais, orgânicos, organominerais, agentes quelantes e aditivos, suas propriedades biológicas não podem ser divulgadas por questão de legislação, muito embora estejam liberados para uso pelo MAPA. Tal fato constitui-se em barreira a aplicação dessa técnica no país (SILVA et al., 2012).

Diante deste cenário, a falta de informações a respeito das alterações ocorridas a nível molecular, com a aplicação de bioestimulantes, é um fator contribuinte para a falta de enquadramento na legislação e a elucidação dessas vias evitaria a problemática de registro, burocracia e falta de metodologia adequada, agilizando-se o processo do registro desses produtos.

REFERÊNCIAS

ABRANTES, F. L.; DE SÁ, M. E.; DE SOUZA, L. C. D.; DA SILVA, M. P.; SIMIDU, H. M.; ANDREOTTI, M.; BUZETTI, S.; FILHO, W. V. V.; ARRUDA, N. Uso de regulador de crescimento em cultivares de feijão de inverno. **Pesq. Agropec. Trop.**, Goiânia, v. 41, n. 2, p. 148-154, 2011. DOI: <https://doi.org/10.5216/pat.v41i2.8287>.

ALCOCHETE, A.A.N. **Diversidade genética e mapeamento de QTLs do sistema gênico de macho-esterilidade termosensível (TGMS) do genoma de arroz (*Oryza sativa* L.)**. 2005. 145 f. Tese (Doutorado) - Universidade de Brasília, Brasília. 2005.

BLEEKER, P.M.; SPYROPOULOU, E.A.; DIERGAARDE, P.J.; VOLPIN, DE BOTH, H.; M. T. J.; ZERBE, P.; BOHLMANN, J.; FALARA, V.; MATSUBA, Y.; PICHERSKY, E.; HARING, M. A.; SCHUURINK, R. C. RNA-seq discovery, functional characterization, and comparison of sesquiterpene synthases from *Solanum lycopersicum* and *Solanum habrochaites* trichomes. **Plant Mol Biol**, [s.l.], v. 77, p. 323-336, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11103-011-9813-x>.

BLOOM, J. S.; KHAN, Z.; KRUGLYAK, L.; SINGH, M.; CAUDY, A. A. Measuring differential gene expression by short read sequencing: quantitative comparison to 2-channel gene expression microarrays. **BMC Genomics**, [s.l.], v. 10, p. 221-231, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2164-10-221>.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 64**, 2008. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis/>>. Acesso em: 10 out. 2022.

CASILLAS, J. C.; LONDONO, J.; GUERREIRO, H.; BUITRAGO, L. A. Análisis Cuantitativo de la aplicación de cuatro bioestimulantes em el cultivo rábano (*Raphanus sativus* L.). **Acta Agronomica**, Palmira, v. 36, p. 185-195, 1986.

CASTRO, P. R. C. **Novos Agroquímicos: controle hormonal e outros fitoquímicos**. AgroAnalysis, São Paulo, Especial Abisolo, 2010. Disponível em: <<http://bibliotecadigital.fgv.br/ojs/index.php/agroanalysis/article/viewFile/26282/25147>>. Acesso em: 23 out 2022.

CASTRO, P. R. C. **Princípios da adubação foliar**. Jaboticabal: FUNEP, 2009. 42 p.

CASTRO, P. R. C.; PITELLI, A. M. C. M.; PERES, L. E. P.; ARAMAKI, P. H. Análise da atividade reguladora de crescimento vegetal de tiametoxam através de biotestes. **Publicatio UEPG: Ciências Exatas e da Terra, Ciências Agrárias e Engenharias**. Ponta Grossa, v. 13 n. 3, p. 25-29, 2007.

CATO, S. C.; CASTRO, P. R. C. Redução da estatura de plantas de soja causada pelo ácido 2,3,5 - triiodobenzóico. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 3, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782006000300041>.

COÊLHO, J. D. **Arroz: produção e mercado**. Fortaleza: Banco do Nordeste, ano 6, n.156, mar. 2021. (Caderno Setorial ETENE, n. 156).

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Arroz**. 2022. Disponível em: <www.conab.gov.br>. Acesso em: 15 nov 2022.

CONSELVAN, G. B., PIZZEGHELLO, D., FRANCIOSO, O., FOGGIA, M. DI, NARDI, S., AND CARLETTI, P. 2017. Biostimulant activity of humic substances extracted from leonardites. **Plant Soil**, Netherland, p. 119–134, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3373-z>.

DAVIES, P. J. **Plant Hormones: biosynthesis, signal transduction, action**. Dordrecht: Kluwer Academic Publ., The Netherlands, 2004. 750 p.

DAVIES, P.J. The plant hormones concept: concentration, sensitivity, and transport. *In*: DAVIES, P.J. (ed.). **Plant hormones: physiology, biochemistry and molecular biology**. Dordrecht: Kluwer Academic Publ., 1995. p. 13-38. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-94-011-0473-9>.

DEVOS, K. M.; GALE, M. D. Comparative genetics in the grasses. **Plant Molecular Biology**, [s.l.], v. 35, p. 3–15, 1997. DOI: https://doi.org/10.1007/978-94-011-5794-0_1.

ELENA, A.; DIANE, L.; BACAICOA, E.; FUENTES, M.; BAIGORRI, R.; ZAMARREÑO, A. M.; GARCÍA-MINA, J.M. The root application of a purified leonardite humic acid modifies the transcriptional regulation of the main physiological root responses to Fe deficiency in Fe-sufficient cucumber plants. **Plant Physiology and Biochemistry**. [s.l.], v. 47, p. 215-223, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2008.11.013>.

FAGAN, E. B.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D.; CHALFUN JUNIOR, A.; DOURADO NETO, D. **Fisiologia Vegetal: reguladores vegetais**. São Paulo: Andrei, 2015. 300 p.

FERRINI, F; NICESE, F. Response of English oak (*Quercus robur* L.) trees to biostimulants application in the urban environment. **Journal of Arboriculture**, Illinois, v.28, n.2, p. 70-75, 2002. DOI: <https://doi.org/10.48044/jauf.2002.009>.

FISCHER, K. S. Toward increasing nutrient use efficiency in rice cropping systems: the next generation of technology. **Field Crops Research**, Amsterdam, n.56, p.1-6. 1998. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(97\)00139-1](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(97)00139-1).

FLOSS, E.L.; FLOSS, L.G. Fertilizantes organominerais de última geração: funções fisiológicas e uso na agricultura. **Rev. Plantio Direto**, [s.l.], v. 100, p. 26-29, 2007.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. **Base de dados FAOSTAT**, 2022. Disponível em <<http://apps.fao.org>>. Acesso em: 15 out. 2022.

GALE, M. D.; DEVOS, K. M. Comparative genetics in the grasses. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, [s.l.], v. 95, p. 1971–1974, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.95.5.1971>.

GAO, Y.; XU, H.; SHEN, Y.; WANG, J. Transcriptomic analysis of rice (*Oryza sativa*) endosperm using the RNA-Seq technique. **Plant Mol Biol**, [s.l.], v. 81, p. 363–378, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11103-013-0009-4>.

HOPKINS, W. G.; HÜNER, N. P. **Introduction to Plant Physiology**. The University of Western Ontario: John Wiley; Sons, 2004. 560 p.

HUANG, J. H. et al. Quantitative chemical extraction for arsenic speciation in rice grains. **J Anal At Spectrom**, n. 25, v. 6, p. 800–802, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1039/c002306j>.

IZIDÓRIO, T. H. C.; LIMA, S. F.; VENDRUSCULO, E. P.; ÁVILA, J.; ALVAREZ, R. C. F. Bioestimulante via foliar em alface após o transplântio das mudas. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia, v. 2, n. 2, p. 49-56, 2015. DOI: <https://doi.org/10.32404/rean.v2i2.257>.

JANNIN, L.; ARKOUN, M.; OURRY, A.; LAÎNÉ, P.; GOUX, D.; GARNICA, M.; FUENTES, M.; FRANCISCO, S. S.; BAIGORRI, R.; CRUZ, F. Microarray analysis of humic acid effects on *Brassica napus* growth: Involvement of N, C and S metabolisms. **Plant and Soil**, [s.l], v. 359, p. 297–319, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1191-x>.

JUNG, K-H.; AN, G. RONALD, P.C. Towards a better bowl of rice: assigning function to tens of thousands of rice genes. **Nat. Rev. Genetics**, [s.l], v. 9, p. 91-101, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrg2286>.

KAWAHARA, Y.; BASTIDE, M.; HAMILTON, J.P.; KANAMORI, H.; MCCOMBIE, W.R.; OUYANG, S. Improvement of the *Oryza sativa* Nipponbare reference genome using next generation sequence and optical map data. **Rice**, [s.l], v. 6, p. 1-4, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1186/1939-8433-6-4>.

KAWASAKI, S.; BORCHERT, C.; DEYHOLOS, M.; WANG, H.; BRAZILLE, S.; KAWAI, K.; GALBRAITH, D.; BOHNERT, H.J. Gene expression profiles during the initial phase of salt stress in rice. **Plant Cell**, [s.l], v. 13, p. 889-905, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1186/1939-8433-6-4>.

KOLLING, D.F, SANGOI L, SOUZA CA, SCHENATTO DE, GIORDANI W, BONIATTI CM. Tratamento de sementes com bioestimulante ao milho submetido a diferentes variabilidades na distribuição espacial das plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, n. 46, v. 2, p. 248-253, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20150504>.

KUKURBA, K. R.; MONTGOMERY, S. B.. RNA Sequencing and Analysis. **Cold Spring Harbor protocols**, [s.l], v. 11, p. 951-69, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1101/pdb.top084970>.

LACA-BUENDIA, J.P. Efeito de doses de reguladores de crescimento no algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.). **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 1, n. 1, p. 109-113, 1989.

LEE, I *et al.* Genetic dissection of the biotic stress response using a genome-scale gene network for rice. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s.l], v.108, p. 18548-18553, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1110384108>.

LIMA, A. R. C. A tecnologia dos bioestimulantes sobre os indicadores de produtividade, qualidade industrial e química de grãos de aveia. 2017. 53f.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Agronomia) - Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Ijuí. 2017.

LONG, E. **The importance of biostimulants in turfgrass management**. 2006. Disponível em: <www.golfenviro.com/article%archive/biostimulants-roots.html>. Acesso em 10 out 2022.

LYNCH, J. Root architecture and plant productivity. **Plant Physiology**, Rockville v.109, p.7-13, 1995. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.109.1.7>.

MACEDO, W. R.; CASTRO, P. R. de C. Biorreguladores, bioestimulantes e bioativadores na agricultura tropical. In: VISOTTO, L. E.; FERNANDES, F.; FILHO, A. C.; LOPES, E.; AQUINO, L. A.; FERNANDES, M. E. S.; GOD, P. I. V. G.; RUAS, R. A. A.; JÚNIOR, J. M. S. (Org.). **Avanços tecnológicos aplicados à pesquisa na produção vegetal**. Viçosa: ESALQ, 2015. 554 p.

MÓGOR, A. F. Uma Força ao Desenvolvimento da planta. **Revista a Granja**, Porto Alegre, v. 5, ed. 749, 2011. Disponível em: <http://www.edcentaurus.com.br/materias/granja.php?id=3641>. Acesso em: 23 set 2022.

NOBUTA, K.; VENU, R.C.; LU, C.; BELÓ, A.; VEMARAJU, K.; KULKARNI, K.; WANG, W.; PILLAY, M.; GREEN, P.J.; WANG, G.L.; MEYERS, B.C. An expression atlas of rice mRNAs and small RNAs. **Nat. Biotechnol**, [s.l.], v.25, p - 473-477, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1038/nbt1291>.

ONO, E.O.; RODRIGUES, J.D.; SANTOS, S.O. Efeito de fitorreguladores sobre o desenvolvimento de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) cv Carioca. **Revista Biociências**, Taubaté, v.5, n.1, p.7-13, 1999.

QUAGGIOTTI, S., RUPERTI, B., PIZZEGHELLO, D., FRANCIOSO, O., TUGNOLI, V., AND NARDI, S. Effect of low molecular size humic substances on nitrate uptake and expression of genes involved in nitrate transport in maize (*Zea mays* L.). **Journal of Experimental Botany**, [s.l.], v. 55, p. 803–813, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1093/jxb/erh085>.

RABBANI, M.A.; MARUYAMA, K.; ABE, H.; KHAN, M.A.; KATSURA, K.; ITO, Y.; YOSHIWARA, K.; SEKI, M.; SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Monitoring expression profiles of rice genes under cold, drought, and high-salinity stresses and abscisic acid application using cDNA microarray and RNA get-blot analyses. **Plant Physiol**, [s.l.], v.133, p.1755–1767, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.103.025742>.

RICE ANNOTATION PROJECT. The Rice Annotation Project Database (RAP-DB): 2008 update. **Nucleic Acids Research**, v. 36, p. D1028–D1033, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkm978>.

RIGAL, A.; MA, Q.; ROBERT, S. Unraveling plant hormone signaling through the use of small molecules. **Frontiers in Plant Science**. [s.l.], v.5, p.1-20, 2014. DOI: 10.3389/fpls.2014.00373.

RODRIGUES, J. D.; RODRIGUES, L. F. O.; WEBER, R. Biorreguladores em hortaliças e frutas. **Campo & Negócio**, Uberlândia, p. 37-43, 2015.

ROSSETO, R. **Manejo para aumentar a brotação, enraizamento, perfilhamento e a longevidade do canavial: Uso de bioestimulantes**. Piracicaba: APTA Regional, Campinas, 2008.

RUSSO, R.O.; BERLYN, G.P. The use of organic biostimulants to help low input sustainable agriculture. **Agronomy for Sustainable Development**, Versailles, v.1, n.2, p.19-42, 1992. DOI: https://doi.org/10.1300/J064v01n02_04.

SANTOS, L. C. B. **Análise do transcriptoma total de raízes de plântulas de arroz (*Oryza sativa* L.) colonizadas por *Herbaspirillum seropedicae* SmR1**. 2014. 111 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

SILVA, L. C. F.; MANIERO, M. A.; CASAGRANDE, J. C.; STOLF, R.; PIEDADE, S. M. S. Agricultura bioestimulada. **Cultivar Grandes Culturas**, Pelotas, v. 14, p. 34-35, 2012.

SILVEIRA, R. D. D. **Análise do transcriptoma de arroz de terras altas (*Oryza sativa* L.) cultivado sob condição de seca**. 114 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2019.

SIQUEIRA, A.P.P. de; SIQUEIRA, M. F.B. de. **Bokashi: adubo orgânico fermentado**. Niterói: Programa Rio Rural, 2013. 16 p. (Programa Rio Rural. Manual Técnico, 40).

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 369 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Plant Physiology and Development**. 6th ed. Sunderland, MA: Sinauer Associates, 2015. 761p.

TAKEDA, S.; MATSUOKA, M. Genetic approaches to crop improvement: responding to environmental and population changes. **Nature Reviews Genetics**, New York, v.9, p. 444-57, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrg2342>.

TYAGI, A. K.; KHURANA, J. P.; KHURANA, P.; RAGHUVANSHI, S.; GAUR, A.; KAPUR, A.; GUPTA, V.; KUMAR, D.; RAVI, V.; VIJ, S.; KHURANA, P.; SHARMA, S. Structural and functional analysis of rice genome. **Journal of Genetics**, [s.l.], v.83, p.79-99, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF02715832>.

VAN VLIET, A. H. M. Next generation sequencing of microbial transcriptome: challenge and opportunities. **FEMS Microbiology Letters**, [s.l.], v. 302, p. 1-7, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2009.01767.x>.

VASCONCELOS, A.C.P de. **Bioestimulantes contendo silício e micronutrientes aplicados via foliar em arroz de sequeiro**. 2016. 119 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia. 2016.

VIEIRA, E. L. **Ação de bioestimulantes na germinação de sementes, vigor de plântulas, crescimento radicular e produtividade de soja (*Glycine max* (L.) Merrill), feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) e arroz (*Oryza sativa* L.)**. 2001. 122 f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2001.

WALTER, M.; MARCHEZAN, E.; AVILA, L. A. de. Arroz: composição e características nutricionais. **Cienc. Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 4, p. 1184-1192, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782008000400049>.

WANG, Z.; GERSTEIN, M.; SNYDER, M. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. **Nature Reviews Genetics**, [s.l.], v. 10, n.1, p.57-63, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrg2484>.

XU, H.; GAO, Y.; WANG, J. Transcriptomic Analysis of Rice (*Oryza sativa*) Developing Embryos Using the RNA-Seq Technique. **PLOs ONE**, [s.l.], n.7, v. 2, p. 30646, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030646>.

ZANDONADI, D. B.; CANELLAS, L. P.; AND FAÇANHA, A. R. Indolacetic and humic acids induce lateral root development through a concerted plasmalemma and

tonoplast H⁺ pumps activation. **Planta**, [s.l], v. 225, p.1583–95, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00425-006-0454-2>.

ZHANG, G.; GUO, G.; HU, X.; ZHANG, Y.; LI, Q.; LI, R.; ZHUANG, R.; LU, Z.; HE, Z.; FANG, X.; CHEN, L.; TIAN, W.; TAO, Y.; KRISTIANSEN, K.; ZHANG, X.; LI, S.; YANG, H.; WANG, J.; WANG, J. Deep RNA sequencing at single base-pair resolution reveals high complexity of the rice transcriptome. **Genome Research**, [s.l], v. 20, p. 646-654, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1101/gr.100677.109>.

ZHANG, M.; SMITH, J. A. C.; HARBERD, N. P.; AND JIANG, C. The regulatory roles of ethylene and reactive oxygen species (ROS) in plant salt stress responses. **Plant Molecular Biology**, [s.l], v.91, p. 651–659, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11103-016-0488-1>.

CAPÍTULO 2

ASPECTOS NUTRICIONAIS DA APLICAÇÃO FOLIAR DE BIOESTIMULANTES E SILÍCIO EM ARROZ DE TERRAS ALTAS

ASPECTOS NUTRICIONAIS DA APLICAÇÃO FOLIAR DE BIOESTIMULANTES E SILÍCIO EM ARROZ DE TERRAS ALTAS

Ana Carolina Pereira de Vasconcelos¹; Hamilton Seron Pereira²

RESUMO

Atualmente, um dos maiores desafios da agricultura mundial é desenvolver sistemas agrícolas sustentáveis que possam produzir alimentos de qualidade em quantidade suficiente, com reduzido impacto nos recursos do ambiente. Neste sentido, a adoção de produtos alternativos e inovadores que resultem na redução do uso de insumos de alto custo econômico e ambiental representa uma estratégia viável para produtores que estejam buscando adotar sistemas produtivos mais sustentáveis, sem reduzir a produtividade das culturas e dentro destas novas tecnologias destaca-se o uso dos bioestimulantes. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência de bioestimulantes e ácido monossilícico nos aspectos nutricionais e vegetativos em arroz (*Oryza sativa* L.). O experimento foi realizado em casa de vegetação pertencente à Universidade Federal de Uberlândia (UFU). Foram utilizados vasos com 10 dm³ de solo classificado como Neossolo Quartzarênico, utilizando-se a cultivar BRS Primavera. Foram avaliados dois bioestimulantes em suas doses comerciais e um ácido monossilícico (em fase de testes para posterior registro junto ao Ministério da Agricultura), e uma testemunha, aplicados via foliar, no estágio de desenvolvimento V4. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com seis repetições. Foram determinadas a massa de matéria seca da parte aérea e os teores e acúmulo de macro e micronutrientes. Os dados obtidos foram submetidos aos testes de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e de homogeneidade das variâncias de Levene, ambos a 0,01 de significância, com o aporte do programa R. Em seguida, os dados foram submetidos a análises estatísticas utilizando-se o programa R, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 0,05 de significância. De modo geral, a aplicação de bioestimulantes e ácido monossilícico altera os teores foliares de cálcio, manganês, boro e cobre.

Palavras-chave: Adubação foliar; agroquímicos de regulação hormonal; nutrição de plantas; *Oryza sativa*; silício.

² Doutoranda em Fitotecnia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG.

³ Doutor, Professor Titular, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG.

NUTRITIONAL ASPECTS OF THE FOLIAR APPLICATION OF BIOSTIMULANTS AND SILICON IN HIGHLAND RICE

ABSTRACT

Currently, one of the biggest challenges facing agriculture worldwide is to develop sustainable agricultural systems that can produce enough quality food with reduced impact on environmental resources. In this sense, the adoption of alternative and innovative products that result in the reduction of the use of inputs of high economic and environmental cost, represents a viable strategy for producers who are seeking to adopt more sustainable production systems, without reducing crop productivity and within these new technologies, the use of biostimulants stands out. The objective of this study was to evaluate the influence of biostimulants and monosilicic acid on nutritional and vegetative aspects of rice. The experiment was carried out in a greenhouse belonging to the Federal University of Uberlândia (UFU). Pots with 10 dm³ of soil classified as Quartzarenic Neosol were used, using the cultivar BRS Primavera. Two biostimulants were evaluated in their commercial doses, one monosilicic acid (in the testing phase for later registration with the Ministry of Agriculture) and a control, applied via foliar, at the V4 development stage. The experimental design was completely randomized, with six replications. The shoot dry matter mass and the levels and accumulation of macro and micronutrients were determined. The data obtained were submitted to Kolmogorov-Smirnov normality tests and Levene's homogeneity of variances tests, both at 0.01 significance, with the contribution of the R program. Then, the data were submitted to statistical analysis using the R program, with means being compared by Tukey's test at 0.05 significance. In general, the application of biostimulants and monosilicic acid alters the foliar contents of calcium, manganese, boron and copper.

Keywords: *Ascophyllum nodosum*. Hormone regulating agrochemicals. Leaf fertilization. *Oryza sativa* L. Plant nutrition. Silicon.

1 INTRODUÇÃO

O arroz é um dos grãos em maior produção e consumo no mundo. A quantidade desse grão produzido no cenário mundial não vem acompanhando a necessidade do consumo. A produção mundial de arroz beneficiado na safra 2021/22 foi de aproximadamente 508 milhões de toneladas (FAO, 2022), registrando a primeira queda nos últimos 6 anos, enquanto o consumo sobe para 518 milhões.

Dados da USDA (2022) apontam a previsão de uma menor produção mundial, contrastando com um consumo maior e, em consequência, redução nos estoques deste grão. Estes dados despertam grande preocupação quanto à estabilidade da produção mundial (EMBRAPA, 2022). No Brasil, nos últimos 10 anos, o consumo tem ficado em torno de 12 milhões de toneladas anuais em casca, o que equivale a 8 milhões de toneladas de arroz beneficiado (CONAB, 2020).

Segundo o acompanhamento da safra brasileira de grãos (CONAB, 2022), em relação às principais áreas produtoras no país, na safra 2021/22, houve uma redução na produtividade das lavouras, devido a condições de estiagem e a consequente escassez nos níveis dos reservatórios para a irrigação que, consequentemente, provocaram também a perda na qualidade dos grãos em algumas regiões. Ademais, as altas temperaturas no período crítico da floração prejudicaram o potencial produtivo das lavouras e, além disso, houve regiões em que a finalização da colheita atrasou devido ao excesso de chuvas.

Diante deste cenário, atualmente, um dos maiores desafios da agricultura mundial é desenvolver sistemas agrícolas sustentáveis que possam produzir alimentos e fibras de qualidade em quantidade suficiente, com reduzido impacto nos recursos do ambiente. Neste sentido, a adoção de produtos alternativos e inovadores que resultem na redução do uso de insumos de alto custo econômico e ambiental representa uma estratégia viável para produtores que estejam buscando adotar sistemas produtivos mais sustentáveis, sem reduzir a produtividade das culturas e, dentro destas novas tecnologias, destaca-se o uso dos bioestimulantes.

Aplicados diretamente sobre a planta ou na rizosfera, os bioestimulantes podem contribuir na melhoria das propriedades físico-químicas do solo, na absorção, translocação e uso dos nutrientes pelas plantas, incluindo aumento de resistência a estresses bióticos ou abióticos, extremamente importantes em situações de veranicos, podendo ser usado nas diversas fases do desenvolvimento vegetal, desde a germinação

até a maturidade (CALVO et al., 2014; DU JARDIN, 2015; CANELLAS et al., 2015; HALPERN et al., 2015; VAN OOSTEN et al., 2017; YAKHIN et al., 2017).

Estes produtos quando aplicados às plantas modificam ou alteram vários processos metabólicos e fisiológicos específicos. O bioestimulante pode, em função da sua composição, concentração e proporção das substâncias, incrementar o crescimento e desenvolvimento vegetal estimulando a divisão celular, diferenciação e o alongamento das células, podendo também, aumentar a absorção e a utilização de água e dos nutrientes pelas plantas (CASTRO; VIEIRA, 2001).

Em termos práticos, contudo, estudos que abordem o efeito da aplicação foliar de bioestimulantes nos aspectos nutricionais em diversas culturas e, em especial na cultura do arroz, ainda são relativamente escassos no Brasil, com resultados insuficientes e contraditórios. Dessa forma, há a necessidade de se avaliar como esses produtos interferem em aspectos agronômicos e nutricionais nos cultivos. Nesse sentido, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência de fontes bioestimulantes, aplicadas via foliar, em parâmetros biométricos e nutricionais em arroz de sequeiro.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi instalado em casa de vegetação pertencente à Universidade Federal de Uberlândia (UFU), localizada no município de Uberlândia, Minas Gerais, situada a 18° 35' de Latitude Sul, 47° 52' de Longitude Oeste e 931 m de altitude. O experimento foi implantado no dia 03 de maio de 2019, com avaliação aos 102 DAE (dias após a emergência).

Foram utilizados vasos com 10 dm³ de solo, classificado como Neossolo Quartzarênico Órtico típico (EMBRAPA, 2018), cuja caracterização física (Tabela 1) foi realizada no Laboratório de Manejo de Solo da Universidade Federal de Uberlândia (LAMAS/UFU), de acordo com EMBRAPA (2017). A escolha de um solo arenoso se baseia no fato de que, por apresentar baixo teor de silício (Si) disponível, a absorção desse elemento (proveniente do solo) pela cultura do arroz seria mínima, a ponto da planta se tornar pouco capaz de suprir suas necessidades do elemento através do solo.

Tabela 1 - Análise física do solo utilizado nos experimentos.

Solo	Areia Grossa	Areia Fina	Silte	Argila
----- g kg ⁻¹ -----				
RQo - Neossolo Quartzarênico Órtico típico	626	218	1	155

Análise textural pelo Método da Pipeta (EMBRAPA, 2017).

A análise química foi realizada no Laboratório de Análise de Solos da Universidade Federal de Uberlândia (LABAS/UFU) seguindo metodologia de EMBRAPA (2017). O teor de Si no solo foi determinado no Laboratório de Fertilizantes da Universidade Federal de Uberlândia (LAFER/UFU) seguindo metodologia proposta por Korndörfer et al. (2004). As características químicas do solo anteriores a sua correção encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2 - Caracterização química do solo anterior à instalação do experimento.

pH	Al ³⁺	H+Al	SB	t	CTC	V			m	M.O.	
	-----		cmol _c dm ⁻³	-----		----- % -----				g kg ⁻¹	
4,1	0,5	1,9	0,22	0,72	2,12	10			69	1,1	
P	P rem	Si	S	K	Ca	Mg	B	Cu	Fe	Mn	Zn
-----mg dm ⁻³ -----				----- cmol _c dm ⁻³ -----			-----mg dm ⁻³ -----				
1,1	35,9	2,8	6	0,02	0,1	0,1	0,09	1,1	67	1,9	0,3

P, K = (HCl 0,05 N + H₂SO₄ 0,025 N); Al, Ca, Mg = (SPT 1 N); M.O. = (Walkley-Black); Si = (CaCl₂ 0,5 mol L⁻¹); SB = Soma de bases / t = CTC efetiva / T = CTC a pH 7,0 / V = Sat. por Bases / m = Sat. por Al.

A correção do solo foi feita utilizando-se carbonato de cálcio (CaCO₃) e carbonato de magnésio (MgCO₃) (p.a.) nas quantidades de 4,75 g e 1,16 g por vaso, respectivamente. O solo foi incubado por 60 dias, recebendo umidade suficiente para que os corretivos pudessem reagir durante todo o período. Para tal, foram realizados teste de capacidade de campo e reposição da água perdida por evaporação. Os vasos foram rotacionados de forma que o ambiente fosse o mais homogêneo possível. Após a incubação do solo foi realizada uma nova análise química para verificar se o solo fora corrigido adequadamente, atingindo-se o valor de V% igual a 60. Os valores estão dispostos na Tabela 3.

Tabela 3 - Caracterização química do solo após incubação.

pH	Al ³⁺	H+Al	SB	t	CTC		V	m			M.O.
	-----		cmol _c dm ⁻³	-----			-----	%	-----		g kg ⁻¹
6,2	0,0	1,2	2,61	2,61	3,81		68		0		1,1
P	P rem	Si	S	K	Ca	Mg	B	Cu	Fe	Mn	Zn
-----mg dm ⁻³			-----cmol _c dm ⁻³			-----mg dm ⁻³					
0,5	32,0	2,8	3	0,01	2,3	0,3	0,0	1,0	32	1,6	0,2

P, K = (HCl 0,05 N + H₂SO₄ 0,025 N); Al, Ca, Mg = (SPT 1 N); M.O. = (Walkley-Black); Si = (CaCl₂ 0,5 mol L⁻¹); SB = Soma de bases / t = CTC efetiva / T = CTC a pH 7,0 / V = Sat. por Bases / m = Sat. por Al.

Antes da semeadura, foram incorporados ao solo 400 mg kg⁻¹ de fósforo (P) e 200 mg kg⁻¹ de potássio (K), provenientes das fontes MAP e KCl, respectivamente e 50 mg kg⁻¹ do produto FTE BR-12, que contém 9% zinco (Zn), 7,1% cálcio (Ca), 5,7% enxofre (S), 2% manganês (Mn), 1,8% boro (B), 0,8% cobre (Cu) e 0,1% molibdênio (Mo). A semeadura do arroz foi realizada distribuindo-se 20 sementes viáveis por vaso, a uma profundidade de 0,5 cm, utilizando-se a cultivar BRS Primavera. Aos 10 DAE foi realizado o desbaste, deixando-se dez plantas por vaso. Aos 15 e 30 DAE foi realizada a adubação de cobertura parcelada, sendo utilizados 100 mg kg⁻¹ por cobertura, totalizando 200 mg kg⁻¹, com sulfato de amônio diluído em água a uma concentração de 5 g L⁻¹ de N. Aplicaram-se 100 mL da solução por vaso.

A irrigação foi realizada por gotejamento, com 100 a 400 mL por dia, de acordo com a necessidade da cultura. Durante todo o período de condução do experimento a temperatura e umidade foram aferidas por meio de uma central automatizada, registrando os dados a cada hora e programada para manter a temperatura abaixo de 33°C e umidade acima de 50%, com o auxílio de exaustores e climatizadores. Os dados registrados estão demonstrados na Figura 1.

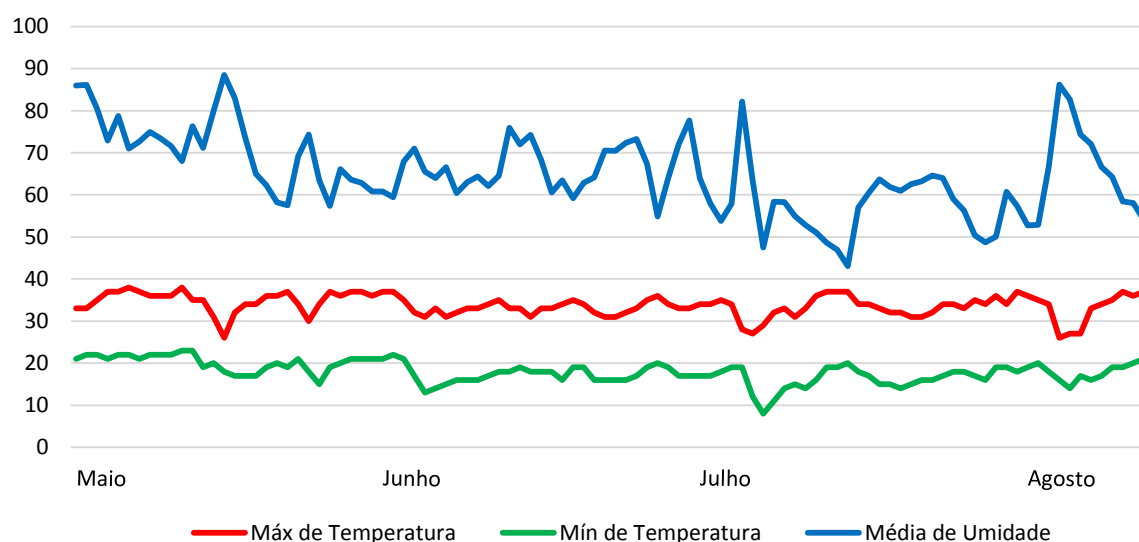


Figura 1 – Temperatura (°C) e umidade (%) registradas por central automatizada durante o período do experimento.

Foram utilizados nos tratamentos dois bioestimulantes e uma solução de ácido monossilícico, aplicados via foliar, em suas doses comerciais (Tabela 4) e com volume de calda de 25 mL por vaso.

Tabela 4 – Tratamentos, doses e aplicação dos produtos em teste.

Tratamentos	Produtos	Doses (L ha ⁻¹)	Aplicação mL / 100 mL
T1	Água *	0	0,00
T2	Vorax	0,05	0,05
T3	ExpertGrow	0,05	0,05
T4	BioSil	33	33

* Controle

Vorax®: pertencente à Microquímica Indústria Química Ltda., contém 4% de N (50 g L⁻¹ de N), 18% de Carbono Orgânico Total (225 g L⁻¹ de COT), 30% de aminoácido Ácido L-Glutâmico, 1% extrato de alga e 0,5% de tensoativo.

ExpertGrow®: pertencente à Adama Brasil S/A, é formulado a base de extrato de algas marinhas (*Ascophyllum nodosum*) e 3,5% de hidróxido de potássio.

BioSil: em fase de testes para posterior registro junto ao Ministério da Agricultura, é obtido a partir da transformação do silicato de potássio em ácido monossilícico (que é a forma disponível para as plantas), usando resina trocadora de cátions e estabilizado com ácido bórico.

Nas Tabelas 5 e 6 estão apresentadas a composição de nutrientes e a composição hormonal de extrato da alga marinha *Ascophyllum nodosum*, respectivamente.

Tabela 5 - Composição de nutrientes de extrato de algas marinhas (*Ascophyllum nodosum*), dissolvido em água a uma concentração de 67 g L⁻¹ DW.

Elemento	Concentração (ppm)	Elemento	Concentração (%)
Ca	572	C	1,79
Cu	6	H	9,89
Fe	20	N	0
K	4,442	O	87,3*
Mg	616		
Na	2,078		
P	78		
S	1782		
Si	18		
Zn	1,2		

* Determinação por diferença. (JANNIN et al., 2013)

Tabela 6 - Composição hormonal de extrato de algas marinhas (*Ascophyllum nodosum*).

Fitormônio	AIA	ABA	Z	DHZ	tZR	cZR	DHZR
Teor	7,53	17,63	ND	ND	ND	ND	ND
Fitormônio	iP	iPR	BAR	mT	mTR	oT	oTR
Teor	16,11	0,46	ND	ND	ND	ND	ND

Os conteúdos são expressos em pmol g⁻¹. Fitormônios: auxina (AIA), ácido abscísico (ABA), citocininas: zeatina (Z), dihydrozeatina (DHZ), trans-zeatina (tZR), cis-zeatina (CZR), riboside dihydrozeatina (DHZR), iso-pentil-adenina (iP), iso-pentil-adenosina (iPR), benziladenina riboside (BAR), meta-topolin (MT), meta-topolin riboside (MTR), orto topolin (OT) e orto-topolin riboside (OTR). ND = não detectado. (JANNIN et al., 2013)

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com seis repetições, totalizando 24 vasos, sendo cada vaso uma parcela. Foram realizadas as avaliações de massa de matéria seca (g) de parte aérea (MSA) total da parcela (ou vaso), onde as plantas de cada tratamento foram seccionadas à altura do colo, separando-se a parte aérea da raiz. As folhas (parte aérea) foram levadas para estufa a 65°C, até atingirem massa constante. Após 72 horas, foram pesadas em balança de precisão e tiveram extraídos seus teores de macro e micronutrientes foliares, segundo EMBRAPA (2017), e o teor de Si de acordo com Korndörfer et al. (2004).

Para o cálculo de acúmulo de nutrientes, foram utilizadas as seguintes fórmulas:

- Acúmulo de macronutrientes (g parcela^{-1}) = massa de matéria seca de parte aérea (g parcela^{-1}) x teor do nutriente (g kg^{-1}) : 1000.
- Acúmulo de micronutrientes (mg parcela^{-1}) = massa de matéria seca de parte aérea (mg parcela^{-1}) x teor do nutriente (mg kg^{-1}) : 1000.

Os dados obtidos foram submetidos aos testes de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e de homogeneidade das variâncias de Levene, ambos a 0,01 de significância, com o aporte do programa R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2010). Em seguida, os dados foram submetidos a análises estatísticas utilizando-se também o programa R, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 0,05 de significância.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 7 estão demonstrados os teores foliares de nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K) (g kg^{-1}) e a produção de massa de matéria seca da parte aérea (MSA) (g) do arroz (*Oryza sativa* L.), em função da aplicação de bioestimulantes e ácido monossilícico. Observa-se que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) para os teores desses nutrientes e no incremento de MSA.

Tabela 7 - Produção de massa de matéria seca e teores de nitrogênio, fósforo e potássio da parte aérea de arroz, em função da aplicação de bioestimulantes e ácido monossilícico.

Bioestimulante	MSA	N	P	K
	---- g ----	----- g kg ⁻¹ -----		
Controle	73,28	13,80	2,97	9,33
Biosil	76,78	13,23	2,83	9,17
ExpertGrow	73,91	12,55	3,05	9,33
Vorax	70,88	13,15	2,98	10,00
CV %	6,96	6,99	10,05	13,59
DMS	8,54	1,53	0,50	2,14

Já com relação ao acúmulo de N, P e K na parte aérea do arroz, também não foram observadas diferenças significativas ($p>0,05$) com a aplicação dos produtos (Tabela 8) em consonância com a Tabela 7.

Tabela 8 - Acúmulo de nitrogênio, fósforo e potássio na parte aérea de arroz, em função da aplicação de bioestimulantes e ácido monossilícico.

Bioestimulante	N	P	K
	----- g parcela ⁻¹ -----		
Controle	1,01	0,22	0,69
Biosil	1,02	0,22	0,70
ExpertGrow	0,94	0,23	0,68
Vorax	0,93	0,21	0,70
CV %	9,18	10,62	12,81
DMS	0,15	0,04	0,15

No que diz respeito à produção de MSA (Tabela 7), diversos trabalhos demonstram resultados similares aos obtidos no presente estudo, onde a utilização de bioestimulantes em diversas culturas não resultou em incrementos significativos de MSA. Não obstante, Santos et al. (2013) verificaram que o uso de bioestimulante composto por auxina e citocinina não influenciou na produção de MSA. Também, Olsen et al. (2017) não observaram diferenças no incremento de MSA em arroz, sob tratamento com bioestimulante.

Dados semelhantes foram verificados por Rodrigues et al. (2015) que estudando o efeito de doses de bioestimulante nas características fisiológicas de sementes de arroz, observaram que a MSA não foi afetada pelas doses do bioestimulante. Semelhantemente, na cultura do feijoeiro, Alleoni et al. (2000), Vieira e Castro (2003) e Almeida e Soratto (2014), também não verificaram efeito da aplicação de bioestimulante, via foliar, no acúmulo de MSA. Ainda, Stamatiadis et al. (2015), em experimento com trigo submetido à aplicação foliar de bioestimulante à base de algas marinhas (*Ascophyllum nodosum*), tampouco observaram diferenças no incremento de MSA, assim como no presente estudo. Ávila et al. (2010), Mauad et al. (2003) e Carvalho (2000) também não observaram diferenças na produção de MSA do arroz com a aplicação de fonte de Si.

Garcia et al. (2009), estudando o crescimento da parte aérea de arroz submetido a doses de P, na presença e ausência de bioestimulante, concluíram que a eficiência

deste pode ser observada apenas nas menores doses de adubo fosfatado, em que as determinações de MSA tiveram acréscimos em relação à ausência de produto. Assim, deduziram que, em caso de baixa disponibilidade de P, a utilização de bioestimulantes pode proporcionar aumentos na produção de MSA. Pode-se inferir que, como neste estudo, o solo estava com teores adequados de P e o potencial estímulo que a fonte bioestimulante daria ao incremento de MSA não foi efetiva, não havendo assim, diferenças significativas ($p>0,05$) entre os tratamentos (Tabela 7).

No entanto, apesar da não diferenciação estatística entre os tratamentos ($p>0,05$), observa-se que com o uso de ácido monossilícico (BioSil), houve um incremento em torno de 4,5% na MSA, comparando-se com a testemunha e, de até 7,5%, em relação aos demais tratamentos (Tabela 7). Normalmente, a aplicação de Si estimula vários processos na planta, tais como: maior rigidez estrutural dos tecidos; redução da transpiração; aumento da resistência mecânica das células; folhas mais eretas e; diminuição do autossombreamento (DEREN, 2001), conferindo maior captação da energia luminosa, favorecendo o aumento da taxa fotossintética e a produção de biomassa (TAKAHASHI, 1995; CARVALHO-PUPATTO et al., 2003). Contudo, assim como no presente estudo, outros autores também verificam que o uso do Si não influenciou na produção de MSA em plantas de arroz (TANAKA; PARK, 1966; LIANG et al., 1994; CARVALHO, 2000; MAUAD et al., 2003; ÁVILA et al., 2010; MAUAD et al., 2011; VASCONCELOS, 2016; PRADO, 2017; FERNANDES, 2020; CUNHA, 2021).

Uma questão relacionada à aplicação de silicatos via foliar é a formação de polímeros pela solução de silicato de potássio na superfície da cutícula foliar, fazendo com que a absorção de Si pela folha do arroz seja pouco eficiente, dificultando a sua absorção (VASCONCELOS, 2016). Iler (1979) e Menzies et al. (1992) relataram a formação de uma película esbranquiçada sobre a folha que, com o aumento da concentração de Si, pode formar polímeros de cadeias longas a partir do ácido monossilícico (H_4SiO_4) que se transformam em ácido polisilícico e se polimerizam facilmente em meio ácido. Visualmente, neste estudo, pôde-se observar a formação de uma película branca sobre as folhas, com a aplicação de ácido monossilícico obtido do silicato de potássio. Essa observação reforça o argumento desses autores, sendo a planta beneficiada, nesse caso, conforme já explanado, pela melhoria na arquitetura das plantas, que se desenvolvem com folhas mais eretas, facilitando a interceptação dos raios solares (TAIZ; ZEIGER, 2017).

Em relação aos aspectos nutricionais, há um forte questionamento na comunidade científica acerca da ação de extratos de algas (provenientes de bioestimulantes) em cultivos manejados em níveis adequados de nutrientes, como no caso do presente estudo, pois é esperado que a sua utilização seja mais adequada em culturas cultivadas sob déficits nutricionais. Nesse contexto, autores como Cunha (2021), Fernandes (2020), Vasconcelos (2016), Stamatiadis et al. (2015), Featonby-Smith e Van Staden (1987) e Mooney e Van Staden (1985) relataram aumentos de rendimento com a utilização de extratos de algas em culturas com suprimento adequado de nutrientes, evidenciando, dessa forma, a capacidade destes produtos em aumentar a eficácia dos fertilizantes convencionais.

Segundo Scalon et al. (2009), os bioestimulantes, além de atuarem nos processos de divisão e de alongamento celular, podem aumentar a absorção e a utilização dos nutrientes, atuando em diversas etapas do metabolismo das plantas e sendo eficientes quando aplicados como fertilizantes foliares. Ainda, de acordo com Khan et al. (2009), quando aplicados em pequenas quantidades, os extratos de algas marinhas apresentam efeitos benéficos que têm sido atribuídos a compostos reguladores de crescimento de plantas, fitormônios e, possivelmente, micronutrientes, que estimulam o crescimento do sistema radicular e a absorção mineral. Assim, espera-se que haja diferenças no conteúdo de nutrientes presentes nos tecidos vegetais tratados com esses produtos.

Em relação aos teores de N foliar (Tabela 7), de acordo com Malavolta (2006), se encontram abaixo do nível adequado considerado para a cultura do arroz. Segundo Maia et al. (2005), esse efeito é demonstrado quando a taxa de crescimento relativo de MSA é superior à taxa de absorção relativa do nutriente. Também, outro efeito que contribui para a diminuição dos teores na planta é a translocação do nutriente das folhas mais velhas para o fruto (ou enchimento de grãos), que é um dreno. Isso se deve a grande demanda por N nesses estágios da cultura, devido à formação e desenvolvimento de estruturas reprodutivas, consideradas drenos fortes (FAGERIA, 1999).

O N participa de importantes processos metabólicos na fotossíntese, como constituinte da clorofila e pigmentos, entre outras funções e, por isso, sua deficiência resulta em redução de perfilhamento e desenvolvimento da planta, adiantamento da senescência e pode tornar a planta mais suscetível ao ataque de doenças (ZAMBOLIM et al., 2012). De acordo com Vieira (2017), o N é um nutriente essencial requerido por todos os organismos vivos e, frequentemente, limita a produção primária em ecossistemas aquáticos e terrestres. Este elemento é necessário em grandes quantidades,

uma vez que está presente na composição das mais importantes biomoléculas, tais como ATP, NADH, NADPH, clorofila, proteínas, inúmeras enzimas, ácidos nucleicos e de outros constituintes celulares. As proteínas sozinhas compreendem 60% ou mais do N das plantas e de células microbianas.

Não obstante, em muitos sistemas de produção, a disponibilidade de N é quase sempre um fator limitante, influenciando o crescimento da planta mais do que qualquer outro nutriente. Em agrossistemas agrícolas, um dos problemas com a utilização de fertilizantes nitrogenados consiste na baixa eficiência de sua utilização pelas plantas, raramente ultrapassando 30 a 40%. Isto ocorre porque este elemento apresenta um acentuado dinamismo no sistema solo, em consequência das transformações a que está sujeito e que podem levar a perdas deste elemento para o ambiente por meio da volatilização de NH_3 , lixiviação do NO_3^- e emissão de N_2 , N_2O e de outros óxidos de nitrogênio (VIEIRA, 2017), o que também pode resultar em um baixo teor deste nas folhas.

Para o K (Tabela 7), observa-se que os teores foliares deste elemento encontram-se abaixo do nível adequado considerado para a cultura do arroz, considerada por Malavolta (2006). Baixos teores de K na cultura de arroz não são tão comuns como os de N e de P. Entretanto, em solos muito arenosos, como os utilizado neste experimento (Tabela 1), com baixa capacidade de retenção de K, pode ocorrer deficiência deste elemento (FAGERIA et al., 1995). Outra possibilidade é que a utilização de N amoniacal, encontrado em fontes como sulfato de amônio e o MAP empregados na adubação do arroz neste experimento, possuem carga positiva (NH_4^+), propriedade que pode resultar em alguns efeitos sobre a dinâmica de assimilação de alguns nutrientes do solo pelas raízes, pois devido à carga positiva do íon amônio, há uma interação de antagonismo indesejada com outros íons de carga semelhante, como o do potássio (K^+), o que pode ocasionar uma má absorção deste nutriente pela planta (TAIZ; ZEIGER, 2017; MALAVOLTA, 2006).

Uma função importante do K na planta é em relação às reações enzimáticas. Ele atua como ativador, sendo importante para vários processos fisiológicos, como crescimento meristemático, distribuição da água, fotossíntese e transporte a longas distâncias (MALAVOLTA, 2006; KERBAUY, 2012). O K é o macronutriente mais absorvido pela planta do arroz e, apesar deste nutriente ser muito exigido, a maior parte do K extraído pela cultura do arroz permanece na palhada (FAGERIA et al., 1995).

Assim como no presente estudo, Buck (2006) e Zanão Júnior et al. (2009), estudando a aplicação de silicato de potássio em arroz, e Bognola et al. (2011), em eucalipto, relataram que a aplicação desse produto não alterou significativamente os teores foliares de K. Barbosa (2006), avaliando o efeito da aplicação de bioestimulante em três cultivares de arroz, observou que os teores de K não diferiram entre as doses aplicadas. Lana et al. (2009), estudando o efeito da aplicação de bioestimulante em diferentes doses e vias de aplicação (semente e foliar), também não observaram diferenças nos teores foliares de K na cultura do feijoeiro.

Ainda, Vasconcelos (2006), estudando o efeito de diferentes bioestimulantes aplicados em diferentes doses em plantas de milho e soja, também não relatou diferenças nos teores foliares de K em ambas as culturas. Em soja, Rodrigues et al. (2009) relataram que a aplicação foliar de soluções de silicato de potássio também incrementou o teor foliar de K. Em contrapartida, diferentemente dos resultados obtidos no presente estudo (Tabela 7), Moraes et al. (2011) observaram que o teor de K nas folhas respondeu de forma linear às doses de silicato de potássio em cana-de-açúcar.

Com relação aos teores foliares de P, observa-se que não houve diferenças ($p>0,05$) em função dos tratamentos. Apesar disso, de maneira geral, independente do tratamento aplicado, os teores encontram-se acima da faixa de suficiência considerada pela CFSEMG (1999) para a cultura do arroz (Tabela 7). Assim como no presente estudo, Almeida e Soratto (2014) mostraram que os teores de P na parte aérea do feijoeiro também não foram alterados pela aplicação de bioestimulantes via foliar, assim como De Mello Frasca et al. (2019), com aplicações via foliar e semente. Em milho, Galindo et al. (2015) e Galindo et al. (2019) em trigo, tampouco observaram diferenças ($P>0,05$) no teor de P foliar com a aplicação de bioestimulantes via foliar.

O P é um nutriente muito importante no metabolismo das plantas, desempenhando papel importante na transferência de energia da célula, na respiração e na fotossíntese. É também componente estrutural dos ácidos nucleicos de genes e cromossomos, assim como de muitas coenzimas, fosfoproteínas e fosfolipídeos (GRANT et al., 2001).

Em relação aos teores foliares de cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S) e silício (Si) (Tabela 9), observa-se que houve diferenças ($p<0,05$) nos teores de Ca, em função dos tratamentos aplicados, os quais também, independente do produto utilizado, ficaram dentro do nível adequado para a cultura do arroz, considerado por Malavolta (2006). Já para os demais nutrientes, não foram observadas diferenças significativas

($p > 0,05$). Apesar disso, os níveis de S considerados adequados para a cultura do arroz, de acordo com Wilson Jr. et al. (2006), Guindani (2007) e Carmona et al. (2009), variam de 1,5 a 1,8 g kg⁻¹, tendo em vista grandes produtividades, encontrando-se, assim, em níveis adequados segundo esses autores.

Tabela 9 - Teores de cálcio, magnésio, enxofre e silício na parte aérea de arroz, em função da aplicação de bioestimulantes e ácido monossilícico.

Bioestimulante	Ca	Mg	Si	S
	----- g kg ⁻¹ -----			
Controle	5,60 c	2,70	3,15	1,75
Biosil	9,25 a	2,46	3,33	1,83
ExpertGrow	8,08 b	2,57	2,72	1,85
Vorax	6,40 c	2,63	2,90	1,78
CV %	7,52	8,45	17,06	9,6
DMS	0,92	0,36	0,86	0,29

*Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05 de significância.

Nota-se ainda que a aplicação do ácido monossilícico (BioSil) proporcionou o maior incremento de Ca foliar, seguido do bioestimulante ExpertGrow. O bioestimulante Vorax propiciou o menor teor foliar de Ca, não diferindo da testemunha (Tabela 9).

O Ca tem um papel extremamente importante na constituição dos tecidos vegetais, permite um melhor desenvolvimento das plantas, aumenta a resistência dos tecidos vegetais e favorece um melhor comportamento do caule, desenvolvimento normal do sistema radicular e melhor resistência às agressões externas (EPSTEIN; BLOOM, 2006). É um nutriente absorvido em quantidades relativamente pequenas pelas plantas e é absorvido do início ao fim do ciclo (GARGANTINI; BLANCO, 1977; GIUDICE, 1979).

Ainda, muitas das funções do Ca estão ligadas à composição estrutural de macromoléculas e relacionadas a sua capacidade de coordenação, o que confere ligações intermoleculares estáveis, mas reversíveis, principalmente nas paredes celulares e na membrana plasmática (VITTI et al., 2006). Para Amaral (2003), o Ca pode ser fornecido em altas concentrações e atingir mais de 10% do peso seco em folhas adultas, sem incorrer em sintomas de toxicidade ou inibição do crescimento da planta. Além

disso, ao contrário dos outros nutrientes, altos teores de Ca estão localizados frequentemente nas paredes celulares dos tecidos, vacúolos e apoplasto.

Para o acúmulo de Ca foliar, houve diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os produtos utilizados (Tabela 10). A aplicação de ácido monossilícico (BioSil) promoveu o maior incremento deste nutriente, em detrimento do bioestimulante Vorax, que propiciou o menor acúmulo de Ca, não diferindo da testemunha, resultados estes correlacionados com os teores deste elemento nas folhas (Tabela 9), como era esperado. Para os demais nutrientes (Tabela 10), também não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) em função da aplicação dos produtos.

Tabela 10 – Acúmulo de cálcio, magnésio, enxofre e silício na parte aérea de arroz, em função da aplicação de bioestimulantes e ácido monossilícico.

Bioestimulante	Ca	Mg	Si	S
	----- g parcela ⁻¹ -----			
Controle	0,41 c	0,20	0,23	0,13
Biosil	0,71 a	0,19	0,26	0,14
ExpertGrow	0,60 b	0,19	0,20	0,14
Vorax	0,45 c	0,19	0,20	0,13
CV %	9,59	11,92	18,88	10,0
DMS	0,09	0,04	0,07	0,02

*Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05 de significância.

Uma ressalva importante a se fazer é com relação ao Si (Tabelas 9 e 10). De acordo com Dobermann e Fairhurst (2000), teores abaixo de 5% nos tecidos foliares do arroz são considerados deficientes. Alguns estudos, como o de Bognola et al. (2011), Vasconcelos (2016), Prado (2017) e Fernandes (2020), sugerem que a aplicação de silicatos, via substrato ou foliar, mostra-se inadequada quando o substrato utilizado ou o solo apresentam composição básica equilibrada em termos de nutrientes e pH, como o utilizado no presente estudo.

Ainda, Zanão Júnior et al. (2009), avaliando as fontes silicato de potássio e ácido monossilícico aplicadas via foliar e estudando métodos de aplicação de Si para aumentar a absorção deste elemento e a resistência de plantas de arroz à mancha-parda, observaram que a aplicação de Si via foliar apresentou resultados semelhantes aos da testemunha, assim como nos teores foliares de Si e K e acúmulo de MSA, como nos resultados obtidos no presente trabalho (Tabelas 7, 8, 9 e 10).

Um problema relatado por Buck et al. (2008) diz respeito à metodologia utilizada para determinação de Si foliar. Pelo fato de existirem limitações na metodologia para as análises de Si em plantas (tecido vegetal), não se pode afirmar com certeza que o Si aplicado via foliar não foi absorvido (Tabelas 9 e 10), devido, em parte, à forma de digestão (via úmida), que nem sempre é completa, gerando-se uma alta variabilidade para esse tipo de análise. Dessa forma, pequenas diferenças no conteúdo de Si das folhas são difíceis de serem detectadas devido às referidas limitações metodológicas.

Ademais, um dos problemas no uso de silicato via foliar é a sua elevada alcalinidade, que tem sido motivo de muita discussão sobre o efeito da aplicação foliar desse elemento. Segundo Malavolta (2006), um aspecto muito importante a ser considerado para melhorar a eficiência de absorção de nutrientes via foliar é o valor do pH da calda de pulverização. De modo geral, pH abaixo de 7,0 na solução facilita a absorção de ânions, enquanto aquele acima da neutralidade favorece a absorção de cátions. Sugere-se, então, o uso de pH em torno de 6,0 quando a solução possui vários cátions e ânions, sendo esse valor considerado não prejudicial a quaisquer dos íons. No entanto, neste trabalho, avaliou-se as fontes sem a redução do pH, aplicando o produto somente com a diluição proposta para o tratamento, dessa forma, o pH da solução do tratamento com BioSil foi de pH = 9.8.

Não obstante, Rodrigues et al. (2009), avaliando o teor foliar de Si em função de doses crescentes de silicato de potássio em dois valores de pH, concluíram que não houve variação significativa no teor foliar de Si no experimento com soluções de doses crescentes de silicato de potássio em pH 10,5. Contudo, observou-se efeito linear positivo das doses crescentes de silicato de potássio em pH 5,5 no teor foliar desse elemento. Entretanto, Buck (2006), estudando a absorção de Si via foliar no controle da incidência de brusone em arroz e utilizando silicato de potássio em diferentes doses, números de aplicações e variações do pH da calda, também não observou diferenças nos teores e no acúmulo de Si na parte aérea da planta, independentemente do pH da solução e do número de aplicações das doses, assim como no presente estudo.

De acordo com Barbosa Filho e Prabhu (2002), o Si é absorvido em grandes quantidades pelo arroz, podendo ser várias vezes maior que os macronutrientes essenciais como N, P, K, Ca, Mg e S. Na literatura é citado que, para uma produção de 5 t ha⁻¹ de grãos, em média, o arroz remove do solo cerca de 230 a 470 kg ha⁻¹ de Si, ou o equivalente a 500 a 1000 kg ha⁻¹ de SiO₂. De acordo com esses autores, apesar da

importância de Si para as gramíneas, a necessidade de adubação da cultura do arroz no Brasil não tem sido tão exaustivamente avaliada como em outros países.

Além disso, a absorção foliar de Si pelas plantas não é clara, mesmo em plantas acumuladoras, como o arroz. Alguns estudos sugerem que o teor de Si de diferentes cultivares está relacionada com diferenças em seus genes de resistência ou em seus níveis de resistência a estresses (ABUMIYA, 1959; SEEBOLD et al., 2001). Bybordi (2012) e Feng et al. (2010) relataram que, com a utilização de Si, houve aumento na atividade das enzimas redutase do nitrato, glutamina sintetase, glutamato sintetase e glutamato desidrogenase, melhorando a eficiência no metabolismo de N. Como não houve diferença significativa ($p>0,05$) nos teores e acúmulo de Si (Tabelas 9 e 10), consequentemente os teores de N (Tabelas 7 e 8) não foram influenciados por esse elemento.

Na Tabela 11 observa-se que houve diferenças ($p<0,05$) nos teores de manganês (Mn) e boro (B), em função dos tratamentos aplicados. Já para os teores de cobre (Cu), ferro (Fe) e zinco (Zn) na parte área de arroz, não houve diferenças significativas ($p>0,05$) em função da aplicação dos produtos. Apesar disso, todos estes nutrientes, com exceção do B, ficaram com níveis considerados adequados para a cultura do arroz, de acordo com Malavolta (2006). Para o teor de Mn, de acordo com a CFSMG (1999), este se encontra acima da faixa de suficiência considerada para a cultura, fato que pode ser explicado pela utilização de N amoniacal (sulfato de amônio e o MAP) utilizados na adubação do arroz neste experimento, que podem aumentar o teor de Mn na folha, de acordo com Malavolta (2006), pelo efeito da disponibilidade.

Tabela 11 - Teores de cobre, ferro, manganês, zinco e boro na parte área de arroz, em função da aplicação de bioestimulantes e ácido monossilícico.

Bioestimulante	Cu	Fe	Mn	Zn	B
	mg kg ⁻¹				
Controle	6,81	219,38	187,99 a	20,52	6,46 a
Biosil	7,87	193,80	148,02 b	20,64	4,46 c
ExpertGrow	7,77	217,91	166,40 ab	20,98	5,68 b
Vorax	7,68	196,41	158,62 ab	21,23	6,56 a
CV %	11,9	21,64	13,98	5,98	6,21
DMS	1,49	74,53	38,47	2,07	0,59

*Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05 de significância.

Observa-se na Tabela 11 que os maiores teores de Mn foram obtidos no tratamento controle que, no entanto, não diferiram do tratamento com os bioestimulantes ExpertGrow e Vorax. O menor incremento de Mn foi obtido com a aplicação do ácido monossilícico (BioSil). Galindo et al. (2019) também observaram incremento no teor foliar de Mn utilizando bioestimulante contendo extrato de algas na nutrição de trigo irrigado. Ainda, Bognola et al. (2011), avaliando o efeito da aplicação de silicato de potássio via foliar no desenvolvimento de mudas de *Eucalyptus grandis*, observaram diferenças ($p < 0,05$) para os teores foliares de Mn.

Na planta, o Mn atua como ativador enzimático, como de descarboxilases, hidrolases e transferidoras de grupos (fosfoquinases e fosfotransferases), controlando reações de oxi-redução essenciais à fotossíntese. Também atua no metabolismo do N, nos compostos cíclicos como precursor de aminoácidos aromáticos, hormônios, fenóis e ligninas (HEENAN; CAMPBELL, 1980; MALAVOLTA, 2006).

A disponibilidade deste nutriente pode ser bastante variável, podendo causar deficiência ou toxicidade às plantas, dependendo da solubilidade dos compostos de Mn presentes no solo. É absorvido na forma iônica Mn^{2+} , atuando na síntese de clorofila e participando do metabolismo energético. Sua absorção é pouco regulada pela planta, podendo ocorrer uma absorção excessiva, resultando em níveis tóxicos (CLARKSON, 1988), como observado na Tabela 11, onde os níveis de Mn ficaram acima da faixa considerada adequada para plantas de arroz (CFSMG, 1999).

Nesse contexto, o Si tem sido bastante relatado na literatura pelos efeitos benéficos às culturas, principalmente relacionados à mitigação de diferentes estresses, seja biótico ou abiótico (ABUMIYA, 1959; JONES; HANDRECK, 1967; EPSTEIN, 1999; SEEBOLD et al., 2001; FAWA et al., 2001; MA et al., 2006; ZUCCARINI, 2008; CÔTÉ-BEAULIEU et al., 2009; CRUSCIOL et al., 2009; ZANÃO JÚNIOR et al., 2009; FENG et al., 2010; BYBORDI, 2012; MARAFON; ENDRES, 2013; MOHSENI; SABBAGH, 2014; LUYCKX et al., 2017; FERNANDES, 2020; CUNHA, 2021). Os benefícios do Si incluem também aumento da tolerância à toxidez por Mn e B (HORST; MARSCHNER, 1978; REYNOLDS et al., 2009; LANA et al., 2003; MEENA et al., 2014; ZANÃO JÚNIOR et al., 2019), comprovada pela interação destes elementos com o Si (LIANG et al., 2007; DONCHEVA et al., 2009; GU et al., 2011), fato que pode ser observado na Tabela 11, onde a aplicação de ácido monossilícico (BioSil) proporcionou os menores valores de B e Mn nas folhas do arroz.

Diversos estudos demonstram interações entre Mn e Si. Em plantas de pepino, a aplicação de Si amenizou o estresse causado por toxicidade de Mn (DRAGICIS-MAKSIMOVIC et al., 2007), assim como em sorgo (OLIVEIRA, 2017), leucina (CARMO, 2018) e em plantas de arroz (GU et al., 2011; FREITAS et al., 2015; ZANÃO JÚNIOR et al., 2019).

Em relação ao B (Tabela 11), os maiores incrementos deste nutriente foram alcançados com a aplicação do bioestimulante Vorax, não diferindo do controle. O menor teor foi observado com a aplicação do ácido monossilícico (BioSil).

Taiz e Zeiger (2017) esclarecem que as citocininas, como as presentes nos bioestimulantes avaliados, também influenciam a mobilização de certos nutrientes para as folhas, advindas de outras partes da planta. Trata-se de um fenômeno conhecido como “mobilização de nutrientes induzida por citocinina”, no qual há uma relação entre o local de armazenamento do nutriente (fonte) e o local de utilização (dreno), para onde é estimulado o deslocamento dos nutrientes mediante a aplicação de citocinina. Esses autores ressaltam ainda que não é necessária a metabolização, nas células-drenos, dos nutrientes para que elas sejam deslocadas ou mobilizadas.

Apesar do BioSil apresentar este nutriente em sua formulação, o extrato de algas, rico em hormônios vegetais, como as citocininas (Tabela 6), presente no bioestimulante Vorax, propiciou um maior teor de B nas folhas do arroz (Tabela 11), seguido do bioestimulante ExpertGrow, que também contém extrato de algas. Em consonância ao presente estudo, Tanaka et al. (2008) observaram diferenças ($p < 0,05$) nos teores de B nas folhas de couve-flor, relatando aumento na absorção deste nutriente com a aplicação de bioestimulante.

O B atua em diversos processos como a divisão celular, transporte de açúcares, metabolismo de carboidratos e formação de novos tecidos, por fazer parte da constituição da parede celular e na integridade da membrana plasmática, absorção de água, na germinação do grão de pólen e no crescimento do tubo polínico (KERBAUY, 2012; TAIZ; ZEIGER, 2017).

Já em relação ao acúmulo de B (Tabela 12), os bioestimulantes ExpertGrow e Vorax proporcionaram maiores acúmulos deste nutriente, não diferindo do controle, enquanto que o ácido monossilícico (BioSil) propiciou o menor acúmulo deste elemento nas folhas do arroz.

Tabela 12 – Acúmulo de cobre, ferro, manganês, zinco e boro na parte aérea de arroz, em função da aplicação de bioestimulantes e ácido monossilícico.

Bioestimulante	Cu	Fe	Mn	Zn	B
	----- mg parcela ⁻¹ -----				
Controle	0,50 b	15,99	13,78	1,50	0,47 a
Biosil	0,60 a	14,70	11,27	1,58	0,34 b
ExpertGrow	0,57 ab	16,12	12,27	1,55	0,41 a
Vorax	0,54 ab	13,81	11,32	1,50	0,46 a
CV %	10,62	18,28	14,73	7,77	9,01
	0,10	4,61	2,98	0,20	0,06

*Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05 de significância.

Benedito (2004), estudando a interação do B e Si na nutrição do arroz, observou que embora não tenha tido interação entre as doses de B e as doses de Si para o teor de B na parte aérea, verificou-se uma tendência generalizada de redução no teor de B nas folhas do arroz, conforme foram aumentadas as doses de Si aplicadas. Ainda, Deren et al. (1992) observaram correlação negativa entre valores de Si e B encontradas na parte aérea de angiospermas, corroborando com os dados obtidos no presente estudo.

No que diz respeito ao acúmulo de Cu, nota-se que houve maior incremento de Cu nas folhas de arroz quando aplicado o ácido monossilícico (BioSil), não diferindo dos bioestimulantes ExpertGrow e Vorax (Tabela 12).

O Cu é ativador de enzimas, dentre as quais podem ser citadas a tirosinase, oxíflase do ácido ascórbico e desidrogenase de butiril-coenzima A. Vale salientar a importância do Cu na nutrição de plantas, já que confere consequências positivas na permeabilidade da membrana das células e na atividade enzimática referente à respiração celular e fotossíntese (CAMARGO; SILVA, 1975; TAIZ; ZEIGER, 2017).

Em oliveiras da variedade Koroneiki, Chouliaras et al. (2009) observaram que a aplicação de produto à base de extrato de algas conferiu aumento dos teores foliares de Cu. Também, Turan e Kose (2004) relataram aumento nos teores de Cu em folhas de videiras, com a aplicação de bioestimulante contendo extrato de algas, em conformidade com os presentes resultados.

4 CONCLUSÕES

De modo geral, a aplicação de bioestimulantes e ácido monossilícico altera os teores foliares de cálcio, manganês, boro e cobre.

Os teores foliares de nitrogênio, fósforo, potássio, magnésio, enxofre, silício, zinco, ferro e a produção de massa de matéria seca da parte aérea não são afetados em função da aplicação de bioestimulantes e ácido monossilícico, no entanto, a aplicação proporciona níveis adequados de fósforo, cálcio, magnésio, cobre, zinco e ferro nas folhas de arroz, independente do produto utilizado.

REFERÊNCIAS

- ABUMIYA, H. Phytopathological studies on the breeding of rice varieties resistant to blast disease. **Bulletin of Tohoku National Agricultural Experiment Station**, Morioka, v. 17, p. 1–89, 1959.
- ALLEONI, B.; BOSQUEIRO, M.; ROSSI, M. Efeito dos reguladores vegetais de Stimulate no desenvolvimento e produtividade do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Publicatio UEPG: Ciências Exatas e da Terra, Ciências Agrárias e Engenharia**, Ponta Grossa, v. 6, n. 1, p. 23-35, 2000.
- ALMEIDA, A.Q.; SORATTO, R. P. Teor e acúmulo de nutrientes no feijoeiro em função da aplicação de bioestimulante. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, p. 2259-2272, 2014. DOI: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2014v35n4Suplp2259>.
- AMARAL, A.F.C. **Comportamento in vitro de explantes de matrizes de cenoura (*Daucus carota* L.) tratadas com variáveis níveis de potássio**. 2003. 103 f. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2003.
- ÁVILA, F. W.; BALIZA, D .P.; FAQUIN, V.; ARAÚJO, J. L.; RAMOS, S. J. Interação entre silício e nitrogênio em arroz cultivado sob solução nutritiva. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 41, n. 2 p. 184-190, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1806-66902010000200003>.
- BARBOSA FILHO, M.P.; PRABHU, A.S. **Aplicação de silicato de cálcio na cultura do arroz**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2002. 4p. (EMBRAPA Arroz e Feijão. Circular Técnica, 51).
- BARBOSA, G. T. **Efeito da aplicação de doses de bioestimulante sobre a produção e qualidade fisiológica das sementes de três cultivares de arroz**. 2006. 40 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Ilha solteira. 2006.
- BENEDITO, D. S. **Interação boro x silício na nutrição, crescimento e produção do arroz**. 2004. 62 f. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.
- BOGNOLA, I. A.; CLASEN, L. A.; FRANCISCON, L.; GAVA, J. L.; DEDECEK, R. A. Aplicação de silicatos de cálcio e de potássio e o crescimento de mudas de

Eucalyptus grandis. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 31, n. 66, p. 83-92, 2011. DOI: <https://doi.org/10.4336/2011.pfb.31.66.83>.

BUCK, G. B. **Silicato de potássio via foliar e o controle da brusone do arroz**. 2006. 66 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia. 2006.

BUCK, G. B.; KORNDORFER, G. H.; NOLLA, A.; COELHO, L.. Potassium silicate as foliar spray and rice blast control. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 31, n. 2, p. 231-237, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1080/01904160701853704>.

BYBORDI, A. Effect of ascorbic acid and silicon on photosynthesis, antioxidant enzyme activity, and fatty acid contents in canola exposure to salt stress. **Journal of Integrative Agriculture**, [s.l.], v. 11, n. 10, p. 1610- 1620, 2012. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(12\)60164-6](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(12)60164-6).

CALVO, P.; NELSON, L.; KLOEPPER, J.W. Agricultural uses of plant biostimulants. **Plant Soil**, [s.l.], v. 383, p. 30-41, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2131-8>.

CAMARGO, P.N.; SILVA, O. **Manual de adubação foliar**. São Paulo: Libreira e Editora Herba, 1975. 258p.

CANELLAS, L. P., OLIVARES, F. L., AGUIAR, N. O., JONES, D. L., NEBBIOSO, A., MAZZEI, P., AND PICCOLO, A. Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture. **Scientia Horticulturae**, [s.l.], v. 196, p. 15–27. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.013>.

CARMO, J. F. **Efeito da interação entre silício e micorriza arbuscular na atenuação dos sintomas de toxidez em *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit**. 2018. 67 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2018.

CARMONA, F. de C.; CONTE, O.; FRAGA, T.I.; BARROS, T.; PULVER, E.; ANGHINONI, I. Disponibilidade no solo, estado nutricional e recomendação de enxofre para o arroz irrigado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Goiânia, v. 33, p. 345-355, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-06832009000200012>.

CARVALHO, J.C. **Análise de crescimento e produção de grãos da cultura do arroz irrigado por aspersão em função da aplicação de escórias de siderurgia como fonte**

de silício. 2000. 119 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2000.

CARVALHO-PUPATTO, J. G.; BULL, L. T.; CRUSCIOL, C. A.; MAUAD, M.; SILVA, R. H. Efeito da escória de alto forno no crescimento radicular e na produtividade de arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 11, p. 938-943, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2003001100011>.

CASTRO, P.R.C; VIEIRA, E.L. Ação de bioestimulante na germinação de sementes, vigor das plântulas, crescimento radicular e produtividade de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 23, n.2, p. 222-228, 2001. DOI: <https://doi.org/10.17801/0101-3122/rbs.v23n2p222-228>.

CHOULIARAS, V.; TASIOULA, M.; CHATZISSAVVIDIS, C.; THERIOSA, I.; TSABOLATIDOU, E. The effects of a seaweed extract in addition to nitrogen and boron fertilization on productivity, fruit maturation, leaf nutritional status and oil quality of the olive (*Olea europaea* L.) cultivar Koroneiki. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Bognor Regis, v. 89, p. 984–988, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.3543>.

CLARKSON, D.T. The uptake and translocation of manganese by plant roots. *In*: GRAHAM, R.D.; HANNAM, R.J.; UREN, N.C. (ed.). **Manganese in soils and plants**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1988. p.101-111. DOI: https://doi.org/10.1007/978-94-009-2817-6_8.

COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO DO ESTADO DE MINAS GERAIS - CFSEMG. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª Aproximação**. Viçosa: CFSEMG, 1999. 359 p.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Arroz**. 2020. Disponível em: <www.conab.gov.br>. Acesso em: 15 out. 2022.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. **Perspectiva para a Agropecuária 2022**. 2022. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/images/arquivos/outros/Perspectivas-para-a-agropecuaria-2018-19.pdf>>. Acesso em: 29 out. 2022.

CÔTÉ-BEAULIEU, C.; CHAIN, F.; MEINZIES, J.G.; KINRADE, S.D. & BÉLANGER, R.R. Absorption of aqueous inorganic and organic silicon compounds by wheat and their effect on growth and powdery mildew control. **Environ. Exper. Bot.**, [s.l.], v. 65, p. 155-161, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2008.09.003>.

CRUSCIOL, C. A.C.; PULZ, A. L.; LEMOS, L. B.; SORATTO, R. P.; LIMA, G. P. P. Effects of silicon and drought stress on tuber yield and leaf biochemical characteristics in potato. **Crop Science**, [s.l.], v. 49, p. 949-954, 2009. DOI: <https://doi.org/10.2135/cropsci2008.04.0233>.

CUNHA, D. F. da. **Bioestimulantes na cultura do arroz inoculado com *Pyricularia grisea***. 2021. 33 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2021.

DE MELLO FRASCA, L. L.; NASCENTE, A. S.; LANNA, A. C.; SANTANA CARVALHO, M. da C. Características fisio-agronômicas do feijoeiro superprecoce afetado por bioestimulantes. **Colloquium Agrariae**. [s.l.], v. 14, n. 3, p. 51–61, 2019. DOI: <https://doi.org/10.5747/ca.2018.v14.n3.a227>.

DEREN, C. W.; DATNOFF, L. E.; SNYDER, G. H. Variable silicon content of rice cultivars grown on Everglades Histosols. **Journal of Plant Nutrition**, [s.l.], v. 15, p. 2363-2368, 1992. DOI: <https://doi.org/10.1080/01904169209364480>.

DEREN, C. Plant genotypes, silicon concentration and silicon related responses. *In*: DATNOFF, L.E.; SNYDER, G.H.; KORNDÖRFER, G.H. (ed.). **Silicon in Agriculture**. Amsterdam: Elsevier Science, p.149-158, 2001. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0928-3420\(01\)80012-4](https://doi.org/10.1016/S0928-3420(01)80012-4).

DOBERMANN, A.; FAIRHURST, T. **Rice: Nutrient Disorders & Nutrient Management**. Handbook series. Potash & Phosphate Institute (PPI), Potash & Phosphate Institute of Canada (PPIC), International Rice Research Institute (IRRI). 2000. 191 p.

DONCHEVA, S. et al. Silicon amelioration of manganese toxicity in Mn-sensitive and Mn-tolerant maize varieties. **Environmental and Experimental Botany**, [s.l.], v.65, n. 3, p.189-197, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2008.11.006>.

DRAGICIS-MAKSIMOVIĆ, J.; BOGDANOVIC, J.; MAKSIMOVIĆ, V.; NOKOLIC, M. Silicon modulates the metabolism and utilization of phenolic compounds in cucumber (*Cucumis sativus* L.) grown at excess manganese. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, [s.l.], v. 170, n. 6, p. 739-744, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1002/jpln.200700101>.

DU JARDIN, P. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. **Scientia Horticulturae**, [s.l.], v. 196, p. 3-14, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021>.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. Brasília: EMBRAPA-SPI; 2018. 355 p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Árvore do Conhecimento do Arroz**. 2022. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/arroz/arvore/CONT000fe7457q102wx5eo07qw4xeynhsp7i.html#>>. Acesso em: 25 out. 2022.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solo**. Brasília: EMBRAPA, 2017. 573 p.

EPSTEIN, E. Silicon. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo alto, v. 50, p. 641-664, 1999. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.50.1.641>.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. **Nutrição mineral de plantas, princípios e perspectivas**. Londrina: Planta, 2006. 86 p.

FAGERIA, N. K. Nutrição mineral. *In*: VIEIRA, N. R.; SANTOS, A. B.; SANT'ANA, E. P. **A cultura do arroz no Brasil**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 1999, p. 172-199.

FAGERIA, N.K.; FERREIRA, E.; PRABHU, A.S.; BARBOSA FILHO, M.P.; FILIPPI, M.C. **Seja o doutor do seu arroz**. Piracicaba: Potafós, 1995. 20p. Potafós. Arquivo do Agrônomo, 9.

FAWE, A.; MENZIES, J.G.; CHERIF, M.; BÉLANGER, R.R. Silicon and disease resistance in dicotyledons. *In*: DATNOFF, L.E.; SNYDER, G.H.; KORNDÖRFER, G.H. (ed.). **Silicon in agriculture**. Netherlands: Elsevier Science, 2001. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0928-3420\(01\)80013-6](https://doi.org/10.1016/S0928-3420(01)80013-6).

FEATONBY-SMITH, B. C.; VAN STADEN, J. Effects of seaweed concentrate on grain yield in barley. **South African Journal of Botany**, Pretoria, v.53, p.125–128, 1987. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0254-6299\(16\)31446-6](https://doi.org/10.1016/S0254-6299(16)31446-6).

FENG, J.; SHI, Q.; WANG, X.; WEI, M.; YANG, F.; XU, H. Silicon supplementation ameliorated the inhibition of photosynthesis and nitrate metabolism by cadmium (Cd) toxicity in *Cucumis sativus* L. **Scientia Horticulturae**, [s.l.], v. 123, n. 4, p. 521-530, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2009.10.013>.

FERNANDES, S. do V. N. **Aplicação foliar de doses de bioestimulante em arroz inundado**. 2020. 24 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2020.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION - FAO. **International year of rice**. 2022. Disponível em: <<http://www.fao.org/rice2004/en/rice.us.htm>>. Acesso em: 25 out. 2022.

FREITAS, L. B.; FERNANDES, D. M.; MAIA, S. C. M. Silício na nutrição mineral e acúmulo de alumínio em plantas de arroz de terras altas. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 45, n. 4, p. 440-448, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1590/1983-40632015v4538085>.

GALINDO, F. S.; LUDKIEWICZ, M. G. Z.; BELLOTE, J. L. M.; SANTINI, J. M. K.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; BUZETTI, S. Épocas de inoculação com *Azospirillum* brasileiro via foliar afetando a produtividade da cultura do trigo irrigado. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 9, n. 2, p. 43-48, 2015.

GALINDO, F. S.; M. C. M. TEIXEIRA FILHO; BUZETTI, S.; ALVES, C. J.; GARCIA, C. M. P.; NOGUEIRA, L. M. Extrato de algas como bioestimulante na nutrição e produtividade do trigo irrigado na região de Cerrado. **Colloquium Agrariae**, [s.l.], v. 15, n.1, p. 130-140, 2019. DOI: <https://doi.org/10.5747/ca.2019.v15.n1.a277>.

GARCIA, R. A.; GAZOLA, E.; MERLIN, A.; VILLAS BÔAS, R. L.; CRUSCIOL, C. A. C. Crescimento aéreo e radicular de arroz de terras altas em função da adubação fosfatada e bioestimulante. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 25, n. 4, p. 65-72, 2009.

GARGANTINI, H.; BLANCO, H.G. Absorção de nutrientes pela cultura de arroz. **Bragantia**, Campinas, v. 24, n. 38, p. 515-527, 1977. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0006-87051965000100038>.

GIUDICE, R. M. del; FREIRE, F. M.; TANAKA, R. T. Nutricao mineral e adubacao do arroz. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 5, n. 55, p. 40-50, 1979.

GRANT, C.A.; PLATEN, D.N.; TOMAZIEWICZ, D.J.; SHEPPARD, S.C. **A importância do fósforo no desenvolvimento inicial da planta**. Piracicaba: Informações Agronômicas, 2001. 95 p.

GU, H-H. *et al.* Mitigation effects of silicon rich amendments on heavy metal accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) planted on multimetal contaminated acidic soil.

Chemosphere, [s.l.], v.83, n. 4, p.1234-1240, 2011. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.03.014>.

GUINDANI, R.H.P. **Dris para avaliação do estado nutricional do arroz irrigado no Rio Grande do Sul**. 2007. 92 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2007.

HALPERN, M.; BAR-TAL, A.; OFEK, M.; MINZ, D.; MULLER, T.; YERMIYAHU, U. The use of biostimulants for enhancing nutrient uptake. **Advances in Agronomy**, [s.l.], v. 130, p. 141–174, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2014.10.001>.

HEENAN, D.P.; CAMPBELL, L.C. Growth, yield components and seed composition of two soybean cultivars as affected by manganese supply. **Australian Journal of Agricultural Research**, [s.l.], v. 31, p. 471-476, 1980. DOI: <https://doi.org/10.1071/AR9800471>.

HORST, W.J.; MARSCHNER, H. Effect of silicon on manganese tolerance of bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 50, n. 1, p. 287-303, 1978. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF02107179>.

ILER, R. K. **The chemistry of silica**: solubility, polymerization, colloid and surface properties and biochemistry of silica. New York: Wiley Interscience, 1979, 896 p.

JANNIN, L.; ARKOUN, M.; ETIENNE, P.; LAÎNÉ, P.; GOUX, D.; GARNICA, M.; FUENTES, M.; SAN FRANCISCO, S.; BAIGORRI, R.; CRUZ, F.; HOUDUSSE, F.; GARCIA-MINA, J.; YVIN, J.; OURRY, A. *Brassica napus* growth is promoted by *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. seaweed extract: microarray analysis and physiological characterization of N, C, and S metabolisms. **Journal of Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 32, p. 31–52, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00344-012-9273-9>.

JONES, L.H.P.; HANDRECK, K.A., Silica in soils, plants, and animals. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 19, p. 107–149, 1967. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(08\)60734-8](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60734-8).

KERBAUY, G.B. **Fisiologia Vegetal**. 2.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012, 431 p.

KHAN, W.; RAYIRATH, U. P.; SUBRAMANIAN, S.; JITHESH, M.N.; RAYORATH, P.; HODGES, D.M.; CRITCHLEY, A.T.; CRAIGIE, J.S.; NORRIE, J.;

PRITHIVIRAJ, B. Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. **Journal of Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v.28, p.386–399, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00344-009-9103-x>.

KORNDÖRFER, G.H.; PEREIRA, H.S.; NOLA, A. **Análise de silício: solo, planta e fertilizante**. 2 ed. Uberlândia: UFU, 2004. 34p. (Boletim técnico, 2).

LANA, A. M. Q.; LANA, R. M. Q.; GOZUEN, C. F.; BONOTTO, I.; TREVISAN, L. R. Aplicação de reguladores de crescimento na cultura do feijoeiro. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 25, n. 1, p. 13-20, 2009.

LANA, R.M.Q.; KORNDÖRFER, G.H.; ZANÃO JÚNIOR, L.A.; SILVA, A.F.; LANA, A.M.Q. Efeito do silicato de cálcio sobre a produtividade e acumulação de Si no tomateiro. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.19, n.2, p.15-20, 2003.

LIANG, B. C.; MACKENZIE, A. F. Corn yield, nitrogen uptake and nitrogen use efficiency as influenced by nitrogen fertilization. **Canadian Journal of Soil Science**. [s.l.], v. 74, n. 2, p. 235-240, 1994. DOI: <https://doi.org/10.4141/cjss94-032>.

LIANG, Y. C.; SUN, W.; ZHU, Y. G.; CHRISTIE, P. Mechanisms of silicon mediated alleviation of abiotic stress in higher plants: a review. **Environmental Pollution**, [s.l.], v. 147, p. 422-428, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.06.008>.

LUYCKX, M.; HAUSMAN, J. F.; LUTTS, S.; GUERRIERO, G. Silicon and plants: current knowledge and technological perspectives. **Plant Science**, [s.l.], v. 8, n. 411, p. 1-8, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00411>.

MA, J.; TAMAI, K.; YAMAJI, N.; MITANI, N.; KONISHI, S.; KATSUHARA, M.; ISHIGURO, M.; MURATA, Y.; YANO, M. A silicon transporter in rice. **Nature**, [s.l.], v. 440, p. 688-691, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature04590>.

MAIA, C. E. *et al.* Teores foliares de nutrientes em meloeiro irrigado com águas de diferentes salinidades. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 9, p. 292 - 295, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v9nsupp292-295>.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 2006. 638p.

MARAFON, A. C.; ENDRES, L. Silicon: fertilization and nutrition in higher plants, Amazonian. **Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, [s.l.], v. 56, n. 4, p. 380-388, 2013. DOI: <https://doi.org/10.4322/rca.2013.057>.

MAUAD, M.; CRUSCIOL, C. A. C.; FILHO, H. G. Produção de massa seca e nutrição de cultivares de arroz de terras altas sob condição de déficit hídrico e adubação silicatada. **Semina: Ciências Agrárias**. [s.l.], v. 32, n. 3, p. 939-948, 2011. DOI: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2011v32n3p939>.

MAUAD, M.; GRASSI FILHO, H.; CRUSCIOL, C.A.C.; CORRÊA, J.C. Teores de silício no solo e na planta de arroz de terras altas com diferentes doses de adubação silicatada e nitrogenada. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Goiânia, v. 27, p. 867-873, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-06832003000500011>.

MEENA, V. D.; DOTANIYA, M. L.; COUMAR, V.; RAJENDIRAN, S.; KUNDU, S.; RAO, A. S. A Case for Silicon Fertilization to Improve Crop Yields in Tropical Soils. **Proceedings of the National Academy of Sciences of India**, Allahabad, v. 84, n. 3, p. 505-518, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40011-013-0270-y>.

MENZIES, J.; BOWEN, P.; EHRET, D.; GLASS, A. D. M. Foliar applications of potassium silicate reduce severity of powdery mildew on cucumber, muskmelon, and zucchini squash. **American Society For Horticultural Science**, Alexandria, v. 117, n. 6, p. 902-905, 1992. DOI: <https://doi.org/10.21273/JASHS.117.6.902>.

MOHSENI, V.G.; SABBAGH, S.K. The ameliorative effects of silicone elemento on improvement of plants tolerance to diseases. **Scientia Agriculturae**, [s.l.], v. 8, n. 2, p. 80-85, 2014.

MOONEY, P.A.; VAN STADEN, J. Effect of seaweed concentrate on the growth of wheat under conditions of water stress. **South African Journal of Science**, Pretoria, v. 81, p. 632-633, 1985.

MORAES, W. B.; JESUS JUNIOR, W. C.; MORAES, W. B.; ARAUJO, G. L.; SOUZA, A. F.; SILVA, M. V. Aplicação de silicato de potássio e crescimento foliar da cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 6, n.1, p. 59-64, 2011. DOI: <https://doi.org/10.5039/agraria.v6i1a902>.

OLIVEIRA, R. L. L. **Aplicação de silício na fisiologia, na produção e na mitigação de estresse causado pela deficiência de manganês em plantas de sorgo granífero**. 2017. 56 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 2017.

OLSEN, D. et al. Tratamento de sementes com bioestimulante: vigor e isoenzimas de plântula de arroz de sequeiro sob restrição hídrica. **Agrarian**, Grandes Dourados, v. 9, n. 34, p. 296-302, 2017.

PRADO, L. P. P. do. **Caracteres agronômicos em variedades de arroz inundado em função da aplicação foliar de bioestimulantes e micronutrientes**. 2017. 31 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2017.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing, reference index version 2.12.1**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2010.

REYNOLDS, O. L.; KEEPING, M. G.; MEYER, J. H. Silicon-augmented resistance of plants to herbivorous insects: a review. **Annals of Applied Biology**, [s.l.], v. 155, p. 171-186, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2009.00348.x>.

RODRIGUES, F.A.; DUARTE, H.S.S.; DOMICIANO, G.P.; SOUZA, C.A.; KORNDÖRFER, G.H.; ZAMBOLIM, L. Foliar application of potassium silicate on the control of soybean rust. **Australasian Plant Pathology**, Australia, v. 38, p. 366-372, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1071/AP09010>.

RODRIGUES, L. A.; BATISTA, M. S.; ALVAREZ, R. C. F.; LIMA, S. F.; ALVES, C. Z. Avaliação fisiológica de sementes de arroz submetidas a doses de bioestimulante. **Nucleus**, Ituverava, v.12, n.1, 2015. p. 207-214. DOI: <https://doi.org/10.3738/1982.2278.1376>.

SANTOS, V. M.; MELO, A. V.; CARDOSO, D. P.; GONÇALVES, A. H.; VARANDA, M. A. F.; TAUBINGER, M. Uso de Bioestimulantes no crescimento de plantas de *Zea mays* L. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Gurupi, v. 12, n. 3, p. 307-318, 2013. DOI: <https://doi.org/10.18512/1980-6477/rbms.v12n3p307-318>.

SCALON, S. P. Q.; LIMA, A. A.; SCALON FILHO, H.; VIEIRA, M. C. Germinação de sementes e crescimento inicial de mudas de *Campomanesia adamantium* Camb.: Efeito da lavagem, temperatura e de bioestimulantes. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 96-103, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-31222009000200011>.

SEEBOLD, K.W.; KUCHARÉK, T.A.; DATNOFF, L.E.; CORREA-VICTORIA, F.J.; MARCHETTI, M.A. The influence of silicon on components of resistance to blast in

susceptible, partially resistant, and resistant cultivars of rice. **Phytopathology**, St. Paul, v. 91, p. 63–69, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2001.91.1.63>.

STAMATIADIS, S.; EVANGELOU, L.; YVIN, J. C.; TSADILAS, C.; MINA, J. M. G.; CRUZ, F. Responses of winter wheat to *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. extract application under the effect of N fertilization and water supply. **Journal of applied phycology**, Dordrecht, v.27, n.1, p. 589-600, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10811-014-0344-0>.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 369 p.

TAKAHASHI, E. Uptake mode and physiological functions of silica. *In*: MATSUO, T.; KUMAZAWA, K.; ISHII, R.; ISHIHARA, K.; HIRATA, H. (ed.). **Science of the rice plant: physiology**. Food and Agriculture Policy Research Center. v. 5, p. 420-433. 1995.

TANAKA, A.; PARK, Y. D. Significance of the absorption and distribution of silica in the growth of rice plant. **Soil Science Plant Nutrition**, [s.l], v. 12, n. 1, p. 23-28, 1966. DOI: <https://doi.org/10.1080/00380768.1966.10431957>.

TANAKA, M. T.; SENGIK, E.; SCAPIM, C. A.; SANTOS, H. S.; PINTRO, J. C. Influência de bioestimulantes orgânicos e uréia na absorção foliar de boro em couve-flor. **Acta Scientiarum**, [s.l], v. 22, p. 1115-1118, 2008.

TURAN, M.; KOSE, C. Seaweed extracts improve copper uptake of grapevine. **Acta Agriculturae Scandinavica**, Copenhagen, v. 54, p. 213–220, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1080/09064710410030311>.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE – USDA. **Circular Foreign Agricultural Service**. World Agricultural Production. 2022. Disponível em: https://www.usda.gov/oce/commodity/wasde/Secretary_Briefing.pdf . Acesso em: 06 nov. 2022.

VAN OOSTEN, M. J.; PEPE, O.; PASCALE, S; DE SILLETTI, S.; MAGGIO, A. The role of biostimulants and bioeffectors as alleviators of abiotic stress in crop plants. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**. [s.l], p.1-12. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40538-017-0089-5>.

VASCONCELOS, A.C.F de. **Uso de bioestimulantes nas culturas de milho e soja**. 2006. 111f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2006.

VASCONCELOS, A.C.P de. **Bioestimulantes contendo silício e micronutrientes aplicados via foliar em arroz de sequeiro**. 2016. 119 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia. 2016.

VIEIRA, E. L.; CASTRO, P. R. C. Ação de bioestimulante na cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). In: FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. **Feijão irrigado: tecnologia e produtividade**. Piracicaba: Departamento de Produção Vegetal-ESALQ, 2003. p. 73-100.

VIEIRA, R. F. **Ciclo do nitrogênio em sistemas agrícolas**. Brasília, Brasília: EMBRAPA, 2017. 163 p.

VITTI, G. C.; LIMA, E.; CICARONE, F. Cálcio, Magnésio e Enxofre. In: FERNANDES, M. S. (ed.). **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p. 355-374.

WILSON JR., C.; SLATON, N.; NORMAN, R.; MILLER, D. **Rice production handbook**. Arkansas: Cooperative Extension Service University of Arkansas, 2006. 126p.

YAKHIN, O. I.; LUBYANOV, A. A.; YAKHIN, I. A.; BROWN, P. H. Biostimulants in plant science: a global perspective. **Frontiers in plant science**, [s.l.], v. 7, p. 2049, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.02049>.

ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J. A.; ZANÃO, L. A. J. **Efeito da nutrição mineral no controle de doenças de plantas**. Viçosa: UFV, 2012. p. 83-263.

ZANÃO JÚNIOR, L. A.; FONTES, R. L. F.; AVILA, V. T. de. Aplicação do silício para aumentar a resistência do arroz à mancha-parda. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 2, p. 203-206, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2009000200013>.

ZANÃO JÚNIOR, L.A.; FONTES, R.L.F.; PEREIRA, J.D.; CARVALHO-ZANÃO, M. P.; PEREIRA, N. Toxidez de manganês na planta de arroz atenuada pela ação do silício nos tecidos foliares. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 40, p. 2523-2534, 2019. DOI: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2019v40n6p2523>.

ZUCCARINI, P. Effects of silicon on photosynthesis, water relations and nutrient uptake of *Phaseolus vulgaris* under NaCl stress. **Biologia Plantarum**, [s.l.], v. 52, n. 1, p. 157-160, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10535-008-0034-3>.

CAPÍTULO 3

EXPRESSÃO DIFERENCIAL DE GENES EM ARROZ SOB APLICAÇÃO DE BIOESTIMULANTE

EXPRESSÃO DIFERENCIAL DE GENES EM ARROZ SOB APLICAÇÃO DE BIOESTIMULANTE

Ana Carolina Pereira de Vasconcelos¹; Hamilton Seron Pereira²

RESUMO

A evolução do conhecimento em nutrição de plantas e práticas racionais de adubação tem possibilitado o contínuo crescimento da produtividade dos cultivos e contribuído de forma decisiva para a produção de alimentos com maior qualidade. No entanto, apesar de já terem sido realizados diversos estudos com o uso de bioestimulantes em diferentes cultivos, os resultados obtidos até agora têm sido controversos e com pouca base científica. Diante disso, há a necessidade de maiores investigações a respeito do uso desses produtos a nível molecular, estudando mecanismos relacionados à expressão de genes, para melhor elucidação dos resultados obtidos. Nesse sentido, o objetivo desse trabalho foi analisar a expressão de genes, por meio da análise de sequenciamento de RNA (RNA-seq), em plantas de arroz (*Oryza sativa* L.), em resposta à aplicação de bioestimulante. O experimento foi realizado em casa de vegetação pertencente à Universidade Federal de Uberlândia (UFU). Foram utilizados vasos com 10 dm³ de solo classificado como Neossolo Quartzarênico, utilizando-se a cultivar BRS Primavera. O bioestimulante foi aplicado via foliar, no estágio de desenvolvimento V4. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três repetições biológicas. A coleta de material vegetal foi realizada aos 102 DAE, no estágio reprodutivo (R4). Foi retirada a última folha completamente expandida de cada planta, em cada tratamento, para realização das análises moleculares. Para isso, as amostras foram colhidas e imediatamente congeladas em N₂ líquido, armazenadas a -80° C e encaminhadas para a realização das análises de RNA-seq. Para a análise dos dados moleculares foi realizada a análise de bioinformática. Foram identificados 498 genes diferencialmente expressos em tecido foliar de *Oryza sativa* L., quando tratadas com o bioestimulante. Para os genes regulados positivamente, observou-se o aumento de expressão de genes intimamente relacionados a mecanismos de defesa, respostas a estresses, floração, regulação de transcrição/tradução gênica e metabolismo vegetal. Já para os genes regulados negativamente, pôde-se observar principalmente genes relacionados à fotossíntese, respostas a estresses, desenvolvimento e regulação floral.

Palavras-chave: Agroquímicos de regulação hormonal; adubação foliar; nutrição mineral; *Oryza sativa*; RNA-seq; transcriptoma.

² Doutoranda em Fitotecnia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG.

³ Doutor, Professor Titular, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG.

DIFFERENTIAL EXPRESSION OF GENES IN RICE UNDER BIOSTIMULANT APPLICATION

ABSTRACT

The evolution of knowledge in plant nutrition and rational fertilization practices has enabled the continuous growth of crop productivity and contributed decisively to the production of higher quality food. However, although several studies have already been carried out with the use of biostimulants in different crops, the results obtained so far have been controversial and with little scientific basis. Therefore, there is a need for further investigations regarding the use of these products at the molecular level, studying mechanisms related to gene expression, to better elucidate the results obtained. In this sense, the objective of this work was to analyze the expression of genes, through RNA sequencing analysis (RNA-seq) in rice plants (*Oryza sativa* L.), in response to the application of biostimulant. The experiment was carried out in a greenhouse belonging to the Federal University of Uberlândia (UFU). Pots with 10 dm³ of soil classified as Quartzarenic Neosol were used, using the cultivar BRS Primavera. The biostimulant was applied through the leaves, at the V4 development stage. The experimental design was completely randomized, with three biological replications. Plant material was collected at 102 DAE, at the reproductive stage (R4). The last completely expanded leaf of each plant, in each treatment, was removed to carry out the molecular analyses. For this, the samples were collected and immediately frozen in liquid N₂, stored at -80° C and sent for RNA-seq analyses. For the analysis of molecular data, bioinformatics analysis was performed. Differential expression analyzes identified 498 genes differentially expressed in leaf tissue of *Oryza sativa* L., when treated with the biostimulant. For the up-regulated genes, an increase in the expression of genes closely related to defense mechanisms, stress responses, flowering, gene transcription/translation regulation and plant metabolism was observed. As for down-regulated genes, it was possible to observe mainly genes related to photosynthesis, responses to stress, plant development and floral regulation.

Keywords: Hormonal regulation agrochemicals. Leaf fertilization. Mineral nutrition. *Oryza sativa*. RNA-seq. Transcriptome.

1 INTRODUÇÃO

A evolução do conhecimento em nutrição de plantas e práticas racionais de adubação tem possibilitado o contínuo crescimento da produtividade dos cultivos e contribuído de forma decisiva para a produção de alimentos com maior qualidade (CASTRO, 2009). Neste contexto, a biotecnologia pode fornecer meios para o aumento da produção agrícola pela aplicação do conhecimento molecular em função dos genes e das redes regulatórias envolvidas no desenvolvimento vegetal (TAKEDA; MATSUOKA, 2008).

Dessarte, o uso de produtos que contêm reguladores hormonais, como os bioestimulantes, em doses adequadas, melhora a eficiência da planta em todos seus processos, conferindo-lhe maior capacidade de expressar todo seu potencial produtivo. Esses produtos são, em sua maior parte, substâncias orgânicas complexas capazes de atuar na regulação da expressão gênica, de modo a melhorar a nutrição mineral e produzir precursores de hormônios vegetais, levando a sínteses hormonais e a resposta da planta a nutrientes e hormônios (CASTRO, 2006). Dessa forma, facilitam a expressão da capacidade genética da planta por realizar o equilíbrio hormonal e estimular o crescimento das raízes (SILVA et al., 2008), ampliando a absorção de água e nutrientes pelas plantas, tornando-os de grande valia para a utilização na agricultura (VASCONCELOS, 2006).

No Brasil, há muitas barreiras para as empresas que fabricam e desenvolvem estes produtos, pois, especificamente, o termo “bioestimulante” ainda não é contemplado pela legislação brasileira. Os produtos contendo reguladores vegetais sintéticos, ou a sua mistura, são registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) na classe “Regulador do Crescimento Vegetal”, seguindo a Legislação dos Agrotóxicos (MÓGOR, 2011). Nunes (2010) destaca que o registro desses produtos para uso no território nacional é dificultado pela demora, burocracia e grau de exigência dos órgãos governamentais (MAPA, Ibama e Anvisa) e tal fato constitui-se em barreira à aplicação dessa técnica no país (SILVA et al., 2012).

Na União Europeia e nos Estados Unidos as empresas encontram esta mesma dificuldade, devido à carência global acerca da ciência dos mecanismos e sítios de ação destes produtos e suas implicações no metabolismo da planta, tornando mais difícil a geração de resoluções ou leis próprias para esse ramo de produtos (COLMAN et al., 2013; DU JARDIN, 2015; MORAES, 2015). Só na Europa, mais de 5,5 milhões de

hectares são anualmente tratados com agroquímicos de regulação hormonal, considerados fundamentais para a sustentabilidade da agricultura europeia.

Isto se deve, em grande parte, ao fato de que apesar de já terem sido realizados diversos estudos com o uso de bioestimulantes em diferentes cultivos, os resultados obtidos têm sido controversos e com pouco embasamento científico. Diante disso, há a necessidade de maiores investigações a respeito do uso desses produtos a nível molecular, estudando mecanismos relacionados à eficiência nutricional e expressão de genes, para melhor compreensão dos resultados obtidos.

Neste cenário, a análise do transcriptoma é uma ferramenta poderosa que pode identificar a expressão gênica diferencial em determinados tecidos ou fases de desenvolvimento da planta ou em resposta a um estímulo externo (GOÑI et al., 2016). Através de análises de transcriptoma, tem-se a possibilidade de se avaliar mudanças globais na transcrição de genes através de múltiplos processos, vias e funções celulares, em resposta à aplicação de bioestimulantes. Não obstante, a análise do transcriptoma demonstra sensibilidade e especificidade para identificar o efeito que bioestimulantes provocam nas plantas, efeitos esses, muitas vezes não observados a “olho nu”, como, por exemplo, o auxílio proporcionado às plantas na superação de estresses abióticos, uma vez que atuam como incremento hormonal e nutricional.

Ademais, na biologia vegetal, grande parte dos estudos é realizada com o uso de plantas como *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana* L.) e arroz (*Oryza sativa* L.), que representam plantas-modelo no grupo das dicotiledôneas e monocotiledôneas, respectivamente. O uso dessas plantas tem diversas vantagens, mas uma das principais é devido ao fato de haver protocolos e técnicas moleculares bem estabelecidas, o que facilita a aplicação de diferentes abordagens metodológicas. Uma das aplicações da genômica funcional em plantas-modelo mais utilizadas diz respeito a busca de genes envolvidos em respostas a estresses, pois as plantas estão constantemente expostas a condições ambientais desfavoráveis (PAIVA, 2018).

Neste contexto, o objetivo desse trabalho foi analisar a expressão de genes, através da técnica de RNA-seq, estudando os mecanismos envolvidos em alterações fisiológicas e moleculares em *Oryza sativa* L., em resposta à aplicação de bioestimulante, visando proporcionar, em pesquisas futuras, a indicação e validação de uma possível metodologia para análise de bioestimulantes.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi instalado em casa de vegetação pertencente à Universidade Federal de Uberlândia (UFU), localizada no município de Uberlândia, Minas Gerais, situada a 18° 35' de Latitude Sul, 47° 52' de Longitude Oeste e 931 m de altitude. O experimento foi implantado no dia 03 de maio de 2019, com avaliação aos 102 DAE (dias após a emergência).

Foram utilizados vasos com 10 dm³ de solo, classificado como Neossolo Quartzarênico Órtico típico (EMBRAPA, 2018), cuja caracterização física (Tabela 1) foi realizada no Laboratório de Manejo de Solo da Universidade Federal de Uberlândia (LAMAS/UFU), de acordo com EMBRAPA (2017). A escolha de um solo arenoso se baseia no fato de que, por apresentar baixo teor de silício (Si) disponível, a absorção desse elemento (proveniente do solo) pela cultura do arroz seria mínima, a ponto da planta se tornar pouco capaz de suprir suas necessidades do elemento através do solo.

Tabela 1 - Análise física do solo utilizado nos experimentos.

Solo	Areia Grossa	Areia Fina	Silte	Argila
	g kg ⁻¹			
RQo - Neossolo Quartzarênico Órtico típico	626	218	1	155

Análise textural pelo Método da Pipeta (EMBRAPA, 2017).

A análise química foi realizada no Laboratório de Análise de Solos da Universidade Federal de Uberlândia (LABAS/UFU) seguindo metodologia de EMBRAPA (2017). O teor de Si no solo foi determinado no Laboratório de Fertilizantes da Universidade Federal de Uberlândia (LAFER/UFU) seguindo metodologia proposta por Korndörfer et al. (2004). As características químicas do solo anteriores a sua correção encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2 - Caracterização química do solo anterior à instalação do experimento.

pH	Al ³⁺	H+Al	SB	t	CTC		V		m	M.O.	
	-----		cmol _c dm ⁻³	-----			-----	%	-----	g kg ⁻¹	
4,1	0,5	1,9	0,22	0,72	2,12		10		69	1,1	
P	P rem	Si	S	K	Ca	Mg	B	Cu	Fe	Mn	Zn
	-----mg dm ⁻³ -----			---- cmol _c dm ⁻³ ----			-----mg dm ⁻³ -----				
1,1	35,9	2,8	6	0,02	0,1	0,1	0,09	1,1	67	1,9	0,3

P, K = (HCl 0,05 N + H₂SO₄ 0,025 N); Al, Ca, Mg = (SPT 1 N); M.O. = (Walkley-Black); Si = (CaCl₂ 0,5 mol L⁻¹); SB = Soma de bases / t = CTC efetiva / T = CTC a pH 7,0 / V = Sat. por Bases / m = Sat. por Al.

A correção do solo foi feita utilizando-se carbonato de cálcio (CaCO_3) e carbonato de magnésio (MgCO_3) (p.a.) nas quantidades de 4,75 g e 1,16 g por vaso, respectivamente. O solo foi incubado por 60 dias, recebendo umidade suficiente para que os corretivos pudessem reagir durante todo o período. Para tal, foram realizados teste de capacidade de campo e reposição da água perdida por evaporação. Os vasos foram rotacionados de forma que o ambiente fosse o mais homogêneo possível. Após a incubação do solo, foi realizada uma nova análise química para verificar se o solo fora corrigido adequadamente, atingindo-se o valor de V% igual a 60. Os valores estão dispostos na Tabela 3.

Tabela 3 - Caracterização química do solo após incubação.

pH	Al^{3+}	H+Al	SB	t	CTC		V	m			M.O.
	-----		$\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$	-----	-----		----- %	-----			g kg^{-1}
6,2	0,0	1,2	2,61	2,61	3,81		68	0			1,1
P	P rem	Si	S	K	Ca	Mg	B	Cu	Fe	Mn	Zn
-----	mg dm^{-3}	-----	-----	-----	$\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$	-----	-----	mg dm^{-3}	-----	-----	-----
0,5	32,0	2,8	3	0,01	2,3	0,3	0,0	1,0	32	1,6	0,2

P, K = (HCl 0,05 N + H_2SO_4 0,025 N); Al, Ca, Mg = (SPT 1 N); M.O. = (Walkley-Black); Si = (CaCl_2 0,5 mol L^{-1}); SB = Soma de bases / t = CTC efetiva / T = CTC a pH 7,0 / V = Sat. por Bases / m = Sat. por Al.

Antes da semeadura, foram incorporados ao solo 400 mg kg^{-1} de fósforo (P) e 200 mg kg^{-1} de potássio (K), provenientes das fontes MAP e KCl, respectivamente, e 50 mg kg^{-1} do produto FTE BR-12, contendo 9% zinco (Zn), 7,1% cálcio (Ca), 5,7% enxofre (S), 2% manganês (Mn), 1,8% boro (B), 0,8% cobre (Cu) e 0,1% Mo. A semeadura do arroz foi realizada distribuindo-se 20 sementes viáveis por vaso, a uma profundidade de 0,5 cm, utilizando-se a cultivar BRS Primavera. Aos 10 DAE foi realizado o desbaste, deixando-se dez plantas por vaso. Aos 15 e 30 DAE foi realizada a adubação de cobertura parcelada, sendo utilizados 100 mg kg^{-1} por cobertura, totalizando 200 mg kg^{-1} , com sulfato de amônio diluído em água a uma concentração de 5 g L^{-1} de N. Aplicaram-se 100 mL da solução por vaso.

A irrigação foi realizada por gotejamento, com 100 a 400 mL por dia, de acordo com a necessidade da cultura. Durante todo o período de condução do experimento a temperatura e umidade foram aferidas por meio de uma central automatizada, registrando os dados a cada hora e programada para manter a temperatura abaixo de 33°C e umidade acima de 50%, com o auxílio de exaustores e climatizadores. Os dados registrados no período estão demonstrados na Tabela 4.

Tabela 4 – Temperaturas registradas no período do experimento, máxima e mínima.

Dia	Máx (°C)	Mín (°C)	Dia	Máx (°C)	Mín (°C)	Dia	Máx (°C)	Mín (°C)	Dia	Máx (°C)	Mín (°C)
03/mai	33	21	29/mai	37	21	24/jun	32	16	20/jul	32	14
04/mai	33	22	30/mai	37	21	25/jun	33	17	21/jul	31	15
05/mai	35	22	31/mai	36	21	26/jun	35	19	22/jul	31	16
06/mai	37	21	01/jun	37	21	27/jun	36	20	23/jul	32	16
07/mai	37	22	02/jun	37	22	28/jun	34	19	24/jul	34	17
08/mai	38	22	03/jun	35	21	29/jun	33	17	25/jul	34	18
09/mai	37	21	04/jun	32	17	30/jun	33	17	26/jul	33	18
10/mai	36	22	05/jun	31	13	01/jul	34	17	27/jul	35	17
11/mai	36	22	06/jun	33	14	02/jul	34	17	28/jul	34	16
12/mai	36	22	07/jun	31	15	03/jul	35	18	29/jul	36	19
13/mai	38	23	08/jun	32	16	04/jul	34	19	30/jul	34	19
14/mai	35	23	09/jun	33	16	05/jul	28	19	31/jul	37	18
15/mai	35	19	10/jun	33	16	06/jul	27	12	01/ago	36	19
16/mai	31	20	11/jun	34	17	07/jul	29	8	02/ago	35	20
17/mai	26	18	12/jun	35	18	08/jul	32	11	03/ago	34	18
18/mai	32	17	13/jun	33	18	09/jul	33	14	04/ago	26	16
19/mai	34	17	14/jun	33	19	10/jul	31	15	05/ago	27	14
20/mai	34	17	15/jun	31	18	11/jul	33	14	06/ago	27	17
21/mai	36	19	16/jun	33	18	12/jul	36	16	07/ago	33	16
22/mai	36	20	17/jun	33	18	13/jul	37	19	08/ago	34	17
23/mai	37	19	18/jun	34	16	14/jul	37	19	09/ago	35	19
24/mai	34	21	19/jun	35	19	15/jul	37	20	10/ago	37	19
25/mai	30	18	20/jun	34	19	16/jul	34	18	11/ago	36	20
26/mai	34	15	21/jun	32	16	17/jul	34	17	12/ago	37	21
27/mai	37	19	22/jun	31	16	18/jul	33	15			
28/mai	36	20	23/jun	31	16	19/jul	32	15			

Foi utilizado no tratamento um bioestimulante (Tabela 5) aplicado via foliar, em três repetições biológicas e volume de calda de 25 mL por vaso.

Tabela 5 – Tratamento, dose e aplicação do produto em teste.

Tratamentos	Produtos	Doses (L ha ⁻¹)	Aplicação mL / 100 mL
T1	Água *	0	0,00
T2	ExpertGrow	0,05	0,05

* Controle

ExpertGrow®: pertencente à Adama Brasil S/A, é formulado a base de extrato de algas marinhas (*Ascophyllum nodosum*) e 3,5% de hidróxido de potássio.

A coleta de material vegetal foi realizada aos 102 DAE, no estágio reprodutivo (R4). Foi retirada a última folha completamente expandida de cada planta, totalizando dez folhas por parcela, em cada tratamento, sendo seccionadas e utilizadas somente o terço médio da folha, para determinação das análises moleculares. Para isso, as amostras foram colhidas e imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas em Ultrafreezer vertical a -80° C. Após, as amostras de folhas foram encaminhadas para o Laboratório de Fisiologia Molecular de Plantas da Universidade Federal de Lavras (LFMP/UFLA), para a extração de RNA total e, em seguida, preparo de amostras para o sequenciamento de RNA (RNA-seq), para identificação e seleção dos genes envolvidos na resposta à aplicação do bioestimulante.

Foi procedida a maceração das folhas com nitrogênio líquido, para posterior extração de RNA. A extração de RNA foi realizada por meio do Protocolo QIAzol (Anexo I), de acordo com as instruções do fabricante (com adaptações). Após a extração do RNA, as amostras foram analisadas quanto a quantidade e qualidade (A260\280 e A260\230), utilizando-se o espectrofotômetro Nanovue® (NanoVue GE Healthcare) (Tabela 6).

Tabela 6 - Quantificação e Relações 260/280 e 260/230.

Extração com Qiazol					Tratamento com DNase			
RNA (ng/ μ L)	260/280 (1,8-2,2)	260/230 ($\geq$ 1,8)	Volume (μ L)	Alíquot a (μ L)	RNA (ng/ μ g)	260/280 (1,8-2,2)	260/230 ($\geq$ 1,8)	Volume Final (μ L)
2541	1.992	2.474	20	1.97	231.6	1.862	2.443	15.0
2770	2.060	1.925	20	1.81	261.6	1.869	1.890	15.0
656.4	1.954	2.088	20	7.62	186.8	1.914	3.013	15.0
3306	2.005	2.001	20	1.51	309.6	1.955	2.263	15.0
1465	2.008	1.520	20	3.41	202.0	1.913	1.583	15.0
818.4	1.914	1.973	20	6.11	298.0	1.835	1.609	15.0
735.2	1.917	1.813	20	6.80	375.6	1.981	1.324	15.0
1711	2.005	2.343	20	2.92	268.8	1.821	1.211	15.0
2439	2.059	2.319	20	2.05	221.2	1.849	2.324	15.0

Para avaliar a integridade do RNA extraído, as amostras foram submetidas a técnica de eletroforese em gel de agarose 0,8% corado com GelRed Nucleic Acid Gel Stain, sendo visualizado em fotodocumentador UV-transilluminator (UVITEC FireReader XS D-77Ls- 20. M) (Figura 1).

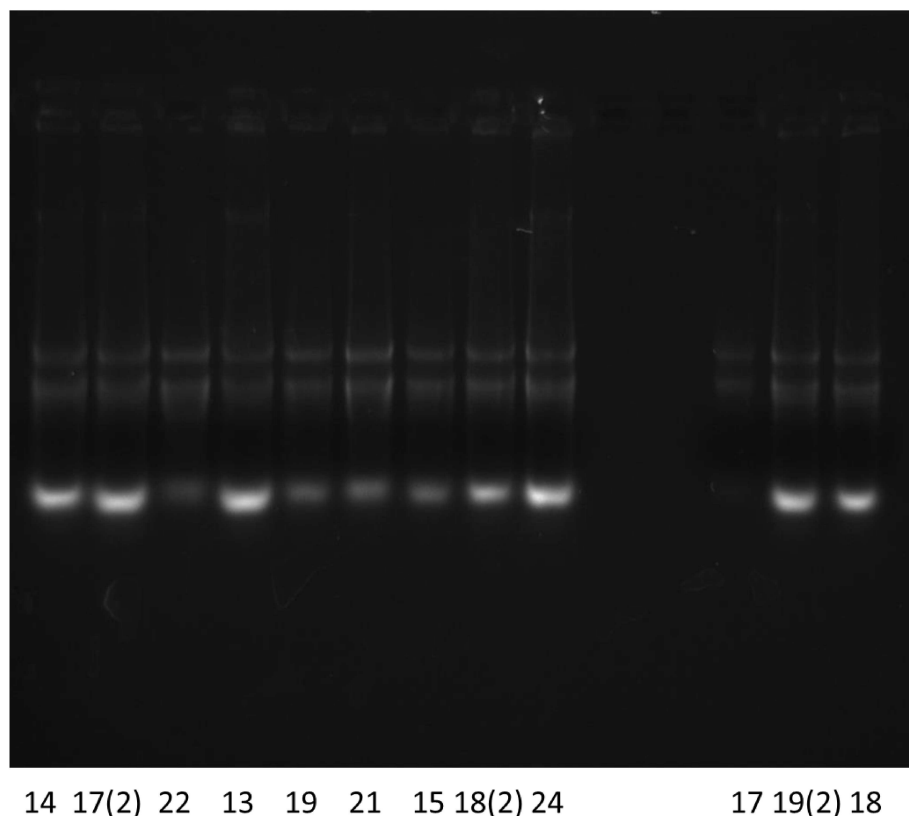


Figura 1 – Eletroforese: Gel Integridade – Extração com Qiazol.

As amostras obtidas foram tratadas com o Turbo DNA free™ kit (Ambion) para eliminação do DNA residual (Anexo II). Em seguida, um volume de 1,5 µL do RNA tratado foi utilizado para quantificação no Nanovue®. Para avaliar a integridade e pureza do RNA, as amostras foram submetidas a eletroforese, visualizando-se em fotodocumentador UV-transilluminator e armazenadas posteriormente em freezer a -20°C (Figuras 2 e 3).

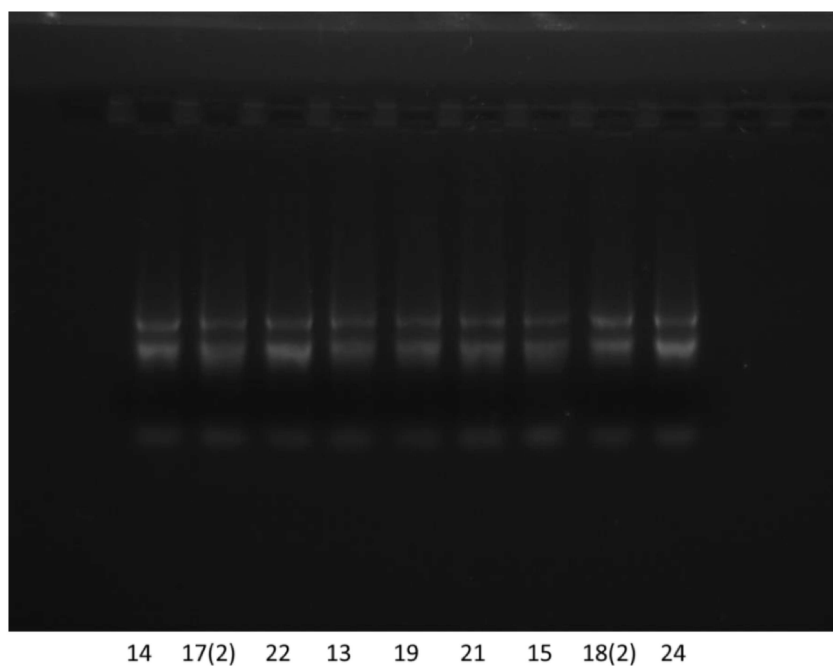


Figura 2 – Eletroforese: Gel Integridade – RNA tratado com DNase.

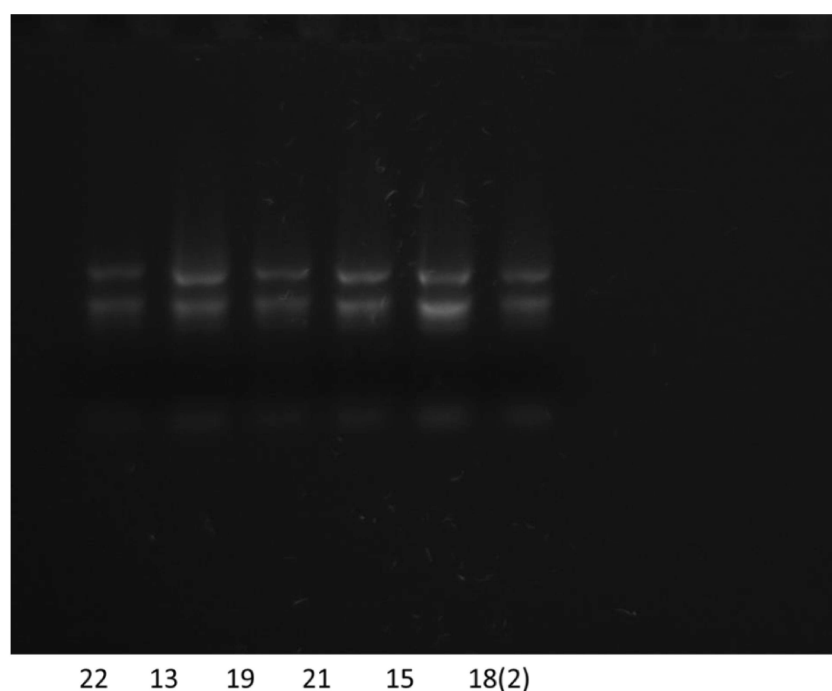


Figura 3 – Eletroforese: Gel Integridade – RNA tratado com DNase.

Para o envio das amostras, o RNA tratado foi transferido para tubos estabilizantes que foram mantidos em temperatura ambiente por cinco minutos e, em seguida, foram submetidos ao SpeedVac™ até a secagem total, mantendo-se a concentração e qualidade recomendados pela empresa de sequenciamento. As especificações técnicas para o sequenciamento incluíram 24 amostras, três lanes de sequenciamento em plataforma Illumina 2X150 pb, com preparo de bibliotecas por seleção de poli-A e cobertura de pelo menos 43 mi *reads* por amostra.

As análises de qualidade, de alinhamento ao genoma e quantificação e da análise de expressão diferencial estão descritas em [Anexo I](#). Já o protocolo de extração de RNA e o protocolo de tratamento com DNase estão descritos em [Anexo II](#) e [Anexo III](#), respectivamente.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Deep sequencing (sequenciamento em grande escala): Expressão diferencial por RNA-seq

Dos 904.066.384 fragmentos sequenciados, 761.906.919 (84%) foram selecionados pelo controle de qualidade para alinhamento ao genoma de referência de *Oryza sativa* L. Aproximadamente 91% dos fragmentos foram alinhados unicamente a *exons* no genoma. Entretanto, após a etapa de remoção de fragmentos duplicados e de genes pouco expressos, o número efetivo de fragmentos utilizados, para a análise de expressão diferencial, foi 144.136.823, ou seja, aproximadamente 16 milhões de fragmentos em cada repetição biológica.

As análises de expressão diferencial identificaram 498 genes diferencialmente expressos (DE) entre os tratamentos. Os resultados da expressão diferencial mostraram que muitos genes tiveram uma enorme mudança na expressão quando as plantas foram tratadas com o bioestimulante (Figura 4). Assim, as diferenças de magnitude entre a expressão dos genes, representadas na Figura 4, indicam o total de transcritos e o impacto biológico da diferença de expressão, em relação ao nível de expressão gênica dada em $\log_2$ de *Fold Change* e a expressão absoluta. Assim, como se pode observar no gráfico (Figura 4), pontos em vermelho representam genes mais expressos (*up-regulated*), enquanto pontos em azul representam genes menos expressos (*down-*

regulated). Pontos em cinza representam genes cuja expressão não foi diferente nas condições.

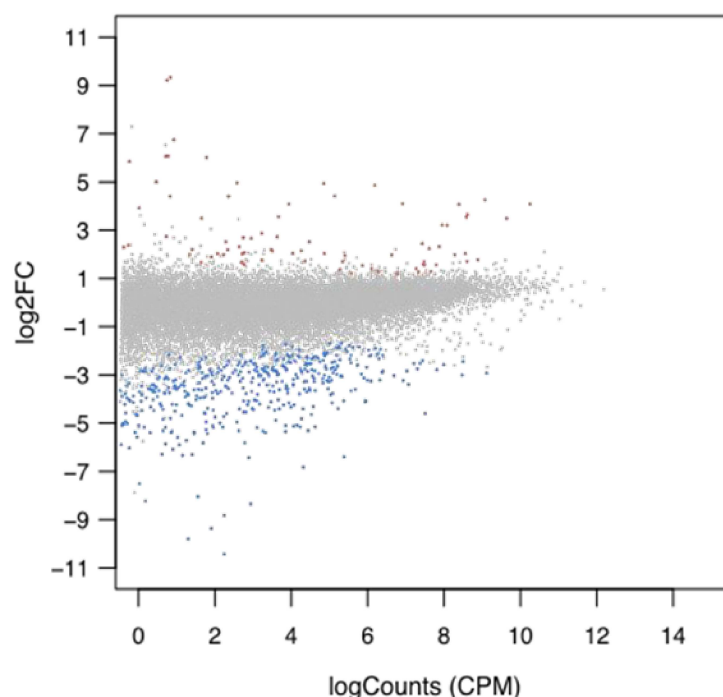


Figura 4 – Expressão diferencial de genes em folhas de arroz, submetidas à aplicação de bioestimulante (ExpertGrow®), determinada a partir de análises de RNA-seq.

Gráfico representando a expressão relativa no eixo Y em logaritmo base 2 dos valores de diferença de expressão (Fold Change) e expressão absoluta média em logaritmo base 10 da média de expressão para cada gene quantificada em CPM (Counts Per Million).

Em relação a magnitude da mudança de expressão (*Fold-Change*) e ao nível de significância estatística (FDR), os resultados mostraram que o bioestimulante promoveu efeitos significativos em larga escala, em que muitos genes positivamente regulados apresentaram maior significância em relação aos genes negativamente regulados (Figura 5). Genes que foram identificados com grandes alterações de dobras de expressão e com posições estatisticamente significativas podem ser mais fisiologicamente significativos.

Em relação à dispersão dos dados, exibidos na Figura 5, quanto menor o valor do teste estatístico para um dado gene maior é sua posição no eixo Y. O valor FDR de 0,05 está representado pela linha pontilhada horizontal e delimita o valor máximo de FDR para dado gene ser considerado DE. Linhas pontilhadas verticais delimitam o valor mínimo do módulo de *Fold Change* para dado gene ser considerado DE. Genes que não

satisfazem ambos os requerimentos não são considerados DE e estão representados em cinza. Assim, observamos que pontos em vermelho representam genes mais expressos (*up-regulated*) com a aplicação do produto, enquanto pontos em azul representam genes menos expressos (*down-regulated*).

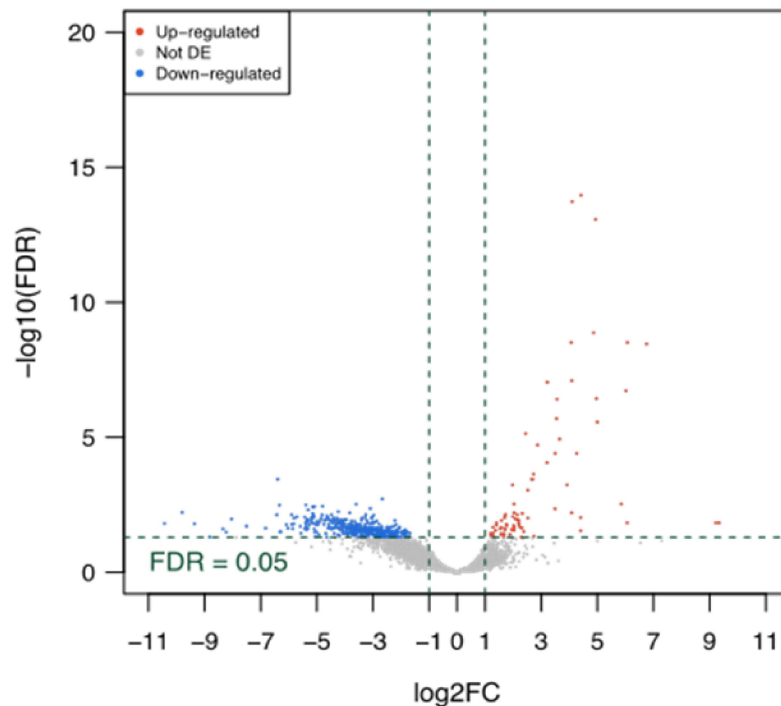


Figura 5 – Representação esquemática da magnitude da expressão diferencial de genes em folhas de arroz tratadas com bioestimulante (ExpertGrow®).

Os genes mais positivamente regulados estão à direita, os genes mais negativamente regulados estão à esquerda (eixo x) e os genes estatisticamente mais significativos estão para o topo (eixo y).

Observa-se na Figura 6 a visão global de como os genes DE estão distribuídos nas duas condições avaliadas. Assim, genes com maiores valores de expressão estão codificados na escala de cor vermelha, enquanto genes com valores de expressão menores estão codificados na escala de branco e azul. Assim, é notado o gradiente de cores indicando a intensidade do nível de significância. Os valores de expressão estão apresentados em logaritmo base 10 de FPKM (*Fragments per kilo base per million mapped reads*) + 1.

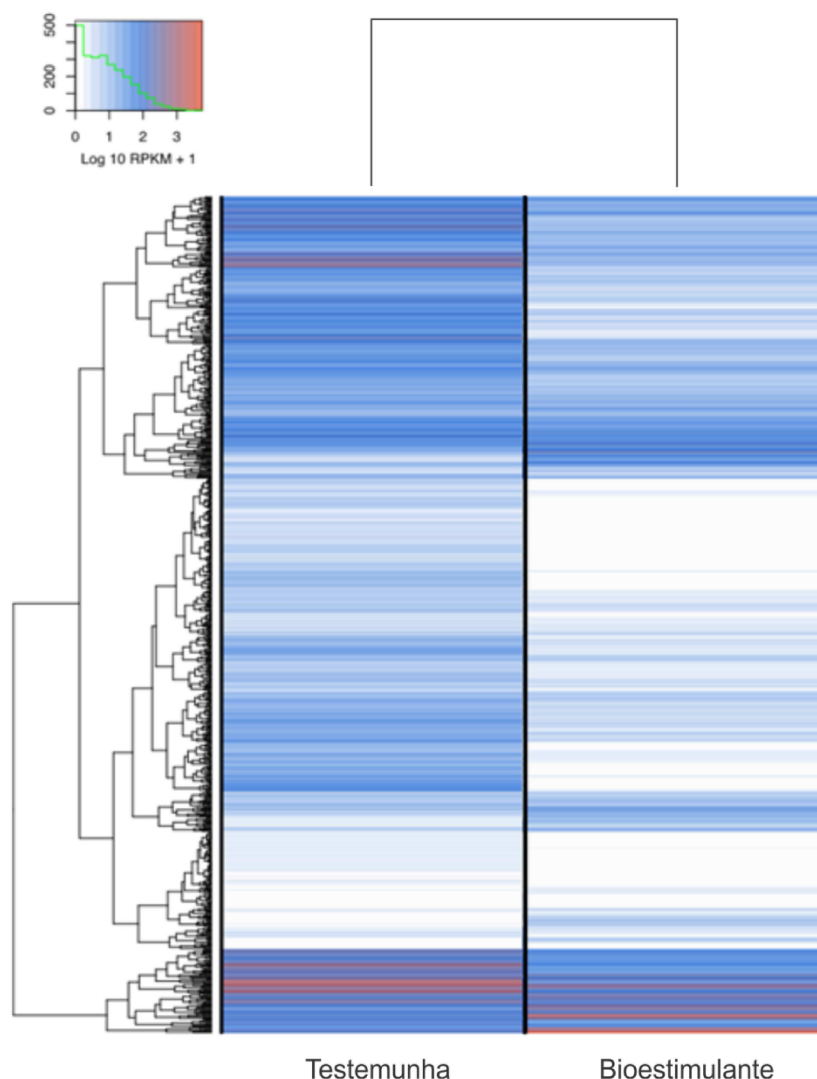


Figura 6 – Representação em *heatmap* dos 498 genes diferencialmente expressos (linhas) nas duas condições biológicas avaliadas (colunas), a partir das análises dos dados de RNA-seq, de folhas de arroz submetidas à aplicação do bioestimulante (ExpertGrow®).

3.2 Comparação entre os transcriptomas usando a categorização do Gene Ontology

A fim de comparar os transcriptomas do tratamento com bioestimulante, foi utilizada a categorização do Gene Ontology (GO) para encontrar as categorias a que estas sequências pertencem. A ontologia gênica é uma linguagem controlada de termos gerada para representar as informações biológicas de forma organizada. De acordo com Thomas (2017), o GO fornece uma estrutura e um conjunto de conceitos para descrever de maneira abrangente as funções dos produtos gênicos. Dessa forma, os termos

definem o conjunto das possíveis funções desempenhadas por um gene e são referenciados por diferentes categorias de evidências (HUANG et al., 2019).

Os termos GO são subdivididos em três ontologias (uma ontologia define as regras que regulam a combinação entre os termos e as relações) distintas que representam diferentes aspectos dos sistemas biológicos: Função Molecular (F), Processo Biológico (P) e Componente Celular (C). Nesta representação de três ontologias, um gene codifica um produto biológico que realiza função em nível molecular (F) em um local específico da célula (C) e essa função faz parte de um processo biológico mais complexo (P), que pode abranger várias funções moleculares (THOMAS, 2017).

Assim, uma função molecular representa um processo bioquímico realizado por um produto gênico e as suas interações com outras biomoléculas, enquanto um componente celular refere-se à localização de um produto gênico nos diferentes compartimentos e estruturas celulares ou a sua participação em complexos estáveis de macromoléculas (GAUDET et al., 2017). Já um processo biológico representa um conjunto de funções moleculares realizadas por produtos gênicos específicos, frequentemente de uma maneira altamente regulada e em uma sequência temporal particular (THOMAS, 2017; GAUDET et al., 2017).

Na Tabela 7 estão demonstrados os dados da análise de enriquecimento funcional de genes diferencialmente expressos (*up-regulated*) nas folhas de arroz em função da aplicação do bioestimulante.

Tabela 7 – Enriquecimento funcional de genes diferencialmente expressos (*up-regulated*) em tecido foliar de arroz (*Oryza sativa* L.) submetido à aplicação de bioestimulante (ExpertGrow®).

Termo GO	Ontologia*	Descrição	Número de genes DE	Número de genes no genoma do arroz	p-value	FDR
GO:0009628	P	Response to abiotic stimulus	28	3022	9.10E-13	4.90E-11
GO:0006950	P	Response to stress	32	4660	3.10E-11	8.40E-10
GO:0050896	P	Response to stimulus	33	6928	1.70E-07	3.10E-06

*P = processo biológico.

Na comparação das sequências diferencialmente expressas (*up-regulated*) utilizando o GO, foram encontradas três categorias enriquecidas. Entre os termos

enriquecidos destacam-se processos biológicos envolvidos com resposta ao estímulo abiótico, resposta a estresses e resposta a estímulos (Tabela 7).

Nos resultados ilustrados na Figura 7, o diagrama da distribuição hierárquica da análise de enriquecimento de genes *up-regulated* está representado para processos biológicos, em função da aplicação de bioestimulante.

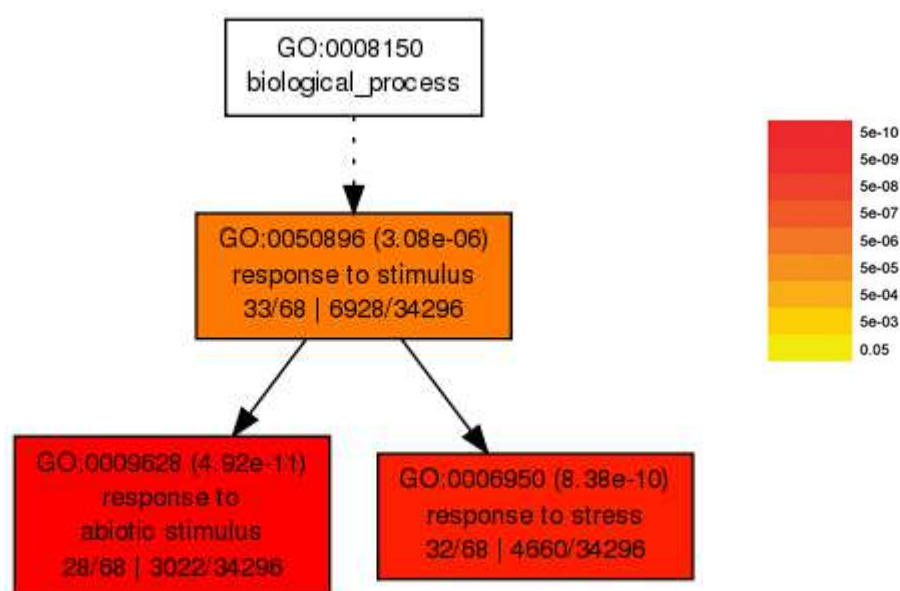


Figura 7 – Diagrama da distribuição hierárquica da análise de enriquecimento de genes *up-regulated* para processos biológicos, em função da aplicação de bioestimulante (ExpertGrow®), com significância estatística pelo teste de Fisher e FDR.

Observa-se que 33 dos 68 genes superexpressos pela aplicação do bioestimulante são ligados a respostas a estímulos, com relação direta a resposta estímulos abióticos e resposta à estresses, com 34296 termos ligados ao processo. Destes, 28 e 32 dos 68 genes superexpressos pela aplicação do bioestimulante são ligados a estímulos abióticos e de resposta ao estresse, respectivamente (Figura 7).

Na Tabela 8 estão demonstrados os dados da análise de enriquecimento funcional de genes diferencialmente expressos (*down-regulated*) nas folhas de arroz em função da aplicação do bioestimulante. Na comparação das sequências diferencialmente expressas (*down-regulated*), foram encontradas quinze categorias enriquecidas. Dentre os termos enriquecidos observam-se aqueles envolvidos a processos biológicos e componentes celulares. Assim, nota-se processos relacionados à fotossíntese e geração de metabólitos precursores e energia.

Tabela 8 – Enriquecimento funcional de genes diferencialmente expressos (*down-regulated*) em tecido foliar de arroz (*Oryza sativa* L.) submetido à aplicação de bioestimulante (ExpertGrow®).

Termo GO	Ontologia*	Descrição	Número de genes DE	Número de genes no genoma do arroz	p-value	FDR
GO:0015979	P	Photosynthesis	23	324	1.80E-12	5.10E-10
GO:0006091	P	Generation of precursor metabolites and energy	17	480	1.60E-05	0.0023
GO:0009536	C	Plastid	119	4703	1.90E-21	1.50E-19
GO:0009579	C	Thylakoid	43	772	1.20E-18	5.00E-17
GO:0005623	C	Cell	270	22048	3.90E-07	1.10E-05
GO:0044444	C	Cytoplasmic part	154	10930	2.30E-06	4.60E-05
GO:0005737	C	Cytoplasm	162	11866	7.10E-06	0.00011
GO:0016020	C	Membrane	118	8187	3.00E-05	0.00031
GO:0043231	C	Intracellular membrane-bounded organelle	159	11878	3.10E-05	0.00031
GO:0043227	C	Membrane-bounded organelle	159	11878	3.10E-05	0.00031
GO:0044464	C	Cell part	235	19532	0.00011	0.001
GO:0043229	C	Intracellular organelle	159	12251	0.00018	0.0013
GO:0043226	C	Organelle	159	12251	0.00018	0.0013
GO:0044424	C	Intracellular part	176	14514	0.0023	0.016
GO:0005622	C	Intracellular	180	15144	0.0052	0.033

*P = processo biológico; C = componente celular.

Em relação à classe de componentes celulares, destacam-se alterações nos processos relacionados com plastídeos, tilacoides, células, partes citoplasmáticas, citoplasma, membranas, organelas intracelulares ligadas a membranas, partes das células e organelas intracelulares (Tabela 8).

Na Figura 8, observa-se o diagrama da distribuição hierárquica da análise de enriquecimento de genes *down-regulated* para processos biológicos em função da aplicação de bioestimulante. Neste, nota-se que 17 dos 352 genes diferencialmente expressos pela aplicação do bioestimulante são ligados a geração de metabólitos precursores de energia, com relação indireta a processos metabólicos celulares. Ainda, 23 dos 352 genes diferencialmente expressos são ligados a processos fotossintéticos (Figura 8).

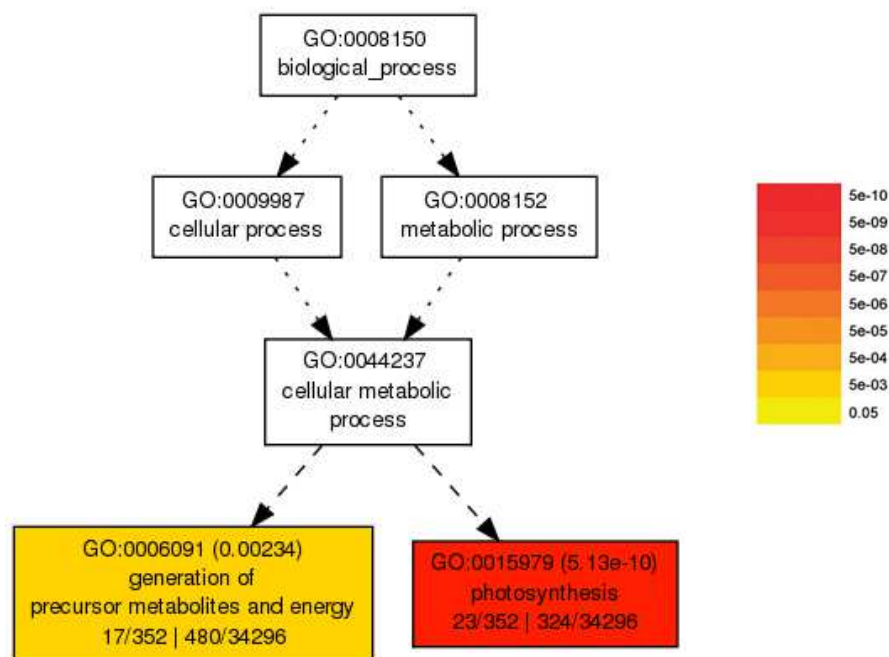


Figura 8 – Diagrama da distribuição hierárquica da análise de enriquecimento de genes *down-regulated* para processos biológicos, em função da aplicação de bioestimulante (ExpertGrow®), com significância estatística pelo teste de Fisher e FDR.

Já na Figura 9, observa-se o diagrama da distribuição hierárquica da análise de enriquecimento de genes *down-regulated* para componentes celulares, em função da aplicação de bioestimulante. Neste, são destacadas alterações nos processos relacionados à plastídeos e tilacoides.

Assim, nota-se que 43 dos 352 genes diferencialmente expressos pela aplicação do bioestimulante são ligados aos tilacoides, com relação direta com partes intracelulares e 119 dos 352 genes diferencialmente expressos são ligados a plastídios, com relação direta às partes citoplasmáticas e organelas intracelulares de membranas (Figura 9).

Na Figura 10, no diagrama da distribuição hierárquica da análise de enriquecimento de genes *down-regulated* para função molecular, em função da aplicação de bioestimulante, destacam-se alterações nos processos relacionados a ligações de íons de ferro e atividade de proteínas quinases, com relação direta a grupos específicos de serina e treonina e atividade de proteína tirosina quinase.

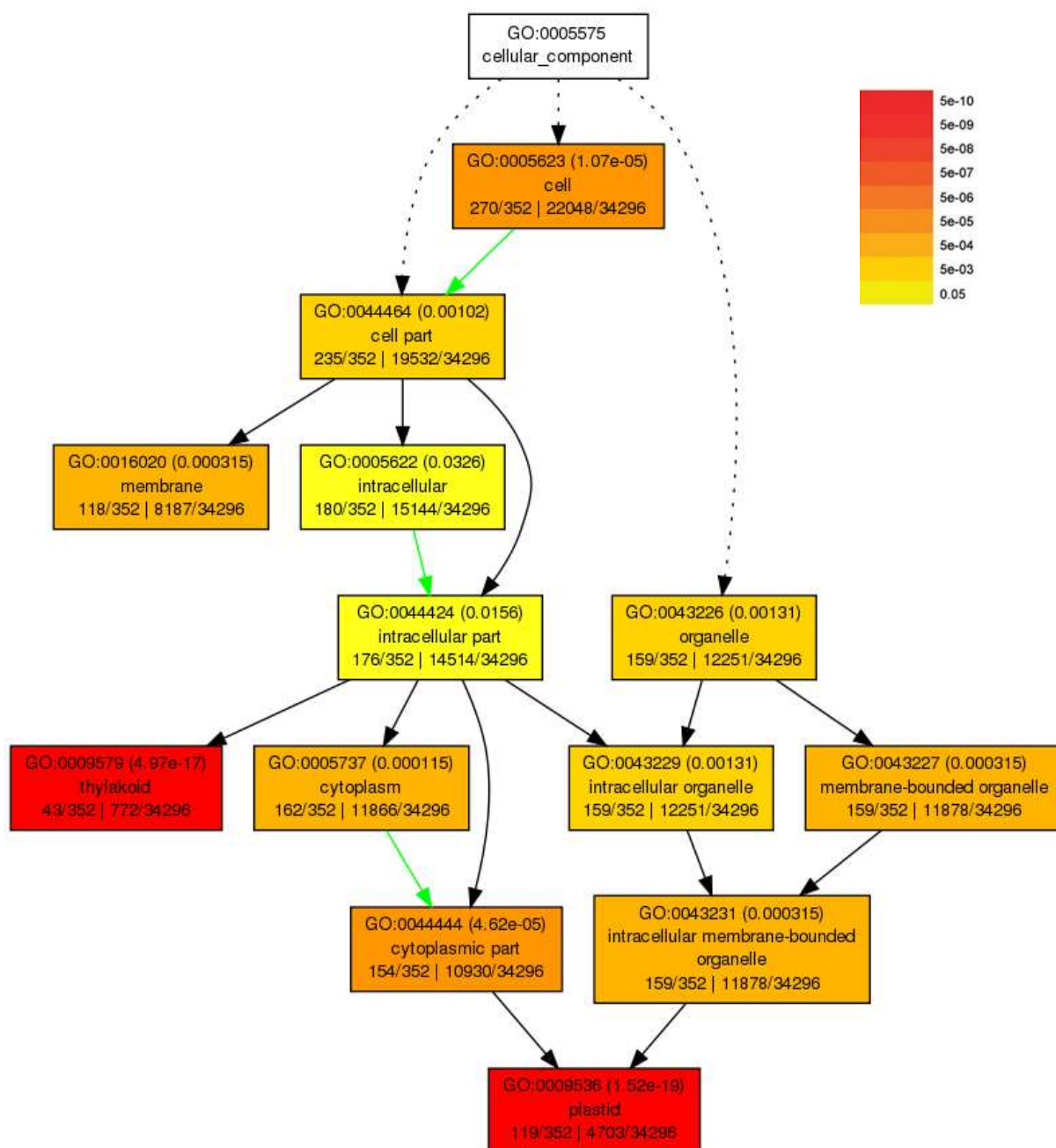


Figura 9 – Diagrama da distribuição hierárquica da análise de enriquecimento de genes *down-regulated* para componentes celulares, em função da aplicação de bioestimulante (ExpertGrow®), com significância estatística pelo teste de Fisher e FDR.

De acordo com o diagrama da distribuição hierárquica da análise de enriquecimento de genes *down-regulated* para função molecular, observa-se que 17 dos 245 genes diferencialmente expressos pela aplicação do bioestimulante são ligados a ligações de íons de ferro e 29 ligados à atividade de proteínas serina/treonina quinases e de proteínas tirosina quinase, com 24075 termos ligados ao processo (Figura 10).

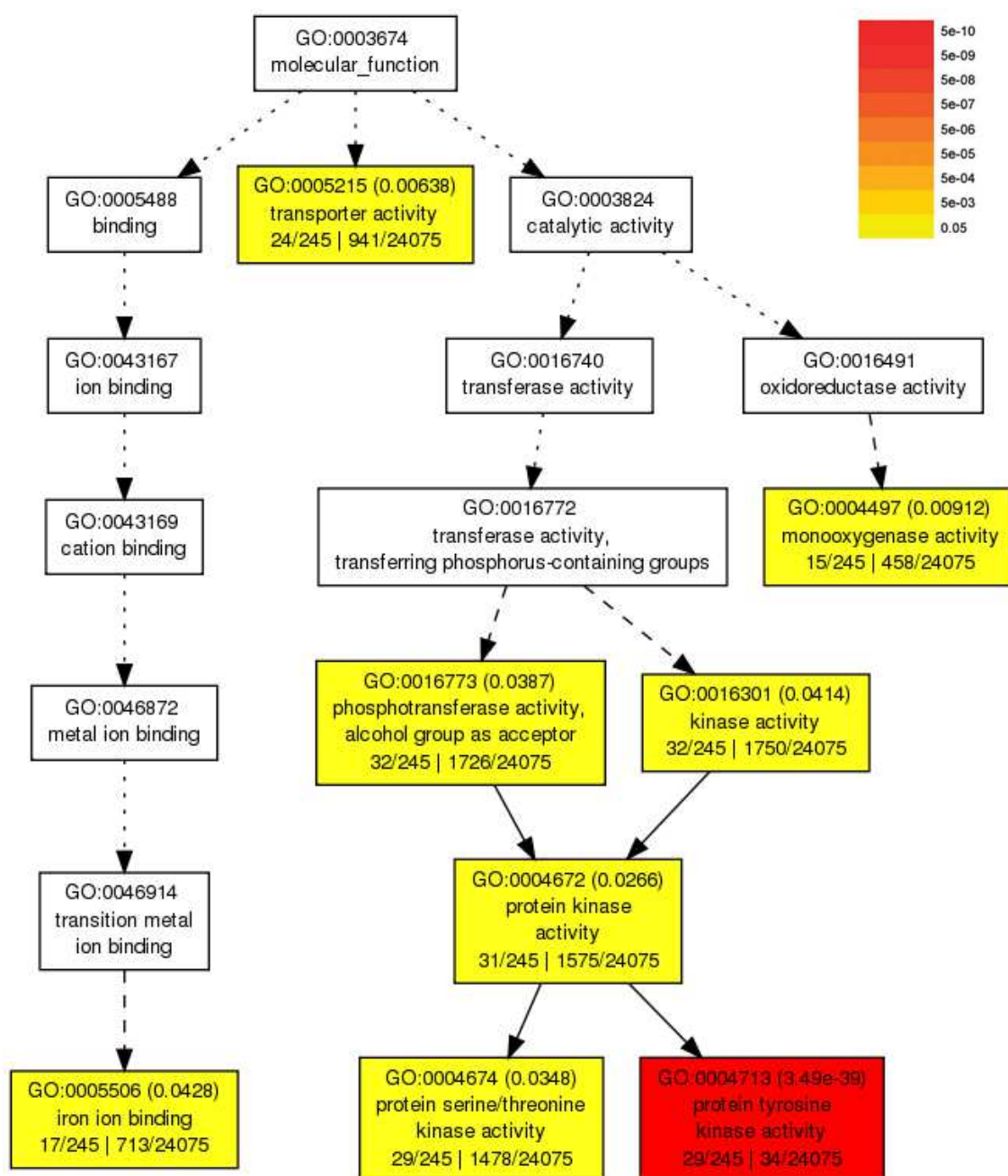


Figura 10 – Diagrama da distribuição hierárquica da análise de enriquecimento de genes *down-regulated* para função molecular, em função da aplicação de bioestimulante (ExpertGrow®), com significância estatística pelo teste de Fisher e FDR.

Os bioestimulantes são descritos por Russo e Berlyn (1992) como produtos não nutricionais, que podem reduzir o uso de fertilizantes e aumentar a produção e a resistência aos estresses, como os causados por temperatura e déficit hídrico. Ainda, muitos dos efeitos benéficos dos bioestimulantes são baseados na sua habilidade de influenciar a atividade hormonal das plantas, que é responsável por regular o

desenvolvimento normal dos vegetais e as suas respostas ao ambiente onde se encontram (LONG, 2006).

Dessa forma, é esperado que a aplicação de bioestimulantes propicie melhores respostas aos efeitos deletérios em plantas submetidas a estresses (VENDRUSCOLO et al., 2016; FERNANDES, 2020; VIEIRA et al., 2019; DIESEL e SILVA, 2020; MARTINS et al., 2022; MORAES, 2020; RODRIGUES, 2020; CORNETA, 2021; CUNHA, 2021; SILVA et al., 2021). A comparação dos transcriptomas utilizando os termos Gene Ontology (GO) possibilitou encontrar categorias funcionais enriquecidas com a aplicação do bioestimulante e, dentre os termos diferencialmente enriquecidos identificados, observou-se genes superexpressos ligados a respostas a estímulos, com relação direta à resposta estímulos abióticos e resposta a estresses (Tabela 7), corroborando com a hipótese de que os bioestimulantes atenuam o estresse das plantas às condições climáticas adversas, ativando, ainda, o sistema de defesa das plantas (MARTINS et al., 2022).

Neste contexto, foram registrados durante a condução do experimento, com o aporte de uma central automatizada instalada dentro da casa de vegetação, dados de temperatura e umidade, registrando os dados a cada hora (Tabela 4). Dos 102 dias (tempo total do cultivo do arroz), 94 dias foram em condições de estresse térmico para a cultura. De acordo com o Zoneamento Agrícola de Risco Climático (Zarc) para a cultura do Arroz de Sequeiro, para um bom desenvolvimento da cultura a temperatura deve variar entre 20°C e 35°C e, durante a floração, a temperatura ideal situa-se entre 30°C a 33°C (BRASIL, 2022).

Os estresses abióticos são um dos responsáveis pela indução de adaptações em plantas. Estas quando submetidas ao estresse, respondem através de mecanismos de sinalização nas rotas fisiológicas, desencadeando um processo de aclimação. Esses estresses são causados tanto por fatores abióticos (temperatura, água, minerais, radiação, gases), como por estresses bióticos (planta, microrganismos, pragas, origem antropogênica). Dessa forma, no ambiente temos diversos tipos de estresses (VICTORIA, 2015; BIANCHI et al., 2016; SOUZA, 2016), no entanto, os genes diferencialmente expressos pela aplicação do bioestimulante aqui encontrados (como por exemplo, um grande número de proteínas induzidas por choque térmico, como as heat shock protein), caracterizados no tópico a seguir (Tópico 3.3), nos direcionam a inferir a grande probabilidade destes genes terem sua expressão diferencial induzida por este estresse térmico, podendo ser reforçado ainda pela magnitude da mudança de

expressão (*Fold-Change*), já explanado no Tópico 3.1 (Figuras 4 e 5), ocasionadas pela ação do bioestimulante.

Desta forma, os mecanismos identificados pelo GO podem estar diretamente relacionados com a tolerância das plantas ao estresse térmico enfrentado no período (Tabela 4), indicando que a aplicação do bioestimulante estimulou respostas positivas, superexpressando genes envolvidos com respostas ao estímulo abiótico, resposta a estresses e resposta a estímulos (Tabela 7). Ainda, foram observadas alterações na expressão de genes relacionados a processos biológicos associados à fotossíntese e geração de metabólitos precursores de energia e componentes moleculares relacionados à tilacoides e plastídeos (Tabela 8), inferindo-se que pode ser um indicativo de que as plantas de arroz, submetidas à aplicação do bioestimulante, tentam responder aos danos provocados pelo estresse evitando/minimizando a ocorrência de danos por estes mecanismos de ação.

3.3 Caracterização dos genes diferencialmente expressos

Em relação especificamente aos transcritos sequenciados, foram identificados 498 genes diferencialmente expressos. Dentre estes, foram selecionados 176 genes que foram regulados negativamente (*down-regulated*) e os 65 genes que foram superexpressos (*up-regulated*). Estas sequências estão dispostas nas Tabelas 9 e 10, respectivamente. Estudos funcionais revelam que a superexpressão ou silenciamento de genes específicos podem modificar acentuadamente mecanismos de defesa e respostas a estresses (OLIVEIRA, 2010; HÜTHER, 2014; OLIVEIRA, 2016; SANTOS, 2016; GULLNER et al., 2018; ZHANG et al., 2021).

Para os genes regulados positivamente, observou-se o aumento de expressão de genes intimamente relacionados a mecanismos de defesa, respostas a estresses, floração, regulação de transcrição/tradução gênica e metabolismo vegetal (Tabela 10). Já para os genes regulados negativamente, pôde-se observar principalmente genes relacionados à fotossíntese, respostas a estresses e regulação floral (Tabela 9).

Tabela 9 – Seleção de genes diferencialmente expressos (*down-regulated*) em tecido foliar de arroz (*Oryza sativa* L.) submetido à aplicação de bioestimulante (ExpertGrow®).

Gene Model	Protein Name/Function	P-Value
LOC_Os08g39300.4	Alanine:glyoxylate aminotransferase	8.51E-05
LOC_Os02g43194.1	Aldehyde dehydrogenase 3F1	0.000114542
LOC_Os10g41270.1	Alpha/beta-Hydrolases superfamily protein	0.0005838
LOC_Os04g56240.1		9.20E-05
LOC_Os09g28640.1		5.38E-05
LOC_Os07g06860.1		0.00044879
LOC_Os01g51360.2		0.00029547
LOC_Os10g35520.1		6.09E-05
LOC_Os01g51360.1		0.00033232
LOC_Os01g69060.1		0.00039386
LOC_Os05g35470.1		0.00058625
LOC_Os08g37040.1		0.00122624
LOC_Os09g28630.1	Ankyrin repeat family protein	0.00014963
LOC_Os11g07980.1		0.00010681
LOC_Os07g34830.1		0.00032826
LOC_Os07g33660.1		0.00067749
LOC_Os06g18850.1	Ankyrin repeat-containing protein 2	0.00074502
LOC_Os03g63480.1		0.00077473
LOC_Os03g20650.1	Basic-leucine zipper (bZIP) transcription factor family protein	6.29E-05
LOC_Os06g15330.1	B-box type zinc finger protein with CCT domain	2.51E-05
LOC_Os03g50310.1		0.00062318
LOC_Os03g52239.1	BEL1-like homeodomain 4	0.00050987
LOC_Os07g35880.1	Beta-amylase 5	0.00012457
LOC_Os07g19000.1	Bifunctional inhibitor/lipid-transfer protein/seed storage 2S albumin superfamily protein	0.00094805
LOC_Os03g57240.1	C ₂ H ₂ and C ₂ HC zinc fingers superfamily protein	0.00043782
LOC_Os05g06920.1	Ca ²⁺ -activated rela/spot homolog	9.75E-05
LOC_Os02g49680.1	Calcium sensing receptor	0.0001222
LOC_Os03g12530.1	Cation efflux family protein	0.00014369
LOC_Os12g06060.1	Cationic amino acid transporter 6	0.00091681
LOC_Os10g28370.1	Chlorophyllase 2	0.00067029
LOC_Os03g03990.1	Chloroplast signal recognition particle component (CAO)	0.00034233
LOC_Os11g37920.1	Class I glutamine amidotransferase-like superfamily protein	0.00063991
LOC_Os01g73540.1	Cofactor assembly, complex C (B6F)	0.00089481
LOC_Os09g09510.1	Concanavalin A-like lectin protein kinase family protein	0.00089765
LOC_Os01g03549.1	Cupredoxin superfamily protein	0.00029614
LOC_Os06g43180.1	Cyclase family protein	0.00129666
LOC_Os03g42070.1	Cyclin d5;1	4.84E-05
LOC_Os04g53680.1	Cyclin p2;1	0.000506638

(... continua ...)

Tabela 9, Cont.

LOC_Os01g02080.1	Cyclophilin-like peptidyl-prolyl cis-trans isomerase family protein	0.00024604
LOC_Os07g43560.1	Cysteine-rich RLK (RECEPTOR-like protein kinase) 10	0.00062343
LOC_Os07g43570.1		0.0006066
LOC_Os07g34980.1	Cysteine-rich RLK (RECEPTOR-like protein kinase) 23	0.00096857
LOC_Os10g04730.1		0.00043235
LOC_Os09g35940.1	Cytochrome p450 78a9	1.68E-05
LOC_Os10g38110.2	Cytochrome P450, family 704, subfamily A, polypeptide 2	0.00066355
LOC_Os08g43440.1	Cytochrome P450, family 706, subfamily A, polypeptide 6	0.00047165
LOC_Os06g43430.1	Cytochrome P450, family 71 subfamily B, polypeptide 7	0.00080275
LOC_Os01g12740.1	Cytochrome P450, family 71, subfamily A, polypeptide 24	0.00021316
LOC_Os09g36070.1	Cytochrome P450, family 71, subfamily B, polypeptide 34	0.00019265
LOC_Os05g01120.1	Cytochrome P450, family 722, subfamily A, polypeptide 1	0.0010868
LOC_Os03g14420.1	Cytochrome P450, family 76, subfamily C, polypeptide 4	0.00049931
LOC_Os11g29720.1	Cytochrome P450, family 78, subfamily A, polypeptide 10	0.00024822
LOC_Os08g43390.1	Cytochrome P450, family 78, subfamily A, polypeptide 6	0.00029849
LOC_Os02g30110.1	Cytochrome P450, family 81, subfamily D, polypeptide 5	0.0004657
LOC_Os08g05620.1	Cytochrome P450, family 87, subfamily A, polypeptide 6	0.00073285
LOC_Os03g04680.1	Cytochrome P450, family 96, subfamily A, polypeptide 1	7.53E-05
LOC_Os02g05686.1	Disease resistance protein (TIR-NBS-LRR class) family	0.0012806
LOC_Os07g01620.1	Disease resistance-responsive (dirigent-like protein) family protein	0.00010012
LOC_Os11g16550.1	Enzyme binding;tetrapyrrole binding	0.0003284
LOC_Os04g56230.1	Farnesyl diphosphate synthase 1	6.88E-05
LOC_Os02g57860.1	F-box and Leucine Rich Repeat domains containing protein	0.00130604
LOC_Os03g20500.1	F-box family protein	0.00063484
LOC_Os06g02500.1	Fe superoxide dismutase 2	0.00033665
LOC_Os04g36720.1	Ferric reduction oxidase 7	0.00013862
LOC_Os03g63970.1	Gibberellin 20 oxidase 2	0.0012511
LOC_Os10g38730.1	Glutathione S-transferase family protein	0.000344425
LOC_Os10g38780.1		0.001035795
LOC_Os10g38140.1		0.000488074
LOC_Os10g38710.1	Glutathione S-transferase TAU 16	2.01E-05
LOC_Os07g28480.1	Glutathione S-transferase TAU 24	3.77E-05
LOC_Os04g53230.1	Glycine cleavage T-protein Family	0.00037647
LOC_Os06g01620.1	GRAS family transcription fator	0.00012967
LOC_Os06g40780.1		0.00011406
LOC_Os01g20830.1	Heavy metal transport/detoxification superfamily protein	0.00060471
LOC_Os01g71330.1	High chlorophyll fluorescence 153	0.0001127
LOC_Os02g04510.1	High chlorophyll fluorescence phenotype 173	7.02E-05
LOC_Os03g19560.3	High chlorophyll fluorescent 107	0.00055098
LOC_Os06g02580.1	High-affinity nickel-transport family protein	0.0005909
LOC_Os12g41860.1	Homeobox-leucine zipper family protein / lipid-binding START domain-containing protein	0.000871235

(... continua ...)

Tabela 9, Cont.

LOC_Os02g02000.1	Hydroperoxide lyase 1	7.02E-06
LOC_Os05g28090.2	Inorganic carbon transport protein-related	0.00016756
LOC_Os06g45370.1	Inositol monophosphatase family protein	0.00046805
LOC_Os03g48030.1	Integral membrane HPP family protein	0.00057897
LOC_Os06g36450.1	Iron regulated 2	0.00014814
LOC_Os05g04120.1	Iron-regulated protein 3	0.00046344
LOC_Os01g50840.1	Kelch repeat-containing F-box family protein	0.000400597
LOC_Os03g56370.1	Leucine carboxyl methyltransferase	0.000143434
LOC_Os08g39550.1	Leucine-rich repeat (LRR) family protein	0.000827033
LOC_Os08g14940.1	Leucine-rich repeat protein kinase family protein	5.36E-05
LOC_Os08g14950.1		0.000137533
LOC_Os01g66810.1		0.000853675
LOC_Os05g51070.1		0.001328396
LOC_Os10g02990.1	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein	1.49E-05
LOC_Os11g13890.2	Light harvesting complex of photosystem II 5	0.00058166
LOC_Os11g13890.6		0.00014882
LOC_Os04g38410.1	Light harvesting complex photosystem II subunit 6	3.88E-05
LOC_Os08g33820.1	Light-harvesting chlorophyll-protein complex I subunit A4	0.00097323
LOC_Os05g30220.1	LRR and NB-ARC domains-containing disease resistance protein	0.00011958
LOC_Os07g46310.1	Magnesium-chelatase subunit chl _h , chloroplast, putative / Mg-protoporphyrin IX chelatase, putative (CHLH)	0.00113612
LOC_Os06g04150.1	Magnesium-protoporphyrin IX methyltransferase	0.00093587
LOC_Os10g05780.1	Major facilitator superfamily protein	1.24E-05
LOC_Os12g12934.1		0.00014921
LOC_Os10g02340.1		0.00013537
LOC_Os01g65140.1		0.00063959
LOC_Os01g65130.1		0.00069387
LOC_Os04g38026.1		0.00028605
LOC_Os08g31700.1		0.00069894
LOC_Os02g44570.1		3.74E-05
LOC_Os03g57149.1	Mitochondrial transcription termination factor family protein	5.19E-05
LOC_Os07g22670.1		0.00115026
LOC_Os03g18170.1	Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 14	0.00127943
LOC_Os01g59090.1	Mog1/psbp/DUF1795-like photosystem II reaction center psbp family protein	0.00106525
LOC_Os02g51020.1	NDH dependent flow 6	0.00021636
LOC_Os03g06230.1	NDH-dependent cyclic electron flow 1	0.00033443
LOC_Os08g17390.1		0.00066916
LOC_Os03g53710.1	NDH-dependent cyclic electron flow 5	0.00044462
LOC_Os02g47510.1	Nine-cis-epoxycarotenoid dioxygenase 4	7.79E-05
LOC_Os10g40600.1	Nitrate transporter 1.1	0.00022114
LOC_Os01g54490.1	PEBP (phosphatidylethanolamine-binding protein) family protein	0.001235392
LOC_Os06g06300.1		6.62E-05

(... continua ...)

Tabela 9, Cont.

LOC_Os05g50950.1	Pentatricopeptide (PPR) repeat-containing protein	0.00081404
LOC_Os07g40120.1	Pentatricopeptide repeat (PPR) superfamily protein	0.00078032
LOC_Os03g21780.1		5.84E-05
LOC_Os03g43470.1	Pentatricopeptide repeat (PPR-like) superfamily protein	0.00077752
LOC_Os07g36390.1		0.00118725
LOC_Os06g49220.1	Peptide transporter 2	0.0004323
LOC_Os03g58570.1	Phosphate transporter traffic facilitator1	0.00071998
LOC_Os06g28194.3	Phosphoglucosyltransferase, putative / glucose phosphomutase, putative	0.00082271
LOC_Os06g40180.1	Phospholipase D alpha 1	0.0004752
LOC_Os02g47020.1	Phosphoribulokinase	0.0013001
LOC_Os09g26810.1	Photosystem I light harvesting complex gene 6	0.00057683
LOC_Os07g28610.3	Photosystem I P subunit	0.0001424
LOC_Os12g08770.1	Photosystem I reaction center subunit PSI-N, chloroplast, putative / PSI-N, putative (PSAN)	0.00023603
LOC_Os02g37060.1	Photosystem II 5 kd protein	0.00049215
LOC_Os03g21560.1	Photosystem II family protein	0.00021799
LOC_Os01g71190.1	Photosystem II reaction center PSB28 protein	0.00094519
LOC_Os08g10020.1	Photosystem II subunit R	0.00031176
LOC_Os03g22370.1		0.00026989
LOC_Os07g47640.1	Photosystem II subunit X	0.00043512
LOC_Os02g35970.1		5.11E-05
LOC_Os12g39380.1	Phototropic-responsive NPH3 family protein	0.00132453
LOC_Os06g01934.1	POX (plant homeobox) family protein	0.000209744
LOC_Os02g17710.1	Protein kinase family protein with leucine-rich repeat domain	0.00049535
LOC_Os06g09230.2	Protein kinase protein with adenine nucleotide alpha hydrolases-like domain	0.0004207
LOC_Os09g12300.1		2.80E-05
LOC_Os01g66020.1		3.53E-05
LOC_Os01g02370.1		0.00033267
LOC_Os01g02570.1	Protein kinase superfamily protein	0.00121447
LOC_Os01g02770.1		0.00126362
LOC_Os01g02710.1		0.00108263
LOC_Os02g36850.1	Psbq-like 2	2.10E-05
LOC_Os04g44200.1	Psbq-like 3	0.00136174
LOC_Os02g35180.1	Response regulator 3	7.06E-05
LOC_Os02g38240.1	Rhodanese/Cell cycle control phosphatase superfamily protein	0.00034753
LOC_Os11g02424.1		0.000779891
LOC_Os02g35440.1		0.001140932
LOC_Os02g15110.1		0.000179207
LOC_Os05g40020.1	RING/U-box superfamily protein	0.000677229
LOC_Os02g15120.1		0.000763154
LOC_Os06g34400.1		0.001306714
LOC_Os11g47970.1	Rubisco activase	0.00107822

(... continua ...)

Tabela 9, Cont.

LOC_Os11g32500.1	Rubredoxin-like superfamily protein	0.0002326
LOC_Os08g23410.1		0.00043928
LOC_Os08g15460.1	SECY homolog 1	0.00016606
LOC_Os03g54130.1	Senescence-associated gene 12	0.000575494
LOC_Os05g50550.1	Solanesyl diphosphate synthase 2	0.00044181
LOC_Os12g17320.1		0.00047675
LOC_Os02g51070.1	Starch synthase 2	0.00069559
LOC_Os04g55800.1	Sulfate transporter 91	0.00057124
LOC_Os07g01030.1	Sulfoquinovosyldiacylglycerol 2	0.0006979
LOC_Os12g42190.1	Teosinte Branched 1, cycloidea, and PCF family 24	0.00018316
LOC_Os02g09940.1	Thioredoxin superfamily protein	0.00074428
LOC_Os05g33280.1	Thylakoid lumen 18.3 kda protein	0.00025921
LOC_Os01g01280.1	Thylakoid lumenal 17.9 kda protein, chloroplast	0.00021304
LOC_Os01g13120.1	Tonoplast intrinsic protein 4;1	2.18E-05
LOC_Os03g08080.1	YGGT family protein	0.00012876
LOC_Os02g53530.1	Zinc finger protein 8	0.00029851

Os bioestimulantes promovem um adequado desenvolvimento das plantas e podem induzir a tolerância a estresses bióticos e abióticos, contribuindo para uma agricultura sustentável de alto rendimento, com menos insumos agrícolas (VAN OOSTEN et al. 2017; YAKHIN et al. 2017). Com a utilização do sequenciamento em larga escala (RNA-seq), pode ser propiciada a compreensão de genótipos em condições distintas e respostas ambientais dos vegetais, possibilitando a identificação de genes e vias que induzem a tolerância a estresses bióticos e abióticos, sinalizações hormonais, dentre outros processos que alteram a fisiologia e morfologia da planta (LOWE et al., 2017).

Neste contexto, um país tropical como o Brasil facilmente apresenta situações climáticas capazes de induzir a lavoura a uma condição de estresse térmico. Temperaturas muito elevadas ou muito frias (Tabela 4) podem trazer complicações para as plantas e as respostas dadas aos estresses pelo próprio organismo vegetal consomem a energia que seria utilizada na produção (BRASIL, 2022).

O estresse térmico é a condição fisiológica induzida nas plantas quando estão submetidas a temperaturas excessivas e/ou extremas. A incidência de temperaturas elevadas, por exemplo, provoca uma maior intensidade da respiração nos vegetais. Quando ocorre essa respiração mais intensa, ocorre uma maior perda de reservas (carboidratos) que seriam utilizadas na manutenção e no crescimento da planta,

prejudicando, conseqüentemente, a produção (SALISBURY; ROSS, 1992; HOPKINS; HÜNER, 2009; OLIVEIRA, 2015; TAIZ; ZEIGER, 2017).

Dessa forma, quando submetida ao estresse térmico contínuo, a planta acaba por sofrer redução em seu crescimento. Em casos mais intensos, pode ser observada até a interrupção do processo de fotossíntese, que é o principal gerador de energia e de reservas para as plantas (KADEREIT et al., 2014).

Não obstante, um aspecto diretamente relacionado ao estresse térmico e responsável pela queda acentuada da produção é o aborto sofrido pelos botões florais em algumas culturas (DIDONET, 2010; ROSOLEM et al., 2014). Ainda, outro efeito deletério causado por estresse térmico é o aumento da suscetibilidade das plantas às doenças, devido ao fato de seus mecanismos naturais de resistência serem diminuídos (CHAKRABORTY; PANGGA, 2004; GHINI, 2009; SOUZA, 2019).

Assim, extremos de temperaturas podem prejudicar o desenvolvimento da planta como um todo. A manutenção da divisão celular, mesmo sob estresse térmico, parece ser uma estratégia eficiente utilizada por plantas de arroz tolerantes (DAMETTO, 2015). Observam-se na Tabela 9, seqüências relacionadas com a divisão e crescimento celular, diferencialmente expressas pela aplicação do bioestimulante. A proliferação celular nas plantas é controlada principalmente por uma família de quinase dependente de ciclina, cuja atividade está diretamente regulada por ligação e ativação de ciclinas (LA et al., 2006). No presente estudo foram detectadas seqüências que codificam ciclinas e quinases-dependente de ciclina, diferencialmente expressas com a aplicação do bioestimulante (Tabela 9 e Figura 10). De acordo com Mahajan e Tuteja (2005), a redução na atividade de quinase dependente de ciclina resulta em baixa taxa de divisão celular e inibição do crescimento sob condições de déficit hídrico em plantas de arroz, sendo que é sabido que o estresse por déficit hídrico e estresse por extremos de temperatura partilham de várias respostas moleculares, entre elas, desidratação celular e desequilíbrio osmótico.

Ma et al. (2009), estudando a tolerância aumentada ao estresse de resfriamento em plantas de arroz, observaram um aumento na tolerância ao estresse causado por baixa temperatura, através da alteração de genes relacionados com o ciclo celular, incluindo o gene que codifica a ciclina, sugerindo que um dos mecanismos de tolerância ao frio em arroz pode ser mediado através da regulação do ciclo celular. Também, Chen et al. (2011) observaram que plantas de arroz que mantêm a divisão celular sob condições de frio aumentam a sua tolerância ao estresse térmico.

Dessarte, tanto em animais quanto em plantas, as ciclinas do tipo D (Tabela 9) desempenham um papel importante nas respostas do ciclo celular a sinais externos, formando a subunidade reguladora dos complexos quinase dependentes de ciclina (MEIJER; MURRAY, 2000). A progressão através do ciclo celular eucariótico é amplamente regulada em dois pontos de controle principais, um na fase G1 e outra no limite G2/M. Outro controle importante existe na transição da metáfase para a anáfase e, sem dúvida, também existem ainda outros controles subsidiários. O trânsito por esses pontos de controle requer complexos de quinase ativados, consistindo em uma proteína quinase serina/treonina dependente de ciclina (CDK) ligada a uma ciclina. Dessa forma, o ciclo celular é impulsionado pela ativação e destruição sequencial das atividades de CDK, o que indica que CDKs e ciclinas desempenham papéis centrais na regulação do comprometimento e progressão do ciclo celular (PINES, 1995; MEIJER; MURRAY, 2000), induzindo assim, um provável mecanismo de tolerância manifestado pela aplicação do bioestimulante.

Por fim, segundo relatado por Doonan (1998) e Gaudin et al. (2000), a descoberta da expressão diferencial de dois genes *Cyclin* (*CycD*) em *Antirrhinum*, com um deles expresso apenas em primórdios incipientes e em desenvolvimento e o outro regulado negativamente em camadas limítrofes de células que se encontram entre zonas proliferativas, sugere a possibilidade de que as ciclinas *CycD*, como as encontradas no presente estudo (Tabela 9), estejam envolvidas na função do meristema e no controle da proliferação e diferenciação.

Dessa forma, embora possa parecer intuitivo que a regulação do ciclo celular deva seguir-se aos controles do desenvolvimento, é possível que mudanças na regulação do ciclo celular possam conduzir a eventos de diferenciação descendentes. Em mamíferos, por exemplo, esta hipótese encontra um paralelo na descoberta da mudança de divisão celular controlada para crescimento tumoral, após interrupção dos níveis de expressão de ciclina, inferindo um mecanismo de defesa induzido pela regulação negativa dessa importante reguladora do ciclo celular (BARTKOVA et al., 1999).

Ainda, a alta temperatura modifica a atividade de enzimas do metabolismo do carbono, o acúmulo de amido e a síntese de sacarose, por regular negativamente genes específicos do metabolismo de carboidratos (RUAN et al., 2010; BITA; GERALTS, 2013). Os açúcares solúveis, além da função de recurso metabólico e constituinte estrutural, atuam como sinais regulatórios em vários processos relacionados ao crescimento e desenvolvimento vegetal (RUAN et al., 2010; RÖTH et al., 2016).

Plantas mutantes ou culturas que exibem maior termotolerância apresentam alterações nos níveis de açúcares de diferentes classes, geralmente apresentando um aumento nos níveis desses compostos (RÖTH et al., 2016).

Assim, outro fato relacionado a uma maior tolerância ao estresse térmico, segundo Mahajan e Tuteja (2005), é decorrente do acúmulo de sacarose e de açúcares simples que ocorrem por advento da aclimação ao frio, contribuindo para a estabilização da membrana através da proteção de proteínas intracelulares. Várias sequências diferencialmente expressas (Tabela 9) de glutathionas S-transferases (GSTs) foram detectadas, sugerindo que os processos de síntese de sacarose e hidrólise de polissacarídeos para gerar açúcares simples, como a glicose, foram ativados com a aplicação do bioestimulante.

As GSTs têm sido bem documentadas por estarem envolvidas em diversos aspectos de estresses bióticos e abióticos, especialmente em processos de desintoxicação (JIANG et al., 2010), na homeostase redox, sobretudo na eliminação de EROs sob estresses oxidativos, posteriormente a indutores bióticos ou abióticos (SASAKI-SEKIMOTO et al., 2005). Ainda, ligam auxina, flavonoides endógenos e a fitoalexina camalexina e podem estar envolvidas na regulação da ligação e transporte de pequenos produtos naturais bioativos e compostos relacionados à defesa durante o período de estresse da planta (DIXON et al., 2011). Também, catalisam a redução dependente de glutathione de S-glutathionilquercetina em quercetina, um flavonoide encarregado de proteger as plantas de raios ultravioletas, sugerindo um papel na manutenção do *pool* de flavonoides sob condições de estresse (DIXON; EDWARDS, 2010). Além disso, as GSTs são necessárias para a via de sinalização mediada por ácido jasmônico, que regula muitos mecanismos de desenvolvimento e defesa de plantas (CHEN et al., 2017) e é necessário para a via de resistência mediada por ácido salicílico (CLARKE et al., 2000).

Dessa forma, as GSTs diferencialmente expressas neste estudo (Tabela 9) são enzimas onipresentes que são codificadas por uma grande família de genes e contribuem para a desintoxicação de compostos endógenos ou xenobióticos e metabolismo do estresse oxidativo em plantas (ZHUGE et al., 2020). Ainda, sua expressão é regulada por múltiplos fotorreceptores, especialmente o fitocromo A (phyA) sob todas as condições de luz. Outros estudos fisiológicos indicaram que estas participam de vários aspectos do desenvolvimento de plantas, acúmulo de antocianina e inibição do esverdeamento mediada por luz vermelha distante, com um requisito de

phyA funcional. Deste modo, participa da sinalização de luz e pode modular vários aspectos do desenvolvimento de plantas, afetando *pools* de glutatona por meio de uma regulação coordenada com phyA e fitormônios (JIANG et al., 2010).

Além disso, no presente estudo, os dados obtidos demonstraram que a aplicação do bioestimulante provocou forte resposta em processos fotossintéticos, fotorrespiração e de indução da floração, sendo identificadas pelo menos 140 proteínas diferencialmente expressas que participam desses processos (Tabela 9).

Yan et al. (2011) mostraram que a superexpressão (*up-regulated*) de um gene que codifica uma proteína que contém um domínio F-box leva à redução da tolerância ao estresse abiótico em plantas de arroz. Em outro estudo, a superexpressão destes genes, integrantes da família de proteínas com domínio F-box, ocasionou uma diminuição da atividade de citocinina, hormônio regulador de processos como divisão celular, metabolismo e respostas a fatores abióticos, como estresse térmico e alta salinidade (KIM et al., 2013). Neste contexto, foram detectadas sequências da família F-box reguladas negativamente (*down-regulated*) nas plantas de arroz tratadas com o bioestimulante (Tabela 9), inferindo, dessa forma, que estes genes podem ter desempenhado papéis fundamentais na resposta ao estresse decorrente do período de condução deste experimento (Tabela 4).

Outro fato importante a ser considerado é que proteínas de domínio F-box são fotorresponsivas e regulam a iniciação floral. De acordo com He et al. (2017), a iniciação floral é regulada por várias vias genéticas em resposta à luz, temperatura, hormônios e estado de desenvolvimento. No entanto, os mecanismos moleculares subjacentes às interações entre diferentes vias genéticas ainda não são totalmente compreendidos. Ainda, de acordo com estes autores, este gene fotorresponsivo (FOF2) regula negativamente a floração, codificando uma proteína F-box putativa que interage especificamente com ASK14 (gene que juntamente com uma proteína F-box forma um complexo ubiquitina ligase) e sua superexpressão resulta em floração tardia, em fotoperíodos de dias longos e dias curtos. Por outro lado, plantas transgênicas que expressam o mutante de deleção do domínio F-box ou o mutante de dupla perda de função, apresentam fenótipos de floração precoce. O fenótipo de floração tardia das linhas de superexpressão deste gene é suprimido pela mutação de perda de função *flc-3*. Além disso, a expressão do mRNA do FOF2 é regulada pelo gene da via autônoma FCA e o efeito repressivo do FOF2 na floração pode ser superado pela vernalização. Curiosamente, a expressão do FOF2 é regulada pela luz e, assim, o nível de proteína de

FOF2 se acumula em resposta à luz, enquanto é degradado no escuro pela via do proteassoma 26S (HE et al., 2017). Dessa forma, com os dados do presente estudo (Tabela 9), infere-se a hipótese de que a regulação negativa destes genes, além de determinar uma maior tolerância ao estresse térmico, ainda propiciou a floração precoce das plantas tratadas com o bioestimulante, numa provável via de mecanismo de defesa às condições adversas enfrentadas pelas plantas no período do experimento (Tabela 4).

Além disso, outros genes diferencialmente expressos ligados à regulação floral foram encontrados, como Aldehyde Dehydrogenase 3F1, um repressor central do tempo de floração (XU et al., 2020); Basic-leucine zipper (bZIP), envolvido tanto na floração quanto à respostas ao estresse térmico (LIU et al., 2012); B-box do tipo *zinc finger* com domínio CCT, necessário para a promoção da floração em plantas de dias curtos como o arroz, com controle fotoperiódico da floração (HAYAMA et al., 2003); Gibberellin 20 oxidase, enzima chave altamente regulada na biossíntese de giberelina, com expressão regulada negativamente no tecido foliar em resposta a dias curtos (ERIKSSON; MORITZ, 2002); PEBP, membro da família das proteínas de ligação à fosfatidiletanolamina, que promove (florígeno) a transição floral (TSUJI; TAOKA, 2014); POX, induz transição do desenvolvimento vegetativo para o reprodutivo (SMITH et al., 2004); Response regulator 3, controla a resposta de floração fotoperiódica (MATSUSHIKA et al., 2000).

O controle fotoperiódico da floração é um dos importantes processos de desenvolvimento das plantas, pois está diretamente relacionado ao sucesso reprodutivo. Ainda, a transição floral é uma característica adaptativa para uma reprodução bem-sucedida em plantas (THOMANN et al., 2013). As plantas podem antecipar a chegada de uma estação ideal para a reprodução, quando as faixas de temperatura são adequadas para o desenvolvimento dos órgãos reprodutivos ou quando os polinizadores estão presentes. Dessa forma, antecipam as estações medindo as mudanças sazonais nos parâmetros ambientais, como duração do dia e temperatura (KOBAYASHI; WEIGEL, 2007; TODESCO et al., 2010; ANDRES; COUPLAND, 2012). Essa habilidade permite que muitas espécies se adaptem às variações de latitude, altitude e clima.

O tempo de floração também é importante em aplicações agrícolas (BUCKLER et al., 2009; EBANA et al., 2011). O controle do tempo de floração é um requisito agrônomo crucial para o cultivo de culturas em áreas específicas e estações de crescimento (JUNG; MULLER, 2009). Assim, o tempo de floração pode ser manipulado para expandir as áreas de cultivo ou para ajustar a época de colheita para

maximizar os rendimentos em climas específicos, como aconteceu no nordeste da Ásia, por exemplo, que com a extensa seleção de linhagens de arroz de floração precoce e insensíveis ao fotoperíodo resultou em variedades que florescem e produzem sementes antes da chegada das baixas temperaturas no outono, permitindo áreas mais amplas de cultivo (IZAWA, 2007).

Há também evidências de que os genes que controlam o tempo de floração afetam o vigor híbrido e, portanto, provavelmente tem impacto no rendimento. Em todas os cultivos de sementes, a transição floral é uma chave de desenvolvimento que determina a produção de matéria seca (MORAIS, 2021).

Além das perspectivas mencionadas acima, a transição floral do meristema apical caulinar é uma questão interessante para a biologia do desenvolvimento (LIU et al., 2009; ANDRES; COUPLAND, 2012). Quando as folhas da planta madura detectam mudanças no ambiente que sinalizam o início da estação de floração, elas produzem um sinal sistêmico chamado florigen (CHAILAKHYAN, 1936; KOBAYASHI; WEIGEL, 2007; ANDRES; COUPLAND, 2012; TSUJI; TAOKA, 2014). Em resposta à sinalização deste florigeno, o meristema apical do caule é convertido em um meristema de inflorescência. É importante enfatizar que os mecanismos moleculares pelos quais o florigeno inicia uma transição de desenvolvimento tão expressiva é uma área importante na pesquisa de floração (TSUJI; TAOKA, 2014).

Ademais, a regulação do tempo de floração influencia diretamente o sucesso da produção de grãos em arroz (TSUJI et al., 2013). Segundo estes autores, o florigen é um sinal sistêmico da transição para a floração nas plantas e o processo da floração requer a regulação sistêmica do desenvolvimento de órgãos e a busca por esse sinal sistêmico (florigeno) e tem sido o principal foco no estudo da floração. Recentemente, o florigeno foi identificado como o produto proteico do gene FLOWERING LOCUS T (FT), o mesmo encontrado no presente trabalho de pesquisa, diferencialmente expresso (*down-regulated*) no tratamento com o bioestimulante (Tabela 9). Ademais, em estudos de expressão gênica, foi observada floração tardia em plantas de *Arabidopsis thaliana* com superexpressão de FT (COELHO, 2014), reforçando uma relação com a sua função no florescimento precoce do arroz (Tabela 9).

Outro aspecto importante a se considerar, diz respeito ao número de perfilhos. O perfilhamento também é uma característica intimamente associada ao potencial de rendimento em culturas de cereais (RIAZ et al., 2023). Um dos genes regulados negativamente pela aplicação do bioestimulante foi o Teosinte Branched 1 (TB1)

(Tabela 9), um regulador negativo da ramificação lateral (CHOI et al., 2012). Este gene tem papel no crescimento de gemas axilares (TAKEDA et al., 2003), trabalhando na via das estrigolactonas para regular a gema axilar (MINAKUCHI et al., 2010), regulação do desenvolvimento do meristema apical do caule (HUBBARD et al., 2002), desenvolvimento de folhas e flores (KOYAMA et al., 2007; AGUILAR-MARTINEZ; SINHA, 2013) e expressão de genes do ciclo celular (PENG et al., 2015).

Diversos autores relataram os múltiplos papéis de TB1 em várias culturas, como o desenvolvimento de panículas e espigas em trigo (ZHAO et al., 2018; DIXON et al., 2018), desenvolvimento de perfilhos em trigo (LEWIS et al., 2008), ramificação lateral em arroz (TAKEDA et al., 2003), perfilhamento em arroz e indutor da formação da inflorescência feminina em milho (CHOI et al., 2012), fertilidade de espiguetas em cevada (RAMSAY et al., 2011), desenvolvimento de gemas axilares em sorgo (KEBROM et al., 2006) e brotação lateral em cana-de-açúcar (ORTIZ-MOREA, 2010).

Assim, no arroz, o perfilhamento é uma característica agronômica importante que determina o rendimento da cultura. A superexpressão de TB1 resulta na redução da ramificação lateral através da supressão do crescimento de gemas axilares, enquanto a regulação negativa deste gene aumenta a ramificação lateral (TAKEDA et al. 2003; SAKAMOTO; MATSUOKA, 2004; SAKAMOTO; MATSUOKA, 2008; CHOI et al., 2012).

Choi et al. (2012) estudando o perfilhamento de plantas de arroz observaram que plantas com regulação negativa do TB1 exibiram maior número de perfilhos e panículas, em comparação com as plantas que superexpressaram esse gene. Além disso, observaram um atraso na fase de perfilhamento nas plantas com superexpressão de TB1, aumentando o período da fase vegetativa. Segundo Sakamoto e Matsuoka (2008), um perfilho produz uma panícula, no entanto, os perfilhos que se desenvolvem tardiamente morrem ou não enchem os grãos completamente. Neste panorama, a regulação negativa de TB1, associado à floração precoce (Tabela 9), pode ser um achado importante para se considerar maiores estudos moleculares e agronômicos em culturas cerealíferas.

Ainda, neste contexto, é importante se dar destaque à superfamília do citocromo P450 (CYP), muito expresso no presente estudo (Tabela 9), que é a maior família de proteínas enzimáticas em plantas e que também existem amplamente em mamíferos, fungos, bactérias, insetos, dentre outros. Os membros desta superfamília estão envolvidos em múltiplas vias metabólicas com funções distintas e complexas, desempenhando papéis importantes em uma vasta gama de reações. Como resultado,

são sintetizados numerosos metabólitos secundários que funcionam como sinais de crescimento e desenvolvimento ou protegem as plantas de vários estresses bióticos e abióticos (XU et al., 2015), desempenham um papel central na desintoxicação de xenobióticos, atuam como catalisadores versáteis e desempenham um papel crucial na biossíntese de metabólitos secundários, antioxidantes, ácidos graxos, esteróis, componentes da parede celular, biopolímeros, compostos de defesa e fitormônios em plantas superiores, tendo um enorme potencial para serem usados como genes candidatos para a engenharia de espécies de culturas resilientes a estresses bióticos e abióticos (PANDIAN et al., 2020). Ainda neste cenário, Liu et al. (2015) demonstraram que o citocromo P450 também atua regulando a maturação das flores e a homeostase do hormônio floral, sincronizando a expansão das pétalas e a emissão de voláteis.

Estes dados são de extrema importância, pois um aumento de temperatura de apenas alguns graus Celsius pode danificar os órgãos reprodutivos das culturas, reduzindo a viabilidade do grão de pólen e a fertilidade do pistilo, além de reduzir a taxa de vingamento dos frutos, resultando em perda parcial ou total da cultura (JAGADISH et al., 2007; MAAVIMANI; SARASWATHI, 2014; CHEABU et al., 2018).

À vista disso, a temperatura influencia a maioria dos processos da planta, incluindo fotossíntese, transpiração, respiração, germinação e floração. Conforme a temperatura aumenta (até certo ponto), aumenta a fotossíntese, a transpiração e a respiração. Quando combinada com a duração do dia, a temperatura também afeta a mudança de crescimento vegetativo (folhoso) para reprodutivo (floração). Dependendo da situação e da cultura, o efeito da temperatura pode acelerar ou retardar esta transição.

Diante deste panorama, a exposição às altas temperaturas afetam diretamente diversos componentes do aparato fotossintético, como os dos fotossistemas I e II (PSI e PSII) e pigmentos fotossintéticos, assim como também afetam processos essenciais na geração de ATP e assimilação do carbono (ALLAKHVERDIEV et al., 2007; SHARMA et al., 2020).

A atuação dos fatores de tradução na biossíntese de proteínas também tem sido estudada nos últimos anos, na sua correlação com a atividade fotossintética, mas os mecanismos que regem essa comunicação entre os processos permanecem pouco elucidados (BOEX-FONTVIEILLE et al., 2013). A análise de expressão diferencial, realizada nesta investigação, demonstra que o tratamento com bioestimulante também regula a expressão de proteínas relacionadas ao complexo dos PSI e PSII (Tabela 9). Assim, para uma visão geral da alteração transcricional, o conjunto de genes

diferencialmente expressos foi submetido ao mapeamento de vias metabólicas usando a base de dados KEGG - Kyoto Encyclopedia of Genes e Genomes (<http://www.genome.ad.jp/kegg/>) (Figura 11).

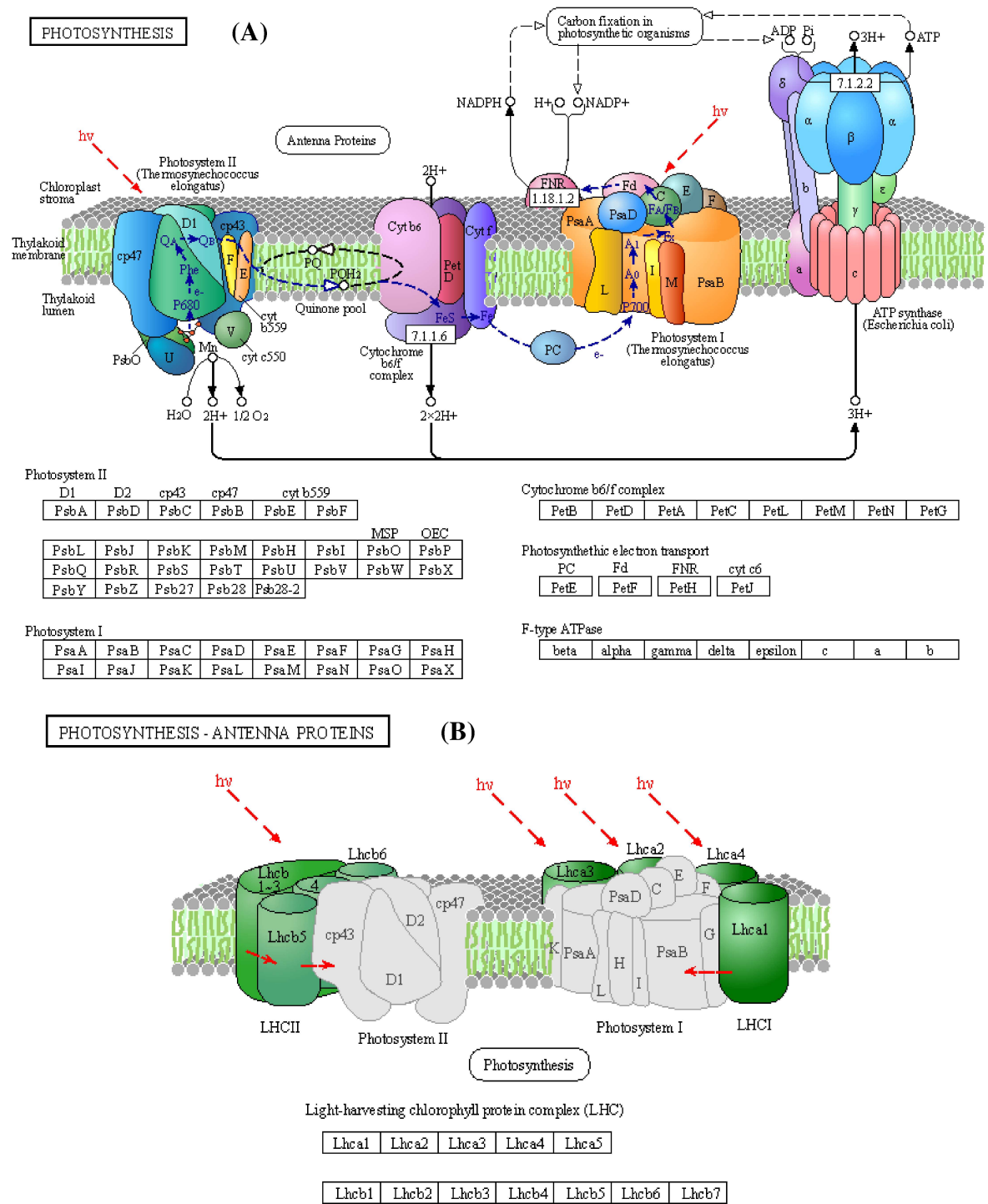


Figura 11 - Análise integrativa da influencia do bioestimulante sobre genes que codificam a montagem do aparato fotossintético. (A) Repressão de subunidades componentes do PSII, PSI e da ATPsintase e (B) Repressão da expressão de genes da montagem do complexo coletor de luz (LHC I e LHC II), através da Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG).

A anotação dos genes diferencialmente expressos no KEGG demonstra que as vias metabólicas relacionadas aos genes *down-regulated* na parte aérea do arroz estão categorizadas como Photosynthesis: map00195; Photosystem II: map00195; Photosystem I: map00195; Cytochrome b6f complex: map00195; F-type ATPase and chloroplasts: map00195; Photosynthesis - antenna proteins: map00196 (Figura 11).

Dados sobre o controle da fotossíntese têm relevante importância sobre a compreensão do desenvolvimento, para melhorias na assimilação de biomassa nas culturas agrícolas. Muito importante neste quesito são as moléculas componentes do complexo coletor de luz I e II (LHC I e LHC II), que na análise de expressão diferencial foram identificados (Tabela 9; Figura 11). Estes complexos são organizados em estruturas de anéis com espaçamento e orientação molecular de modo que estas variações originem diferentes escalas de transferência de energia (YING-ZHONG et al., 2008).

Em pesquisas de expressão gênica realizados em *Phyllostachys edulis* em resposta à alta luz identificaram mudança nos padrões globais de expressão gênica, a partir de observações em LHC e PsbS (subunidade do PSII), com destaque para genes e fatores de transcrição, como MYB e bZIP, que atuam na regulação do metabolismo fotossintético, controlando a expressão proteica em função da alta e/ou baixa luminosidade (ZHAO et al., 2016). Estes resultados também ajudam a elucidar os resultados da presente investigação, acerca da atuação do bioestimulante frente ao estresse térmico na qual a cultura foi submetida (Tabela 9, Figura 11).

Ademais, estudos sobre irradiância têm sido realizados, sendo que este é um fator determinado pela temperatura e pelo comprimento de onda considerado, conforme descrito pela Lei de Planck. Dessa forma, irradiâncias superiores às necessárias para saturar a fotossíntese frequentemente acarretam um decréscimo líquido na taxa de transporte de elétrons através de FSII e um forte incremento na taxa de giro de D1, o principal polipeptídeo dos centros de reação do FSII (ANDERSSON et al. 1994). Esse fenômeno, conhecido como fotoinibição, sempre resulta em perda de eficiência fotoquímica do FSII (RAMALHO et al., 2000).

Todavia, se a fotossíntese e a fotorrespiração não utilizarem a maior fração do poder redutor gerada na fase fotoquímica, poderá ocorrer uma redução na cadeia de transporte de elétrons do cloroplasto e, nessa condição, elétrons podem escapar e serem usados para reduzir o oxigênio molecular, levando à formação de espécies reativas de oxigênio (EROs), potencialmente capazes de resultar em danos fotoinibitórios e

fotooxidativos (LIMA et al., 2002, PINHEIRO et al., 2004). No entanto, a fotoinibição da fotossíntese pode ser encarada também como uma estratégia de aclimação do FSII, traduzindo-se em proteção contra níveis de luz potencialmente injuriosos (ASADA, 1999; CHAVES, 2005).

Por outro lado, de acordo com Chaves (2005), sob certas condições, os mecanismos de defesa da planta podem não ser suficientes para dissipar a energia excedente e, nesse caso, a ocorrência de fotodanos pode ser bastante expressiva. Dentre tais condições, pode-se destacar especialmente o estresse térmico, como por exemplo, baixas temperaturas noturnas seguidas de dias ensolarados, como ocorrido no período de condução do experimento (Tabela 4), ou qualquer outro fator que leve ao depauperamento da planta, como estresse hídrico, adubação deficiente, dentre outros fatores. Estes, combinados ou não, podem ocasionar uma sequência de eventos potencialmente deletérios, especialmente em culturas suscetíveis (DaMATTA; RENA, 2002; DaMATTA, 2004).

A proteção contra danos oxidativos pode ocorrer à custa do aumento na dissipação térmica da energia de excitação, por meio de carotenoides e/ou via do metabolismo das EROs, em função da maior atividade do sistema antioxidativo (CHAVES, 2005). Tal sistema compreende enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX) e glutatona redutase (GR), além da participação de moléculas antioxidantes hidrofílicas, como ascorbato e glutatona e lipofílicas, como α -tocoferol, β -caroteno e carotenoides do ciclo das xantofilas (ORT; BAKER, 2002).

As plantas podem apresentar diversos meios para se defender contra estresse térmico e irradiâncias potencialmente fotoinibitórias. A redução da absorção da energia radiante via decréscimos na concentração de clorofilas, aumentos do ângulo de inclinação foliar e maior refletância da folha, podem ter impactos profundos na fotoproteção das plantas (BJÖRKMAN; DEMMING-ADAMS, 1995). Ressalta-se que alguns autores têm sugerido que reduções na concentração de clorofilas podem estar associadas a processos fotooxidativos (CHAVES, 2005), enquanto outros relacionam tais reduções com alterações na organização dos fotossistemas, de modo a servir como um mecanismo fotoprotetor (OTTANDER et al., 1995; ELVIRA et al., 1998).

Em suma, os resultados aqui apresentados (Tabela 9) sugerem que a aplicação do bioestimulante, além de poder alterar a absorção da energia radiante, pode também dissipar satisfatoriamente, por vias térmicas ou não fotoquímicas, o excesso da energia

absorvida, ainda que as taxas de fotossíntese sejam consideravelmente baixas. As diferenças relativamente pequenas na magnitude das trocas gasosas, da concentração de pigmentos fotossintéticos, da fotoinibição e da capacidade antioxidante, aliadas à ocorrência de danos celulares discretos, sugere que a cultura do arroz pode responder plasticamente às variações da irradiância e extremos de temperatura quando expostas ao tratamento.

Ademais, na literatura, as EROs são frequentemente descritas como subprodutos indesejáveis da fotossíntese, pois têm o potencial de causar danos irreversíveis aos componentes da cadeia transportadora de elétrons (TAKAHASHI; MURATA, 2008; MURCHIE; NIYOGI, 2011; FOYER et al, 2012). Portanto, a regulação da produção e remoção de EROs é essencial para a sobrevivência das plantas (TAKAHASHI; MURATA, 2008). Alguns estudos têm evidenciado que o acúmulo de H_2O_2 nos cloroplastos pode levar à inibição da síntese da proteína D1, a qual é crucial para o funcionamento do PSII (SEJIMA et al., 2014; GURURAN et al., 2015). Esse processo é descrito como fotoinibição do PSII e representa um importante parâmetro de sintomatologia do estresse abiótico de plantas (MURATA; TAKAHASHI, 2007).

O complexo do núcleo do PSII em organismos fotossintéticos eucariontes é composto pelas proteínas codificadas pela família gênica *Psb*, composto por mais de 30 genes (PAGLIANO et al., 2013). Dentre esses genes, diversos transcrevem proteínas com 5 hélices transmembranares que compõem o núcleo do PSII (D1 e D2) (NIELD; BARBER, 2006). A D1 tem sido largamente estudada graças a sua capacidade de degradação e ressíntese em curto intervalo de tempo (rápido *turnover*) (NICKELSEN; RENGSTL, 2013).

A *PsbO* (Tabela 9), por exemplo, é conhecida como proteína estabilizadora de magnésio e trata-se de uma proteína extremamente conservada que possui um domínio que atua como um local de ancoramento que se liga a superfície luminal da D1, D2, CP43 e CP47, estabilizando o aglomerado Mn_4CaO_5 e mantendo uma ótima oxidação da água (PAGLIANO et al., 2013). A D1 é considerada uma “proteína suicida”, pois sua degradação evita que o excesso de energia gerado no PSII promova um dano oxidativo (ARO; ANDERSON, 1993). Em estudos recentes, Tikkanen et al. (2014) demonstraram que o PSI é protegido pelo ciclo de inibição/reparo da D1, o que evita um dano irreversível. Por outro lado, em estresses severos e/ou muito prolongados nos quais o fotodano excede a taxa de reparo ocorre a fotoinibição do PSII (TAKAHASHI

et al., 2009). Dessa forma, podemos inferir que a codificação de proteínas D1 do PSII (proteína Q-B cloroplastídica) leva a uma maior resistência ao estresse térmico.

Assim, o conhecimento sobre D1 é de suma importância nos estudos gênicos de termotolerância nas culturas, pois como já explanado, a fotossíntese gera subprodutos que podem danificar o próprio mecanismo de conversão de luz e, quanto mais quente o clima, maior a probabilidade do processo ficar descontrolado à medida que algumas reações químicas se aceleram e outras diminuem (STOKSTAD, 2020).

Neste sentido, em organismos fotossintéticos, o complexo do PSII é o alvo primário do dano térmico. As plantas desenvolveram um processo de reparo para evitar o acúmulo de PSII danificado. O reparo do PSII envolve em grande parte a síntese de proteínas, particularmente a proteína da subunidade D1 codificada por gene *Psb* no cloroplasto. Dessa forma, pesquisadores da Academia Chinesa de Ciências, lideradas por Fang-Qing Guo (CHEN et al., 2020) desenvolveram plantas que podem reparar melhor os danos causados pelo calor, um avanço que pode ajudar a preservar o rendimento dos cultivos, já que o aquecimento global torna as ondas de calor mais comuns. E, surpreendentemente, a mudança tornou as plantas mais produtivas a temperaturas normais.

Assim, estes pesquisadores relataram que a expressão alotrópica do DNA complementar *Psb* impulsionado por um promotor responsivo ao calor no genoma protege suficientemente o PSII da perda severa da proteína D1 e aumenta drasticamente as taxas de sobrevivência das plantas transgênicas de *Arabidopsis*, tabaco e arroz sob estresse térmico. Ainda, descobriram que a suplementação de origem nuclear da proteína D1 estimula significativamente o crescimento de plantas transgênicas, aumentando as taxas líquidas de assimilação de CO₂ com aumentos na biomassa e no rendimento de grãos (CHEN et al., 2020). Essas descobertas representam um avanço na bioengenharia de plantas para alcançar uma fotossíntese eficiente e aumentar a produtividade das culturas em condições normais e de estresse térmico (CHEN et al., 2020).

Em nossa investigação, diversos genes da família gênica *Psb*, que estão relacionados com a codificação da proteína D1, foram observadas com o tratamento com o bioestimulante (Tabela 9), incluindo genes que codificam proteínas extrínsecas responsáveis pelo reparo eficiente de PSII fotodanificado; fator de montagem do PSI que auxilia no dobramento e integração adequados de *PsaB* e *PsaA* na membrana tilacoide; fator auxiliar necessário para a biogênese do PSII, especialmente para a

síntese das proteínas do centro de reação (como D1), via regulação do mRNA correspondente, iniciação da tradução e estabilização.

A energia luminosa absorvida pelo PSII gera oxidantes fortes que podem quebrar as moléculas de água e essa divisão das moléculas de água ocorre no complexo de evolução de oxigênio do PSII (ROCHAIX et al., 2014), que é estabilizado e protegido por proteínas extrínsecas no lado luminal do PSII. Essas proteínas PSII extrínsecas, como PsbP, PsbQ e PsbR (Tabela 9), são conhecidas por serem alvos de estresse (SASI et al., 2018).

De acordo com estudos, os estresses abióticos são responsáveis por uma redução de cerca de mais de 50% no rendimento médio das principais culturas (NATH et al., 2013; SINGH et al., 2018). Ainda, estresses abióticos que restringem a disponibilidade de CO₂ devido ao fechamento estomático facilitam a geração de moléculas de EROs nos cloroplastos. Consequentemente, a taxa de transpiração e as trocas gasosas nas plantas são reduzidas, o que, por sua vez, leva a uma eficiência fotossintética significativamente reduzida (SUZUKI et al., 2012; CHOUDHURY et al., 2017). Em nível molecular, esses estresses levam à diminuição da atividade do PSII e a redução excessiva na cadeia de transporte de elétrons resulta na fotoxidação nas plantas (GURURANI et al., 2012; ROACH; KRIEGER-LISZKAY, 2014). As plantas superam esse problema da redução de transporte de elétrons convertendo energia luminosa em energia térmica via extinção não fotoquímica (NPQ) (TIKKANEN et al., 2010; NATH et al., 2013; ROCHAIX, 2014). O NPQ reduz a concentração de estados excitados de clorofila no PSII pela ativação de um canal de dissipação de calor que facilita o NPQ como uma importante resposta fotoprotetora (CAZZANIGA et al., 2013; GURURANI et al., 2015). Durante o estresse luminoso de alta intensidade, observa-se uma mudança na distribuição de proteínas associadas à clorofila e na orientação molecular na membrana do tilacoide (HERBSTOVA et al., 2012).

Ainda, estresses abióticos levam à geração de EROs dentro da cadeia de transporte de elétrons e a alta produção de EROs sob estresse abiótico causa perda de produtividade da cultura (SASI et al., 2020). Descobertas anteriores indicaram que os elétrons energizados são alocados para o dioxigênio (O₂) durante o estresse abiótico, que é usado em duas reações fotossintéticas vitais: fotorrespiração e reação da peroxidase de Mehler (TOTH et al., 2011). No entanto, pouco se sabe sobre os supostos papéis das proteínas extrínsecas do PSII na tolerância ao estresse abiótico em plantas superiores (SASI et al., 2018), demandando maiores estudos e a expressão dos genes do

cloroplasto depende de uma série de proteínas codificadas no núcleo, sendo que a identificação dessas proteínas e a elucidação de suas funções são desafios constantes (WILLIAMS-CARRIER et al., 2019).

Embora possa parecer que uma regulação negativa de genes (Tabela 9) possa ser prejudicial para as plantas, estudos sugerem que a regulação negativa da fotossíntese ou o silenciamento de genes específicos podem promover termotolerância em plantas. Nesse contexto, um importante estudo foi realizado por Pollastrini et al. (2022) acerca da regulação dos fotossistemas, onde foram avaliadas espécies florestais de sucessão precoce e tardia em uma pesquisa de campo em todo continente europeu e demonstraram que a regulação negativa do PSI regula a fotossíntese em espécies de árvores sucessionais iniciais.

Deste modo, as plantas de sucessão precoce podem responder rapidamente a mudanças bruscas na exposição à radiação solar, apresentando uma maior plasticidade fotossintética, graças a sua capacidade de regular a fotossíntese. Essa regulação está ligada à eficiência dos dois fotossistemas (PSI e PSII), onde o PSI desempenha um papel importante no funcionamento da maquinaria fotossintética, para responder contra mudanças repentinas do metabolismo em resposta a condições ambientais heterogêneas e fatores de estresse (BUSSOTTI et al., 2020; YU et al., 2020; BLANCO et al., 2022). Dessa forma, este pode ser regulado negativamente sob alta pressão de redutores, para manter o equilíbrio entre a pressão do redutor e a demanda metabólica (POLLASTRINI et al., 2022).

Estes dados fornecem informações importantes sobre a regulação dos fotossistemas, especialmente sobre a plasticidade fotossintética em condições estressantes, como de estresse térmico, e maiores estudos precisam ser realizados em outras culturas para melhor elucidação deste mecanismo em plantas. No presente estudo foram obtidos dados relevantes que nos levam a inferir sobre a plasticidade térmica e fotossintética *versus* a aplicação de bioestimulante (Tabelas 9 e 10), onde a regulação negativa da expressão de genes relacionados à fotossíntese parece ser um fator direcional para a termotolerância.

Há de se ressaltar que os dois fotossistemas trabalham de forma coordenada para regular os fluxos de elétrons, diminuindo, quando necessário, a taxa geral de transporte linear de elétrons, evitando assim, um excesso do potencial redutor dentro do sistema fotossintético e, em seguida, evitando a fotoinibição nos PSI e PSII (YAN et al., 2020). Ainda, os PSI e PSII têm sensibilidades diferentes aos vários fatores de estresse

(BUSSOTTI et al., 2020). Vários estudos evidenciaram que a alta luz induz a fotoinibição do PSII, mas aumenta a formação e a atividade do PSI (ADAMS; DEMMIG-ADAMS, 2004; DESOTGIU et al., 2012; POLLASTRINI et al., 2017).

Além disso, Pollastrini et al. (2022) relataram que a regulação negativa do PSI em espécies de sucessão precoce (*Pinus sylvestris* e *Betula pendula*) foi mais eficaz em locais com alto suprimento de nitrogênio, sugerindo que em ambientes pobres em nutrientes, as plantas podem ser mais sensíveis à fotoinibição. Com baixo suprimento de nitrogênio, a regulação negativa do PSI pode falhar e EROs excessivos podem ser produzidos, particularmente sob alta intensidade de luz (POSPISIL, 2016; KITAO et al., 2018; POLLASTRINI et al., 2022).

Ainda, Zarter et al. (2006) relataram que a aclimação fotossintética ao estresse do inverno aparece como uma estratégia de aclimação com forte regulação negativa da capacidade fotossintética. Além disso, a diminuição da transferência de elétrons para a fase fotoquímica evita a transferência de elétrons para o oxigênio e a formação de superóxido potencialmente destrutivo (ADAMS et al., 2002; ADAMS et al., 2004).

Dessa forma, a transferência de energia de excitação da clorofila para o oxigênio (resultando na formação de oxigênio singlete tóxico) é aparentemente impedida por altos níveis sustentados de dissipação de energia térmica e pode ser um requisito para lidar com o estresse rigoroso e prolongado do inverno. Essa regulação negativa da capacidade fotossintética intrínseca, por meio da remoção estratégica de componentes-chave da fotoquímica primária, pode ser um pré-requisito para a manutenção de folhas verdes com a maior parte de sua maquinaria fotossintética intacta, permitindo uma rápida reativação da fotossíntese na primavera, possibilitando que as plantas aproveitem essas condições ambientais favoráveis (ZARTER et al., 2006).

Inclusive, Zarter et al. (2006) neste estudo, observaram que as maiores quantidades de zeaxantina (e, portanto, presumivelmente a maior capacidade de fotoproteção) foram observadas no início da primavera, quando as intensidades de luz incidente (e, portanto, o excesso) estavam aumentando. Essas altas quantidades de zeaxantina durante a primavera foram associadas a uma expressão transitória de Elips, proteínas associadas à fotossíntese e fotoproteção. Esses resultados suportam uma função da Elip na aclimação de plantas expostas ao sol que regulam negativamente a fotossíntese durante o inverno, sustentando um possível papel dessa associação na fotoproteção, corroborando com os resultados obtidos no presente estudo, onde também houve regulação negativa de diversos componentes do aparato fotossintético

mencionados (Tabela 9) e a regulação positiva de proteínas precoces induzíveis pela luz (Chlorophyll A-B binding family protein – Elip2) (Tabela 10), desempenhando papel de protetoras contra o estresse fotooxidativo, evitando o acúmulo excessivo de clorofila livre em resposta a alta radiação e choque térmico (HARARI-STEINBERG et al., 2001; HUTIN et al., 2003).

Outro achado importante diz respeito à Rubisco ativase (RCA), que regula o estado de ativação de Rubisco, a enzima carboxilante da fotossíntese, e foi regulada negativamente com a aplicação do bioestimulante (Tabela 9). Os papéis da RCA na produtividade da planta são múltiplos, como: manter Rubisco em seu estado ativo para salvaguardar a eficiência fotossintética contínua e conferir aclimação ao estresse térmico moderado durante o estágio de enchimento de grãos (WANG et al. 2010; SHAN et al. 2011; YIN et al. 2014; SCAFARO et al. 2016).

A Rubisco é uma enzima que catalisa as duas reações concorrentes de fixação de CO₂ na fotossíntese e produção de 2-fosfoglicolato na via fotorrespiratória, sendo um fator limitante da taxa de fotossíntese saturada de luz nas condições atuais do ar atmosférico (MAKINO et al., 1988; SUGANAMI et al., 2020). Assim, a Rubisco tem sido considerada um dos alvos mais importantes para melhorar a capacidade de fotossíntese (CARMO-SILVA et al., 2015; SHARWOOD, 2017).

A relação entre RCA/Rubisco no arroz e a atividade fotossintética vem sendo intensamente estudada desde a década de 1990 e, foi relatado que, embora o RCA esteja intimamente ligado à taxa de fotossíntese nas folhas ao longo de seu desenvolvimento, a atividade *in vivo* da Rubisco e o conteúdo de RCA tem relação inversa, especialmente em estágios de folha jovem, sendo o nível de expressão de RCA correlacionando-se negativamente com o conteúdo de Rubisco em arroz (FUKAYAMA et al. 1996; FUKAYAMA et al. 2012; FUKAYAMA et al. 2018). Assim, de acordo com Wijewardene et al. (2021), a quantidade de Rubisco aumenta quando o RCA é reduzido. Também foi relatado por Fukayama et al. (2012) e Suganami et al. (2020) que a superprodução de RCA em arroz diminui o conteúdo de Rubisco, resultando em declínio da fotossíntese.

Chen et al. (2022) relataram que as atividades de proteínas relacionadas à fotossíntese, principalmente do ciclo de Calvin-Benson, foram mais significativamente afetadas e reguladas em plantas submetidas a estresse de alta temperatura, incluindo Rubisco, RCA e as enzimas envolvidas na regeneração de RuBP, como sedoheptulose-1,7-bisfosfatase (SBPase). Além disso, Fukayama et al. (2018) investigaram a maneira

pela qual a superexpressão de RCA afeta negativamente o conteúdo de Rubisco e relataram a possibilidade de que a redução no conteúdo de Rubisco ocorra na etapa de síntese da Rubisco.

Em plantas de cevada, Jurczyk et al. (2019) relataram, acerca da aclimação fotossintética ao estresse de frio, que plantas com uma tolerância a baixas temperaturas exibem diminuição da condutância estomática, resultando em diminuição da atividade fotoquímica, indução mais rápida do mecanismo não fotoquímico e expressão regulada negativamente de duas variantes de *splicing* da RCA, com diminuição da expressão da RCA e aumento da atividade de Rubisco, aumentando a taxa fotossintética líquida, fato este que pode também ser correlacionado ao presente estudo (Tabela 9).

Outra proteína importante a se dar destaque é a BEL1-like homeodomain4 (SIBL4) (Tabela 9), envolvida no acúmulo de clorofila e no desenvolvimento de cloroplastos (YAN et al., 2020). Meng et al. (2018) relataram que a regulação negativa de um fator de transcrição semelhante a BEL contendo homeobox (SIBEL11) resulta claramente no aumento do acúmulo de clorofila e promove o desenvolvimento de cloroplastos em frutos de tomate, regulando negativamente TKN2, SICAB-1C e SIPOR, que estão envolvidos na biossíntese da clorofila e no desenvolvimento do cloroplasto. Em estudo de Yan et al. (2020), plantas transgênicas (SIBL4-RNAi) de tomate produziram frutos verdes com cloroplastos maiores, mais cloroplastos por célula e maior teor de clorofila em comparação com o de plantas não transgênicas, onde SIBL4 regulou diretamente TKN2, SICAB-1C e SIPOR e inibiu sua expressão. Esses resultados demonstraram que SIBL4, que tem funcionamento semelhante ao SIBEL11, está envolvido no acúmulo de clorofila e no desenvolvimento do cloroplasto por meio da supressão direta da expressão de TKN2, SICAB -1C e SIPOR.

Além disso, outros genes diferencialmente expressos ligados à codificação de proteínas relacionadas à fotossíntese foram encontrados (Tabela 9), como:

- Alpha/beta-Hydrolases, envolvida na degradação da clorofila e pertencente às enzimas catabólicas da clorofila (SCHELBERT et al., 2009; REN et al., 2010), além de servir como estrutura central para receptores de fitormônios e ligantes nas vias de sinalização de giberelina, estrigolactona e cariquina em plantas (MINDREBO et al., 2016);
- Beta-amylase 5, envolvida na degradação de amido, onde a regulação negativa de uma β -amilase direcionada ao cloroplasto leva a um aumento de amido nas folhas (SCHEIDIG et al., 2002);

- C₂H₂ and C₂HC zinc fingers, atua como regulador negativo da sinalização do ácido abscísico (ABA). Sua produção e acúmulo em folhas tem um papel relevante no fechamento estomático, evitando a perda de água por transpiração. Também funcionam como repressores transcricionais envolvidos na inibição do crescimento vegetal sob condições de estresse abiótico e são associados ao desenvolvimento da planta e nas respostas a estresses ambientais (KODAIRA et al., 2011);
- Calcium sensing receptor, otimiza a fotossíntese por seu efeito na formação do transporte de elétrons fotossintéticos. Localizado nos cloroplastos, é um regulador crucial do fechamento estomático induzido por cálcio extracelular, aumenta tolerância seca/calor (ZHAO et al., 2015);
- Nine-cis-epoxycarotenoid dioxygenase 4, catalisa a primeira etapa da biossíntese do ABA a partir dos carotenoides, modula o grau de pigmentação e a composição de carotenoides e regulação negativa da expressão dos principais genes catabólicos (SUN et al., 2012);
- Starch synthase 2, contribui para a deposição de amido transitório nos cloroplastos das folhas (JIANG et al., 2004);
- Solanesyl diphosphate synthase 2, formação de plastoquinona-9, antioxidante lipofílico que atua como protetor e contra o estresse fotooxidativo sob condições de alto estresse por luz (BLOCK et al., 2013);
- Thioredoxin superfamily protein, envolvido na eliminação de EROs sob estresse oxidativo e desempenha um papel importante no ciclo ascorbato-glutationa (SHIN et al., 2008);
- YGGT family protein, necessário para a distribuição adequada de nucleotídeos em cloroplastos, relacionada aos processos de divisão do cloroplasto. A superexpressão prejudica a divisão dos cloroplastos, levando a um número reduzido e aumento dos cloroplastos nas células do mesofilo (KABEYA et al., 2010);
- Proteínas de repetição de anquirina, desempenham papel essencial na biogênese das proteínas de membrana do envelope externo do cloroplasto, envolvido na regulação dos níveis de peróxido de hidrogênio durante estresses bióticos e abióticos, otimizando a atividade de degradação do peróxido de hidrogênio ascorbato peroxidase 3 (BAE et al., 2008);

- NDH-dependent cyclic electron flow, reduz as plastoquinonas nas membranas tilacoides, está envolvido no fluxo de elétrons cíclicos do PSI e na fotorrespiração (ISHIDA et al., 2009);
- Light-harvesting chlorophyll-protein complex (CABs), as proteínas de ligação da clorofila são complexadas com clorofila e xantofilas, que absorvem e transferem energia para os complexos PSII e conduzem o transporte de elétrons no processo fotossintético (JANSSON, 1999).

Por fim, ressalta-se que a integridade e o arranjo das estruturas tilacoides desempenham papéis vitais na conversão efetiva da energia luminosa para a fotossíntese (BERTAMINI et al. 2006) e o aumento do acúmulo de clorofila e do desenvolvimento do cloroplasto nas plantas também resultam no aumento do acúmulo de amido (SAGAR et al., 2013), evidenciando-se a importância da elucidação desses mecanismos quando da aplicação do bioestimulante em plantas em condições de estresses.

Na Tabela 10 encontram-se os genes superexpressos (*up-regulated*) no arroz, com a aplicação do bioestimulante.

Tabela 10 – Genes diferencialmente expressos (*up-regulated*) em tecido foliar de arroz (*Oryza sativa* L.) submetido à aplicação de bioestimulante (ExpertGrow®).

Gene Model	Protein Name/Function	P-Value
LOC_Os01g08860.1	17.6 kda class II heat shock protein	9.89E-05
LOC_Os02g53320.1	Adenine nucleotide alpha hydrolases-like superfamily protein	1.80E-08
LOC_Os02g49840.3	AGAMOUS-like 16	0.00039922
LOC_Os01g34080.1	ARM repeat superfamily protein	3.27E-05
LOC_Os06g29380.1	Atpase E1-E2 type family protein / haloacid dehalogenase-like hydrolase family protein	0.00077719
LOC_Os03g53400.1	Bax inhibitor-1 family protein	0.00016486
LOC_Os02g15930.1	BCL-2-associated athanogene 6	2.02E-18
LOC_Os05g37450.1	Carbohydrate-binding-like fold	0.00100793
LOC_Os05g45830.1	CASC3/Barentsz eif4aiii binding	2.70E-05
LOC_Os02g08490.1	Casein lytic proteinase B4	4.46E-11
LOC_Os07g44740.1	Chaperonin 10	0.00015843
LOC_Os01g14410.1	Chlorophyll A-B binding family protein	0.00116122
LOC_Os06g33600.1	Cyclic nucleotide gated channel 1	0.00042188
LOC_Os08g39560.1	Cysteine proteinases superfamily protein	0.00031922
LOC_Os05g06440.1	DnaJ heat shock family protein	0.000379456
LOC_Os03g60780.1	Fes1A	6.16E-05
LOC_Os06g06520.1	GDSL-like Lipase/Acylhydrolase superfamily protein	7.96E-07
LOC_Os03g24070.1	Haloacid dehalogenase-like hydrolase (HAD) superfamily protein	4.33E-05

(... continua ...)

Tabela 10, Cont.

LOC_Os05g44340.1	Heat shock protein 101	1.01E-08
LOC_Os03g14180.1	Heat shock protein 21	1.39E-17
LOC_Os10g32550.1	Heat shock protein 60	6.03E-05
LOC_Os03g16920.1	Heat shock protein 70	0.00021215
LOC_Os01g62290.1		4.01E-05
LOC_Os04g01740.1	Heat shock protein 90.1	1.44E-05
LOC_Os06g36930.1	Heat shock transcription factor A2	2.94E-13
LOC_Os06g11610.1	HSP20-like chaperones superfamily protein	0.00028652
LOC_Os06g14240.1		8.31E-07
LOC_Os01g04370.1		1.34E-06
LOC_Os03g16020.1		9.10E-06
LOC_Os02g54140.1		1.43E-09
LOC_Os01g04360.1		2.51E-10
LOC_Os03g16040.1		9.94E-13
LOC_Os04g36750.1		3.51E-11
LOC_Os03g16030.1		3.96E-08
LOC_Os01g04380.1		5.91E-19
LOC_Os11g13980.1		2.06E-09
LOC_Os02g34270.1	Integrase-type DNA-binding superfamily protein	1.03E-10
LOC_Os02g34260.1		1.34E-12
LOC_Os01g67420.1	Lipase class 3 family protein	0.00036726
LOC_Os04g37960.1	Myosin heavy chain-related protein	0.00083751
LOC_Os02g49770.1	NHL domain-containing protein	0.00121281
LOC_Os08g09690.1	Nuclear factor Y, subunit A4	0.00013342
LOC_Os02g41670.1	PHE ammonia lyase 1	0.00024381
LOC_Os01g43980.1	PIF1 helicase	3.18E-05
LOC_Os01g12460.1	Plastid division1	0.0009006
LOC_Os01g08260.1	Pleiotropic drug resistance 4	0.00013537
LOC_Os10g39500.1	P-loop containing nucleoside triphosphate hydrolases superfamily protein	0.00038732
LOC_Os01g14090.1	P-loop nucleoside triphosphate hydrolases superfamily protein with CH (Calponin Homology) domain	4.90E-06
LOC_Os05g11140.2	Protein kinase family protein	0.00043312
LOC_Os01g54340.3	Protein of unknown function (DUF506)	0.00135892
LOC_Os12g38770.1	Purple acid phosphatases superfamily protein	0.00113215
LOC_Os02g01540.1	Ribosomal protein S11 family protein	4.47E-07
LOC_Os02g40900.1	RNA-binding (RRM/RBD/RNP motifs) family protein	0.0002269
LOC_Os02g28980.1	Rotamase FKBP 1	0.00016448
LOC_Os01g43990.1	RPA70-kda subunit B	0.00047371
LOC_Os04g51080.1	Scramblase-related	0.00022277
LOC_Os01g55270.1	SGS domain-containing protein	5.98E-09
LOC_Os06g36940.1	SMAD/FHA domain-containing protein	1.51E-05

(... continua ...)

Tabela 10, Cont.

LOC_Os06g06490.3	Stress-inducible protein, putative	5.19E-05
LOC_Os04g45480.1		9.51E-08
LOC_Os03g53910.1	Tetratricopeptide repeat (TPR)-like superfamily protein	0.00073666
LOC_Os05g03910.1		1.63E-05
LOC_Os03g08830.1	Transducin family protein / WD-40 repeat family protein	9.05E-05
LOC_Os09g30411.1	UBX domain-containing protein	0.00083834
LOC_Os06g39260.1	UDP-galactose transporter 3	0.00022718

Segundo Gothandam et al. (2010), um outro mecanismo para tornar as plantas de arroz tolerantes à baixas temperaturas é o remodelamento da parede celular. Liu et al. (2012) encontraram correlação positiva entre os níveis de expressão de genes de celulose sintase e a tolerância ao estresse abiótico em plantas de arroz. Ainda, Wang et al. (2012) observaram que a alta expressão de um gene que codifica uma celulose sintase desempenha um papel importante na síntese de parede celular e crescimento de plantas de arroz em condições de estresse. Nesta linha de raciocínio, Somerville (2006) relatou que a síntese de celulose é catalisada por diversos tipos de celulose sintases que utilizam UDP (uridina difosfato), que é transportadora de hexoses formando UDP-galactose (Tabela 10), como substrato. Estes dados sugerem que a aplicação do bioestimulante pode manter a integridade da parede celular em condições de baixas temperaturas.

É importante destacar que danos na membrana celular são os principais efeitos causados pela baixa temperatura (UEMURA; STEPONKUS, 1997; MAHAJAN; TUTEJA, 2005). Várias sequências conhecidas por participarem da aclimação ao frio por meio de modificações na estrutura dos ácidos graxos de membrana e relacionados ao metabolismo lipídico (KARGIOTIDOU et al., 2008) foram detectadas (Tabela 10) sugerindo que as plantas de arroz tratadas com bioestimulante apresentam níveis mais elevados de ácidos graxos insaturados quando submetidos à estresses de temperatura. Também foram identificados genes relacionados ao metabolismo lipídico, envolvidos na regulação positiva do processo biossintético da cera, ácidos graxos e da cutina, como a Integrase-type DNA-binding (Tabela 10), que faz a regulação de transcrição, regulação positiva do processo biossintético da cera, do processo biossintético de ácidos graxos e do processo biossintético da cutina (UNIPROT, 2022).

Alguns autores como Islam et al. (2009), Zhu e Xiong (2013) e Zhou et al. (2013) observaram que um mecanismo de tolerância ao déficit hídrico (correlacionado ao estresse por extremos de temperatura) no arroz pode ser induzido pelo acúmulo de

cera nas membranas plasmáticas. Em *Arabidopsis thaliana*, uma das espécies mais utilizadas na pesquisa científica atualmente, Amid et al. (2012) demonstraram que a sensibilidade ao frio pode estar relacionada com a deficiência cuticular, sendo que a camada de cutícula é composta por ácidos graxos hidroxilados incorporados com ceras. Aparentemente, de acordo com Todd et al. (1999), a biossíntese de cera também pode ser estimulada por baixa temperatura no arroz, sendo que os resultados do presente estudo sugerem que a aplicação de bioestimulante propiciou uma maior síntese de cera na condição de baixa temperatura (Tabelas 4 e 10).

Além disso, é importante se destacar que várias famílias de proteínas relacionadas à sinalização de hormônios foram observadas (Tabela 10). Os hormônios vegetais são pequenas moléculas que regulam o crescimento e o desenvolvimento das plantas. Através de modificações em sua síntese e distribuição, as plantas são capazes de coordenar e promover a sua sobrevivência sob condições de estresses ambientais (COLEBROOK et al., 2014).

Os bioestimulantes são tecnologias eficientes, principalmente para melhorar o equilíbrio hormonal das plantas, visto que todas as espécies vegetais têm seus processos regulados por hormônios. Sendo assim, o uso de produtos que contêm reguladores hormonais, em doses adequadas, melhora a eficiência da planta em todos os seus processos, conferindo-lhe maior capacidade de expressar todo seu potencial produtivo. Assim, espera-se que estes produtos sejam capazes de atuar em fatores de transcrição e expressão gênica, em proteínas de membrana (alterando o transporte iônico) e em enzimas metabólicas incidentes sobre o metabolismo secundário, de modo a modificar e produzir precursores de hormônios vegetais, levando à síntese hormonal e à resposta da planta a nutrientes e hormônios (CASTRO, 2006), hipótese confirmada no presente estudo (Tabelas 9 e 10).

Logo, foram detectadas diversas sequências que codificam proteínas relacionadas à sinalização mediada por hormônios vegetais (Tabela 10). Zhang et al. (2012) e Lu et al. (2014) sugeriram a ocorrência de estreita interação entre a sinalização mediada por auxina e a resposta ao estresse por baixa temperatura em plantas de arroz. Jain e Khurana (2009) constataram que a auxina pode alterar a expressão de vários genes responsivos ao estresse. Além disso, os níveis do hormônio giberelina estão positivamente correlacionados com o crescimento das plantas sob condições de estresse, incluindo o estresse por baixa temperatura (COLEBROOK et al., 2014). Diante do

exposto, nossos resultados sugerem que a interferência hormonal regula a resposta das plantas sob estresse térmico (Tabela 10).

Genes da família NHL, como as superexpressas no presente estudo (Tabela 10), consistem em uma variedade de elementos responsivos ao estresse relacionados a hormônios e, em estudo recente, Zhang et al. (2022) relataram número de elementos responsivos ao metil jasmonato (MeJA) e ao ABA significativamente maiores do que outros elementos e confirmaram funções regulatórias de genes NHL em resposta ao estresse em soja, sob tratamento com ABA e MEJA. Ainda, Bao et al. (2016) relataram que a superexpressão de um gene da família NHL modulou a germinação de sementes sob estresses abióticos, afetando a biossíntese e a sinalização de ABA, demonstrando o papel de NHL em resposta a estresses.

A reação resultante da regulação hormonal, seja ela sinergista ou antagonista, pode variar muito, dependendo do órgão em questão e da predisposição da planta. Os hormônios vegetais podem se movimentar nas plantas por difusão entre as células através dos plasmodesmas ou pelo espaço apoplástico. Deste modo, as células destinadas a responder ao hormônio, conhecidas como células-alvo, devem ser capazes de detectar a sua presença no espaço celular ou em fluídos imediatamente circundantes da célula. O sinal de transdução ocorre quando é ativado o complexo hormônio-receptor, em andamento conjunto a uma cascata de eventos bioquímicos que acaba por conduzir à característica final da resposta (WENT; THIMANN, 1999; TAIZ; ZEIGER, 2017).

Além de genes relacionados a mecanismos de defesa e tolerância a estresses, dos 65 genes superexpressos pela aplicação do bioestimulante, 29 estão relacionados à chaperonas, principalmente a proteínas de choque térmico (Heat shock proteins - HSPs) e 15 delas relacionadas a fatores de transcrição e tradução gênica e/ou reparo de DNA, tais como proteínas P-loop, CASC3, PIF1, RRM/RBD/RNP, RPA, SMAD/FHA e TPR, aproximadamente 68% do total de transcritos (Tabela 10), sendo esta última essencial para vias de transdução de sinal mediadas pela maioria dos hormônios vegetais, como etileno, citocinina, giberelina, ácido abscísico e auxina (SCHAPIRE et al., 2006).

De acordo com Cruz et al. (2013), uma série de fatores de transcrição têm sido relacionados às respostas ao estresse térmico, sendo que vários deles, quando superexpressos, levam à tolerância em plantas de arroz. Dessa forma, fatores de transcrição são excelentes alvos para manipular rotas complexas e, vários deles, com possível envolvimento na resposta a estresses térmicos em *Oryza Sativa* L., estão

listados neste estudo (Tabela 10). Assim, fatores de transcrição são amplamente envolvidos em vários processos biológicos e desempenham papéis importantes nas respostas das plantas ao estresse abiótico.

Atualmente, poucos genes e mecanismos moleculares, envolvidos na adaptação de plantas a diferentes ambientes e temperaturas são conhecidos. Dentre estes mecanismos, destacam-se as Heat shock proteins (HSPs). Estudos demonstraram que os genes HSPs (proteína de choque térmico) desempenham papéis importantes na regulação do crescimento, desenvolvimento e resposta ao estresse das plantas, funcionando como acompanhantes, protegendo seus alvos da desnaturação e agregação quando os organismos são submetidos a vários estresses bióticos e abióticos, sendo que sua expressão é ativada ou aumentada sob estresse de alta temperatura. Foi relatado inclusive, que os HSPs poderiam proteger o PSII do estresse oxidativo (JI et al., 2019; GUO et al., 2020; CHUTIMANUKUL et al., 2021) e, no presente estudo, o bioestimulante viabilizou a expressão destes genes perante os extremos de temperatura registrados no período (Tabelas 4 e 10).

Nas últimas décadas, a expressão de alguns HSPs em plantas demonstrou ser desencadeada por calor (MALIK et al., 1999; LOPEZ-MATAS et al., 2004; CHARNG et al., 2006; GUO et al., 2020), salinidade (HAMILTON; HECKATHORN, 2001; GUO et al., 2020), seca (SATO; YOKOYA, 2008), osmose (SUN et al., 2001), hormônios (SUN et al., 2016), metais pesados e estresse oxidativo (LEE et al., 2000; NETA-SHARIR et al., 2005; VOLKOV et al., 2006; LEE et al., 2015). Mais evidências sugeriram que certos HSPs poderiam aumentar a tolerância ao estresse ao superexpressar em plantas transgênicas (JIANG et al., 2009; SUN et al., 2012; LI et al., 2016; HUANG et al., 2019). Apesar da identificação de diversas funções para vários HSPs em plantas, os importantes papéis desempenhados por muitas dessas proteínas ainda precisam ser descobertos.

Recentemente, Guo et al. (2020) demonstraram que plantas de arroz transgênicas superexpressando constitutivamente OsHSP20 e expostas a tratamentos de calor e salinidade tiveram raízes mais longas e taxas de germinação mais altas do que as das plantas do tratamento controle. Ainda, sob condições de estresse biótico e abiótico, uma ampla gama de HSPs tem demonstrado atuar como chaperonas moleculares *in vitro* e *in vivo* independente de ATP, impedindo a desnaturação ou agregação de proteínas (DIETRICH et al., 1991; LUI; SHONO, 1999; HU et al., 2009; HILTON et al., 2012; WATERS, 2013).

As HSPs são caracterizadas por se ligarem a proteínas estruturalmente instáveis, desempenhando importantes funções fisiológicas como chaperonas moleculares, que vão além das funções de dobramento de proteínas, pois auxiliam também na resposta aos estresses abióticos em plantas, especialmente sob temperaturas extremas (IBA, 2002; CHAUHAN et al., 2011). Ainda, o acúmulo de vários agentes crioprotetores, incluindo as poliaminas que protegem as proteínas intracelulares, é possível através da indução de genes que codificam chaperonas moleculares (MAHAJAN; TUTEJA, 2005).

Ademais, uma chaperonina superexpressa com a aplicação do bioestimulante, a Chaperonin 10 (Tabela 10), faz a regulação positiva da atividade da superóxido dismutase (SOD), uma enzima que desempenha importante papel na resposta ao estresse oxidativo nas plantas (CATANEO et al., 2005), sendo uma importante defesa antioxidante. Diversos estudos têm relacionado a atividade de enzimas antioxidantes com a resposta ao estresse térmico (BONNECARRÉRE et al., 2011; ZHANG et al., 2012). Guo et al. (2006) salientam que a tolerância ao estresse térmico e/ou a outros estresses, está relacionada com o aumento da capacidade antioxidante durante a condição de estresse.

A SOD representa um dos componentes enzimáticos do sistema de defesa antioxidativo (GARCEZ et al., 2004). A indução desta enzima reflete o seu importante papel no mecanismo de defesa da planta (ASHRAF; ALI, 2008) e vários estudos, em nível de expressão gênica e atividade enzimática, têm sido conduzidos para se descobrir a importância da enzima SOD na presença de estresses abióticos, tais como o estresse à seca, salinidade, frio e temperaturas elevadas (SRIVALLI et al., 2003; WANG et al., 2004; THOUNAOJAM et al., 2012; ARA et al., 2013; AYDIN et al., 2013).

Segundo Basu et al. (2010) a manutenção na atividade de SOD é decorrente de uma provável redução na síntese de EROs, uma vez que plantas tolerantes apresentam ativação paralela de outros mecanismos de tolerância, especialmente àqueles ligados ao rearranjo na composição da membrana lipídica, modificação no aparato fotossintético, maior indução de antioxidantes não enzimáticos, dentre outros, enquanto plantas sensíveis podem não possuir a capacidade de fazer todos esses ajustes celulares quando submetidas a severas condições de estresse.

Ainda, é importante ressaltar a superexpressão gênica que codifica a DnaJ heat shock family protein (Tabela 10), que funciona provavelmente como uma chaperona co-molecular, necessária para o crescimento normal dos tubos polínicos sob estresse de alta temperatura (YANG et al., 2009), demonstrando a maquinaria epigenética de

termotolerância ativada pela aplicação do bioestimulante, superexpressando e silenciando genes (Tabelas 9 e 10), os quais interagem entre si e atuam no desenvolvimento da planta em resposta às mudanças de temperatura, modulando o desenvolvimento relacionado ao crescimento e o tempo de floração nestas situações, propiciando uma floração adequada para garantir a perpetuação da espécie, tendo, assim, uma relevância fisiológica de suma importância. Neste sentido, Yang et al. (2009) demonstraram que uma mutação *knockout* em gene termossensível, que codifica uma proteína de choque térmico com domínios DnaJ, leva à esterilidade gametofítica masculina em *Arabidopsis* cultivada a 30° C, o qual retardou muito o crescimento do tubo polínico no trato transmissor, resultando em uma redução significativa na fertilidade masculina.

Estudos mostraram que, além das vias bem caracterizadas já descritas, as plantas são capazes de ajustar a duração de várias fases de desenvolvimento em resposta a fatores ambientais (abióticos) para garantir a sobrevivência em ambientes não favoráveis (SUNKAR et al., 2007).

Assim, as proteínas DnaJ funcionam sozinhas ou em associação com Hsp70, que contribuem no dobramento, redobramento, degradação e, principalmente, para a homeostase do nível proteico celular, em condições de estresse (WANG et al., 2004; HENNESSY et al., 2005; CRAIG et al., 2006). Durante parte do processo evolutivo das plantas, a ação conjunta destas proteínas tem sido importante para auxiliar na recuperação efetiva do PSII, atuando em um dos mecanismos cruciais de proteção e reparo rápido deste complexo (ARO et al., 2005, TAKAHASHI; BADGER, 2011). A Hsp70 executa dois mecanismos para proteção do PSII contra danos, um que promove a síntese de nova proteína D1 do centro de reação e outro capaz de redobrar, caso não haja dano intenso (SCHRODA et al., 2001).

Ainda, a DnaJ estimula a atividade ATPase de HSP70 e as demais funções e comumente é encontrada em altas concentrações nos compartimentos celulares ao qual opera (NAKATSUKASA et al., 2008). Dessa forma, atuando na regulação da síntese e dobramento de D1 de PSII, torna-se um dos prováveis pontos de regulação.

Há de se enfatizar que o momento da floração é fundamental para maximizar o sucesso reprodutivo sob condições ambientais flutuantes. O tempo de floração é rigidamente controlado por redes genéticas complexas que integram sinais endógenos e exógenos, como luz, temperatura, fotoperíodo e hormônios. A proteína superexpressa (Tabela 10) AGAMOUS-LIKE16 (AGL16) e seu regulador negativo microRNA824

(miR824) controlam o tempo de floração em *Arabidopsis thaliana*, de acordo com estudo de Hu et al. (2014). Assim, funciona como provável fator de transcrição envolvido na regulação do tempo de floração e diminui o gene repressor da floração.

Yoo et al. (2011), demonstraram que a regulação do tempo de floração em *Arabidopsis thaliana* por AGL6 é realizado através do controle da transcrição de um subconjunto dos genes da família FLOWERING LOCUS C (FLC) e FT (phosphatidylethanolamine-binding protein), dois reguladores-chave do tempo de floração (Tabelas 9 e 10), onde um mutante agl6-1D, no qual o AGL6 foi ativado pelo intensificador 35S, mostrou um fenótipo de floração precoce nas condições de dias longos e curtos. A floração precoce foi acelerada aditivamente pela superexpressão de CONSTANS (CO) e a mutação agl6-1D suprimiu fortemente o florescimento tardio dos mutantes fve-4 e fca-9. Estes resultados sugerem que o AGL6 atua como um promotor floral com dupla função: a inibição da transcrição dos genes FLC/MAF e a promoção da expressão de FT nas plantas de *Arabidopsis thaliana*.

Ademais, de acordo com Szaker et al. (2019), o módulo miR824/AGAMOUS-LIKE16 integra mudanças recorrentes de estresse térmico ambiental para ajustar o desenvolvimento pós-estresse, onde miR824 se acumula gradualmente em resposta ao calor devido à combinação de indução transcricional transiente e estabilidade pós-transcricional. A indução de miR824 requer choque térmico e atividade da família HSFA1 e fatores de transcrição HSFA2 (heat shock transcription factor A2) (Tabela 10).

Curiosamente, o módulo miR824/AGL16 foi inicialmente relatado para promover o desenvolvimento de complexos estomáticos de ordem superior, aumentando o número de divisões adicionais em linhagens de células do meristema. O número e distribuição adequados dos estômatos são essenciais para a troca eficiente de gases entre a atmosfera e as partes aéreas das plantas e a densidade e o desenvolvimento de complexos estomáticos na epiderme de folhas dependem, em parte, da regulação mediada por microRNA de AGL16 (KUTTER et al., 2007).

Também, dá-se destaque à Heat shock transcription factor A2 (Tabela 10), regulador transcricional que se liga especificamente ao DNA de elementos promotores de choque térmico (HSE), envolvido nos mecanismos necessários para uma resposta rápida ao calor e subsequente memória transgeracional hereditária de aclimação ao calor (como por exemplo, aquecimento global e, no caso do presente estudo, o tratamento com bioestimulante), como floração precoce e imunidade atenuada. Este

processo inclui a regulação epigenética, bem como o silenciamento do gene pós-transcricional (LIU et al., 2019).

Outro gene a ser mencionado é o que codifica a Heat shock protein 21 (Tabela 10), uma chaperona necessária para o desenvolvimento dos cloroplastos sob estresse térmico, provavelmente pela manutenção da transcrição dependente da RNA polimerase (PEP) codificada pelo plastídio (ZHONG et al., 2013). Segundo Kim e Na (2013), o gene codifica uma proteína localizada nos cloroplastos das plantas de arroz, é regulado positivamente e expresso sob estresse térmico e é necessário para o desenvolvimento de cloroplastos em altas temperaturas.

As chaperonas podem exercer diversas funções celulares com base em sua natureza molecular e estrutural, atuando no auxílio e manutenção de dobramentos proteicos e processos de ubiquitinação (MAYER, 2010). Dentre as chaperonas codificadas pelo estresse por calor, as HSPs (heat shock proteins) são conhecidas por atuarem na estabilização de membranas e proteínas, aliviando assim os danos causados pelo estresse (Liu et al., 2020).

Durante a exposição ao calor, os fatores de transcrição de estresse térmico HSFs (heat shock transcription factors) atuam como os principais reguladores da resposta ao estresse através da modulação e ativação da expressão gênica de HSPs (GUO et al., 2016; AL-WHAIBI, 2011). Os HSFs são ativados de forma rápida aumentando assim a expressão de muitos genes responsivos que codificam HSPs (OHAMA et al., 2016).

A detecção e sinalização do estresse por calor em plantas foi recentemente revisado por Sharma et al. (2020). A membrana plasmática (MP) e o retículo endoplasmático (RE) participam ativamente da resposta ao estresse térmico em plantas. Assim, altas temperaturas levam ao aumento da fluidez de membrana, alteração da sua composição lipídica e função (LAMERS et al., 2020). Adicionalmente, o mecanismo por trás da tolerância ao estresse pelo RE é conhecido como resposta de proteína desdobrada ou UPR (unfolded protein response) e envolve a identificação de proteínas desdobradas ou mal dobradas acumuladas no lúmen do RE e a ativação de fatores de transcrição, foldases e chaperonas visando restaurar a função normal da célula (SHARMA et al., 2020). Neste sentido, as plantas possuem duas rotas primárias desta resposta, sendo uma via iniciada por fatores de transcrição ligados à membrana como bZIP (basic leucine zipper) e a outra inclui o fator de *splicing* de RNA IRE (inositol-requiring enzyme) (LIU; HOWELL, 2016) (Tabela 9).

Li et al. (2015) identificaram no arroz africano (*Oryza glaberrima*) o locus de característica quantitativa que codifica uma subunidade $\alpha 2$ do proteassoma envolvida na degradação de proteínas ubiquitinadas. A expressão deste protege as células degradando as proteínas desnaturadas citotóxicas, aumentando a tolerância ao calor. Diversos genes relacionados à ubiquitinação foram expressos no tecido foliar das plantas de arroz tratadas com o bioestimulantes, tanto *down-regulated* como *up-regulated* (Tabelas 9 e 10).

O sistema ubiquitinação/proteassomo é responsável pela remoção de peptídeos defeituosos e por agir como regulador celular de curta duração, controlando diversos processos. Desta forma, possibilita às células responderem rapidamente aos sinais intracelulares e às mudanças nas condições ambientais através de modificações em reguladores-chave (YATES; SADANANDOM, 2013). Neste sentido, Lourenço et al. (2013) verificaram que o gene de arroz OsHOS1, que faz parte do sistema de ubiquitinação, está relacionado à modulação de outros genes, como OsICE1, em resposta a condições de baixas temperaturas. Várias sequências relacionadas com a degradação de proteínas via ubiquitinação/proteassomo foram detectadas (Tabela 10), sugerindo uma alta atividade de degradação via ubiquitinação, provavelmente evidenciando o rápido *turnover* proteico que ocorre em decorrência do estresse causado pela baixa temperatura.

As modificações pós-tradicionais de proteínas por ligação de ubiquitina alteram funções proteicas e regulam uma série de processos, incluindo desenvolvimento, ciclo celular e respostas a estresse biótico e abiótico, vias de repressão de sinalização hormonal, degradação de fatores de transcrição específicos e regulação da biossíntese de hormônios (AARON; ESTELLE, 2010; CASTRO et al., 2012; MARINO et al., 2012). A ligação de moléculas de ubiquitina a uma proteína pode resultar em degradação proteossômica ou, alternativamente, regular outros processos, como transcrição e reparo de DNA (GLICKMAN; CIECHANOVER, 2002).

Os resultados encontrados demonstram que a aplicação do bioestimulante também propiciou o aumento de respostas a mecanismos antioxidantes (Tabela 10), que são extremamente importantes em condições estressantes. Os componentes do sistema de defesa antioxidativo trabalham de forma bem coordenada e ativa em resposta às situações de estresse que normalmente intensificam a produção de EROs causando danos ao organismo (MITTLER 2002; FOYER; NOCTOR, 2005).

Um dos mecanismos de resposta ao estresse nas plantas mais documentados é a síntese e o acúmulo de solutos compatíveis. Os metabólitos primários são compostos orgânicos, solúveis em água e impermeáveis à membrana que podem acumular em altas concentrações no citoplasma, dependendo da resposta ao estresse (HASANUZZAMAN et al., 2019). Algumas moléculas do metabolismo primário com função osmoprotetora possuem papel vital na adaptação das plantas aos estresses abióticos, o que inclui a exposição a altas temperaturas (XALXO et al., 2020).

Dentre os osmólitos produzidos por diferentes espécies de plantas estão os açúcares, prolina, glicina betaína, compostos de amônio terciário e quaternário e compostos de sulfônico terciário (WAHID et al., 2007; XALXO et al., 2020). Esses osmoprotetores têm funções de amplo espectro, incluindo eliminação de EROs, equilíbrio do estado redox celular, ação osmoprotetora, estabilização do pH citosólico, de proteínas, enzimas e membranas, além de atuarem como uma fonte potencial de carbono e nitrogênio para plantas durante eventos de estresse e os episódios de recuperação subsequentes (HASANUZZAMAN et al., 2019).

As respostas moleculares envolvidas nestes processos podem ser divididas em dois grupos principais: os que envolvem a ativação ou repressão de genes que atuam diretamente nas respostas, como transportadores iônicos, dentre outros; e os que participam das etapas intermediárias destas respostas, como as proteínas quinases e os fatores de transcrição.

Ademais, um fato importante a se ressaltar é que a elucidação dos mecanismos de controle molecular da tolerância aos estresses abióticos, os quais resultam na utilização de ferramentas moleculares para a engenharia de plantas mais tolerantes, é baseada na expressão de genes específicos relacionados ao estresse. Estes genes estão divididos em duas categorias: os envolvidos na cascata de sinalização e no controle transcricional, como as quinases e os fatores de transcrição; aqueles que funcionam diretamente na proteção de membranas e proteínas, como proteínas de choque térmico e chaperonas, proteínas LEA, osmoprotetores, trocadores e transportadores de íons, dentre outros (Tabelas 9 e 10).

Segundo Sairam e Saxena (2000), as enzimas antioxidantes e metabólitos que regulam o status redox celular aumentam sob vários estresses, com sua atividade comparativamente mais elevada em genótipos tolerantes, sugerindo que uma maior atividade antioxidante transmite maior tolerância à planta. Na parte aérea da planta, diversos mecanismos de adaptação morfofisiológicos podem integrar os mecanismos de

defesa, como a estrutura da planta, fechamento estomático, redução das taxas fotossintética e transpiratória, dentre outros (GLOSER;GLOSER, 1996; YORDANOV et al., 2000).

Estes mecanismos antioxidantes (Tabela 10) também podem ser associados com a regulação negativa de alguns genes (Tabela 9), como:

- Cyclase family protein, atua como um regulador negativo da morte celular programada (SMITH et al., 2015);
- Cyclophilin-like peptidyl-prolyl cis-trans isomerase family protein, a regulação negativa da peptidilprolil isomerase A promove a morte celular e aumenta a apoptose ou morte celular programada, é um processo essencial para a manutenção do desenvolvimento dos seres vivos, sendo importante para eliminar células supérfluas ou defeituosas (CHENG et al., 2016; WEI et al., 2018), com o aumento da temperatura aceleram processos de degradação e proporcionam recuperação mais rápida;
- Cysteine-rich RLK (RECEPTOR-like protein kinase) 10, regulador negativo da morte celular, que afeta tanto os processos de senescência quanto os de aclimação (BURDIAK et al., 2015);
- Farnesyl diphosphate synthase 1, o silenciamento do FPS leva à desregulação de genes envolvidos na manutenção da homeostase redox, mas não desencadeia sintomas de estresse oxidativo (MANZANO et al., 2016);
- Fe superoxide dismutase 2, uma das principais enzimas do sistema de defesa antioxidativo, negativamente regulados em plantas tolerantes sob estresse (DEUS, 2014).

Em síntese, os resultados aqui explanados (Figura 11), tomados em conjunto, sugerem certamente que o nível de atividade e/ou expressão diferencial dos genes reportados nesse estudo devem ser fortemente considerados para elucidar os mecanismos moleculares de termotolerância em plantas de arroz, quando submetidas ao tratamento com bioestimulante.

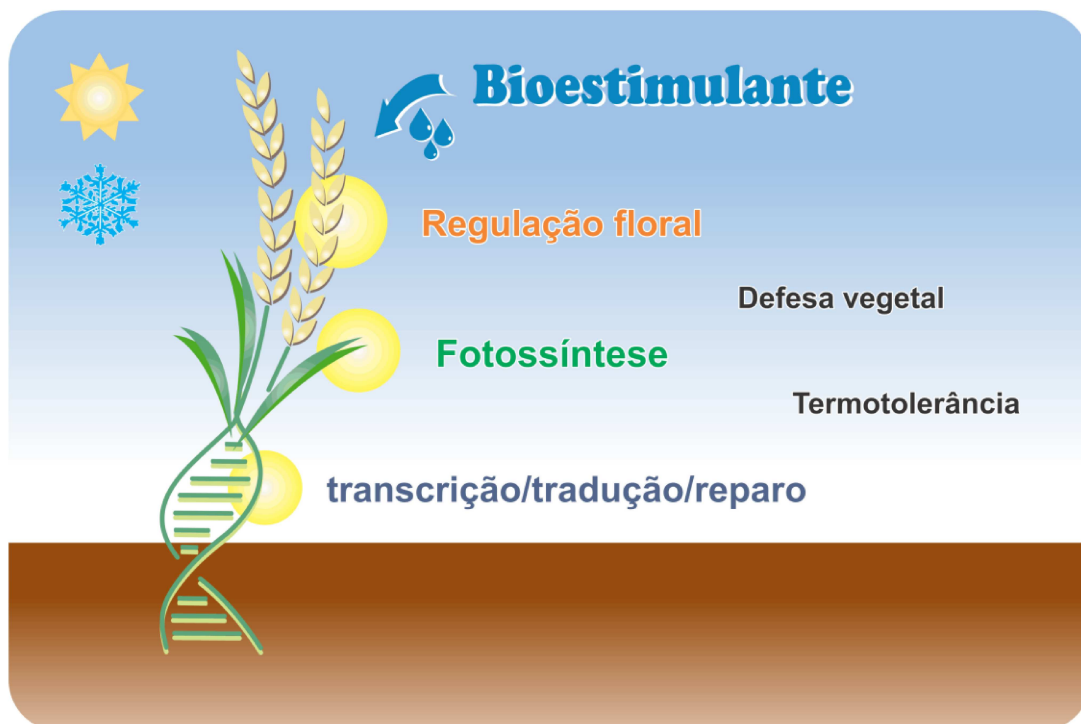


Figura 11 – Esquematização dos principais processos metabólicos envolvidos na resposta das plantas ao estresse térmico, com a aplicação do bioestimulante. Elaboração própria (2023).

4 CONCLUSÕES

As análises de expressão diferencial identificaram 498 genes diferencialmente expressos em tecido foliar de *Oryza sativa* L., quando tratadas com o bioestimulante. Para os genes regulados positivamente (*up-regulated*), observou-se o aumento de expressão de genes intimamente relacionados a mecanismos de defesa, respostas a estresses, floração, regulação de transcrição/tradução gênica e metabolismo vegetal. Já para os genes regulados negativamente (*down-regulated*), pôde-se observar principalmente genes relacionados à fotossíntese, respostas a estresses, desenvolvimento e regulação floral.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

O arroz (*Oryza sativa* L.), conforme já explanado, é um excelente modelo de monocotiledônea para estudos gênicos e uma cultura única que alimenta quase metade da população do mundo. Durante seu ciclo de vida, a planta monocotiledônea normalmente tem que lidar com vários estresses, o que pode reduzir muito seu

rendimento e a qualidade do grão. Assim, deve ser de fundamental importância se obter uma visão profunda dos mecanismos de resistência ao estresse ou tolerância nesses vegetais (GUO et al., 2020) e estudos referentes à plasticidade térmica no desenvolvimento são essenciais, assim como tecnologias que auxiliem os produtores a obterem produtos (grãos, fibras etc.) de qualidade e ecologicamente sustentáveis, como os bioestimulantes, que precisam ser contemplados pela legislação brasileira.

Ademais, o arroz é a principal fonte de alimento para mais da metade da população mundial e com o aquecimento global, a redução da produção de grãos de arroz por estresse de alta temperatura se tornará cada vez mais severa, já evidenciado em trabalho de Peng et al. (2004), onde foi demonstrado que a produção de arroz diminui com temperatura noturna mais alta devido ao aquecimento global. Neste cenário, o RNA-seq pode ser amplamente utilizado para investigar transcriptomas sob condições de estresse bióticos e abióticos em diversas culturas (SONG et al., 2014; GARG et al., 2015).

Os genes identificados neste trabalho permitem a obtenção de informações valiosas sobre os processos de tolerância e defesa vegetal em plantas de arroz, sob aplicação de bioestimulante. Estes resultados revelaram genes importantes expressados em condições de estresse térmico, que podem ser úteis em futuras abordagens biotecnológicas visando à elaboração de uma metodologia para análise de bioestimulantes, sendo o entendimento do transcriptoma essencial para a interpretação dos elementos funcionais do genoma de *Oryza sativa* L., com os dados gerados pelo RNA-seq. Dessa forma, em etapas futuras, esses dados serão explorados visando a indicação e validação de uma possível metodologia para análise de bioestimulantes.

REFERÊNCIAS

AARON, S.; STELLE, M. The Ubiquitin-Proteasome System Regulates Plant Hormone Signaling. **The Plant journal: for cell and molecular biology**, [s.l.], v. 61, p. 1029-1040, 2010. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2010.04112.x.

ADAMS, W.W.; DEMMIG-ADAMS, B. Chlorophyll Fluorescence as a Tool to Monitor Plant Response to the Environment. *In*: PAPAGEORGIOU, G.C.; GOVINDJEE, G. (ed.). **Chlorophyll a Fluorescence: a signature of photosynthesis**. Dordrecht: Springer, p. 584-599, 2004. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4020-3218-9_22.

ADAMS, W.W.; DEMMIG-ADAMS, B.; ROSENSTIEL, T.N.; BRIGHTWELL, A.K.; EBBERT, V. Fotossíntese e fotoproteção em plantas hibernantes. **Plant Biology**, [s.l.], v.4, p. 545-557, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-2002-35434>.

ADAMS, W.W.; ZARTER, C.R.; EBBERT, V.; DEMMIG-ADAMS, B. Photoprotective strategies of overwintering evergreens. **Bioscience**, [s.l.], v. 54, n. 1, p. 41-49, 2004. DOI: [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2004\)054\[0041:PSOOE\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2004)054[0041:PSOOE]2.0.CO;2).

AGUILAR-MARTINEZ, J.A.; SINHA, N.R. Analysis of the role of Arabidopsis class I TCP genes AtTCP7, AtTCP8, AtTCP22, and AtTCP23 in leaf development. **Front Plant Sci.**, [s.l.], v. 4, p. 1-13, 2013. DOI: 10.3389/fpls.2013.00406.

ALLAKHVERDIEV, S.I.; LOS, D.A.; MOHANTY, P.; NISHIYAMA, Y.; MURATA, N. Glycinebetaine alleviates the inhibitory effect of moderate heat stress on the repair of photosystem II during photoinhibition. **Biochimica et Biophysica Acta**, [s.l.], v. 1767, p. 1363-1371, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2007.10.005>.

AL-WHAIBI, M. H. Plant heat-shock proteins: A mini review. **Journal of King Saud University - Science**, [s.l.], v. 23, p. 139-150, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2010.06.022>.

AMID, A.; LYTOVCHENKO, A.; FERNIE, A. R.; WARREN, G.; THORBY, G. J. The sensitive to freezing mutation of Arabidopsis thaliana is a cold-sensitive allele of homomeric acetyl-CoA carboxylase that results in cold-induced cuticle deficiencies. **J Exp Bot**, [s.l.], v. 63, n. 14, p. 5289-5299, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1093/jxb/ers191>.

ANDERSSON, B.; PONTICOS, M.; BARBER, J.; KOIVUNIELMI, A.; ARO, E.M.; HAGMAN, A.; SALTER, A.H.; DAN-HUI, Y.; LINDHAL, M. Light-induced proteolysis of photosystem II reaction centre and light-harvesting complex II proteins in isolated preparations. *In*: BAKER, N.R.; BOWYER, J.R. (ed.). **Photoinhibition of Photosynthesis: from molecular mechanisms to the field**. Oxford: Bios Scientific Publishers, 1994. p.143-159.

ANDRES, F.; COUPLAND, G. The genetic basis of flowering responses to seasonal cues, **Nat. Rev. Genet.** [s.l], v.13, p. 627–639, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrg3291>.

ASADA, K. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. **Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.**, [s.l], v. 50, p. 601- 639, 1999. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.50.1.601>.

BAE, W.; LEE, Y.J.; KIM, D.H.; LEE, J.; KIM, S.; SOHN, E.J.; HWANG, I. AKR2A-mediated import of chloroplast outer membrane proteins is essential for chloroplast biogenesis. **Nat Cell Biol.** [s.l], v. 10, n.2, p.220-227, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1038/ncb1683>.

BAO, Y.; SONG, W.M.; ZHANG, H.X. Role of Arabidopsis NHL family in ABA and stress response. **Plant Signal Behav.**, [s.l], n. 11, v. 5, 2016. DOI: [10.1080/15592324.2016.1180493](https://doi.org/10.1080/15592324.2016.1180493).

BARTKOVA, J.; RAJPERT-DE MEYTS, E.; SKAKKEBAEK, N.E.; ARTEK, J. D. Type cyclins in adult human testis and testicular cancer: relation to cell type, proliferation, differentiation, and malignancy. **J. Path.** [s.l], v.187, p. 573-581, 1999. DOI: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9896\(199904\)187:5<573::AID-PATH289>3.0.CO;2-H](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9896(199904)187:5<573::AID-PATH289>3.0.CO;2-H).

BERTAMINI, M.; MUTHUCHELIAN, K.; NEDUNCHEZHIAN, N. Shade effect alters leaf pigments and photosynthetic responses in Norway spruce (*Picea abies* L.) grown under field conditions. **Photosynthetica**, [s.l], v. 44, n. 2, p. 227-234, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11099-006-0011-z>.

BITA, C.E.; GERATS, T. Plant tolerance to high temperature in a changing environment: Scientific fundamentals and production of heat stress-tolerant crops. **Front Plant Sci.**, [s.l], v. 4, p. 1-18, 2013. DOI: [10.3389/fpls.2013.00273](https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00273).

BJÖRKMAN, O.; DEMING-ADAMS, B. Regulation of photosynthetic light energy capture, conversion, and dissipation in leaves of higher plants. *In*: SCHULZE, E.D.;

CALDWELL, M.M. (ed.), **Ecophysiology of Photosynthesis**. Berlin: Springer-Verlag, p. 17-47, 1995. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-642-79354-7_2.

BLANCO, N.E.; GOLLAN, P.J.; MENGIN, V.; NIKKANEN, L.; FUSARI, C.M. A novel perspective for photosystem I: an emerging hub for the functional integration of photosynthesis and metabolism. **Front. Plant Sci.**, [s.l.], v.13, p. 871623, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.871623>.

BLOCK, A.; FRISTEDT, R.; ROGERS, S.; KUMAR, J.; BARNES, B.; BARNES, J.; ELOWSKY, C. G.; WAMBOLDT, Y.; MACKENZIE, S. A.; REDDING, K.; MERCHANT, S. S.; BASSET, G. J. Functional modeling identifies paralogous solanesyl-diphosphate synthases that assemble the side chain of plastoquinone-9 in plastids. **J Biol Chem.** [s.l.], v. 288, n.38, p. 27594-27606, 2013. DOI: 10.1074/jbc.M113.492769.

BOEX-FONTVIEILLE, E.; DAVENTURE, M.; JOSSIER, M.; ZIVY, M.; HODGES, M.; TCHERKEZ, G. Photosynthetic Control of Arabidopsis Leaf Cytoplasmic Translation Initiation by Protein Phosphorylation. **PLoS ONE**, [s.l.], v. 8, p. 1-12, 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0070692.

BONNECARRÉRE, V.; BORSANI, O.; DÍAZ, P.; CAPDEVIELLE, F.; BLANCO, P.; MONZA, J. Response to photooxidative stress induced by cold in japonica rice is genotype dependent. **Plant Sci**, [s.l.], v. 180, p. 726-732, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.01.023>.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Portarias de nº 15 a 30**, Zoneamento Agrícola de Risco Climático (Zarc), ano-safra 2022/2022, para o cultivo do arroz de sequeiro. 31 out. 2022. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis/>>. Acesso em: 10 dez. 2022.

BUCKLER, E.S.; HOLLAND, J.B.; BRADBURY, P.J.; ACHARYA, C.B.; BROWN, P.J.; BROWNE, C.; ERSOZ, E.; FLINT-GARCIA, S.; GARCIA, A.; GLAUBITZ, J.C.; GOODMAN, M.M.; HARJES, C.; GUILL, K.; KROON, D.E.; LARSSON, S.; LEPAK, N.K.; LI, H.; MITCHELL, S.E.; PRESSOIR, G.; PEIFFER, J.A.; ROSAS, M.O.; ROCHEFORD, T.R.; ROMAY, M.C.; ROMERO, S.; SALVO, S.; SANCHEZ VILLEDA, H.; DA SILVA, H.S.; SUN, Q.; TIAN, F.; UPADYAYULA, N.; WARE, D.; YATES, H.; YU, J.; ZHANG, Z.; KRESOVICH, S.; MCMULLEN, M.D. The genetic architecture of maize flowering time. **Science**, [s.l.], v. 325, p.714-718, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1174276>.

BURDIAK, P.; DAMIAN, A. R.; DAWID, G. R.; KARPIŃSKI, S. Cysteine-rich receptor-like kinase CRK5 as a regulator of growth, development, and ultraviolet

radiation responses in *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Experimental Botany**, [s.l], v. 66, p. 3325-3337, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1093/jxb/erv143>.

BUSSOTTI, F.; GEROSA, G.; DIGRADO, A.; POLLASTRINI, M. Selection of chlorophyll fluorescence parameters as indicators of photosynthetic efficiency in large scale plant ecological studies, **Ecol. Indic.**, [s.l], v. 108, p.10568, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.105686>.

CARMO-SILVA, A.E.; SCALES, J.C.; MADGWICK, P.J.; PARRY, M.A.J. Optimizing Rubisco and its regulation for greater efficiency in the use of resources. **Plant Cell Environment**, [s.l], v. 38, p. 1817–1832, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1111/pce.12425>.

CASTRO, P. R.C. **Princípios da adubação foliar**. Jaboticabal: FUNEP, 2009. 42 p.

CASTRO, P.R.C. **Agroquímicos de controle hormonal na agricultura tropical**. Piracicaba: ESALQ, 2006. 46 p.

CATANEO, A.C. *et al.* Atividade de superóxido dismutase em plantas de soja (*Glycine max* L.) cultivadas sob estresse oxidativo causado por herbicida. **Revista Brasileira de Herbicidas**, [s.l], v. 4, n. 2, p. 23-31, 2005. DOI: <https://doi.org/10.7824/rbh.v4i2.22>.

CAZZANIGA, S.; DALL'OSTO, L.; KONG, S.G.; WADA, M.; BASSI, R. Interação entre evitar a absorção de fótons, dissipação de energia em excesso e síntese de zeaxantina contra estresse fotooxidativo em *Arabidopsis*. **Planta J.** [s.l], v.76, p. 568-579, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1111/tpj.12314>.

CHAILAKHYAN, M.K. New facts in support of the hormonal theory of plant development, **C. R. Acad. Sci. URSS**, v.13, p. 79–83, 1936.

CHAKRABORTY, S.; PANGGA, I. B. Plant disease and climate change. *In*: GILLINGS, M.; HOLMES, A. (ed.). **Plant microbiology**. London: BIOS Scientific Publishers, 2004, p.163-180.

CHARNG, Y. Y.; LIU, H. C.; LIU, N. Y.; KO, H. S. S. *Arabidopsis* hsa32, a novel heat shock protein, is essential for acquired thermotolerance during long recovery after acclimation. **Plant Physiology**, [s.l], v.140, p. 1297-1305, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.105.074898>.

CHAUHAN, H.; KHURANA, N.; AGARWAL, P.; KHURANA, P. Heat shock factors in rice (*Oryza sativa* L.): genome-wide expression analysis during reproductive development and abiotic stress. **Mol Genet Genomics**, [s.l.], v. 286, p. 171-187, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00438-011-0638-8>.

CHAVES, A. R. M. **Fotossíntese e mecanismos de proteção contra estresse fotooxidativo em *Coffea arabica* L., cultivado em condições de campo sob dois níveis de irradiância**. 2005. 45 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2005.

CHEABU, S.; MOUNG-NGAM, P.; ARIKIT, S.; VANA VICHIT, A.; MALUMPONG, C. Effects of heat stress at vegetative and reproductive stages on spikelet fertility. **Rice Sci.**, [s.l.], v. 25, p. 218-226, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rsci.2018.06.005>.

CHEN, C.Y.; HO, S.S.; KUO, T.Y.; HSIEH, H.L.; CHENG, Y.S. Structural basis of jasmonate-amido synthetase FIN219 in complex with glutathione S-transferase FIP1 during the JA signal regulation. **Proc Natl Acad Sci USA**. [s.l.], v.114, n.10, p. E1815-E1824, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1609980114>.

CHEN, J.H.; TANG, M.; JIN, X.Q.; LI, H.; CHEN, L.S.; WANG, Q.L.; SUN, A.Z.; YI, Y.; GUO, F.Q. Regulation of Calvin-Benson cycle enzymes under high temperature stress. **Abiotech**. [s.l.], v. 3, n. 1, p. 65-77, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s42994-022-00068-3>.

CHEN, N. A.; XU, Y.; WANG, X.; DU, C.; DU, J.; YUAN, M. et al. OsRAN2, essential for mitosis, enhances cold tolerance in rice by promoting export of intranuclear tubulin and maintaining cell division under cold stress. **Plant Cell Environ**, [s.l.], v. 34, p. 52–64, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2010.02225.x>.

CHENG, S.; LUO, M.; DING, C.; PENG, C.; TONG, Z. LV, R. Downregulation of Peptidylprolyl isomerase A promotes cell death and enhances doxorubicin-induced apoptosis in hepatocellular carcinoma. **Gene**, [s.l.], v. 591, p. 236-244, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2016.07.020>.

CHOI, M.S.; WOO, M.O.; KOH, E.B.; LEE, J.; HAM, T.H.; SEO, H. S.; KOH, H.J. Teosinte Branched 1 modulates tillering in rice plants. **Plant Cell Reports**, v. 31, n. 1, p. 57-65, 2012. DOI:10.1007/s00299-011-1139-2. DOI: 10.1007/s00299-011-1139-2.

CHOUDHURY, F.K.; RIVERO, R.M.; BLUMWALD, E.; MITTLER, R. Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. **Plant J**. [s.l.], p. 856–867, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1111/tpj.13299>.

CHUTIMANUKUL, P.; SAPUTRO, T.B.; MAHAPROM, P.; PLAIMAS, K.; COMAI, L.; BUABOOCHA, T.; SIANGLIW, M.; TOOJINDA, T.; CHADCHAWAN, S. Combining genome and gene co-expression network analyses for the identification of genes potentially regulating salt tolerance in rice. **Frontiers in Plant Science**. [s.l], v.12, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.704549>.

COELHO, C.P.; MINOW, M.A.; CHALFUN-JÚNIOR, A.; COLASANTI, J. Putative sugarcane FT/TFL1 genes delay flowering time and alter reproductive architecture in Arabidopsis. **Front Plant Sci.**, [s.l], v. 5, p. 1-12, 2014. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00221>.

COLEBROOK, E. H.; THOMAS, S. G.; PHILIPS, A. L.; HEDDEN, P. The role of gibberellin signaling in plant responses to abiotic stress. **J Exp Bot**, [s.l], v. 217, p. 67-75, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1242/jeb.089938>.

COLMAN, B. A.; MASSON, G. L.; MISSIO, H. G.; NUNES, A. S.; CEOLIN, A. C. Efeito da adição de inseticidas no tratamento de sementes de soja com bioestimulante. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, [s.l], v. 7, n. 5, p. 45-48, 2013.

CORNETA, E. M. **Aplicação foliar de extrato de alga *Ascophyllum nodosum* e magnésio na resposta fisiológica de plantas cítricas ao estresse térmico**. 2021. 53 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) - Instituto Agrônômico de Campinas, Campinas, 2021.

CRAIG, E.A.; HUANG, P.; ARON, R.; ANDREW, A. The diverse roles of J proteins, the obligate Hsp70 co-chaperone. **Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology**, [s.l], v. 156, p. 1-21, 2006.

CUNHA, D. F. da. **Bioestimulantes na cultura do arroz inoculado com *Pyricularia grisea***. 2021. 33 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2021.

DAMATTA, F. M.; RENA, A. B. Ecofisiologia de cafezais sombreados e a pleno sol. In: ZAMBOLIM, L. (ed.). **O estado da arte de tecnologias na produção do café**. Viçosa: UFV, 2002. p. 93-135.

DAMATTA, F.M. Ecophysiological constraints on the production of shaded and unshaded coffee: a review. **Field Crops Res.**, [s.l], v. 86, p.99-114, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2003.09.001>.

DAMETTO, A. **Identificação e caracterização de genes de arroz (*Oryza sativa* L. ssp. indica) importantes para a tolerância ao frio na fase de germinação.** 2015. 103 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Centro Universitário UNIVATES, Lajeado, 2015.

DESOTGIU, R.; CASCIO, C.; POLLASTRINI, M.; GEROSA, G.; MARZUOLI, R.; BUSSOTTI, F. Short-and long-term photosynthetic adjustments in sun and shade leaves of *Fagus sylvatica* L., investigated with the fluorescence transient (FT) analysis, **Plant.Biosyst.** [s.l.], v.146, n.1, p. 206–216, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1080/11263504.2012.705350>.

DEUS, K. E. **Atividade enzimática e expressão diferencial da Superóxido Dismutase (SOD) em plantas de arroz de terras altas sob deficiência hídrica.** 2014. 132 f. Dissertação (Mestrado em Biologia) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014.

DIDONE, A. D. Importância do período de pré-floração na produtividade do feijoeiro. **Pesq. Agropec. Trop.**, Goiânia, v. 40, n. 4, p. 505-512, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1983-40632010000400010>.

DIESEL, P. R.; SILVA, V. N. Desenvolvimento inicial de milho com uso de bioestimulante sob diferentes temperaturas. **Sci. Elec. Arch.**, [s.l.], v. 13, p. 20-27, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.36560/1322020818>.

DIETRICH, P.S.; BOUCHARD, R.A.; CASEY, E.S.; SINIBALDI, R.M. Isolamento e caracterização de um pequeno gene de proteína de choque térmico do milho. **Plant Physiology**, [s.l.], v. 96, p. 1268-1276, 1991. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.96.4.1268>.

DIXON, D.P.; EDWARDS, R. Roles for stress-inducible lambda glutathione transferases in flavonoid metabolism in plants as identified by ligand fishing. **J Biol Chem.** [s.l.], v.19, n. 285, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.164806>.

DIXON, D.P.; SELLARS, J.D.; EDWARDS, R. The Arabidopsis phi class glutathione transferase AtGSTF2: binding and regulation by biologically active heterocyclic ligands. **Biochem J.**, [s.l.], v.15, p. 63-70, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1042/BJ20101884>.

DIXON, L.E.; GREENWOOD, J.R.; BENCIVENGA, S.; ZHANG, P.; COCKRAM, J.; MELLERS, G.; RAMM, K.; CAVANAGH, C.; SWAIN, S.M.; BODEN, S.A. Teosinte Branched1 regulates inflorescence architecture and development in bread wheat

(*Triticum aestivum* L.). **Plant Cell.**, [s.l.], v. 30, n. 3, p. 563-581, 2018. DOI: 10.1105/tpc.17.00961.

DOONAN, J.H. Cell division during floral development in *Antirrhinum majus*. In: FRANCIS, D.; DUDITS, D.; INZÉ, D. (ed.). **Plant Cell Division**. Portland Press: London, 1998. p. 207–222.

DU JARDIN, P. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. **Scientia Horticulturae**, [s.l.], v. 196, p. 3-14, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021>.

EBANA, K.; SHIBAYA, T.; WU, J.; MATSUBARA, K.; KANAMORI, H.; YAMANE, H.; YAMANOUCHI, U.; MIZUBAYASHI, T.; KONO, I.; SHOMURA, A.; ITO, S.; ANDO, T.; HORI, K.; MATSUMOTO, T.; YANO, M. Uncovering of major genetic factors generating naturally occurring variation in heading date among Asian rice cultivars, **Theor. Appl. Genet.** [s.l.], v.122, p.1199-1210, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00122-010-1524-1>.

ELVIRA, R.; ALONSO, S.; CASTILHO, J.; GIMENO, B.S. On the response of pigments and antioxidants of *Pinus hapelensis* seedlings to Mediterranean climatic factors and longterm ozone exposure. **New Phytol.**, [s.l.], v.138, p. 419-432, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1998.00136.x>.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solo**. 3. ed., Brasília: Embrapa, 2017. 573 p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. Brasília: EMBRAPA-SPI; 2018. 355 p.

ERIKSSON, M.E.; MORITZ, T. Duração do dia e expressão espacial de uma giberelina 20-oxidase isolada de álamo tremedor híbrido (*Populus tremula* L. × *P. tremuloides* Michx.). **Planta**, [s.l.], v. 214, p. 920-930, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00425-001-0703-3>.

FERNANDES, S. do V. N. **Aplicação foliar de doses de bioestimulante em arroz inundado**. 2020. 24 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2020.

FOYER, C. H.; NEUKERMANS, J.; QUEVAL, G.; NOCTOR, G.; HARBINSON, J. Photosynthetic control of electron transport and the regulation of gene expression. **Journal of Experimental Botany**, [s.l], v. 63, n. 4, p. 1637–1661, 2012.

FOYER, C.H.; NOCTOR, G. Oxidant and antioxidant signaling in plants: a reevaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. **Plant Cell Environ.**, [s.l], v. 28, p. 1056-1071, 2005.

FUKAYAMA, H.; MIZUMOTO, A.; UEGUCHI, C.; KATSUNUMA, J.; MORITA, R.; SASAYAMA, D.; HATANAKA, T.; AZUMA, T. Expression level of rubisco activase negatively correlates with rubisco content in transgenic rice. **Photosynth Res.**, [s.l], v. 137, n.3, p. 465-474, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11120-018-0525-9>.

FUKAYAMA, H.; UCHIDA, N.; AZUMA, T.; YASUDA, T. Relationships between photosynthetic activity and the amounts of Rubisco activase and Rubisco in rice leaves from emergence through senescence. **Japanese J Crop Sci**, [s.l], v.65, n.2, p. 296-302, 1996. DOI: <https://doi.org/10.1626/jcs.65.296>.

FUKAYAMA, H.; UEGUCHI, C.; NISHIKAWA, K.; KATOH, N.; ISHIKAWA, C.; MASUMOTO, C.; HATANAKA, T.; MISOO, S. Overexpression of Rubisco activase decreases the photosynthetic CO₂ assimilation rate by reducing rubisco content in rice leaves. **Plant Cell Physiol.** [s.l], v. 53, p. 976-986, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1093/pcp/pcs042>.

GARCEZ, M.; BORDIN, D.; PERES, W.; SALVADOR, M. Radicais livres e espécies reativas. In: SALVADOR, M.; HENRIQUE, J. A. P. (ed.). **Radicais livres e a resposta celular ao estresse oxidativo**. Ulbra, Canoas, 2004, p. 13-33.

GARG, R.; SHANKAR, R.; THAKKAR, B. *et al.* Transcriptome analyses reveal genotype- and developmental stage-specific molecular responses to drought and salinity stresses in chickpea. **Sci Rep** 6, [s.l], p. 1-15, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep19228>.

GAUDET, P.; ŠKUNCA, N.; HU, J.C.; DESSIMOZ, C. Primer on the Gene Ontology. In: DESSIMOZ, C.; ŠKUNCA, N. (ed). **The Gene Ontology Handbook**. New York: Humana Press, v. 1446, p. 25-37, 2017. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3743-1_3.

GAUDIN, V.; FOBERT, P.; LUNNESS, T.; RIOU-KHAMLI, C.; MURRAY, J.A.H.; COEN, E.; DOONAN, J.H. CycD cyclins are expressed in distinct proliferative zones of Antirrhinum meristems. **Plant Physiol.**, [s.l], in press, 2000.

GHINI, R. Como a mudança climática poderá afetar as doenças das hortaliças? *In: WORKSHOP EFEITOS DAS MUDANÇAS CLIMÁTICAS NA PRODUÇÃO DE HORTALIÇAS*, 2009, Brasília. **Anais...** Brasília: EMBRAPA, 2009.

GHINI, R. **Mudanças climáticas globais e doenças de plantas**. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 2009, 104p.

GLICKMAN, M.H.; CIECHANOVER, A. The ubiquitin-proteasome proteolytic pathway: destruction for the sake of construction. **Physiol Rev.**, [s.l.], v. 82, p. 373-428, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1152/physrev.00027.2001>.

GLOSER V, GLOSER J. Acclimation capability of Calamagrostis epigejos and C. arundinacea to changes in radiation environment. **Photosynthetica**, [s.l.], v. 32, n. 2, p. 203-212, 1996.

GOTHANDAM, K. M.; NALINI, E.; KARTHIKEYAN, S.; SHIN, J. S. OsPRP3, a flower specific proline-rich protein of rice, determines extracellular matrix structure of floral organs and its overexpression confers cold-tolerance. **Plant Mol Biol**, [s.l.], v. 72, p. 125-135, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11103-009-9557-z>.

GULLNER, G.; KOMIVES, T.; KIRÁLY, L.; SCHRÖDER, P. Glutathione S-Transferase Enzymes in Plant-Pathogen Interactions. **Front. Plant Sci.** v. 9, p.1836, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01836>.

GUO, L.M.; LI, J.; HE, J.; LIU, H.; ZHANG, H.M. A class I cytosolic HSP20 of rice enhances heat and salt tolerance in different organisms. **Sci Rep**, [s.l.], v.10, p.1383, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58395-8>.

GURURANI, M.A.; UPADHYAYA, C.P.; STRASSER, R.J.; WOONG, Y.J.; PARK, S.W. Physiological and biochemical responses of transgenic potato plants with altered expression of manganese stabilizing protein PSII. **Plant Physiol. Biochim.** [s.l.], v. 58, p.182-194, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.07.003>.

GURURANI, M.A.; VENKATESH, J.; TRAN, L.S.P. Regulation of photosynthesis during abiotic stress-induced photoinhibition. **Mol Plant.**, [s.l.], 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molp.2015.05.005>.

HAMILTON, E. W.; HECKATHORN, S. A. Mitochondrial adaptations to NaCl. complex I is protected by anti-oxidants and small heat shock proteins, whereas complex

It is protected by proline and betaine. **Plant Physiology**, [s.l.], v.126, p. 1266-1274, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.126.3.1266>.

HARARI-STEINBERG, O.; OHAD, I.; CHAMOVITZ, D.A. Dissection of the light signal transduction pathways regulating the two early light-induced protein genes in Arabidopsis. **Plant Physiol.** [s.l.], v. 127, n.3, p. 986-997, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.010270>.

HASANUZZAMAN, M.; NAHAR, K.; ALAM, M.M.; ROYCHOWDHURY, R.; FUJITA, M. Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of heat stress tolerance in plants. **Int J Mol Sci.**, [s.l.], v. 14, n. 5, p. 9643-9684, 2013. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms14059643>.

HAYAMA, R.; YOKOI, S.; TAMAKI, S.; YANO, M.; SHIMAMOTO, K. Adaptation of photoperiodic control pathways produces short-day flowering in rice. **Nature**. [s.l.], v.17, n.422, p.719-22, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature01549>.

HE, R.; LI, X.; ZHONG, M.; YAN, J.; JI, R.; LI, X.; WANG, Q.; WU, D.; SUN, M.; TANG, D.; LIN, J.; LI, H.; LIU, B.; LIU, H.; LIU, X.; ZHAO, X.; LIN, C. A photo-responsive F-box protein FOF2 regulates floral initiation by promoting FLC expression in Arabidopsis. **Plant J.**, [s.l.], v. 91, n. 5, p.788-801, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1111/tpj.13607>.

HENNESSY, F.; NICOLL, W.S.; ZIMMERMANN, R.; CHEETHAM, M.E.; BLATCH, G.L. Not all J domains are created equal: implications for the specificity of Hsp40–Hsp70 interactions. **Protein Science**, [s.l.], v. 14, p. 1697-1709, 2005.

HERBSTOVA, M.; TIETZ, S.; KINZEL, C.; TURKINA, M.V.; KIRCHHOFF, H. Architectural change in photosynthetic membranes of plants induced by mild stress. **Proc. National Acad. Science**, [s.l.], v. 109, p. 20130-20135, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1214265109>.

HILTON, G.R.; LIOE, H.H.; STENGEL, F.; BALDWIN, A.J.; BENESCH, J.L.P. Small thermal shock proteins: cell paramedics. **Topics in Current Chemistry**, [s.l.], v. 328, p. 69–98, 2012. DOI: https://doi.org/10.1007/128_2012_324.

HOPKINS, W.G.; HÜNER, N.P.A. **Introduction to Plant Physiology**. Hoboken: John Wiley and Sons, Inc., 2009. 528 p.

HU, J.Y.; ZHOU, Y.; HE, F.; DONG, X.; LIU, L.Y.; COUPLAND, G.; TURCK, F.; DE MEAUX, J. miR824-Regulated AGAMOUS-LIKE16 Contributes to Flowering Time Repression in Arabidopsis. **Plant Cell**, [s.l], v. 26, n. 5, p. 2024-2037, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1105/tpc.114.124685>.

HU, W.H.; HU, G.H.; HAN, B. The research of the entire genome and the expression profile of thermal shock proteins and thermal shock factors revealed specific overlapping and stress response under abiotic stresses in rice. **Plant Science**, [s.l], v. 176, p. 583-590, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2009.01.016>.

HUANG, L. J. *et al.* CaHSP16.4, a small heat shock protein gene in pepper, is involved in heat and drought tolerance. **Protoplasma**, [s.l], v. 256, p. 39-45, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00709-018-1280-7>.

HUBBARD, L.; MCSTEEN, P.; DOEBLEY, J.; HAKE, S. Expression patterns and mutant phenotype of teosinte branched1 correlate with growth suppression in maize and teosinte. **Genetics**, [s.l], v. 162, n. 4, p. 1927-1935, 2002. DOI: [10.1093/genetics/162.4.1927](https://doi.org/10.1093/genetics/162.4.1927).

HÜTHER, C. M. **Stress by the application of UV-C and water déficit in genotypes of Micro-Tom tomato plants**. 2014. 216 f. Tese (Doutorado em Biologia) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2014.

HUTIN, C.; NUSSAUME, L.; MOISE, N.; MOYA, I.; KLOPPSTECH, K.; HAVAUX, M. Early light-induced proteins protect Arabidopsis from photooxidative stress. **Proc Natl Acad Sci USA**, [s.l], v. 100, n. 8, p. 4921-4926, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0736939100>.

IBA, K. Acclimative response to temperature stress in higher plants: approaches of gene engineering for temperature tolerance. **Annu Rev Plant Biol**, [s.l], v. 53, p. 225-245, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.53.100201.160729>.

ISHIDA, S.; TAKABAYASHI, A.; ISHIKAWA, N.; HANO, Y.; ENDO, T.; SATO, F. A novel nuclear-encoded protein, NDH-dependent cyclic electron flow 5, is essential for the accumulation of chloroplast NAD(P)H dehydrogenase complexes. **Plant Cell Physiol**, [s.l], v. 50, n. 2, p. 383-93, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1093/pcp/pcn205>.

ISLAM, M. A.; DU, H.; NING, J.; YE, H. Y.; XIONG, L. Z. Characterization of Glossy1 homologous genes in rice involved in leaf wax accumulation and drought resistance. **Plant Mol Biol**, [s.l], v. 70, p. 443-456, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11103-009-9483-0>.

IZAWA, T. Daylength measurements by rice plants in photoperiodic short-day flowering. **Int. Rev. Cytol.**, [s.l], v. 256, p. 191–222, 2007. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0074-7696\(07\)56006-7](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(07)56006-7).

JAGADISH, S.V.K.; CRAUFURD, P.Q.; WHEELER, T.R. High temperature stress and spikelet fertility in rice (*Oryza sativa* L.). **J. Exp. Bot.**, [s.l], v. 58, p. 1627-1635, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1093/jxb/erm003>.

JAIN, M.; KHURANA, J. P. Transcript profiling reveals diverse roles of auxinresponsive genes during reproductive development and abiotic stress in rice. **FEBS J**, [s.l], v. 276, p. 3148–3162, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2009.07033.x>.

JI, X.R.; YU, Y.H.; NI, P.Y. Genome-wide identification of small heat-shock protein (HSP20) gene family in grape and expression profile during berry development. **BMC Plant Biol**, [s.l], v.19, p. 433, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12870-019-2031-4>.

JIANG, C.; XU, J.; ZHANG, H.; ZHANG, X.; MING, F. A cytosolic class I small heat shock protein, rcHSP17.8, of *rosa chinensis* confers resistance to a variety of stresses to *escherichia coli*, yeast and *arabidopsis thaliana*. **Plant Cell and Environment**, [s.l], v. 32, p.1046-1059, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2009.01987.x>.

JIANG, H.; DIAN, W.; LIU, F.; WU, P. Molecular cloning and expression analysis of three genes encoding starch synthase II in rice. **Planta**, [s.l], v. 6, p. 62-70, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00425-003-1189-y>.

JIANG, H.W.; LIU, M.J.; CHEN, I.C.; HUANG, C.H.; CHAO, L.Y.; HSIEH, H.L. Glutathione S-Transferase regulated by light and hormones participates in the modulation of *Arabidopsis* seedling development. **Plant Physiology**, [s.l], v. 154, p.1646-1658, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.110.159152>.

JUNG, C.; MULLER, A.E. Flowering time control and applications in plant breeding, **Trends Plant Sci.**, [s.l], v.14, p. 563-573, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.07.005>.

JURCZYK, B.; GRZESIAK, M.; POCIECHA, E.; WLAZŁO, M.; RAPACZ, M. Diverse Stomatal Behaviors Mediating Photosynthetic Acclimation to Low Temperatures in *Hordeum vulgare*. **Front. Plant Sci.**, [s.l], 2019. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01963>.

KABEYA, Y.; NAKANISHI, H.; SUZUKI, K.; ICHIKAWA, T.; KONDOU, Y.; MATSUI, M.; MIYAGISHIMA, S.Y. The YlmG protein has a conserved function related to the distribution of nucleoids in chloroplasts and cyanobacteria. **BMC Plant Biol.**, [s.l], v. 2, n.10, p.57, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2229-10-57>.

KADEREIT, J.W.; KÖRNER, C.; KOST, B.; SONNEWALD, U. **Strasburger: Lehrbuch der Pflanzenwissenschaften**. Germany: Springer, 2014. 919 p. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-642-54435-4>.

KARGIOTIDOU, A.; DELI, D.; GALANOPOLOU, D.; TSAFTARIS, A.; FARMAKI, T. Low temperature and light regulate delta 12 fatty acid desaturases (FAD2) at a transcriptional level in cotton (*Gossypium hirsutum*). **J Exp Bot**, [s.l], v. 59, p. 2043-2056, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1093/jxb/ern065>.

KEBROM, T.H.; BURSON, B.L.; FINLAYSON, S.A. Phytochrome B represses Teosinte Branched1 expression and induces sorghum axillary bud outgrowth in response to light signals. **Plant Physiol.**, [s.l], v. 140, n. 3, p. 1109–1117, 2006. DOI: [10.1104/pp.105.074856](https://doi.org/10.1104/pp.105.074856).

KIM, S.R.; NA, G. Rice chloroplast-localized heat shock protein 70, OsHsp70CP1, is essential for chloroplast development under high-temperature conditions. **J. Plant Physiol.**, [s.l], v. 170, p. 854-863, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2013.01.006>.

KITAO, M.; KITAOKA, S.; HARAYAMA, H.; TOBITA, H.; AGATHOKLEOUS, E.; UTSUGI, H. Canopy nitrogen distribution is optimized to prevent photoinhibition throughout the canopy during sun flecks. **Sci. Rep.**, [s.l], v.8, p.50, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18766-0>.

KOBAYASHI, Y.; WEIGEL, D. Move on up, it's time for change: Mobile signals controlling photoperiod-dependent flowering. **Genes Dev.**, [s.l], v. 21, p. 2371-2384, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1101/gad.1589007>.

KODAIRA, K.S.; QIN, F.; TRAN, L.S.P.; MARUYAMA, K.; KIDOKORO, S.; FUJITA, Y.; SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Arabidopsis Cys2/His2 Zinc-Finger Proteins AZF1 and AZF2 Negatively Regulate Abscisis Acid-Repressive and Auxin-Inducible Genes under Abiotic Stress Conditions. **Plant Physiology**, [s.l], v. 157, n. 2, p. 742–756, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.111.182683>.

KORNDÖRFER, G.H.; PEREIRA, H.S.; NOLA, A. **Análise de silício:** solo, planta e fertilizante. 2.ed. Uberlândia: UFU, 2004. 34p. (Boletim técnico, 2).

KOYAMA, T.; FURUTANI, M.; TASAKA, M.; OHME-TAKAGI, M. TCP transcription factors control the morphology of shoot lateral organs via negative regulation of the expression of boundary-specific genes in Arabidopsis. **Plant Cell**, [s.l.], v. 19, n. 2, p. 473-484, 2007. DOI: 10.1105/tpc.106.044792.

KUTTER, C.; SCHÖB, H.; STADLER, M.; MEINS, F.; SI-AMMOUR, A. MicroRNA-mediated regulation of stomatal development in Arabidopsis. **Plant Cell**, [s.l.], v. 8, p. 2417-29, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1105/tpc.107.050377>.

LA, H.; LI, J.; JI, Z.; CHENG, Y.; LI, X.; JIANG, S.; VENKATESH, P. N.; RAMACHANDRAN, S. Genome-wide analysis of cyclin family in rice (*Oryza sativa* L.). **Mol Genet Genomics**, [s.l.], v. 275, p. 374-386, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00438-005-0093-5>.

LAMERS, J.; DER MEER, T.; VAN TESTERINK, C. How plants sense and respond to stressful environments. **Plant Physiology**, [s.l.], v. 182, p. 1624-1635, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.19.01464>.

LEE, B. H. *et al.* Expression of the chloroplast-localized small heat shock protein by oxidative stress in rice. **Gene**, [s.l.], v. 245, p. 283-290, 2000. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-1119\(00\)00043-3](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(00)00043-3).

LEE, S. H. *et al.* Identification and functional characterization of siberian wild rye (*Elymus sibiricus* L.) small heat shock protein 16.9 gene (EsHSP16.9) conferring diverse stress tolerance in prokaryotic cells. **Biotechnology Letters**, [s.l.], v.37, p. 881-890, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10529-014-1749-1>.

LEWIS, J.M.; MACKINTOSH, C.A.; SHIN, S.; GILDING, E.; KRAVCHENKO, S.; BALDRIDGE, G.; ZEYEN, R.; MUEHLBAUER, G.J. Overexpression of the maize Teosinte Branched1 gene in wheat suppresses tiller development. **Plant Cell Rep.**, [s.l.], v. 27, n. 7, p. 1217-1225, 2008. DOI: 10.1007/s00299-008-0543-8.

LI, J. B. *et al.* The populus trichocarpa PtHSP17.8 involved in heat and salt stress tolerances. **Plant Cell Reports**, [s.l.], v.35, p. 1587-1599, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00299-016-1973-3>.

LI, X.M.; CHAO, D.Y.; WU, Y.; HUANG, X.; CHEN, K.E.; CUI, L.G.; SU, L.; YE, W.W.; CHEN, H.; CHEN, H.C.; DONG, N.Q.; GUO, T.; SHI, M.; FENG, Q.I.; ZHANG, P.; HAN, B.; SHAN, J.X.; GAO, J.P.; LIN, H.X. Natural alleles of a proteasome $\alpha 2$ subunit gene contribute to thermotolerance and adaptation of African rice. **Nat. Genet.**, [s.l], v. 47, p. 827-833, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1038/ng.3305>.

LIMA, A.L.S.; DAMATTA, F.M.; PINHEIRO, H.A.; TOTOLA, M.R.; LOUREIRO, M.E. Photochemical responses and oxidative stress in two clones of *Coffea canephora* under water deficit conditions. **Environ. Exp. Bot.**, [s.l], v. 47, p. 239-247, 2002. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0098-8472\(01\)00130-7](https://doi.org/10.1016/S0098-8472(01)00130-7).

LIU, C.; THONG, Z.; YU H. Coming into bloom: The specification of floral meristems. **Development**, [s.l], v. 136, p. 3379-3391, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1242/dev.033076>.

LIU, C.; WU, Y.; WANG, X. bZIP transcription factor OsbZIP52/RISBZ5: a potential negative regulator of cold and drought stress response in rice. **Planta**, [s.l], v. 235, n.6, p.1157-1169. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00425-011-1564-z>.

LIU, J.; FENG, L.; GU, X.; DENG, X.; QIU, Q.; LI, Q.; ZHANG, Y.; WANG, M.; DENG, Y.; WANG, E.; HE, Y.; BÄURLE, I.; LI, J.; CAO, X.; HE, Z. An H3K27me3 demethylase-HSFA2 regulatory loop orchestrates transgenerational thermomemory in *Arabidopsis*. **Cell Res.**, [s.l], v. 29, n.5, p. 379-390, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41422-019-0145-8>.

LIU, J.X.; HOWELL, S.H. Managing the protein folding demands in the endoplasmic reticulum of plants. **New Phytol.**, [s.l], v. 211, n. 2, p. 418-428, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1111/nph.13915>.

LIU, Z.; BOACHON, B.; LUGAN, R.; TAVARES, R.; ERHARDT, M.; MUTTERER, J.; DEMAIS, V.; PATEYRON, S.; BRUNAUD, V.; OHNISHI, T.; PENCIK, A.; ACHARD, P.; GONG, F.; HEDDEN, P.; WERCK-REICHHART, D.; RENAULT, H. A Conserved Cytochrome P450 Evolved in Seed Plants Regulates Flower Maturation. **Molecular Plant**, [s.l], v. 8, p.1751-1765, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molp.2015.09.002>.

LONG, E. **The importance of biostimulants in turfgrass management**. 2006. Disponível em: <http://www.golfenviro.com/alticle%archive/biostimulants-roots.html>. Acesso em 10 jul. 2022.

LOPEZ-MATAS, M. A. *et al.* Protein cryoprotective activity of a cytosolic small heat shock protein that accumulates constitutively in chestnut stems and is up-regulated by low and high temperatures. **Plant Physiology**, [s.l.], v.134, p. 1708-1717, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.103.035857>.

LOURENÇO, T.; SAPETA, H.; FIGUEIREDO, D. D.; RODRIGUES, M. Isolation and characterization of rice (*Oryza sativa* L.) E3-ubiquitin ligase OsHOS1 gene in the modulation of cold stress response. **Plant Mol Biol**, [s.l.], v. 83, p. 351–363, 2013.

LOWE, R.; SHIRLEY, N.; BLEACKLEY, M.; DOLAN, S.; SHAFEE, T. Transcriptomics technologies. **PLoS Computational Biology**, [s.l.], v.13, p.1-23, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1005457>.

LU, G.; WU, F. Q.; WU, W.; WANG, H. J.; ZHENG, X. M.; CHEN, X. *et al.* Rice LTG1 is involved in adaptive growth and fitness under low ambient temperature. **Plant J**, [s.l.], v. 78, n. 3, p. 468-480, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1111/tpj.12487>.

LUI, J.; SHONO, M. Characterization of the small thermal shock protein located in tomato mitochondria (*Lycopersicon esculentum*). **Plant and Cell Physiology**, [s.l.], v. 40, p.1297-1304, 1999. DOI: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a029518>.

MA, Q.; DAI, X.; XU, Y.; GUO, J.; LIU, Y.; CHEN, N. *et al.* Enhanced tolerance to chilling stress in OsMYB3R-2 transgenic rice is mediated by alteration in cell cycle and ectopic expression of stress genes. **Plant Physiol**, [s.l.], v. 150, p. 244-256, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.108.133454>.

MA, Y. Z.; MILLER, R. A.; FLEMING, G. R.; FRANCIS, M. B. Energy Transfer Dynamics in Light-Harvesting Assemblies Templated by the Tobacco Mosaic Virus Coat Protein. **J. Phys. Chem. B**, [s.l.], v. 112, p. 6887-6892, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1021/jp8006393>.

MAAVIMANI, M.; SARASWATHI, R. Anther characteristics and spikelet fertility in rice (*Oryza sativa* L.) under high temperature stress at anthesis. **Indian J. Genet Plant Breed.**, [s.l.], v. 74, p. 300-308, 2014. DOI: <https://doi.org/10.5958/0975-6906.2014.00847.5>.

MAHAJAN, S.; TUTEJA, N. Cold, salinity and drought stresses: an overview. **Arch Biochem Biophys**, [s.l.], v. 444, p. 139-158, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.abb.2005.10.018>.

MAKINO, A.; MAE, T.; OHIRA, K. Differences between wheat and rice in the enzymatic properties of ribulose-1,5-biphosphate carboxylase/oxygenase and the relationship with photosynthetic gas exchange. **Planta**, [s.l.], v. 174, p. 30–38, 1988. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00394870>.

MALIK, M. K.; SLOVIN, J. P.; HWANG, C. H.; ZIMMERMAN, J. L. Modified expression of a carrot small heat shock protein gene, HSP17.7, results in increased or decreased thermotolerance. **The Plant Journal**, [s.l.], v. 20, p. 89–99, 1999. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.1999.00581.x>.

MANZANO, D.; ANDRADE, P.; CAUDEPÓN, D.; ALTABELLA, T.; MONTSERRAT, A. Suppressing Farnesyl Diphosphate Synthase Alters Chloroplast Development and Triggers Sterol-Dependent Induction of Jasmonate- and Fe-Related Responses. **Plant Physiology**, [s.l.], v. 172, p. 93–117, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.16.00431>.

MARINO, D.; PEETERS, N.; RIVAS, S. Ubiquitination during plant immune signaling. **Plant Physiol.**, [s.l.], v. 160, p. 15–27, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.112.199281>.

MARTINS, G. A.; FERREIRA, A. P. G.; SILVA, R. V. Bioestimulantes: menos estresses e mais produtividade. **Campo & Negócios**. 2022. Disponível em: <<https://revistacampoenegocios.com.br/bioestimulantes-menos-estresses-e-mais-produtividade/#:~:text=O%20principal%20objetivo%20do%20uso,absor%C3%A7%C3%A3o%20de%20%C3%A1gua%20e%20nutrientes>>. Acesso em: 03 out. 2022.

MATSUSHIKA, A.; MAKINO, S.; KOJIMA, M.; MIZUNO, T. Circadian waves of expression of the APRR1/TOC1 family of pseudo-response regulators in *Arabidopsis thaliana*: insight into the plant circadian clock. **Plant Cell Physiol.**, [s.l.], v. 41, n. 9, p. 1002–1012, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1093/pcp/pcd043>.

MEIJER, M.; MURRAY, J.A. The role and regulation of D-type cyclins in the plant cell cycle. **Plant Mol Biol**, [s.l.], v. 43, p. 621–633, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1006482115915>.

MENG, L.; FAN, Z.; ZHANG, Q. *et al.* BEL1-LIKE HOMEODOMAIN 11 regulates chloroplast development and chlorophyll synthesis in tomato fruit. **The Plant Journal**, [s.l.], v. 94, p. 1126–1140, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1111/tpj.13924>.

MINAKUCHI, K.; KAMEOKA, H.; YASUNO, N.; UMEHARA, M.; LUO, L.; KOBAYASHI, K.; HANADA, A.; UENO, K.; ASAMI, T.; YAMAGUCHI, S.;

KYOZUKA, J. Fine Culm1 (FC1) works downstream of strigolactones to inhibit the outgrowth of axillary buds in rice. **Plant Cell Physiol.**, [s.l.], v. 51, n. 7, p. 1127-1135, 2010. DOI: 10.1093/pcp/pcq083.

MINDREBO, J. T.; NARTEY, C. M.; SETO, Y.; BURKART, M. D.; NOEL, J. P. Unveiling the functional diversity of the alpha/beta hydrolase superfamily in the plant kingdom, **Current Opinion in Structural Biology**, [s.l.], v. 41, p. 233-246, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2016.08.005>.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends Plant Sci**, [s.l.], v. n. 9, p. 405-410, 2002.

MÓGOR, A. F. Uma Força ao Desenvolvimento da planta. **Revista a Granja**, Porto Alegre, v. 5, ed. 749, 2011. Disponível em: <http://www.edcentaurus.com.br/materias/granja.php?id=3641>. Acesso em: 23 set. 2022.

MORAES, J.G.V. **Biofertilizantes**: Identificação das barreiras regulatórias e propostas para viabilizar esse insumo agrícola. 2015. 91 f. Dissertação (Mestrado em Agronegócio) – Escola de Economia de São Paulo, São Paulo, 2015.

MORAIS, E. R. de C. **Floração em cana-de-açúcar**: desvendando o papel da HINT1 e SUBTILASE. 2021. 125 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2021.

MORAIS, T. B. **Respostas morfo-fisiológicas da soja submetida à estresse hídrico e aplicação de bioestimulante**. 2020. 71 f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2020.

NAKATSUKASA, K.; HUYER, G.; MICHAELIS, S.; BRODSKY, J.L. Dissecting the ER-associated degradation of a misfolded polytopic membrane protein. **Cell**, [s.l.], v. 132, p. 101-112, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.11.023>.

NATH, K.; JAJOO, A.; POUDYAL, R.S.; TIMILSINA, R.; PARK, Y.S.; ARO, E.M.; NAM, H.G.; LEE, C.H. Towards a critical understanding of the repair mechanism of photosystem II and its regulation during stress conditions. **FEBS Letter**. [s.l.], v. 587, p. 3372–3381, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2013.09.015>.

NETA-SHARIR, I.; ISAACSON, T.; LURIE, S.; WEISS, D. Dual role for tomato heat shock protein 21: protecting photosystem II from oxidative stress and promoting color

changes during fruit maturation. **The Plant Cell**, [s.l.], v.17, p.1829–1838, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1105/tpc.105.031914>.

NIELD, J., BARBER, J. Refinement of the structural model for the Photosystem II supercomplex of higher plants. **Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics**, [s.l.], v. 1757, p. 353-361, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbabbio.2006.03.019>.

OHAMA, N.; KUSAKABE, K.; MIZOI, J.; ZHAO, H.; KIDOKORO, S.; KOIZUMI, S.; TAKAHASHI, F.; ISHIDA, T.; YANAGISAWA, S.; SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. The transcriptional cascade in the heat stress response of Arabidopsis is strictly regulated at the level of transcription factor expression. **Plant Cell**, [s.l.], v. 28, p. 181-201, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1105/tpc.15.00435>.

OLIVEIRA, T. N.de. **Superexpressão do gene desidrina de Arachis duranensis em plantas transgênicas de Arabidopsis thaliana**. 2016. 54 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade de Brasília, Brasília, 2016.

OLIVEIRA, V.C. **A ação de proteínas virais supressoras de silenciamento gênico na patogenicidade de um Baculovírus**. 2010. 267 f. Tese (Doutorado em Biologia Molecular) - Universidade de Brasília, Brasília, 2010.

ORT, D.R.; BAKER, N.R. A photoprotective role for O₂ as an alternative electron sink in photosynthesis? **Curr. Opin. Plant Biol.**, [s.l.], v. 5, p. 193-198, 2002. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(02\)00259-5](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(02)00259-5).

ORTIZ-MOREA, F. A. **Análise da via de regulação gênica do miRNA 156/SPL na brotação lateral e caracterização molecular do processo de emergência da gema axilar de cana de açúcar**. 2010. 170 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2010.

OTTANDER, C.; CAMPBELL, D.; ÖQUIST, G. Seasonal changes in photosystem II organization and pigment composition in Pinus sylvestris. **Planta**, [s.l.], v.197, p. 176-183, 1995. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00239954>.

PAGLIANO, C.; SARACCO, G.; BARBER, J. Structural, functional and auxiliary proteins of photosystem II. **Photosynthesis Research**, [s.l.], v. 116, p. 167–188, 2013. DOI: 10.1007/s11120-013-9803-8.

PAIVA, A. L. S. **Caracterização funcional do gene OsGPX3 que codifica uma glutatona peroxidase mitocondrial em arroz**. 2018. 123 f. Tese (Doutorado em

Genética e Biologia Molecular) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2018.

PANDIAN, B.A.; SATHISHRAJ, R.; DJANAGUIRAMAN, M.; PRASAD, P.V.V.; JUGULAM, M. Role of Cytochrome P450 Enzymes in Plant Stress Response. **Antioxidants (Basel)**, v. 5, p. 454, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox9050454>.

PENG, S.; HUANG, J.; J.E. SHEEHY, R.C. LAZA, R.M. VISPERAS, X. ZHONG, G.S. CENTENO, G.S. KHUSH, K.G. Cassman. Rice yields decline with higher night temperature from global warming. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, [s.l.], v. 101, p. 9971-9975, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0403720101>.

PENG, Y.; CHEN, L.; LU, Y.; WU, Y.; DUMENIL, J.; ZHU, Z.; BEVAN, M.W.; LI, Y. The ubiquitin receptors DA1, DAR1, and DAR2 redundantly regulate endoreduplication by modulating the stability of TCP14/15 in Arabidopsis. **Plant Cell**, [s.l.], v. 27, n. 3, p. 649-662, 2015. DOI: 10.1105/tpc.114.132274

PINES, J. Cyclins and cyclin-dependent kinases: a biochemical view. **Biochem. J.** [s.l.], v. 308, p. 697–711, 1995. DOI: <https://doi.org/10.1042/bj3080697>.

PINHEIRO, H.A.; DAMATTA, F.M.; CHAVES, A.R.M.; FONTES, E.P.B.; LOUREIRO, M.E. Drought tolerance in relation to protection against oxidative stress in clones of Coffea canephora subjected to long-term drought. **Plant Sci.**, [s.l.], v. 167, p. 1307-1314, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2004.06.027>.

POLLASTRINI, M.; BRÜGGEMAN, W.; FOTELLI, M.; BUSSOTTI, F. Downregulation of PSI regulates photosynthesis in early successional tree species. Evidence from a field survey across European forests, **Journal of Photochemistry and Photobiology**, [s.l.], v. 12, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpap.2022.100145>.

POLLASTRINI, M.; GARCIA, A.; NOGALES, R.; BENAVIDES, D.; BONAL, L.; FINER, M.; FOTELLI, M. Tree diversity affects chlorophyll a fluorescence and other leaf traits of tree species in a boreal forest, **Tree Physiol**, [s.l.], v. 37, p. 199–208, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1093/treephys/tpw132>.

POSPISIL, P. Production of reactive oxygen species by photosystem II as a response to light and temperature stress, **Front. Plant. Sci.**, [s.l.], v.7, p. 195, 2016. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01950>.

RAMALHO, J.C.; PONS, T.L.; GROENVELD, H.W.; AZINHEIRA, H.G.; NUNES, M.A. Photosynthetic acclimation to high light conditions in mature leaves of *Coffea arabica* L.: role of xanthophylls, quenching mechanisms and nitrogen nutrition. **Aust. J. Plant Physiol.**, [s.l.], v. 27, p. 43-51, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1071/PP99013>.

RAMSAY, L.; COMADRAN, J.; DRUKA, A.; MARSHALL, D.F.; THOMAS, W.T.B.; MACAULAY, M.; MACKENZIE, K.; SIMPSON, C.; FULLER, J.; BONAR, N.; HAYES, P.M.; LUNDQVIST, U.; FRANCKOWIAK, J.D.; CLOSE, T.J.; MUEHLBAUER, G.J.; WAUGH, R. Intermedium-C, a modifier of lateral spikelet fertility in barley, is an ortholog of the maize domestication gene Teosinte Branched 1. **Nat Genet.**, [s.l.], v. 43, n. 2, p. 169-172, 2011. DOI: [10.1038/ng.745](https://doi.org/10.1038/ng.745).

REN, G.; ZHOU, Q.; WU, S.; ZHANG, Y.; ZHANG, L.; HUANG, J.; SUN, Z.; KUAI, B. Reverse genetic identification of CRN1 and its distinctive role in chlorophyll degradation in Arabidopsis. **J Integr Plant Biol.**, [s.l.], v. 52, n.5, p. 96-504, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2010.00945.x>.

RIAZ, A.; ALQUDAH, A. M.; KANWAL, F.; PILLEN, K.; YE, L-Z.; DAI, F.; ZHANG, G-P. Advances in studies on the physiological and molecular regulation of barley tillering. **Journal of Integrative Agriculture**, [s.l.], v. 22, n. 1, p. 1-13, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jia.2022.08.011>.

ROACH, T.; KRIEGER-LISZKA, Y. A. Regulation of photosynthetic electron transport and photoinhibition. **Curr Protein Pept Sci.**, [s.l.], v. 15, p. 351–362, 2014. DOI: <https://doi.org/10.2174/1389203715666140327105143>.

ROCHAIX, J.D. Regulação e dinâmica do sistema de captação de luz. **Annu. Rev. Plant Biol.**, [s.l.], v.65, p. 287-309, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050213-04022>.

RODRIGUES, C. Y. A. C. **Ação do bioestimulante (FH Attivus) na mitigação do estresse hídrico em diferentes estádios da soja**. 2020. Monografia (Graduação em Agronomia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2020.

ROSOLEM, C. A. *et al.* **O algodoeiro e os estresses abióticos**: temperatura, luz, água e nutrientes. Cuiabá: Instituto Mato-Grossense do Algodão, 2014. 123 p.

RÖTH, S.; PAUL, P.; FRAGKOSTEFANAKIS, S. Plant heat stress response and thermotolerance. **Genet Manip Plants Mitig Clim Chang**. [s.l.], p. 15-41, 2016. DOI: https://doi.org/10.1007/978-81-322-2662-8_2.

RUAN, Y.L.; JIN, Y.; YANG, Y.J.; LI, G.J.; BOYER, J.S. Sugar input, metabolism, and signaling mediated by invertase: Roles in development, yield potential, and response to drought and heat. **Mol Plant.**, [s.l.], v. 3, p. 942-955, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1093/mp/ssq044>.

RUSSO, R.O.; BERLYN, G.P. The use of organic biostimulants to help low input sustainable agriculture. **Agronomy for Sustainable Development**, Versailles, v.1, n.2, p.19-42, 1992. DOI: https://doi.org/10.1300/J064v01n02_04.

SAGAR, M.; CHERVIN, C.; MILA, I. *et al.* SlARF4, an auxin response factor involved in the control of sugar metabolism during tomato fruit development. **Plant Physiology**, [s.l.], v.161, p.1362-1374, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.113.213843>.

SAIRAM, R.K.; SAXENA, DC. Oxidative stress and antioxidants in wheat genotypes: Possible mechanism of water stress tolerance. **J. Agronomy & Crop Science**, [s.l.], v. 184, p. 55-61, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1439-037x.2000.00358.x>.

SAKAMOTO, T; MATSUOKA, M. Generating high-yielding varieties by genetic manipulation of plant architecture. **Curr Opin Biotechnol**, [s.l.], v. 15, p. 144–147, 2004. DOI: 10.1016/j.copbio.2004.02.003.

SAKAMOTO, T; MATSUOKA, M. Identifying and exploiting grain yield genes in rice. **Curr Opin Plant Biol**, [s.l.], v. 11, p. 209–221, 2008. DOI: 10.1016/j.pbi.2008.01.009.

SALISBURY, F.B.; ROSS, C.W. **Plant Physiology**. California: Wadsworth Publishing Company, 1992. 422 p.

SANTOS, M. C. **Expressão de genes relacionados à tolerância ao estresse hídrico em sementes e em tecidos de plântulas de milho**. 2016. 79 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.

SASAKI-SEKIMOTO, Y.; TAKI, N.; OBAYASHI, T.; AONO, M.; MATSUMOTO, F.; SAKURAI, N.; SUZUKI, H.; HIRAI, M.Y.; NOJI, M.; SAITO, K. Coordinated activation of metabolic pathways for antioxidants and defence compounds by jasmonates and their roles in stress tolerance in Arabidopsis. **Plant J.**, [s.l.], v. 44, p. 653-668, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2005.02560.x>.

SASI, S.; VENKATESH, J.; DANESHI, R.F.; GURURANI, M.A. Photosystem II Extrinsic Proteins and Their Putative Role in Abiotic Stress Tolerance in Higher Plants.

Plants (Basel), [s.l], v.14, n.7, p.100, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants7040100>.

SATO, Y.; YOKOYA, S. Enhanced tolerance to drought stress in transgenic rice plants overexpressing a small heat-shock protein, sHSP17.7. **Plant Cell Reports**, [s.l], v. 27, p. 329 -334, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00299-007-0470-0>.

SCAFARO, A.P.; GALLE, A.; VAN RIE, J.; CARMO-SILVA, E.; SALVUCCI, M.E.; ATWELL, B.J. Heat tolerance in a wild *Oryza* species is attributed to maintenance of Rubisco activation by a thermally stable Rubisco activase ortholog. **New Phytol**, [s.l], v. 211, n. 3, p.899-911, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1111/nph.13963>.

SCHAPIRE, A.L.; VALPUESTA, V.; BOTELLA, M.A. TPR Proteins in Plant Hormone Signaling. **Plant Signal Behav.**, [s.l], v. 6, p. 229-230, 2006. DOI: <https://doi.org/10.4161/psb.1.5.3491>.

SCHEIDIG, A.; FRÖHLICH, A.; SCHULZE, S.; LLOYD, J.R.; KOSSMANN, J. Down-regulation of a chloroplast-targeted β -amylase leads to a starch-excess phenotype in leaves. **Plant J.** [s.l], v.30, p 581-591, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2002.01317.x>.

SCHELBERT, S.; AUBRY, S.; BURLA, B.; AGNE, B.; KESSLER, F.; KRUPINSKA, K.; HÖRTENSTEINER, S. Pheophytin pheophorbide hydrolase (pheophytinase) is involved in chlorophyll breakdown during leaf senescence in *Arabidopsis*. **Plant Cell**, [s.l], v.21, n.3, p.767-85, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1105/tpc.108.064089>.

SHAN, X.; WANG, J.; CHUA, L.; JIANG, D.; PENG, W.; XIE, D. The role of *Arabidopsis* Rubisco activase in jasmonate-induced leaf senescence. **Plant Physiol**, [s.l], v. 155, n. 2, p. 751-764, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.110.166595>.

SHARMA, A.; KUMAR, V.; SHAHZAD, B.; RAMAKRISHNAN, M.; SINGH, S.G.P.; BALI, A.S.; HANDA, N.; KAPOOR, D.; YADAV, P.; KHANNA, K. Photosynthetic Response of Plants Under Different Abiotic Stresses: A Review. **J Plant Growth Regul.**, [s.l], v. 39, p. 509-531, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00344-01910018-x>.

SHARWOOD, R.E. Engineering cloroplastos para melhorar a catálise de Rubisco: perspectivas de traduzir melhorias em alimentos e culturas de fibras. **Novo Fitol.**, [s.l], v. 213, p. 494-510, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1111/nph.14351>.

SHIN, S.Y.; KIM, I.S.; KIM, Y.H.; PARK, H.M.; LEE, J.Y.; KANG, H.G.; YOON, H.S. Scavenging reactive oxygen species by rice dehydroascorbate reductase alleviates oxidative stresses in *Escherichia coli*. **Mol Cells.**, [s.l], v. 26, n. 6, p. 616-620, 2008.

SILVA, B. A. S.; CASTRO, C. A.; SILVA, J. S.; COSTA, R. S.; MESQUITA, R. O. **Bioestimulante como atenuador do estresse salino em soja**. Encontros Universitários da UFC: Fortaleza, v. 6, n. 2, 2021.

SILVA, L. C. F.; MANIERO, M. A.; CASAGRANDE, J. C.; STOLF, R.; PIEDADE, S. M. S. Agricultura bioestimulada. **Cultivar Grandes Culturas**, Pelotas, v. 14, p. 34-35, 2012.

SILVA, T. T. A. *et al.* Qualidade fisiológica de sementes de milho na presença de bioestimulantes. **Ciência Agrotecnologia**, [s.l], v. 32, n. 3, p. 840-846, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542008000300021>.

SINGH, J. **Tolerance to Biotic and Abiotic Stress Thakur JK in Plants**. Cingapura: Springer. 2018. 46 p. DOI: https://doi.org/10.1007/978-981-10-9029-5_2.

SMITH, H.M.; CAMPBELL, B.C.; HAKE, S. Competence to respond to floral inductive signals requires the homeobox genes PENNYWISE and POUND-FOOLISH. **Curr Biol.**, [s.l], v.4, p. 812-7, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2004.04.032>.

SMITH, S.J.; KROON, J.T.; SIMON, W.J.; SLABAS, A.R.; CHIVASA, S. A Novel Function for Arabidopsis CYCLASE1 in Programmed Cell Death Revealed by Isobaric Tags for Relative and Absolute Quantitation (iTRAQ) Analysis of Extracellular Matrix Proteins. **Mol Cell Proteomics**, [s.l], v. 6, p. 1556-1568, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1074/mcp.M114.045054>.

SOMERVILLE, C. Cellulose synthesis in higher plants. **Annu Rev Cell Dev Biol**, [s.l], v. 22, p. 53-78, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.22.022206.160206>.

SONG, Y.; CI, D.; TIAN, M.; ZHANG, D. Comparison of the physiological effects and transcriptome responses of *Populus simonii* under different abiotic stresses. **Plant Mol. Biol.**, [s.l], v. 86, p. 139-156, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11103-014-0218-5>.

SOUZA, L. **Estresses hídrico e térmico e a predisposição às doenças de plantas**. Instituto Agro, 2019. Disponível em: <https://institutoagro.com.br/estresses-e-doencas-de-plantas>. Acesso em: 05 dez. 2022.

STOKSTAD, E. Rice genetically engineered to resist heat waves can also produce up to 20% more grain: a simple genetic change appears to help plants repair heat-damaged photosynthetic machinery. **Science**, 2020. Disponível em: <<https://www.science.org/content/article/rice-genetically-engineered-resist-heat-waves-can-also-produce-20-more-grain>>. Acesso em: 23 nov. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.abc3620>.

SUGANAMI, M.; SUZUKI, Y.; KONDO, E.; NISHIDA, S.; KONNO, S.; MAKINO, A. Effects of Overproduction of Rubisco Activase on Rubisco Content in Transgenic Rice Grown at Different N Levels. **Int J Mol Sci.**, [s.l.], v. 21, n. 5, p. 1626, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21051626>.

SUN, L. *et al.* ZmHSP16.9, a cytosolic class i small heat shock protein in maize (zea mays), confers heat tolerance in transgenic tobacco. **Plant Cell Reports**, [s.l.], v. 31, p. 1473-1484, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00299-012-1262-8>.

SUN, L.; SUN, Y.; ZHANG, M.; WANG, L.; REN, J.; CUI, M.; WANG, Y.; JI, K.; LI, P.; LI, Q.; CHEN, P.; DAI, S.; DUAN, C.; WU, Y.; LENG, P. Suppression of 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase, which encodes a key enzyme in abscisic acid biosynthesis, alters fruit texture in transgenic tomato. **Plant Physiol.**, [s.l.], v. 58, n. 1, p. 283-298, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.111.186866>.

SUN, W.; CATHERINE, B.; COTTE, B. V. D.; MONTAGU, M. V.; VERBRUGGEN, N. At-HSP17.6a, encoding a small heat-shock protein in arabidopsis, can enhance osmotolerance upon overexpression. **The Plant Journal**, [s.l.], v. 27, p. 407-415, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2001.01107.x>.

SUN, X. *et al.* AsHSP17, a creeping bentgrass small heat shock protein modulates plant photosynthesis and aba-dependent and independent signalling to attenuate plant response to abiotic stress. **Plant, Cell & Environment**, [s.l.], v. 39, p.1320-1337, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1111/pce.12683>.

SUZUKI, N.; KOUSSEVITZKY, S.; MITTLER, R.; MILLER, G. ROS and redox signalling in the response of plants to abiotic stress. **Plant Cell Environ.**, [s.l.], v. 35, p. 259-270, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2011.02336.x>.

SZAKER, H.M.; DARKÓ, É.; MEDZIHRADSKY, A.; JANDA, T.; LIU, H.C.; CHARNG, Y.Y.; CSORBA, T. miR824/AGAMOUS-LIKE16 Module Integrates Recurring Environmental Heat Stress Changes to Fine-Tune Poststress Development. **Front Plant Sci.**, [s.l.], v. 10, p. 1-19, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01454>.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6.ed., Porto Alegre: Artmed, 2017. 369 p.

TAKAHASHI, S.; MURATA, N. How do environmental stresses accelerate photoinhibition? **Trends Plant Sci.**, [s.l.], v. 13, p. 178-182, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.01.005>.

TAKEDA, S.; MATSUOKA, M. Genetic approaches to crop improvement: responding to environmental and population changes. **Nature Reviews Genetics**, New York, v. 9, p. 44-57, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrg2342>.

TAKEDA, T.; SUWA, Y.; SUZUKI, M.; KITANO, H.; UEGUCHI-TANAKA, M.; ASHIKARI, M.; MATSUOKA, M.; UEGUCHI, C. The OsTB1 gene negatively regulates lateral branching in rice. **Plant J.**, [s.l.], v. 33; p. 5138-5520, 2003. DOI: [10.1046/j.1365-3113.2003.01648.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-3113.2003.01648.x)

THOMANN, M.; IMBERT, E.; DEVAUX, C.; CHEPTOU, P.O. Flowering plants under global pollinator decline, **Trends Plant Sci.**, [s.l.], v.18, p. 353-359, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2013.04.002>.

THOMAS, P.D. The Gene Ontology and the Meaning of Biological Function. *In*: DESSIMOZ, C.; ŠKUNCA, N. (ed). **The Gene Ontology Handbook**. New York: Humana Press, 2017. 298 p. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3743-1_2.

TIKKANEN, M.; GRIECO, M.; KANGASJÄRVI, S.; ARO, E.M. Phosphorylation of thylakoid protein in chloroplasts from higher plants optimizes electron transfer under fluctuating light. **Plant Physiol.**, [s.l.], v. 152, p. 723-735, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.109.150250>.

TIKKANEN, M.; MEKALA, N. R.; ARO, E. M. Photosystem II photoinhibition repair cycle protects Photosystem I from irreversible damage. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1837, p. 210-215, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2013.10.001>

TODD, J.; POST-BEITTENMILLER, D.; JAWORK, J. G. KCS1 encodes a fatty acid elongase 3-ketoacyl-CoA synthase affecting wax biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. **Plant J.**, [s.l.], v. 17, n. 2, p. 119–130, 1999. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-3113.1999.00352.x>.

TODESCO, M.; BALASUBRAMANIAN, S.; HU, T.T.; TRAW, M.B.; HORTON, M.; EPPLÉ, P.; KUHNS, C.; SURESHKUMAR, S.; SCHWARTZ, C.; LANZ, C.;

LAITINEN, R.A.; HUANG, Y.; CHORY, J.; LIPKA, V.; BOREVITZ, J.O.; DANGL, J.L.; BERGELSON, J.; NORDBORG, M.; WEIGEL, D. Natural allelic variation underlying a major fitness trade-off in *Arabidopsis thaliana*. **Nature**, [s.l.], v.46, p. 632-636, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature09083>.

TOTH, S.Z.; NAGY, V.; PUTHUR, J.T.; KOVACS, L.; GARAB, G. The Physiological Role of Ascorbate as Photosystem II Electron Donor: Protection against Photoinactivation in Heat-Stressed Leaves. **Plant Physiol.**, [s.l.], v. 156, p. 382-392, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.110.171918>.

TSUJI, H.; TAO KA, K. Florigen signaling. **Enzymes**, [s.l.], v.35, p. 113-144, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801922-1.00005-1>.

UEMURA, M.; WARREN, G.; STEPONKUS, P.L. Freezing sensitivity in the *sfr4* mutant of *Arabidopsis* is due to low sugar content and is manifested by loss of osmotic responsiveness. **Plant Physiol.**, [s.l.], v. 131, n. 4, p. 1800-1807, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.102.013227>.

UNIPROT – UniProtKB. **Protein knowledgebase**. 2022. Disponível em: <https://www.uniprot.org>. Acesso em: 25 out. 2022.

VAN OOSTEN, M. J.; PEPE, O.; PASCALE, S.; SILLETTI, S.; MAGGIO, A. The role of biostimulants and bioeffectors as alleviators of abiotic stress in crop plants. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, [s.l.], v. 4, n. 5, p.1-12, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40538-017-0089-5>.

VASCONCELOS, A.C.F de. **Uso de bioestimulantes nas culturas de milho e soja**. 2006. 111f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2006.

VENDRUSCOLO, E. P.; MARTINS, A. P. B.; CAMPOS, L. F. C.; SELEGUINI, A.; DOS SANTOS, M. M. THERMAL STRESS ALLEVIATION BY BIOSTIMULANT APPLICATION ON CANTALOUPE MELON SEEDS. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, [s.l.], v. 10, n. 3, p. 241–247, 2016. DOI: <https://doi.org/10.18011/bioeng2016v10n3p241-247>.

VIEIRA, L. C.; BEDIN, F.; BERTONCINI, M. P.; KOHL, S.; SILVA, V. N. Tratamento de sementes de cenoura com bioestimulante e efeitos na germinação em estresse térmico. In: SEMINÁRIO DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO DA UFFS, 9, 2019, Chapecó. **Anais...** Chapecó: SEPE, 2019. p. 11240.

VOLKOV, R. A.; PANCHUK, I. I.; MULLINEAUX, P. M.; SCHOFFL, F. Heat stress-induced h₂O₂ is required for effective expression of heat shock genes in *Arabidopsis*. **Plant Molecular Biology**, [s.l.], v.61, p.733-746, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11103-006-0045-4>.

WAHID, A. Physiological implications of metabolite biosynthesis for net assimilation and heat-stress tolerance of sugarcane (*Saccharum officinarum*) sprouts. **J Plant Res.**, [s.l.], v. 120, n. 2, p. 219-228, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10265-006-0040-5>.

WANG, D.; LI, X.F.; ZHOU, Z.J.; FENG, X.P.; YANG, W.J.; JIANG, D.A. Two Rubisco activase isoforms may play different roles in photosynthetic heat acclimation in the rice plant. **Physiol Plant**, [s.l.], v. 139, p. 55-67, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2009.01344.x>.

WANG, G.; KONG, F.; ZHANG, S.; MENG, X.; WANG, Y.; MENG, Q. A tomato chloroplast-targeted DnaJ protein protects Rubisco activity under heat stress. **Journal of Experimental Botany**, [s.l.], v. 66, n. 11, p. 3027-3040, 2015. DOI: <https://www.jstor.org/stable/26390135>.

WANG, Y.; DENG, D.; SHI, Y.; MIAO, N.; BIAN, Y.; YIN, Z. Diversification, phylogeny and evolution of auxin response factor (ARF) family: insights gained from analyzing maize ARF genes. **Molecular Biology Reports**, [s.l.], v. 39, p. 2401-2415, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11033-011-0991-z>.

WATERS, E.R. A evolução, função, estrutura e expressão dos sHSPs da planta. **Journal of Experimental Botany**, [s.l.], v. 64, p. 391-403, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1093/jxb/ers355>.

WEI, X.; ZHU, D.; FENG, C.; CHEN, G.; MAO, X.; WANG, Q.; WANG, J.; LIU, C. Inhibition of peptidyl prolyl cis trans isomerase B mediates cyclosporin A induced apoptosis of islet β cells. **Exp Ther Med**, [s.l.], v. 16, p. 3959-3964, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3892/etm.2018.6706>.

WENT, F.W.; THIMANN, K.V. Biochemistry and mode of action of hormones. *In*: HOPKINS, W.G. (ed.). **Introduction to plant physiology**. New York: Wiley, 1999. p. 335-363.

WIJEWARDENE, I.; SHEN, G.; ZHANG, H. Enhancing crop yield by using Rubisco activase to improve photosynthesis under elevated temperatures. **Stress Biology**, [s.l.], v. 1, n. 2, p. 1-20, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s44154-021-00002-5>.

WILLIAMS-CARRIER, R.; BREWSTER, C.; BELCHER, S.E.; ROJAS, M.; CHOTEWUTMONTRI, P.; LJUNGDAHL, S.; BARKAN, A. The Arabidopsis pentatricopeptide repeat protein LPE1 and its maize ortholog are required for translation of the chloroplast psbJ RNA. **Plant J.**, [s.l.], v. 99, n. 1, p. 56-66, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1111/tpj.14308>.

XALXO, R.; YADU, B.; CHANDRA, J.; CHANDRAKAR, V.; KESHAVKANT, S. Alteration in Carbohydrate Metabolism Modulates Thermotolerance of Plant under Heat Stress. **Heat Stress Toler Plants**, [s.l.], v. 5, p. 77-115, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1002/9781119432401.ch5>.

XU, D.; LIU, Q.; CHEN, G.; YAN, Z.; HU, H. Aldehyde dehydrogenase ALDH3F1 involvement in flowering time regulation through histone acetylation modulation on FLOWERING LOCUS C. **J Integr Plant Biol.**, [s.l.], v. 62, n. 8, p.1080-1092, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1111/jipb.12893>.

XU, J.; WANG, X.; GUO, W. The cytochrome P450 superfamily: Key players in plant development and defense. **Journal of Integrative Agriculture**, [s.l.], v.14, p. 1673-1686, 2015. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(14\)60980-1](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(14)60980-1).

YAKHIN, O. I.; LUBYANOV, A. A.; YAKHIN, I. A.; AND BROWN, P. H. Biostimulants in plant science: a global perspective. **Frontiers in plant science**, [s.l.], v.7, p. 1-32, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.02049>.

YAN, K.; HE, W.; BIAN, L.; ZHANG, Z.; TANG, X.; AN, M. Salt adaptability in a halophytic soybean (*Glycine max*) involves photosystems coordination. **BMC Plant Biol.**, [s.l.], v. 20, p. 1-13, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12870-020-02371-x>.

YAN, Y. S.; CHEN, X. Y.; YANG, K.; SUN, Z. X.; FU, Y. P.; ZHANG, Y. M. Overexpression of an F-box protein gene reduces abiotic stress tolerance and promotes root growth in rice. **Mol Plant**, [s.l.], v. 4, p. 190-197, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1093/mp/ssq066>.

YANG, K.Z.; XIA, C.; LIU, X.L.; DOU, X.Y.; WANG, W.; CHEN, L.Q.; ZHANG, X.Q.; XIE, L.F.; HE, L.; MA, X.; YE, D. A mutation in Thermosensitive Male Sterile 1, encoding a heat shock protein with DnaJ and PDI domains, leads to thermosensitive gametophytic male sterility in Arabidopsis. **Plant J.**, [s.l.], v. 57, n.5, p. 870-882, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03732.x>.

YATES, G.; SADANANDOM, A. Ubiquitination in plant nutrient utilization. **Plant Science**, [s.l.], v. 4, p. 1-5, 2013. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00452>.

YIN, Z.; ZHANG, Z.; DENG, D.; CHAO, M.; GAO, Q.; WANG, Y.; YANG, Z.; BIAN, Y.; HAO, D.; XU, C. Characterization of RuBisCo activase genes in maize: an α -isoform gene functions alongside a β -isoform gene. **Plant Physiol**, [s.l.], v. 164, p. 2096 -2106, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.113.230854>.

YOO, S.K.; WU, X.; LEE, J.S.; AHN, J.H. AGAMOUS-LIKE 6 is a floral promoter that negatively regulates the FLC/MAF clade genes and positively regulates FT in Arabidopsis. **Plant J.**, [s.l.], v. 1, p. 62-76, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2010.04402.x>.

YORDANOV, I.; VELIKOVA, V.; TSONEV, T. Plant responses to drought, acclimation, and stress tolerance. **Photosynthetica**, [s.l.], v. 38, n. 2, p. 171-186, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1007201411474>.

YU, Z.C.; ZHENG, X. T.; LIN, W.; CAI, M. L.; ZHANG, K. L.; PENG, C. L. Different photoprotection strategies for mid- and late-successional dominant tree species in a high-light environment in summer. **Environmental and Experimental Botany**, [s.l.], v. 171, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.103927>.

ZARTER, C.R.; ADAMS, W.W.; EBBERT, V.; CUTHBERTSON, D.J.; ADAMSKA, I.; DEMMIG-ADAMS, B. Winter down-regulation of intrinsic photosynthetic capacity coupled with up-regulation of Elip-like proteins and persistent energy dissipation in a subalpine forest. **New Phytol.**, [s.l.], v. 172, n. 22, p. 272-282, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01815.x>.

ZHANG, T.; ZHAO, X.; WANG, W.; PAN, Y.; HUANG, L.; LIU, X. *et al.* Comparative transcriptome profiling of chilling stress responsiveness in two contrasting rice genotypes. **Plos One**, [s.l.], v. 7, p. 1-12, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0043274>.

ZHANG, X.; XUE, Y.; WANG, H.; NISA, Z.; JIN, X.; YU, L.; LIU, X.; YU, Y.; CHEN, C. Broad genomic identification and characterization of the NHL gene family in response to alkaline stress, ABA and MEJA treatments in wild soybeans (*Glycine max*), **PeerJ**, [s.l.], v. 10, p. 1-20, 2022. DOI: <https://doi.org/10.7717/peerj.14451>.

ZHANG, Y.; CHEN, W.; SANG, X.; WANG, T.; GONG, H.; ZHAO, Y.; ZHAO, P.; WANG, H. Genome-Wide Identification of the Thaumatin-like Protein Family Genes in *Gossypium barbadense* and Analysis of Their Responses to *Verticillium dahliae* Infection. **Plants (Basel)**, [s.l.], v.10, n.12, p. 2647, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants10122647>.

ZHAO, H.; LOU, Y.; SUN, H. *et al.* Transcriptome and comparative gene expression analysis of *Phyllostachys edulis* in response to high light. **BMC Plant Biology**, [s.l], v. 16, p. 1-17, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12870-016-0720-9>.

ZHAO, J.; ZHAI, Z.; LI, Y.; GENG, S.; SONG, G.; GUAN, J.; JIA, M.; WANG, F.; SUN, G.; FENG, N.; KONG, X.; CHEN, L.; MAO, L.; LI, A. Genome-wide identification and expression profiling of the TCP family genes in spike and grain development of wheat (*Triticum aestivum* L.) **Front Plant Sci.**, [s.l], v. 9, p. 1-23, 2018. DOI: 10.3389/fpls.2018.01282.

ZHAO, X.; XU, M.; WEI, R.; LIU, Y. Expression of OsCAS (Calcium-Sensing Receptor) in an Arabidopsis Mutant Increases Drought Tolerance. **PLoS ONE**, [s.l], v. 10, n.6, p. 1-13, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0131272>.

ZHONG, L.; ZHOU, W.; WANG, H.; DING, S.; LU, Q.; WEN, X.; PENG, L.; ZHANG, L.; LU, C. Chloroplast small heat shock protein HSP21 interacts with plastid nucleoid protein pTAC5 and is essential for chloroplast development in Arabidopsis under heat stress. **Plant Cell.**, [s.l], v. 8, p. 2925-2943, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1105/tpc.113.111229>.

ZHOU, L.; NI, E.; YANG, J.; ZHOU, H.; LIANG, H.; LI, J. *et al.* Rice OsGL1-6 is involved in leaf cuticular wax accumulation and drought resistance. **PLoS ONE**, [s.l], v. 8, p. 1-12, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065139>.

ZHU, X.; XIONG, L. Putative megaenzyme DWA1 plays essential roles in drought resistance by regulating stress-induced wax deposition in rice. **Proc Natl Acad Sci USA**, [s.l], v. 110, p. 17790-17795, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1316412110>.

ZHUGE, X.L.; XU, H.; XIU, Z.J.; YANG, H.L. Biochemical Functions of Glutathione S-Transferase Family of *Salix babylonica*. **Frontiers in Plant Science**, [s.l], v. 11, p. 1-11, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00364>.

Anexo I - Análises de qualidade, controle de qualidade, alinhamento ao genoma e quantificação e análise de expressão diferencial.

i. Análises de Qualidade

Um total de 904.066.384 *paired-end reads* com 150 pares de base foram sequenciados a partir de fragmentos de RNA extraídos de folhas de *Oryza sativa* L. utilizando um sequenciador Illumina modelo Hiseq 2500. Para a separação do RNA mensageiro (mRNA) de RNAs ribossomais foi utilizada a técnica de seleção de cauda poli-A (*poly-A tail selection*) na qual diferentes tipos de RNA são separados em função de sua afinidade com sequências compostas por longas repetições do nucleotídeo timina.

As plantas foram submetidas a um tratamento, com aplicação de bioestimulantes e, uma testemunha, para a avaliação do efeito do tratamento no perfil molecular da expressão gênica. Para o tratamento foram feitas três repetições biológicas resultando em aproximadamente 50 (± 4.5) milhões de fragmentos para cada biblioteca em T1 e T2 (Figura 1).

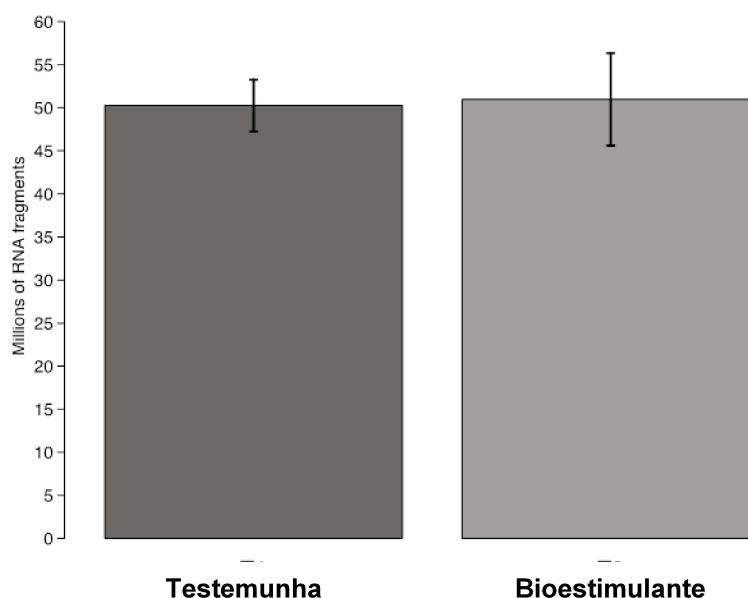


Figura 1 – Número médio de fragmentos sequenciados por condição. Intervalos são referentes ao desvio padrão de três repetições biológicas.

Após o sequenciamento todas as bibliotecas foram inspecionadas com o software FastQC para avaliação dos valores de qualidade PHRED, presença de

sequências adaptadoras e níveis de duplicação. A qualidade mensurada em PHRED determina a probabilidade de determinado nucleotídeo ser sequenciado erroneamente. Os valores são representados em uma escala logarítmica de forma que um valor PHRED igual a 10 representa a probabilidade de que determinada base sequenciada tem 1 chance em 10 de estar errada, enquanto um valor de PHRED igual a 20 representa 1 erro em 100 e 30 representa 1 erro em 1000. Conforme a Figura 2, podemos observar que o valor médio de PHRED para as bibliotecas sequenciadas foi superior a 37.

Como as amostras foram processadas na configuração *paired-end* cada fragmento de mRNA foi sequenciado em ambas as extremidades 5' (*Forward* na Figura 2) e 3' (*Reverse* na Figura 2). A qualidade média nos fragmentos *Reverse* foi inferior aos fragmentos *Forward*. Entretanto essas diferenças podem ser compensadas durante as etapas de controle de qualidade.

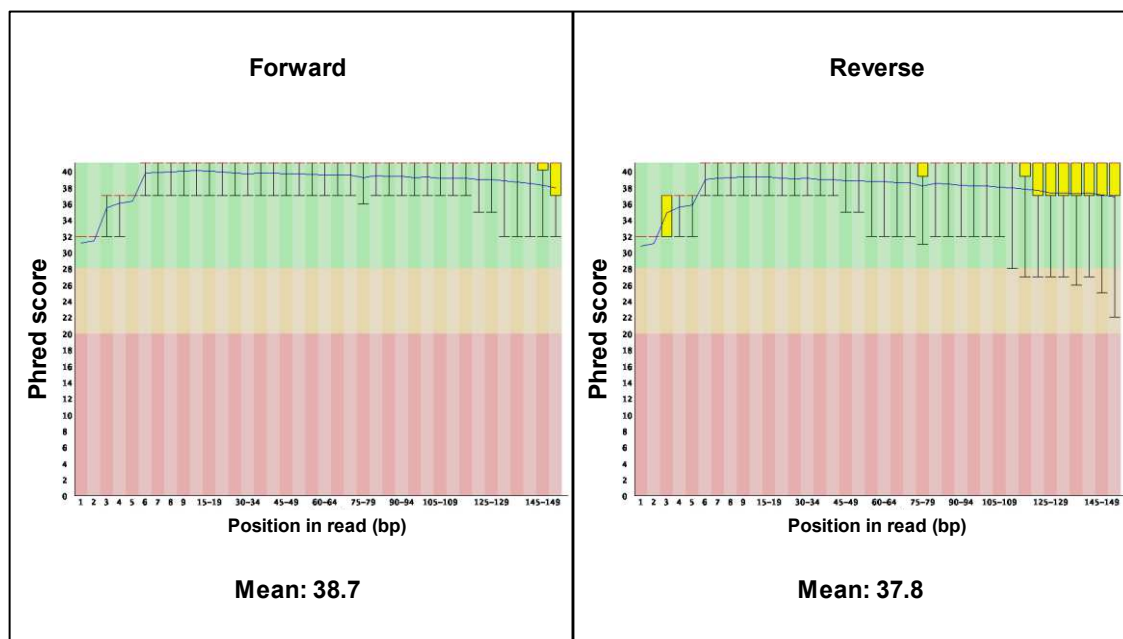


Figura 2 – Pontuação Phred em função da posição das bases nos fragmentos para os fragmentos Forward e Reverse de uma repetição biológica de T1. Intervalos e retângulos amarelos representam a distribuição da qualidade enquanto linhas azuis representam os valores médios de casa posição.

A análise de qualidade também identificou a presença de sequências adaptadoras. Essas sequências são inseridas nos fragmentos de mRNA para permitir a hibridização com regiões específicas da *Flow cell* dos sequenciadores antes das etapas de amplificação. A hibridização específica em determinadas regiões da *Flow cell* permite que múltiplas condições experimentais sejam processadas em uma mesma

corrida de sequenciamento. Entretanto essa abordagem permite que algumas sequências adaptadoras sejam inevitavelmente sequenciadas com o fragmento alvo, principalmente nas regiões terminais de ambos os fragmentos *Forward* e *Reverse* como pode ser visto na Figura 3. A partir da posição 70 a presença de adaptadores nos fragmentos aumenta continuamente. Essa presença dos adaptadores prejudica o alinhamento correto dos fragmentos ao genoma e, por esse motivo, devem ser identificados e removidos.

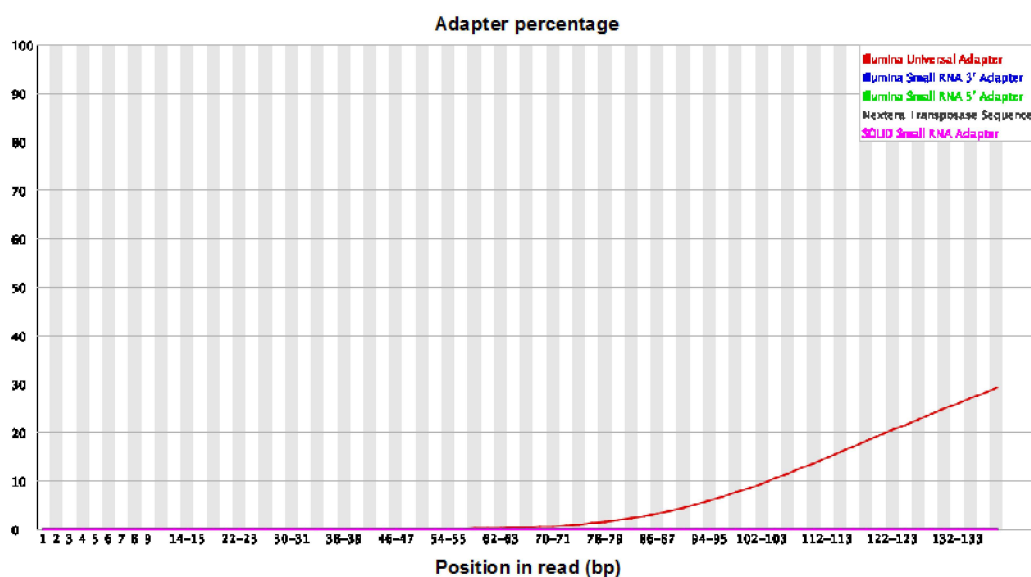


Figura 3 – Porcentagem de sequências de adaptadores Illumina (linha em vermelho) em diferentes posições dos fragmentos.

A última etapa da avaliação de qualidade estimou o nível de duplicação dos fragmentos sequenciados. A duplicação ocorre quando, devido à elevada concentração de determinado fragmento durante os ciclos de amplificação ou devido a imprecisões nos sensores óticos dos sequenciadores, alguns fragmentos específicos têm sua quantidade aumentada indevidamente. Nesses casos é fundamental a identificação e remoção desse excesso para não prejudicar a quantificação dos genes expressos. Nesta análise foi identificado certo nível de duplicação nas bibliotecas (Figura 4) que devem ser tratadas adequadamente para minimizar os efeitos da duplicação.

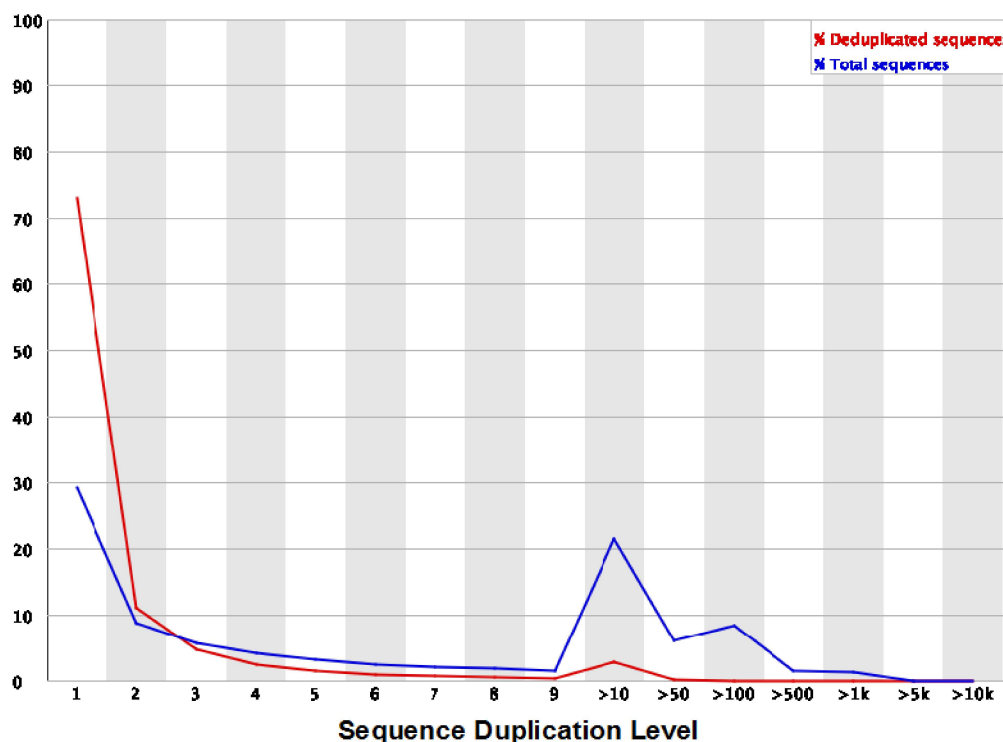


Figura 4 – Relação estimada entre fração de fragmentos duplicados e *reads* únicos.

Uma vez realizada a avaliação geral da qualidade das amostras sequenciadas é possível traçar a melhor estratégia para remover fragmentos ou regiões específicas nos fragmentos com o intuito de realizar o alinhamento ao genoma de referência de forma eficiente.

ii. Controle de Qualidade

A partir da análise de qualidade, foi possível identificar os parâmetros ideais para adequar os *paired-end reads* para as etapas de alinhamento e quantificação de fragmentos. O programa Trimmomatic, versão 0.39 (BOLGER et al., 2014) foi utilizado com os parâmetros SLIDINGWINDOW:4:20, MINLEN:30 e ILLUMINACLIP:./all.adp.fasta:4:20:7.

iii. Alinhamento ao Genoma e Quantificação

Após o controle de qualidade, aproximadamente 761 milhões de fragmentos de mRNA foram selecionados para a realização do alinhamento dos *reads* ao genoma de *Oryza sativa* Japonica Group – MSU release 7 (OUYANG et al., 2007). Esse

procedimento foi realizado com o programa STAR versão 2.7.2b (DOBIN et al., 2013). Os fragmentos foram separados em *paired-end* e *single-end* (apenas quando um dos pares foi removido nas etapas de controle de qualidade). Posteriormente, os arquivos de alinhamento, foram ordenados e inspecionados por duplicações com ferramentas do pacote picard tools ('Picard toolkit', 2019). Por fim, o número de fragmentos mapeados a *exons* no genoma foi quantificado com o *script* htseq-count (ANDERS et al., 2015).

iv. Análise da Expressão Diferencial

Para a análise estatística do número de fragmentos de mRNA mapeados ao genoma foi realizada uma série de etapas para padronizar os valores de expressão de cada gene em função do tamanho e composição das bibliotecas. Para isso, as tabelas com os valores de contagem de fragmentos de mRNA alinhados, foram carregadas no ambiente estatístico R. Genes, com valores médios de expressão inferiores a 10 fragmentos por biblioteca foram removidos, uma vez que genes pouco expressos, em dado tecido, possuem efeito fenotípico questionável e afetam a distribuição dos dados. Posteriormente, ajustes como normalização dos valores de expressão entre as bibliotecas, modelagem GLM e inferência de expressão diferencial foram aplicados para cada gene (ROBINSON et al., 2010).

Genes com expressão duas vezes superior nas diferentes condições ($\log_2FC \geq 1$ e $\log_2FC \leq -1$) e FDR (False Discovery Rate - Benjamini and Hochberg, 1995) inferior a 0,05 foram considerados diferencialmente expressos (DE). Termos de ontologia gênica (GO – *Gene Ontology*) foram enriquecidos a partir da comparação dos termos de ontologia de gene DE, com o conjunto de termos anotados para *Oryza sativa* Japonica Group – MSU release 7 (YAN et al., 2017). Os gráficos de expressão para genes DE foram produzidos a partir dos valores de expressão em FPKM (*Fragments per kilo base per million mapped reads*), que leva em consideração tanto o número de fragmentos de RNA mapeados aos *exons*, quanto o tamanho da região codificadora dos genes.

REFERÊNCIAS

ANDERS, S.; PYL, P.T.; HUBER, W. HTSeq - A Python framework to work with high-throughput sequencing data. **Bioinformatics**, [s.l.], v.31, p. 166-169, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu638>.

BENJAMINI, Y.; HOCHBERG, Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. **J R Stat Soc Ser B Methodol**, [s.l.], v. 57, 1995. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x>.

BOLGER, A.M.; LOHSE, M.; USADEL, B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. **Bioinformatics**, [s.l.], v. 30, p. 2114-2120, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>.

DOBIN, A.; DAVIS, C. A.; SCHLESINGER, F.; DRENKOW, J.; ZALESKI, C.; JHA, S.; BATUT, P.; CHAISSON, M.; GINGERAS, T.R. STAR: Ultrafast universal RNA-seq aligner. **Bioinformatics**, [s.l.], v. 29, p. 15-20, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts635>.

OUYANG, S.; ZHU, W.; HAMILTON, J. The TIGR Rice Genome Annotation Resource: improvements and new features. **Nucl Acids Res**, [s.l.], v. 35, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkl976>.

PICARD TOOLKIT. 2019. **Broad Institute**, GitHub repository. 2019.

ROBINSON, M.D.; MCCARTHY, D.J.; SMYTH, G.K. EdgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. **Bioinformatics**, [s.l.], v. 26, p. 139–140, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp616>.

YAN, H.; YOU, Q.; TIAN, T.; YI, X.; LIU, Y.; DU, Z.; XU, W.; SU, Z. AgriGO v2.0: a GO analysis toolkit for the agricultural community, 2017 update. **Nucleic Acids Research**, [s.l.], v. 45, p. W122–W129, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkx382>.

Anexo II - Protocolo de extração de RNA com QIAzol (Adaptado)

Procedimentos iniciais:

- ✓ Verificar disponibilidade dos materiais, soluções e reagentes a serem usados no protocolo;
- ✓ Manter os reagentes em baixa temperatura;
- ✓ Ligar a centrífuga no início do procedimento para que a mesma atinja a temperatura desejada (4 °C);
- ✓ Adicionar gelo picado em uma caixa de isopor para manter as amostras posteriormente;
- ✓ Selecionar as amostras em uma caixa de isopor com nitrogênio líquido;
- ✓ Marcar tubos Eppendorf adicionais (1,5 mL) com a identificação das amostras;

Primeira Etapa

1. Adicionar 1 mL de Qiazol para cada 100 mg de tecido macerado. Agitar em vortex por 30 segundos;

Obs.: Adicionar o Qiazol e agitar em seguida brevemente no vortex para que todo o tecido descongele com o Qiazol. Fazer esse processo para todas as amostras. Depois, vortex de 30 segundos.

2. Deixar as amostras à temperatura ambiente por 5 minutos;

Obs.: Os tubos devem ser mantidos na horizontal para aumentar a superfície de contato do Qiazol com o tecido macerado.

3. Adicionar 300 µL de clorofórmio para cada 1 mL de Qiazol e homogeneizar rigorosamente no vortex por 15 segundos;

4. Deixar em temperatura ambiente por 3 minutos;

5. Centrifugar por 15 minutos a 12000 g ou 12125,74 rpm a 4 °C;

6. Transferir o sobrenadante para novos tubos (1,5 mL), aproximadamente 300 µL;

Obs.: Muito cuidado para não misturar as fases.

7. Adicionar 500 µL de isopropanol para cada 1 mL de Qiazol. Vortex rigoroso de 30 segundos;

Obs.: Adicione e já promova o vortex de 30 segundos, amostra por amostra.

8. Deixar as amostras em temperatura ambiente por 10 minutos;

9. Centrifugar por 10 minutos a 12000 g ou 12125,74 rpm a 4 °C;

10. Coletar o sobrenadante e descartá-lo;

Obs.: O tubo deve ser virado em um béquer com cuidado para não remover o pellet junto com o conteúdo líquido.

11. Adicionar 1 mL de etanol 75% para cada 1 mL de Qiazol e centrifugar por 10 minutos a 75000 g ou 9586 rpm a 4 °C

12. Remover completamente o sobrenadante e secar o pellet por 15 minutos aproximadamente (deixar os tubos com o pellet na horizontal).

Segunda Etapa (precipitação e lavagem):

13. Adicionar 500 µL de isopropanol para cada 1 mL de Qiazol. Vortex rigoroso de 30 segundos;

Obs.: Adicione e já promova o vortex de 30 segundos, amostra por amostra.

14. Deixar as amostras em temperatura ambiente por 10 minutos;

15. Centrifugar por 10 minutos a 12000 g ou 12125,74 rpm a 4 °C;

16. Coletar o sobrenadante e descartá-lo;

Obs.: O tubo deve ser virado em um béquer com cuidado para não remover o pellet junto com o conteúdo líquido.

17. Adicionar 1 mL de etanol 75% para cada 1 mL de Qiazol e centrifugar por 10 minutos a 75000 g ou 9586 rpm a 4 °C

18. Remover completamente o sobrenadante e secar o pellet por 15 minutos aproximadamente (deixar os tubos com o pellet na horizontal).

Após a secagem, adicionar 20 µL de água livre de RNase – água MiliQ autoclavada – para ressuspender o pellet (homogeneizar delicadamente utilizando a micropipeta).

Anexo III - Protocolo de tratamento com DNase

Procedimentos iniciais:

- ✓ Verificar disponibilidade dos materiais, soluções e reagentes a serem usados no protocolo;
- ✓ Manter os reagentes em baixa temperatura;
- ✓ Adicionar gelo picado em uma caixa de isopor para manter as amostras posteriormente;
- ✓ Selecionar as amostras da Extração de RNA em uma caixa de isopor com gelo;
- ✓ Marcar tubos Eppendorf adicionais (0,2 mL) com a identificação das amostras;
- ✓ Ligar o banho-maria ou termociclador com antecedência.

1. Cálculo da quantidade necessária de RNA a ser utilizada em uma concentração de 5 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$.

Exemplo: RNA com 1600 $\text{ng } \mu\text{L}^{-1}$:

$$1 \mu\text{L} \rightarrow 1,6 \mu\text{g}$$

$$X \mu\text{L} \rightarrow 5 \mu\text{g}$$

$$X = 3,125 \mu\text{L}$$

Neste caso, deve-se utilizar 3,125 da amostra de RNA e 18,875 de água miliQ autoclavada para um volume de 22 μL .

2. Pipetar a amostra de RNA e água miliQ autoclavada nos seus respectivos tubos.

Obs.: utilizar tubos de 0,2 mL; os tubos com amostras devem ficar no gelo.

Preparo do Mix (Tampão - TURBO DNase Buffer + Enzima - TURBO DNase):

1. Utilizar 2,5 μL de 10x TURBO DNase Buffer e 0,5 μL de TURBO DNase para cada amostra de RNA;

2. Preparar o MIX calculando sempre o total de volume a mais que o necessário (2 a 3 reações a mais). Misturar o MIX levemente com cuidado para evitar a formação de bolhas.

Tratamento:

1. Adicionar 3,0 μ L do MIX em cada amostra de RNA + água e misturar levemente evitando a formação de bolhas;

2. Incubar a 37 °C por 30 minutos;

3. Adicionar 2,5 μ L de DNase Inactivation Reagent e misturar;

Obs.: Homogeneizar a solução antes de usar.

4. Incubar à temperatura ambiente por 5 minutos, misturando cada amostra levemente (agitar o fundo do tubo levemente com os dedos) durante esse tempo;

5. Centrifugar a 10.000 xg por 2 minutos;

6. Transferir 15 μ L do sobrenadante para um novo tubo de 0,2 mL;

Obs.: Caso o material não seja utilizado brevemente, estocá-lo no freezer à -80° C.