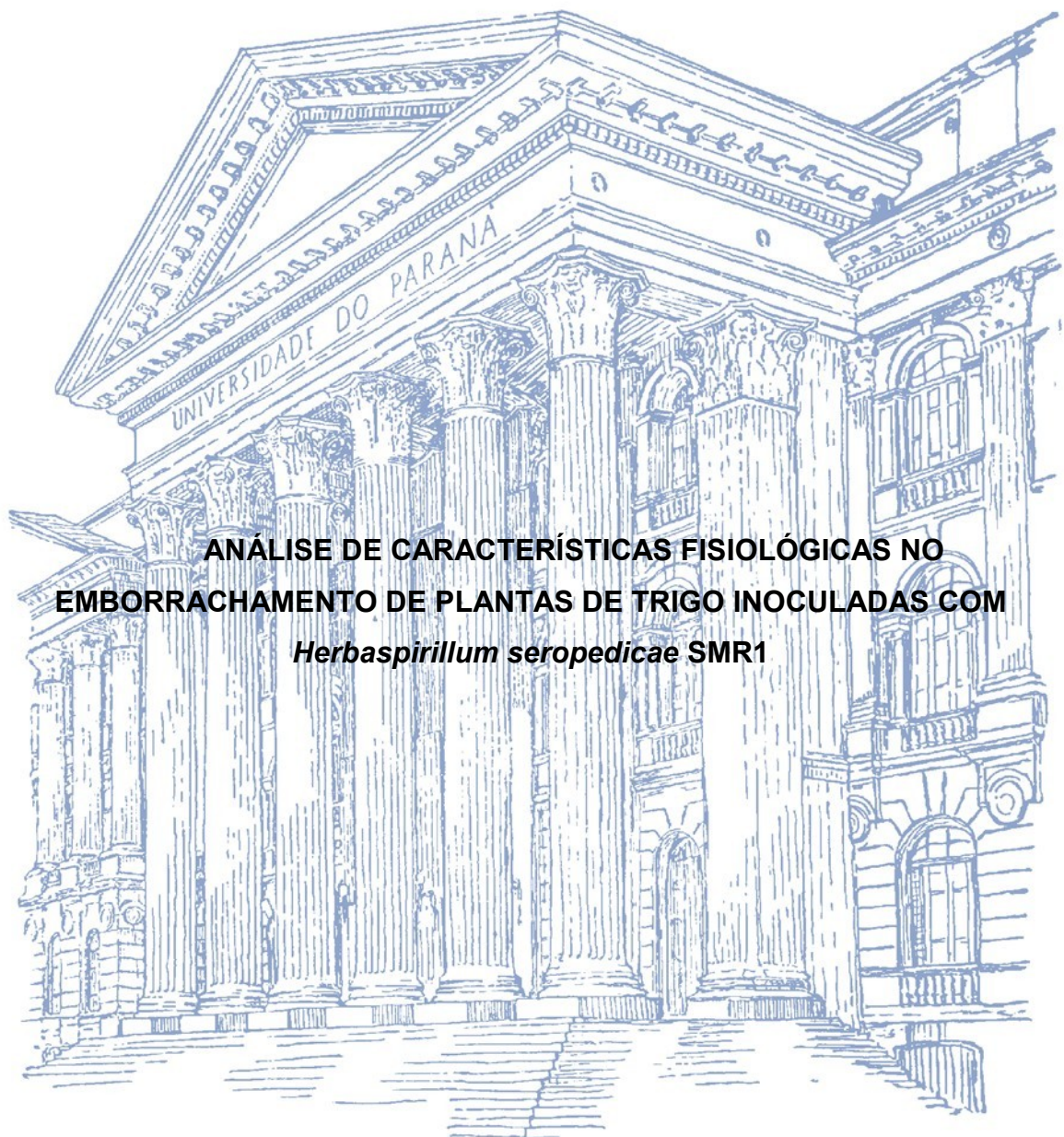


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JUSSARA ANDREIA LUNKES



**ANÁLISE DE CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS NO  
EMBORRACHAMENTO DE PLANTAS DE TRIGO INOCULADAS COM  
*Herbaspirillum seropedicae* SMR1**

PALOTINA

2017

JUSSARA ANDREIA LUNKES

**ANÁLISE DE CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS NO  
EMBORRACHAMENTO DE PLANTAS DE TRIGO INOCULADAS COM  
*Herbaspirillum seropedicae* SMR1**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Tecnologias em Bioprodutos Agroindustriais, no Curso de Pós-Graduação em Tecnologia em Bioprodutos Agroindustriais, Setor de Palotina, da Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Marise Fonseca dos Santos

Coorientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup> Eliane Cristina Gruszka Vendruscolo

PALOTINA

2017

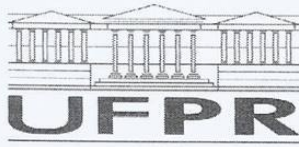
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

L961 Lunkes, Jussara Andreia  
Análise de características fisiológicas no emborrachamento de plantas de trigo inoculadas com *Herbaspirillum Seropedicae* SMR1 / Jussara Andreia Lunkes . – Palotina, 2017.  
56f.

Orientadora: Marise Fonseca dos Santos.  
Coorientadora: Eliane Cristina Gruszka Vendrusco.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor Palotina, Programa de Pós-Graduação em Tecnologia em Bioprodutos Agroindustriais.

1. Trigo. 2. *Herbaspirillum seropedicae*. 3. Emborrachamento. I. Santos, Marise Fonseca dos. III. Vendrusco, Eliane Cristina Gruszka. IV. Universidade Federal do Paraná. V. Título.

CDU 633.11

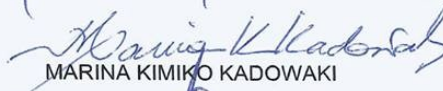


## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em TECNOLOGIAS DE BIOPRODUTOS AGROINDUSTRIAIS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **JUSSARA ANDREIA LUNKES** intitulada: **ANÁLISE DE CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS NO EMBORRACHAMENTO DE PLANTAS DE TRIGO INOCULADAS COM *Herbaspirillum seropedicae* SMR1**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua aprovação.

PALOTINA, 13 de Março de 2017.

  
MARISE FONSECA DOS SANTOS  
Presidente da Banca Examinadora (UFPR)

  
MARINA KIMIKO KADOWAKI  
Avaliador Externo (UNIOESTE)

  
VANDEIR FRANCISCO GUIMARAES  
Avaliador Externo (UNIOESTE)

À minha mãe, luz da minha vida,  
meu pai e minhas irmãs e ao meu  
noivo, meu companheiro, que  
acreditaram em mim, me  
incentivaram a sempre buscar o  
melhor e a percorrer o caminho  
certo.

Dedico.

## AGRADECIMENTOS

À Deus pela vida, por me guiar e me proteger todos os dias, por colocar na minha vida pessoas tão maravilhosas e esta oportunidade.

Agradeço à Capes, pela bolsa de estudos que me permitiu realizar este sonho e também ao CNPq.

À professora Marise Fosseca dos Santos, por me ensinar tanto e ser uma grande inspiração. À professora Eliane Vendruscolo, por toda a ajuda e todos os ensinamentos.

À minha mãe que me faz ser quem eu sou, que é minha melhor amiga, que me deu todo o suporte que eu precisei para poder chegar até aqui, acreditou no sonho e lutou junto comigo, que eu amo com todas as minhas forças. Ao meu pai, que aconselha e sempre quer o melhor para mim, te amo. À Jaina, minha irmã por ser amiga, parceira de todas as horas, à Fernanda, minha irmã que sempre acreditou em mim, até mesmo quando eu não acreditava, amo vocês manas. Ao Mauro por me ensinar a descansar a mente fazendo arte.

Às colegas de laboratório de tantas horas de alegrias, cansaços, frustrações Adeline, Aline, Sharlini, Keity, Adriá, professora Adriana. Agradecimento especial pra Hemilly, passamos juntas todos os dias, demos muita risada juntas, sofremos, lutamos, cansamos e fomos até o fim.

Agradeço especialmente ao meu noivo Guilherme que largou tudo para trás para embarcar nessa viagem comigo, dando um passo gigante em direção ao desconhecido. Pela paciência nos dias que estava cansada ou irritada, por cuidar de mim, me fazer rir, me acalmar com seu abraço, por me fazer feliz. Te amo muito. E aos meus sogros e cunhado e cunhada, Jane, Valdir, Luiz e Tauana pela confiança que sempre depositaram em mim.

...Mas ultimamente tenho  
começado a achar que quando eu  
me conduzo, eu encontro a minha  
luz...

(Incubus, Drive)

## RESUMO

O trigo é uma das culturas de maior importância no mundo, por ser a principal fonte de alimentação humana. No Brasil, a produção de trigo não é suficiente para abastecer o mercado interno, sendo necessário importar quase a metade do que é consumido. Bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV) são bactérias que ao serem inoculadas nas sementes ou solo podem promover o crescimento por de solubilização de nutrientes e a tolerância das plantas a estresses bióticos e abióticos como é o caso do *Herbaspirillum seropedicae* que vem sendo estudado em trigo. O objetivo deste trabalho foi fazer a avaliação de trigo cv. CD 120 inoculado com *H. seropedicae* no emborrachamento, também submetendo a estresses abióticos como o hídrico. O experimento ocorreu em casa de vegetação onde foram inoculadas  $10^6$  células de *H. seropedicae* por sementes plantio. Após atingir um mês algumas plantas receberam fertilizante nitrogenado (uréia). Para controle foram postas plantas não-inoculadas não fertilizadas. A restrição hídrica foi aplicada no início da fase do emborrachamento (T0), onde foram analisados os teores relativos de água (TRA), conteúdo de prolina, conteúdo de malondialdeído (MDA) e atividade da enzima fenilalanina amônia liase e alguns componentes de produção. Algumas plantas foram submetidas a restrição hídrica por 15 dias (T15) e outras não e as mesmas análises foram realizadas. Após este período as plantas retornaram ao regime hídrico normal. Os valores de TRA ficaram cerca de 90% tanto no início do emborrachamento, quanto 15 dias depois para os dois tratamentos e todas as condições de inoculação/fertilização. O conteúdo de prolina aumentou no T15 para todas as condições e tratamentos em relação ao T0, porém diminuiu, na condição não irrigado, nos tratamentos controle e inoculado com fertilizante. O teor de MDA das plantas submetidas e não submetidas a restrição hídrica, após 15 dias aumentou, com destaque para as condições inoculada e inoculada com fertilizante. A FAL, no T15 aumentou em comparação ao T0, para as duas condições hídricas, exceto na condição inoculado com fertilizante na qual diminuiu. Nos componentes de produção a maioria dos parâmetros obteve aumento nas condições que sofreram restrição hídrica em comparação ao que não sofreram, com destaque para as condições inoculado com fertilizante nos parâmetros peso espiga, peso de sementes e número de sementes. Os efeitos observados nas plantas foram relacionados ao desenvolvimento dentro do estágio fenológico e a efeito do solo. A presença da bactéria causou reações que precisam ser melhor estudadas.

**Palavras-chave:** Trigo 1. *Herbaspirillum seropedicae* 2. Emborrachamento 3.

## ABSTRACT

Wheat is one of the world's most important crops because it is a major source of human food. In Brazil, wheat production is not sufficient to supply the internal market, and it is necessary to import almost half of what is consumed. Plant growth promoting bacteria (BPCV) are bacteria that can be inoculated in seeds or soil and can promote growth by solubilizing nutrients and plant tolerance to biotic and abiotic stresses such as the case of *Herbaspirillum seropedicae* that has been studied in wheat. The objective of this work is to evaluate wheat cv. CD 120 inoculated with *H. seropedicae* at booting, also undergoing abiotic stresses such hydric stress. The experiment was carried out in a greenhouse where  $10^6$  cells of *H. seropedicae* were inoculated on the seeds. After one month some plants received nitrogen fertilizer (urea). For control of non-inoculated plants. The water restriction was applied at the beginning of the booting phase (T0), where water contents (TRA), proline content, malondialdehyde content (MDA) and phenylalanine ammonia lyase enzyme activity and some production components were analyzed. Some plants were submitted to water restriction for 15 days (T15) and others were not and the same analyzes were performed. After this period, the plants returned to the normal water regime. TRA values remained about 90% both at the beginning of booting and 15 days later for both treatments and all inoculation / fertilization conditions. The proline content increased in T15 for all conditions and treatments in relation to T0, but decreased, in the non irrigated condition, in the control and inoculated with fertilizer treatments. The MDA content of the plants submitted and not submitted to water restriction, after 15 days increased, with emphasis on the conditions inoculated and inoculated with fertilizer. The FAL in T15 increased in comparison to T0, for both water conditions, except in the condition inoculated with fertilizer in which it decreased. In the production of components most parameters had an increase in the conditions that have suffered water stress compared to not suffered, especially the conditions inoculated with fertilizer at spike in weight parameters, seed weight and number of seeds. The effects observed in the plants were related to the development within the phenological stage and to the effect of the soil. The presence of the bacteria caused reactions that need to be better studied.

**Key-words:** Wheat 1. *Herbaspirillum seropedicae* 2. Booting 3.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Teor relativo de água de *Triticum aestivum* cv. CD 120 nas condições de inoculação/ fertilização do início do emborrachamento aos 60 dias. Comparação entre: tempo inicial (T0) e 15 dias após (T15) com irrigação (a); o tempo inicial (T0) e 15 dias após (T15) sem irrigação (b) e 15 dias (T15) após com e sem irrigação (c).....29
- Figura 2. Atividade enzimática da Fenilalanina Amônialiase de folhas de *Triticum aestivum* cv. CD 120 nas condições de inoculação/ fertilização do início do emborrachamento aos 60 dias. Comparação entre: tempo inicial (T0) e 15 dias após (T15) com irrigação (a); o tempo inicial (T0) e 15 dias após (T15) sem irrigação (b) e 15 dias (T15) após com e sem irrigação (c) .....33
- Figura 3. Conteúdo de Prolina do *Triticum aestivum* cv. CD 120 nas condições de inoculação/ fertilização do início do emborrachamento aos 60 dias. Comparação entre: tempo inicial (T0) e 15 dias após (T15) com irrigação (a); o tempo inicial (T0) e 15 dias após (T15) sem irrigação (b) e 15 dias (T15) após com e sem irrigação (c).....34
- Figura 4. Teor de malondialdeído do *Triticum aestivum* cv. CD 120 nas condições de inoculação/ fertilização do início do emborrachamento aos 60 dias. Comparação entre: tempo inicial (T0) e 15 dias após (T15) com irrigação (a); o tempo inicial (T0) e 15 dias após (T15) sem irrigação(b) e 15 dias (T15) após com e sem irrigação (c) .....38

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros de produtividade do CD 120. Plantas submetidas e não submetidas a restrição hídrica durante 15 dias após o início do emborrachamento, nas diferentes condições de inoculação e/ou fertilização.....	43
Tabela 2. Coeficiente de correlação de Pearson para os parâmetros analisados no experimento.....	44

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

ABITRIGO - Associação Brasileira da Indústria do Trigo  
BPCV - Bactérias Promotoras do Crescimento Vegetal  
COODETEC - Cooperativa Central de Pesquisa Agrícola  
CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento  
FAL - Fenilalanina Amônia Liase  
MDA - Malondiandéido  
TRA - Teor Relativo de Água

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
1.1	OBJETIVOS .....	14
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>15</b>
2.1	TRIGO .....	15
2.2	HERBASPIRILLUM SEROPEDICAE.....	16
2.3	CD 120 .....	16
2.4	TEOR RELATIVO DE AGUA.....	17
2.5	FENILALANINA AMONIA LIASE .....	18
2.6	PROLINA.....	19
2.7	PEROXIDAÇÃO DE LIPÍDEOS (MDA).....	21
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>22</b>
3.1	CULTIVO EM CASA DE VEGETAÇÃO .....	22
3.2	MANUTENÇÃO E CRESCIMENTO DA BACTÉRIA.....	24
3.3	TEOR RELATIVO DE ÁGUA.....	24
3.4	FENILALANINA AMONIA LIASE (FAL).....	25
3.5	CONTEÚDO DE PROLINA .....	25
3.6	AVALIAÇÃO DE PEROXIDAÇÃO DE LIPÍDEOS (MDA) .....	26
3.7	COMPONENTES DA PRODUÇÃO .....	26
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>27</b>
4.1	TEOR RELATIVO DE ÁGUA.....	27
4.2	ATIVIDADE DA ENZIMA FENILALANINA AMÔNIA LIASE.....	30
4.3	CONTEÚDO DE PROLINA .....	35
4.4	NÍVEL DE PEROXIDAÇÃO DE LIPÍDIOS: CONTEÚDO DE MALONDIALDEÍDO (MDA).....	37
4.5	COMPONENTES DA PRODUÇÃO .....	41
<b>5</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>46</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>47</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O trigo (*Triticum aestivum*) é uma das cereais de maior importância econômica a principal fonte de alimento humano (BUDAK, KANTAR e KURTOGLU, 2013) e qualquer perda de rendimento tem consequências graves, tanto a nível local como mundial (LI et al, 2015). No Brasil, segundo a CONAB (2016), a safra de 2016/17 será safra recorde, estimada em 6,3 milhões de toneladas, no entanto, ainda será necessário a importação de cerca de 4 milhões de toneladas. Isso demonstra que a produção do Brasil está crescendo, embora não o suficiente para abastecer o mercado interno. Sendo assim, é importante que haja uma maior produtividade para suprir a demanda do mercado nacional. Para isso, é fundamental que as plantas consigam tolerar estresses, como estresse hídrico.

Uma forma das plantas lidarem com estresses é acumular metabólitos que lhes confirmam algum tipo de alívio da condição pela qual estão passando. A prolina, por exemplo, é um iminoácido amplamente conhecido por seu potencial osmoprotetor (VENDRUSCOLO et al., 2007), além de atuar juntamente ao sistema antioxidante das plantas (LIANG, NATARAJAN e BECKER, 2013). A fenilalanina amônia liase (FAL) é uma enzima precursora da via dos fenilpropanóides e é ativada caso as plantas estejam sobre estresses abióticos ou bióticos (RIVERO et al., 2000; KHAN, PRITHIVIRAJ e SMITH, 2002). O teor de malondialdeído (MDA) é um indicativo de dano celular causado também por esses estresses (NIELSEN et al., 1997).

Bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) são bactérias que, quando inoculadas nas sementes ou no solo, estimulam crescimento vegetal através de solubilização de nutrientes, proteção contra patógenos, fornecimento de reguladores de crescimento vegetal, entre outros. Estas aplicações são uteis na agricultura e podem aumentar a produtividade de forma sustentável (SINGH et al, 2015). Além disso, segundo Nehra e Choudhary (2015), algumas bactérias podem promover aumento da tolerância ao estresse hídrico.

Alguns autores já comprovaram a eficiência da inoculação de trigo com BPCV, como é o caso de Furlan (2013), que utilizou as estirpes bacterianas *H.*

*seropedicae* e *A. brasilense*, no qual a combinação de ambas manteve o Teor Relativo de Água sob déficit hídrico além de manter a massa dos grãos, mesmo sob déficit de água severo. Sala e colaboradores, (2008) demonstraram que a inoculação de trigo, juntamente com adubação nitrogenada com *A. insolitus* aumentou a massa seca de folhas e colmo, além de aumentar significativamente o nitrogênio acumulado na espiga em relação ao tratamento controle.

*Herbaspirillum seropedicae*, foi inicialmente isolado a partir de plantas de milho, sorgo e arroz (Baldani et al., 1986) e segundo Balsanelli e colaboradores (2014) é uma bactéria promotora de crescimento vegetal. Nos últimos anos essa estirpe bacteriana tem sido estudada com objetivo de caracterizar seu potencial como promotora do crescimento vegetal e de proteção contra estresses. De acordo com Balsanelli e colaboradores (2014), *H. seropedicae* tem capacidade de se associar com plantas epifiticamente e endofiticamente, o que a torna apta a uma profunda interação com as plantas.

Ferreira, Guimaraes e Baldani (2011), encontraram resultados promissores inoculando cultivares de arroz com *H. seropedicae*. Em seu trabalho observaram que a inoculação pode substituir a adubação nitrogenada em até 50 kg N ha<sup>-1</sup> dependendo da cultivar. Chaves et al. (2015), ao inocularem variedades diferentes de cana-de-açúcar com BPCV e observaram que *H. seropedicae* apresentou maior produção de compostos indólicos, além disso proporcionou aumento de massa seca na parte aérea da variedade IACSP95-5000.

Em trigo respostas positivas foram encontradas como por exemplo por Ortolan (2015), quando plantas inoculadas com *H. seropedicae* apresentaram maior número de grãos/espiga/planta. Neiverth et al., (2014), apresentaram associação positiva entre alguns genótipos de trigo e *H. seropedicae*, além de incremento em parâmetros produtivos em virtude dessa associação.

## 1.1 OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi avaliar parâmetros fisiológicos e enzimático de plantas de trigo cv. CD 120 no emborrachamento, inoculadas com *Herbaspirillum seropedicae* e ainda, submetendo à restrição de irrigação.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 TRIGO

Trigo (*Triticum* spp.) é uma das plantas mais antigas cultivadas pela humanidade (ISHAN et al., 2016), além disso é a principal fonte de alimento humano (BUDAK H. KANTAR M. e KURTOGLU K. Y., 2013) e é uma importante fonte de proteínas, vitaminas e minerais (BRENCHLEY et al., 2012). Seu cultivo começou na Mesopotâmia, numa região chamada de Crescente Fértil - área que hoje vai do Egito ao Iraque (ABITRIGO, 2017).

O trigo é uma gramínea de ciclo anual, cultivada durante o inverno, consumido em forma de farinha ou ração animal (CONAB, 2016). Segundo a CONAB (2016, 2017), no Brasil, a produção anual oscila próximo a 6 milhões de toneladas e a atual safra (safra 2016/17), será uma safra recorde de aproximadamente 6,3 milhões de toneladas. Entretanto esta safra ainda não será suficiente, será necessário a importação de cerca de 4 milhões de toneladas.

Taxonomicamente, o trigo é uma planta monocotiledônea, da classe Liliopsida, ordem Poales, família das Poaceae e gênero *Triticum* (Arctos Database, 2017). De acordo com a Associação Brasileira da Indústria do Trigo – ABITRIGO (2017), existem cerca de 30 tipos de trigo no mundo e destas, três espécies são as mais cultivadas, chegando a 90% do total: *Triticum aestivum*, *Triticum compactum* e *Triticum durum*.

O *Triticum aestivum* é uma espécie muito estudada no mundo. Isto se dá por este tipo de trigo ser o mais apto a produzir farinha para panificação. De acordo com a ABITRIGO (2017), *T. aestivum* é o mais cultivado no planeta e é usado para produzir pão, *T. compactum* é utilizado na produção de biscoitos e *T. durum* é utilizado para fazer farinha para produção de massas e não é cultivado no Brasil.

## 2.2 HERBASPIRILLUM SEROPEDICAE

Segundo Roncato-Maccari et al. (2003), *Herbaspirillum* spp. é uma espécie bacteriana endofítica encontrada nas raízes, nos caules e nas folhas de diversas plantas, isso inclui gramíneas que são economicamente importantes, como cana-de-açúcar e arroz, estas podem apresentar elevadas quantidades das bactérias.

*Herbaspirillum seropedicae* foi isolado por Baldani e colaboradores no ano de 1986, na cidade de Seropédica, no estado do Rio de Janeiro. Os mesmos autores classificaram ainda, essas bactérias, como sendo vibrióides e às vezes helicoidais, móveis quando estão perto de uma fonte de O<sub>2</sub>, geralmente com dois flagelos polares (ocasionalmente de um a três flagelos) em um ou ambos os pólos.

Em culturas poáceas, a associação bacteriana de *H. seropedicae*, ao que parece, tem início com a ligação destas, às superfícies radiculares das plantas e posterior proliferação nos pontos onde emergem as raízes secundárias e então penetram pelas fissuras na epiderme (SCHMIDT et al., 2011).

A estirpe *H. seropedicae* SmR1 é um mutante espontâneo da estirpe Z78 que apresenta resistência a estreptomicina (PEDROSA et al., 2011). Segundo Pedrosa e colaboradores (2011), o genoma dessa estirpe apresenta formato circular e 5.513.887 pb, 4.735 potenciais ORFs, são quantificadas 3.108 proteínas conhecidas, 497 preditas e 1.130 com funções ainda desconhecidas.

## 2.3 CD 120

A cultivar de trigo CD 120 é originária do programa de melhoramento vegetal da Cooperativa Central de Pesquisa Agrícola (COODETEC - Paraná/Cascavel). Segundo a COODETEC, essa cultivar possui um ciclo de emergência médio, é moderadamente resistente ao acamamento, á

germinação da espiga e à debulha natural, além de ter uma fertilidade entre média e alta.

Essa cultivar, em estudos anteriores, apresentou desempenho positivo frente a inoculação com a bactéria *Herbaspirillum seropedicae* SmR1, apresentando aumento em parâmetros produtivos (NEIVERTH et al., 2014; FURLAN et al, 2013).

## 2.4 TEOR RELATIVO DE AGUA

O conceito do Teor Relativo de Água (TRA), foi desenvolvido por Weatherley (1950, 1951), e é uma medida da quantidade de água das folhas, que vem a ser, fundamentalmente, a comparação do teor de água do tecido de uma folha recém colhida, com o teor de água do mesmo tecido quando turgido (completamente cheio de água), e também quando completamente seco, expressando-se o resultado percentualmente.

Este índice é geralmente usado para indicar os níveis de disponibilidade de água no solo (PINTRO e FLORES, 2003; GAO et al., 2010) e demonstrar que as plantas estão sofrendo de estresse hídrico ou osmótico (FARRANT et al., 2015; VOLPIANO et al., 2013; JIANG W. e HUANG B., 2001).

Em experimento utilizando menta (*Mentha pulegium*), Candan e Tarhan (2012), observaram que plantas submetidas a estresse por alagamento, apresentaram redução no Teor Relativo de Agua em relação á plantas não estressadas, além disso, o teor foi diminuindo com o aumento do tempo de exposição ao alagamento. Os autores também observaram diminuição no TRA em plantas submetidas a diferentes intensidades de estresse osmótico, sendo maior a diminuição quanto maior a intensidade e duração do estresse.

Ahmad, Ozturk e Gucel (2012), submetendo cultivares de mostarda (*Brassica juncea* L.), a estresse por metais pesados - cádmio (Cd) e chumbo (Pb) separadamente e a combinação dos dois, observaram que o TRA diminui nas plantas submetidas á todos os estresses, mas a redução foi mais acentuada no tratamento em que as plantas foram submetidas a estresse por ambos os metais.

## 2.5 FENILALANINA AMONIA LIASE

Fenilalanina amônia liase (EC 4.3.1.5 - FAL), é uma enzima que catalisa a biotransformação da L-fenilalanina em ácido trans-cinâmico. (MAHER et al., 1994; RIVERO et al., 2000). A L-fenilalanina (L-Phe) é desaminada não oxidativamente para formar o ácido 7,8-trans-cinâmico insaturado e um íon amônio (JONES D. H., 1983; COCHRANE, DAVIN e LEWIS, 2004). Esta enzima pertence a uma grande superfamília de amônia-liase/aminomutase (ZHANG e LIU, 2014).

Estruturalmente, de acordo com Zhang e Liu (2014), a FAL é uma proteína contendo uma hélice e dois segmentos estruturais adicionais: uma extensão N-terminal móvel, que, segundo os autores, provavelmente ancora a enzima e interage com outros componentes celulares, e um domínio de blindagem específico localizado ao longo do centro ativo, o que, ainda segundo os mesmos, possivelmente controla a atividade enzimática restringindo o acesso do substrato a um canal estreito.

A fenilalanina amônia liase aumenta sua atividade em resposta a estresses abióticos e bióticos e é considerada importante na proteção contra os mesmos (RIVERO et al., 2000; KHAN, PRITHIVIRAJ e SMITH, 2002). Segundo Martínez-Tellez e Lafuente (1997), a indução de atividade da FAL em resposta a condições estressantes tem sido considerada como mecanismos defensivos de plantas contra o estresse. Conjuntamente a atividade de FAL, é altamente regulada durante o desenvolvimento associado ao tipo celular, síntese específica de lignina e de pigmentos flavonoides (LIANG et al., 1989).

FAL é a primeira enzima na biossíntese de uma ampla gama de compostos fenilpropanóides, tais como fenóis simples, antocianina, flavonóides e lignina (JU et al., 1994). De acordo com Dixon e Paiva (1995), a via dos fenilpropanóides é ativada sob estresse, isto porque, segundo os mesmos autores, essa via origina metabólitos secundários que protegem as plantas de diferentes formas. Segundo Zhang e Liu (2015), “esta via metabólica assimila cerca de 30-40% do carbono orgânico biosférico, terminando como polímero predominante de lignina nas paredes celulares”.

Segundo Bidlack (1995), a atividade da FAL pode estar mais estreitamente relacionada com a deposição de lignina, porque a quantidade de lignina acumulada é relacionável com a atividade da enzima FAL. Peng et al., (2014), encontraram correlação significativa entre acúmulo de lignina e a FAL em plantas de trigo. O acúmulo de lignina é importante para, por exemplo, construir barreiras estruturais que impeçam a penetração de patógenos nos tecidos vegetais (PURVAR, GUPTA e KUMAR, 2011), bem como evitar a perda de água pela planta.

Ainda, estudos bioquímicos, sugerem que as plantas sintetizam AS (ácido salicílico) a partir do cinamato produzido pela atividade da fenilalanina amônia liase (FAL) e seu papel mais conhecido é como molécula sinalizadora para respostas defensivas em plantas (CHEN et al., 2009). Segundo Vlot, Dempsey e Klessig (2009), o ácido salicílico é responsável pela ativação da resistência à doença em plantas, após infecção por patógenos.

Chaman e colaboradores (2003), submeteram plantas de cevada à infestação de pulgões, e observaram que a cultivar mais tolerante a este patógeno apresentou maior aumento na atividade da enzima FAL quando comparada a cultivar mais suscetível.

Ao analisarem os genes expressos por uma cultivar de trigo tolerante a ferrugem de listra (Xingzi 9104), causado pelo fungo *Puccinia striiformis* f. sp. tritici (Pst), Huang et al. (2013), observaram que as plantas expressaram 5 genes que são preditos para codificar a PAL.

## 2.6 PROLINA

Prolina é um iminoácido sintetizado a partir de glutamato pelas enzimas  $\Delta^1$ -pirrolina-5-carboxilato (P5C) sintetase (P5CS) e P5C redutase (P5CR) (LIANG et al., 2013). Prolina tem sido descrita como um composto que fornece tolerância contra diferentes stress abióticos que acarreta em aumento seu nível endógeno e suas enzimas intermediárias em plantas (SINGTH et al., 2014). O acúmulo de prolina está relacionado com a adaptação de plantas à diversas adversidades climáticas (DELAUNEY e VERMA, 1993). Segundo Kishor e

colaboradores (2015), a prolina se acumula sob condições de estresse e não estresse como um soluto benéfico nas plantas.

Muitos autores já identificaram aumento de prolina em diversos tipos de estresses, como estresse hídrico (VENDRUSCOLO et al., 2007; KEYVAN 2010), estresse salino (ÇIÇEK e ÇAKIRLAR, 2002; DUNN, DUNCAN e ROMEO, 1998), estresse por alagamento (waterlogging) (PARVIN e KARMOKER, 2013; PRASANNA e RAMARAO, 2014), entre outros.

Hare e Cress, (1997) afirmam que a prolina acumulada sob estresse pode servir para mais de um propósito. Além de atuar como um osmorregulador, a prolina contribui para a estabilização de estruturas subcelulares como na retirada de espécies de oxigênio reativas (reactive oxygen species - EROs) das plantas (HAYAT et al., 2012). Além disso, a prolina desempenha um papel vital na regulação da síntese proteica geral em plantas (KISHOR et al., 2015).

A prolina é reconhecida como uma molécula multifuncional, pois outro papel importante exercido por este iminoácido, é após episódio de estresse, a prolina acumulada pode ser degradada, fornecendo um grande suprimento energético, estimulando assim o crescimento das plantas, uma vez que o estresse fora aliviado (KISHOR e SREENIVASULU, 2014).

O acúmulo de prolina pode também acontecer espontaneamente em plantas devido ao seu desenvolvimento natural. Em tecidos reprodutivos ocorre um dessecamento, semelhante a estresse osmótico causado por fator ambiental, que pode comprometer o tecido vegetal, dessa forma, é provável que, como forma de compensação, haja acúmulo de prolina (MATTIOLI, COSTANTINO e TROVATO, 2009).

Ao submeterem diferentes cultivares de girassol a estresse hídrico ou waterlogging, Ünyayar, Keles e Ünal (2004), constataram que houve aumento de prolina no estresse hídrico, mas não houve mudanças no conteúdo de prolina quando as plantas foram submetidas a waterlogging.

Ray e parceiros (2016), observaram acúmulo de prolina em quatro cultivares diferentes de *Vigna radiata* (um tipo de feijão), expostas a estresse salino durante o início de seu período reprodutivo. Çiçek e Çakirlar (2002), também observaram aumento no conteúdo de prolina em duas cultivares de milho submetidas a estresse salino.

## 2.7 PEROXIDAÇÃO DE LIPÍDEOS (MDA)

As espécies reativas de oxigênio (EROs) foram inicialmente reconhecidas como subprodutos tóxicos do metabolismo aeróbio, removidas por meio de antioxidantes e enzimas antioxidantes (BAILEY-SERRES e MITTLER, 2006). Dentre elas encontra-se o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), que é um dos oxidantes mais versáteis que existe (MATTOS et al., 2003).

De acordo com Ferreira e Matsubara (1997), peróxido de hidrogênio não é um radical livre pois não possui elétrons desemparelhados na última camada. Os autores afirmam ainda, que O  $H_2O_2$  tem vida longa, é capaz de atravessar camadas lipídicas e é altamente tóxico para as células.

Uma das principais formas de danos celular por oxidação através de EROs é a peroxidação lipídica, na qual ocorre extração de átomos de hidrogênio a partir de ácidos graxos insaturados de fosfolipídios de membrana, causando uma lesão celular irreversível com um estresse oxidativo agudo (ALI et al., 2014; FARBER J. L., 1994), gerando alterações na permeabilidade e estrutura das membranas das células.

Um dos biomarcadores mais frequentemente utilizados para fornecer uma indicação do nível de peroxidação lipídica são os teores de malondialdeído (MDA) (NIELSEN et al., 1997). Isso acontece, por que o malondialdeído reage com facilidade com o ácido tiobarbitúrico (TBA). O teste de TBA é baseado na reatividade de TBA em relação ao MDA produzindo uma coloração vermelho fluorescente, podendo ser quantificado por espectrofotometria (AYALA A., MUÑOZ M. F., e ARGÜELLES S., 2014)

Por isso, os teores de malondialdeído são, geralmente, relacionados a diferentes tipos de estresse em plantas. Foi demonstrado aumento no nível de peroxidação de lipídeos (MDA) em plantas sob estresse hídrico (ARCOVERDE et al., 2011), estresse por waterlogging (LI et al., 2016; SAHA et al., 2017), estresse osmótico (HONG et al, 2000), salino (ESFANDIARI et al., 2007), entre outros.

Quando Queiroz, Garcia e Lemos Filho (2002), avaliaram efeitos do estresse hídrico e da reidratação sobre plantas de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Anacardiaceae), obtiveram como resultados um aumento no teor de

malondialdeído nas folhas das plantas que foram submetidas á estresse hídrico de 14 dias em relação as que não sofreram. Por outro lado, os mesmos autores ainda observaram que após 54 horas de reidratação o teor de MDA diminuiu, chegando a valores próximos ao observado em plantas que não sofreram restrição de água.

Liang e colaboradores (2003) realizaram experimento no qual analisaram duas cultivares diferentes de cevada, uma suscetível ao estresse salino e a outra tolerante, ainda observando se silicone poderia aliviar os efeitos do estresse salino. Os autores observaram que a cultivar tolerante á salinidade obteve resultados de teor de malondialdeído menores em comparação a cultivar suscetível quando ambas foram submetidas a estresse salino, além disso, para ambas as cultivares o teor de malondialdeído foi menor quando estas se encontravam submetidas á salinidade juntamente com silicone, em comparação á quando foram apenas submetidas á salinidade.

Em seu trabalho submetendo plantas de soja (*Glycine max*) á diferentes tempos de exposição á alumínio, Cakmak e Horst (1991) afirmam que o teor de malondialdeído sofreu consecutivos aumento à medida em que as plantas ficaram mais tempo expostas ao alumínio.

Lima, (2013) em seu experimento com *A. millefolium L.* (mil folhas) ensaiando diferentes condições de luminosidade, observou aumento da peroxidação de lipídios (MDA) a cada coleta, realizadas com intervalos de duas semanas. A autora ainda indicou que houve interação entre os fatores luminosidade e período de coleta.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 CULTIVO EM CASA DE VEGETAÇÃO**

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, com temperatura controlada entre 25 e 30°C, localizado na Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina, de maio a setembro de 2015. O genótipo de trigo (*Triticum aestivum*) avaliado foi o CD120 do programa de melhoramento da Cooperativa Central de Pesquisa Agrícola - COODETEC.

As plantas de trigo foram plantadas em vasos plásticos com capacidade aproximada de 10 Kg e o substrato utilizado foi terra coletada, na faixa de solo Horizonte B, peneirada. Não foi acrescida de nenhum fertilizante ou adubo de nenhuma espécie. O solo, após analisado apresentou as seguintes características físico-químicas: pH: 5,4; Matéria Orgânica: 22,58 g/dm<sup>3</sup>; P: 52,55 mg/dm<sup>3</sup>; K<sup>+</sup>: 0,43 cmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup>; Ca<sup>2+</sup>: 62,60 cmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup>; Mg<sup>2+</sup>: 1,56 cmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup>; Al<sup>3+</sup>: 0,00 cmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup>; H+Al<sup>3+</sup>: 2,19 cmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup>; Fe mg/dm<sup>3</sup>: 62,60 mg/dm<sup>3</sup>; Soma das Bases: 9,62%; Saturação das bases: 81,46; Argila: 72%; Areia: 20%; Silte 8%.

O plantio foi realizado manualmente, utilizando 9 sementes por vasos. Seguido da germinação das sementes, foi feita a seleção das plantas e deixadas 5 plantas por vaso. Quando houve aplicação de ureia, esta foi realizada 30 dias após a germinação das sementes na quantidade de 50 K de uréia por hectare.

Os vasos foram dispostos totalmente ao acaso e foram divididos em duas condições de irrigação: irrigado e não irrigado por 15 a partir do início do emborrachamento; e estes ainda divididos em 4 condições de plantio, onde em uma condição as sementes foram inoculadas com aproximadamente  $1 \times 10^6$  células da bactéria *H. Seropedicae*/semente e com adição de ureia e sem adição de ureia. Para controle, houve condição sem inoculação de bactéria e sem adição de ureia. Cada condição foi acompanhada por 5 repetições. Desta forma, as duas condições de irrigação foram subdivididas em quatro tratamentos: controle (C), fertilizado com uréia aos 30 dias após o plantio (N), inoculado no plantio (H) e fertilizado aos 30 dias e inoculado no plantio (HN).

Dois dias antes do plantio preparou-se um pré-inóculo em meio Dygs (MOUTIA et al., 2003) a partir das placas de petri com *H. Seropedicae*, previamente cultivadas e manteve-se em agitação a 120rpm, 28°C. Após crescimento bacteriano, uma alíquota deste pré-inóculo foi transferida para meio NFB-malato líquido (KLASSEN, et al., 1997), que foi colocado sob agitação e shaker 120rpm, 28°C. O crescimento do *H. Seropedicae* foi avaliado por espectrofotômetro modelo BEL Photonics Spectrophotometer SP 2000 UV, à 600 nm.

No emborrachamento, 60 dias após o plantio, as folhas de uma planta de cada vaso de todas as condições de irrigação foram tomadas como amostra

para análise sendo a 3ª folha para de Teor Relativo de Água (TRA), a 2ª folha para conteúdo de malondialdeído (MDA), e folha a bandeira para conteúdo de Prolina e Fenilalanina amônia liase (FAL). Os vasos destinados a condição de irrigação seguiram então irrigados e os destinados ao estresse hídrico seguiram sem irrigação durante 15 dias. Após esse período, (como descrito acima) foram coletadas e os mesmos ensaios realizados. As análises foram realizadas no Laboratório de Bioquímica e Genética – LABIOGEN, Departamento de Biociências, Setor Palotina da Universidade Federal do Paraná. As avaliações estatísticas dos resultados foram submetidos à ANOVA e as médias verificadas por Tukey ao nível de 0,5% de probabilidade e foi realizada usando o programa GENES (CRUZ, 2006).

### 3.2 MANUTENÇÃO E CRESCIMENTO DA BACTÉRIA

As bactérias foram mantidas no Laboratório Bioquímica e Genética – LABIOGEN, por sucessivas passagens em placas petri contendo meio NFB-Malato sólido e colocadas em estufa para crescimento bacteriano à 28°C e armazenadas em refrigerador.

### 3.3 TEOR RELATIVO DE ÁGUA

A avaliação do teor relativo de água, seguiu o protocolo descrito por Weatherley P. E. (1950, 1951) com pequenos ajustes, que consistiu no corte de 3 pedaços das folhas frescas em discos de 0,5 cm de diâmetro com um cortador de couro, na pesagem (peso fresco – mf), acondicionamento em recipiente de vidro com 40mL de água destilada e autoclavada, mantidos fechado e no escuro. Após 18 horas, os discos foram retirados, secos em papel toalha e pesados novamente (peso túrgido –mt). Os discos então foram colocados em envelopes de papel alumínio e levados à estufa a 50°C por 18 horas e pesados até peso constante (peso seco – ms).

O valor do teor relativo de água foi obtido em porcentagem através da seguinte fórmula:

$$RWC(\%) = \frac{(mf - ms)}{(mt - ms)} \times 100$$

### 3.4 FENILALANINA AMONIA LIASE (FAL)

A reação é baseada na formação irreversível do ácido transcinâmico que absorve especificamente no comprimento de onda de 275-290 nm (KOVACIK e KLEJDUS, 2012). De cada amostra foram pesados 0,6g de tecido foliar e macerados em gral com Nitrogênio líquido e 4mL de tampão borato de sódio 100mM pH 8,8, 2mM EDTA, 7 mM  $\beta$ -mercaptoetanol e transferidos para um tubo cônico de 15 mL e feita adição de 400mg de PVPP. Após homogeneização foram centrifugados por 10 minutos a 20.000g. Para o ensaio da reação foi tomada a alíquota de 100uL do sobrenadante para um tubo cônico de 15 mL que já continha 1600uL de tampão borato de sódio e mantido em banho maria a 40°C. Em seguida foi adicionado 600uL de Fen 50mM e iniciada a contagem do tempo de reação. A reação ocorreu por 1 hora. Ao final do tempo foi adicionado 100uL de HCl 6N e homogeneizado. Após, foi centrifugado por 5 minutos a 20000g. O sobrenadante foi retirado para leitura em espectrofotômetro modelo BEL Photonics Spectrophotometer SP 2000 UV, as absorbâncias foram determinadas a DO de 275nm.

### 3.5 CONTEÚDO DE PROLINA

O conteúdo de Prolina foi avaliado conforme Bates, 1973. Foi coletado 0,5 g de folhas. Posteriormente, adicionado 5mL de ácido sulfosalicílico 3%, maceradas vigorosamente em gral até o completo descoramento do tecido vegetal e centrifugadas a 16.000xg por 5 minutos. Do sobrenadante foi retirado uma alíquota de 250  $\mu$ L para um tubo de vidro com tampa de rosca e adicionado 500  $\mu$ L de solução 2,5 %(p/v) de ninhidrina em 6:4 v/v de ácido acético glacial e de ácido  $\theta$ -fosfórico 6M. Em seguida foi adicionado 500  $\mu$ L de

ácido acético glacial e, então aquecido em banho-maria a 100° C durante 1 hora. Após resfriados em banho de gelo, foi acrescentado 2mL de tolueno, agitado em vortex vigorosamente e, após a separação das fases, foi verificada a absorbância da fase toluenizada à 520nm.

### 3.6 AVALIAÇÃO DE PEROXIDAÇÃO DE LIPÍDEOS (MDA)

A avaliação do nível de peroxidação de lipídeos foi feita pela reação do ácido tiobarbitúrico segundo o protocolo de Hodges, 1999. Onde 0,5 g de massa foliar foi homogeneizado em gral com 10 ml de ácidotricloroacético (trichloro acetic acid – TCA) 0,1% (p/v) e o centrifugado a 15.000xg por 5 min. Uma alíquota de 2ml do sobrenadante foi transferido para outro tubo e adicionado 4 ml do ácido tiobarbitúrico (tiobarbituric acid – TBA) 0,5% (p/v). A mistura foi aquecida a 95°C por 30 minutos e então rapidamente refrigerada em gelo. Após centrifugado a 10.000xg por 10 min foi efetuada leituras da absorbância específica do produto da reação do malondialdeído com 2 moléculas de TBA) a 532 nm e a leitura da absorbância de produtos inespecíficos a 600nm.

Os cálculos da reação seguiram a fórmula, onde o teor do produto é dado pela diferença entre a leitura de absorbância específica e não específica e dividido pelo coeficiente de extinção molar destes produtos ( $155 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ).

$$MDA = \frac{(Abs\ 532\ nm - Abs\ 600nm)}{155 \times 10^{-3}}$$

### 3.7 COMPONENTES DA PRODUÇÃO

No final do ciclo, foi obtido as espigas para avaliar os parâmetros produtivos de comprimento de espiga (cm), peso de espiga (g), peso total de sementes (g) e número de sementes.

Para comprimento de espiga as espigas foram cortadas das plantas e medidas com régua. Para peso de espiga as espigas cortadas foram pesadas em balança analítica. Para peso total de sementes e número de sementes, todas as sementes de todas as espigas da planta foram contadas e pesadas.

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O solo utilizado no experimento apresentou baixa permeabilidade. Segundo Carvalho, Dias e Soares (2016), “a permeabilidade caracteriza a habilidade das rochas (ou solos) em permitir a circulação de fluidos contidos em seus poros”.

O solo utilizado foi retirado do horizonte-B, foi um solo bastante fino, pouco permeável e com características argilosas. Por ser desta forma, apresentaram alto Teor Relativo de Água nas folhas das plantas, além de além de baixo aumento no conteúdo de prolina, o que indica que as plantas não sofreram os efeitos da restrição hídrica.

##### 4.1 TEOR RELATIVO DE ÁGUA

O teor relativo de água (TRA) após os 15 dias do início do emborrachamento, para as condições, irrigado e não irrigado, se manteve por volta de 90% (fig. 1c), sendo que estas também não apresentaram diferença estatística do período inicial do emborrachamento (T0) (fig. 1 a e b). Estes resultados indicam que as plantas não perceberam a restrição de água. Entre as condições irrigado e seco, em T15, também não houve diferença estatística. As características do solo, como sua baixa permeabilidade certamente foi o que fez com que as plantas não sentissem a falta de água.

Furlan (2013), utilizando solo horizonte-A com características regulares de plantio, encontrou resultados semelhantes para a cultivar CD 120 inoculada com *Herbaspirillum seropedicae*, quando esta não se encontrava sob estresse hídrico, enquanto que, as plantas submetidas a estresse hídrico tiveram o TRA reduzido para 20-40% mostrando que, de fato, em nosso experimento as

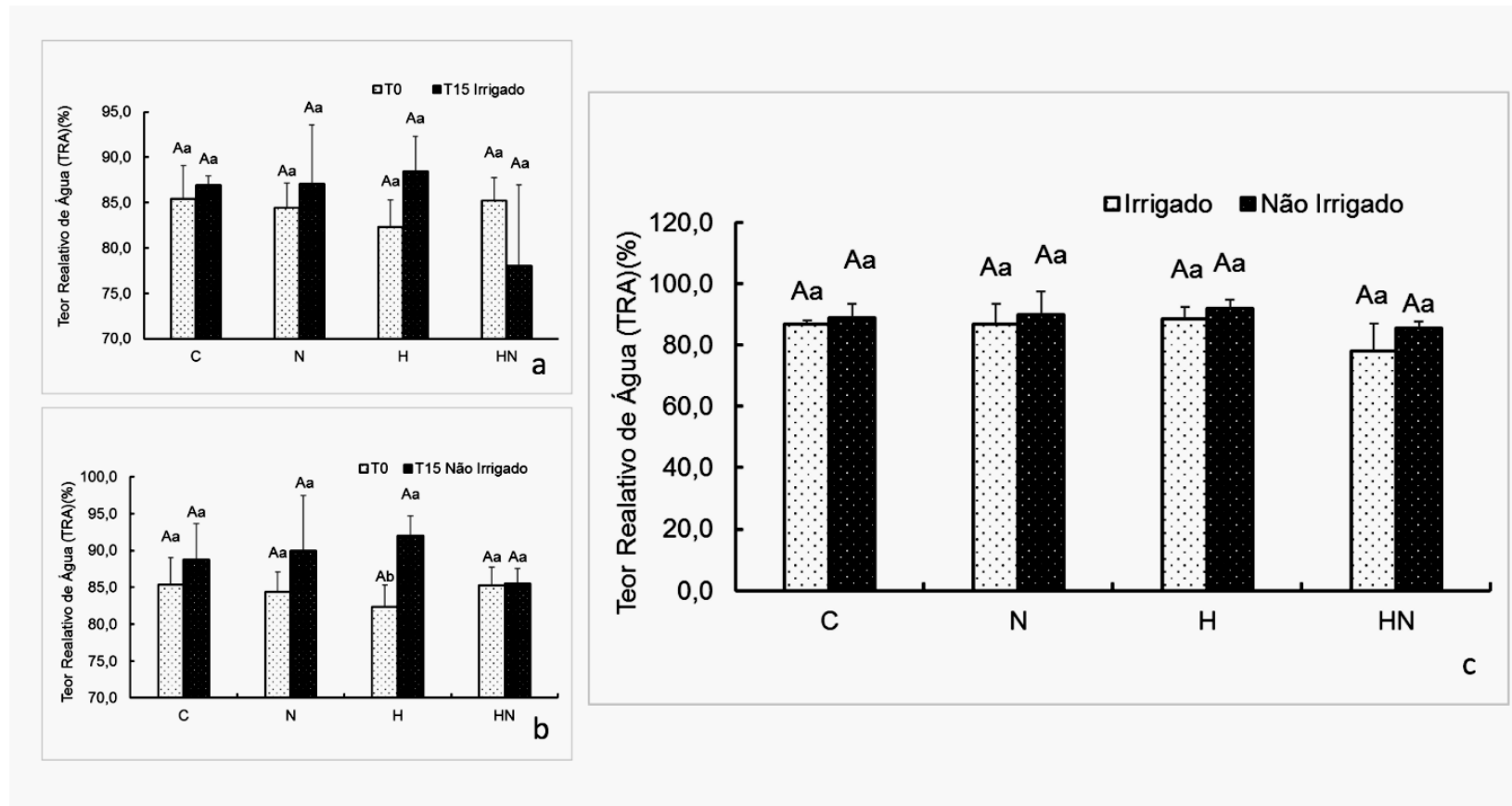
plantas não sentiram falta de água. Furlan (2013) também observou que as plantas inoculadas sob estresse hídrico, mantiveram o turgor das folhas similar às do controle não estressadas, enquanto que as plantas acrescidas de fertilizante nitrogenado sofreram redução no TRA para cerca de 40%.

Hendges et al., em análise a cultivar CD 120 de trigo, em solo Latossolo Vermelho Eutrófico corrigido, apresentou entre 91–94% de TRA nas plantas irrigadas normalmente, enquanto que os resultados diminuíram para 70–77% em plantas sob estresse hídrico.

Em oposição, He e colaboradores (2013), em experimento utilizando solo retirado do horizonte-B, aplicaram estresse hídrico em cultivares de azevém (*Lolium perenne* L.) inoculadas com estipes bacterianas (AR37 e Endo5 (AR5)). Os autores observaram diferença estatística entre plantas estressadas/não inoculadas em relação ao controle/não inoculado, porém o teor relativo de água se manteve alto, em torno de 82%, enquanto as estressadas/inoculadas e controle/inoculadas mantiveram o TRA acima de 90%. Estes resultados demonstram que o solo, exerce efeito sobre estas respostas nas plantas, especialmente por sua baixa permeabilidade.

Gonzalez e parceiros (2009), em pesquisa com Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd), submeteram as plantas a restrição hídrica e waterlogging. Os resultados obtidos para teor relativo de água foram, diminuição após estresse hídrico em relação ao controle e aumento, após waterlogging em relação ao controle.

Figura 1: Teor relativo de água de *Triticum aestivum* cv. CD 120 nas condições de inoculação/ fertilização do início do emborrachamento aos 60 dias. Comparação entre: tempo inicial (T0) e 15 dias após (T15) com irrigação (a); o tempo inicial (T0) e 15 dias após (T15) sem irrigação (b) e 15 dias (T15) após com e sem irrigação (c)



Letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente entre T0 e T15 (a) e (b) nas condições irrigado e não irrigado (c) pelo teste Tukey 5%. Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre si nas condições de inoculação/fertilização pelo teste Tukey 5%.

FONTE: O autor (2017).

Na literatura, autores apontam que em estresse salino, o TRA é reduzido, como observado por Çiçek e Çakırlar (2002), após submeterem duas cultivares diferentes de milho a estresse salino, Meloni e colaboradores, em plantas de *Prosopis alba*. e El-Bassiouny e Bekheta (2005), em trigo. Os últimos autores ainda observaram que o efeito foi elevado com maior salinidade do solo.

Submetendo plantas de *Festuca arundinacea* L. *Lolium perenne* L. a estresse por calor Jiang e Huang (2001), observaram que o teor relativo de água das folhas foi diminuindo ao aumentar o tempo de exposição ao estresse e foi ainda maior quando as plantas foram também submetidas a falta de água. Li e colaboradores (2013) relataram que houve que o estresse por calor afetou significativamente o TRA de plantas de alfalfa (*Medicago sativa* L. cv. *Huaiyin*), declinando conforme o tempo de exposição ao estresse.

As condições de estresse normalmente levam à diminuição do TRA. As condições de solo de horizonte B e alagamento para plantas resistentes, não apresentam diminuição neste parâmetro. Solo de horizonte B, que apresentam altas quantidades de argila, tem moléculas de água retidas na estrutura da argila, que parecem estar mantendo a quantidade de água suficiente para as plantas que foram submetidas a não irrigação. Por outro lado, apesar de não apresentar diferença estatística apresentam valores menores para os irrigados do que os não irrigados, possivelmente indicando estresse por excesso de água. No estresse por waterlogging a água se torna impedimento para as raízes acessarem oxigênio, O metabolismo de carboidratos e a atividade respiratória diminuem (GONZÁLEZ et al, 2009) causando redução na produtividade, (KIM, et al, 2015).

#### 4.2 ATIVIDADE DA ENZIMA FENILALANINA AMÔNIA LIASE

Os dados obtidos de atividade enzimática fenilalanina amonialiase estão na fig. 2 a, b e c. Entre as plantas irrigadas e não irrigadas após 15 dias do início do emborrachamento as condições controle e fertilização com ureia não apresentaram diferença da FAL. Entretanto a condição inoculada

apresentou menor FAL nas plantas não irrigadas enquanto que na condição com inoculação e fertilização foi menor do que a irrigada (figura 4c). Comparando a FAL do início do emborrachamento e após 15 dias, mantendo a irrigação, houve aumento da FAL para todos os as condições de inoculação e/ou fertilização, exceto para aquele onde houve inoculação de *H.seropedicae* com adição de ureia (figura 4a). Nesse mesmo período observa-se, que na condição onde não houve irrigação, em todas as condições de inoculação e/ou fertilização, houve aumento da atividade FAL (figura 4b).

Em seu trabalho Wada e colaboradores (2015), afirmam que estresses abióticos, causam aumento da expressão dos genes responsáveis pela FAL em plantas. Fenilalanina Amônia Liase, uma enzima chave na via fenilpropanóide, está envolvida na resposta de defesa das células vegetais (Gao S. et al., 2008).

Nguyen e colaboradores (2016), demonstraram que a atividade da FAL aumentou nas folhas bandeira em trigo alagado, mas diminui no entrenó das plantas. Waterlogging é uma circunstância em que o solo fica encharcado ou alagado, diminuindo a difusão do oxigênio na água, causando estresse na planta por reduzir o oxigênio na região radicular. (DU H. et al, 2016; DIAB, H., e LIMAMI A. M, 2016; AHMED F. et al, 2013). Por outro lado, Gall e parceiros (2015), afirmam que, por ser um precursor na biossíntese de lignina, a enzima fenilalanina amônia-liase, tende a diminuir em estresse por alagamento.

Dunn, Duncan e Romeo (1998), em experimento realizado com folhas de *Citrus limon* (limão siciliano) observaram diminuição da FAL em relação a salinidade do solo em uma correlação significativa. Entretanto Gao e colaboradores (2008), observaram aumento da FAL em *Jatropha curcas* (pinhão-manso) sob estresse salino.

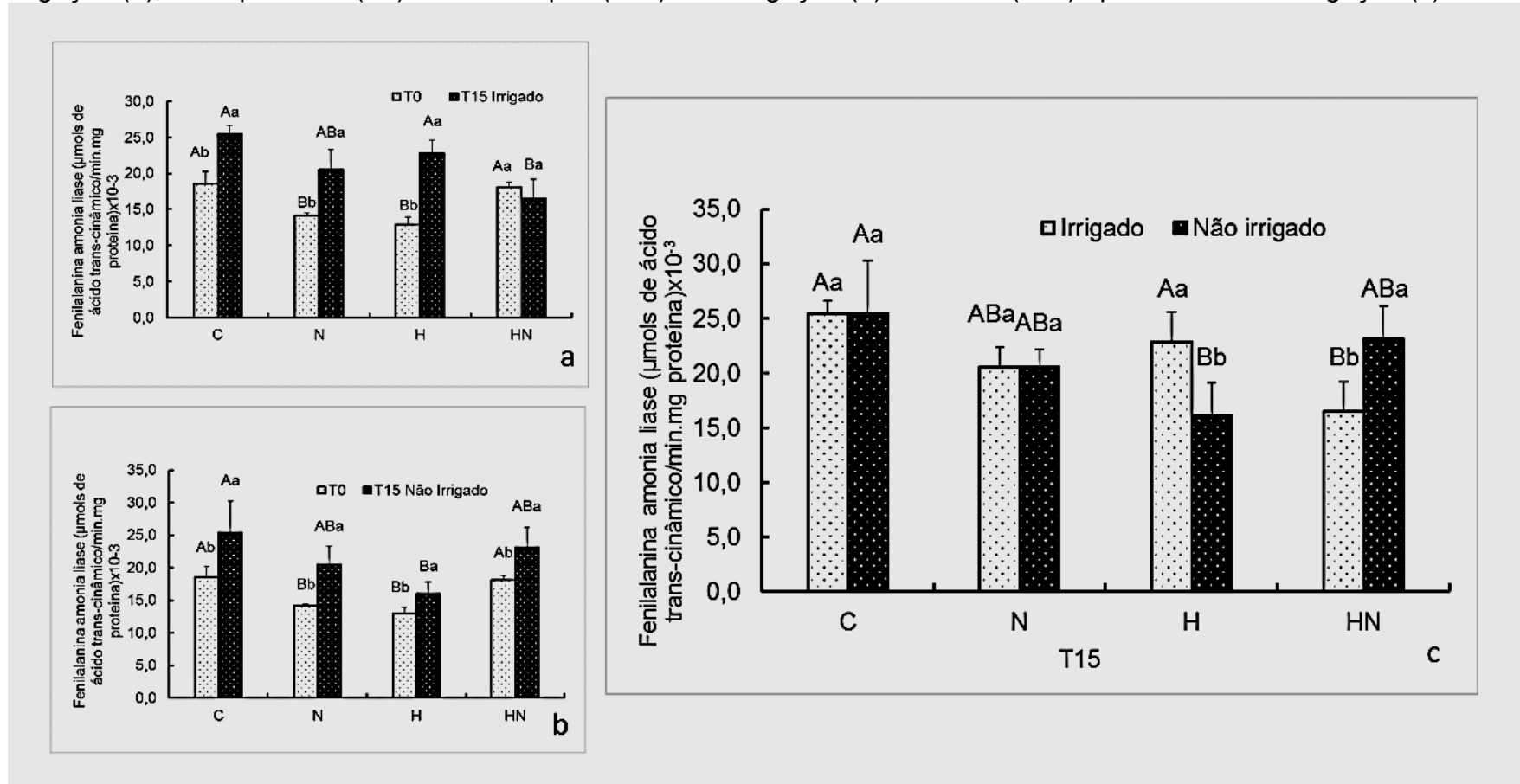
Rivero e colaboradores (2001), observaram aumento da FAL para estresses por calor e frio em plantas de tomate e de melão. Martínez-Tellez e Lafuente (1997), também observaram aumento na atividade da FAL em plantas de *Citrus reticulata* (tangerina) que foram submetidas a estresse térmico por frio. O mesmo efeito foi observado por Lafuente et al. (1999), onde o estresse por frio acarretou no aumento do teor de FAL em *Citrus reticulata* (tangerina).

Ortolan (2015), avaliou trigo cv. CD 120 no emborrachamento, utilizando Latossolo Vermelho eutrófico nas mesmas condições de

inoculação/fertilização apresentadas nesta dissertação e apresentou um conteúdo de FAL bem mais elevado do que nesta dissertação.

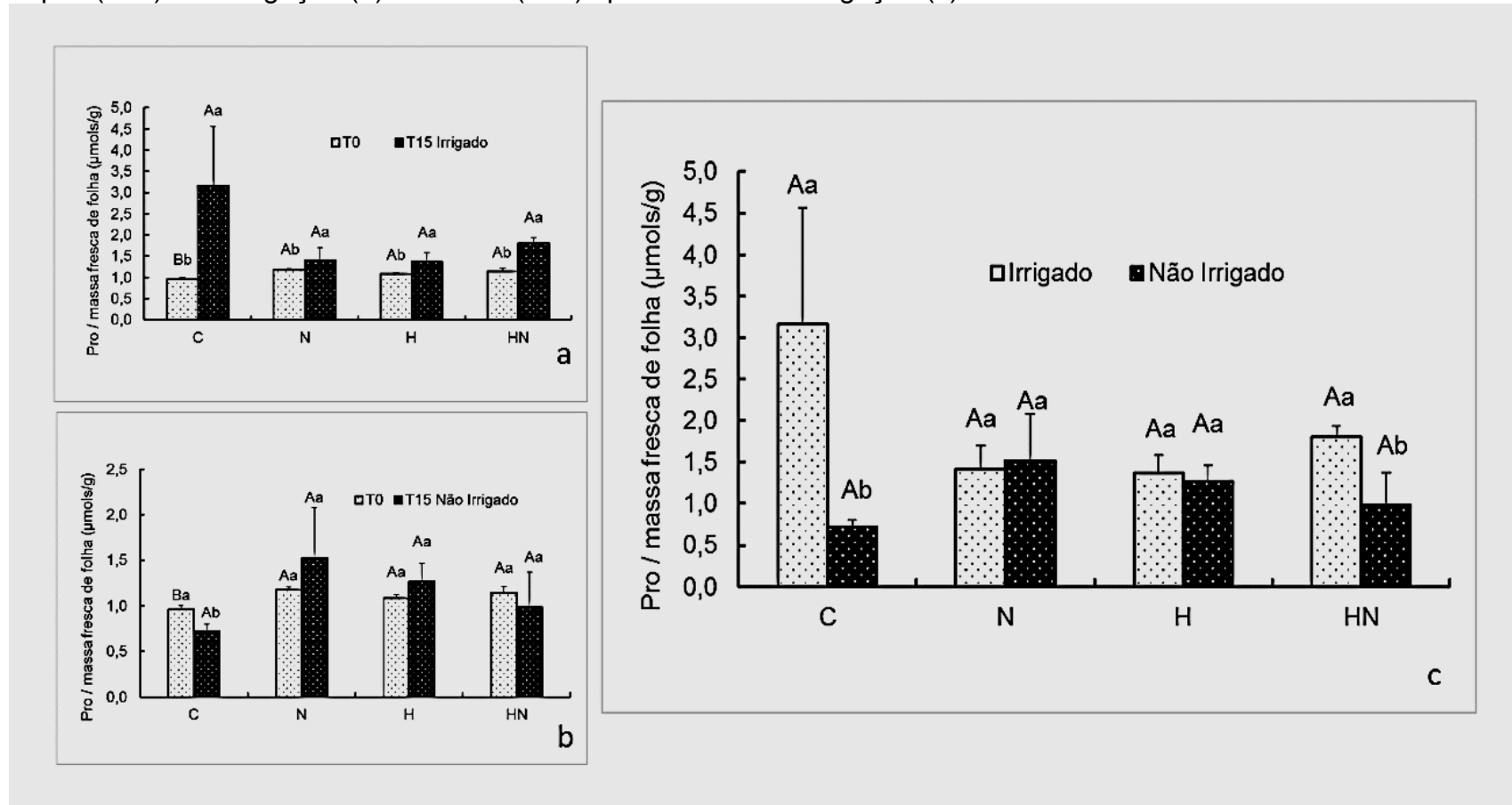
Observando dados obtidos neste trabalho, a FAL quantificada nas folhas não apresente influencia do solo e sim do desenvolvimento da planta dentro do estágio fenológico com aumento da atividade após 15 dias do início do emborrachamento. Entretanto são observados efeitos na inoculação e/ou fertilização que necessitam de melhor compreensão do fenômeno. Para isso propôs-se a análise de correlação entre os dados obtidos.

Figura 2. Atividade enzimática da Fenilalanina Amônia-liase de folhas de *Triticum aestivum* cv. CD 120 nas condições de inoculação/ fertilização do início do emborrachamento aos 60 dias. Comparação entre: tempo inicial (T0) e 15 dias após (T15) com irrigação (a); o tempo inicial (T0) e 15 dias após (T15) sem irrigação (b) e 15 dias (T15) após com e sem irrigação (c)



Letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente entre T0 e T15 (a) e (b) nas condições irrigado e não irrigado (c) pelo teste Tukey 5%. Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre si nas condições de inoculação/fertilização pelo teste Tukey 5%.  
 FONTE: O autor (2017).

Figura 3. Conteúdo de Prolina do *Triticum aestivum* cv. CD 120 nas condições de inoculação/ fertilização do início do emborrachamento aos 60 dias. Comparação entre: tempo inicial (T0) e 15 dias após (T15) com irrigação (a); o tempo inicial (T0) e 15 dias após (T15) sem irrigação (b) e 15 dias (T15) após com e sem irrigação (c)



Letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente entre si nas condições pelo teste Tukey 5%. Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre si nos tratamentos pelo teste Tukey 5%.

FONTE: O autor (2017).

### 4.3 CONTEÚDO DE PROLINA

Comparando o teor de prolina das folhas com e sem restrição hídrica após 15 dias do início do emborrachamento observou-se diminuição neste teor para as condições que foram submetidas à restrição hídrica controle e inoculado com *H. seropedicae* com fertilização por ureia (figura 3c). Na condição irrigada (sem restrição hídrica), houve aumento significativo do conteúdo de prolina, comparando com o tempo inicial do emborrachamento (T0) (fig. 3a). As plantas não irrigadas por 15 dias após o início no emborrachamento, apresentaram diminuição no controle (fig. 3b).

Ortolan (2015), avaliou o conteúdo de prolina de plantas de trigo cv. CD 120 durante o emborrachamento, utilizando solo corrigido e apresentando as mesmas condições de inoculação/fertilização desta dissertação. Enquanto nos resultados aqui apresentados o conteúdo de prolina manteve uma média aproximada entre todas as condições no T0, Ortolan (2015), observou uma quantidade elevada nos tratamentos inoculados.

Estes resultados são diferentes, comparados com aos encontrados por Fumis e Pedras (2002), que utilizaram o substrato arenoso para submeter as cultivares Anahuac e IAC-24 de trigo à estresse hídrico. Em ambas as cultivares houve aumento do conteúdo de prolina após restrição hídrica. Por outro lado, Keyvan (2010), ao testar cultivares de trigo sob restrição hídrica, utilizando solo argiloso, não obteve valores altos de acúmulo de prolina. Desta forma, destaca-se a influência do tipo de solo sobre estes resultados.

Alexieva, e colaboradores (2001), observaram que o conteúdo de Prolina diminuiu em trigo, quando exposto a estresse hídrico e radiação UV quando comparado com estresse hídrico como único efeito. Entretanto o solo utilizado neste experimento, sendo argiloso, não perdeu significativamente água, não submetendo as plantas à perda de água (avaliado pelo TRA), mas resultando em algum dano as estruturas foliares (MDA). Ainda, em seu experimento Gadallah (1995), verificou aumento no conteúdo de prolina, em plantas de *Ricinus communis* L. (mamona) submetidas ao alagamento (waterlogging).

Segundo Hossain e colaboradores (2014), as plantas geralmente acumulam prolina em resposta a estresses abióticos, tais como salinidade, seca, temperaturas extremas, entre outros. Singh e companheiros (2014), afirmam que “a prolina fornece tolerância contra diferentes estresses abióticos aumentando seu nível endógeno e suas enzimas intermediárias em plantas”.

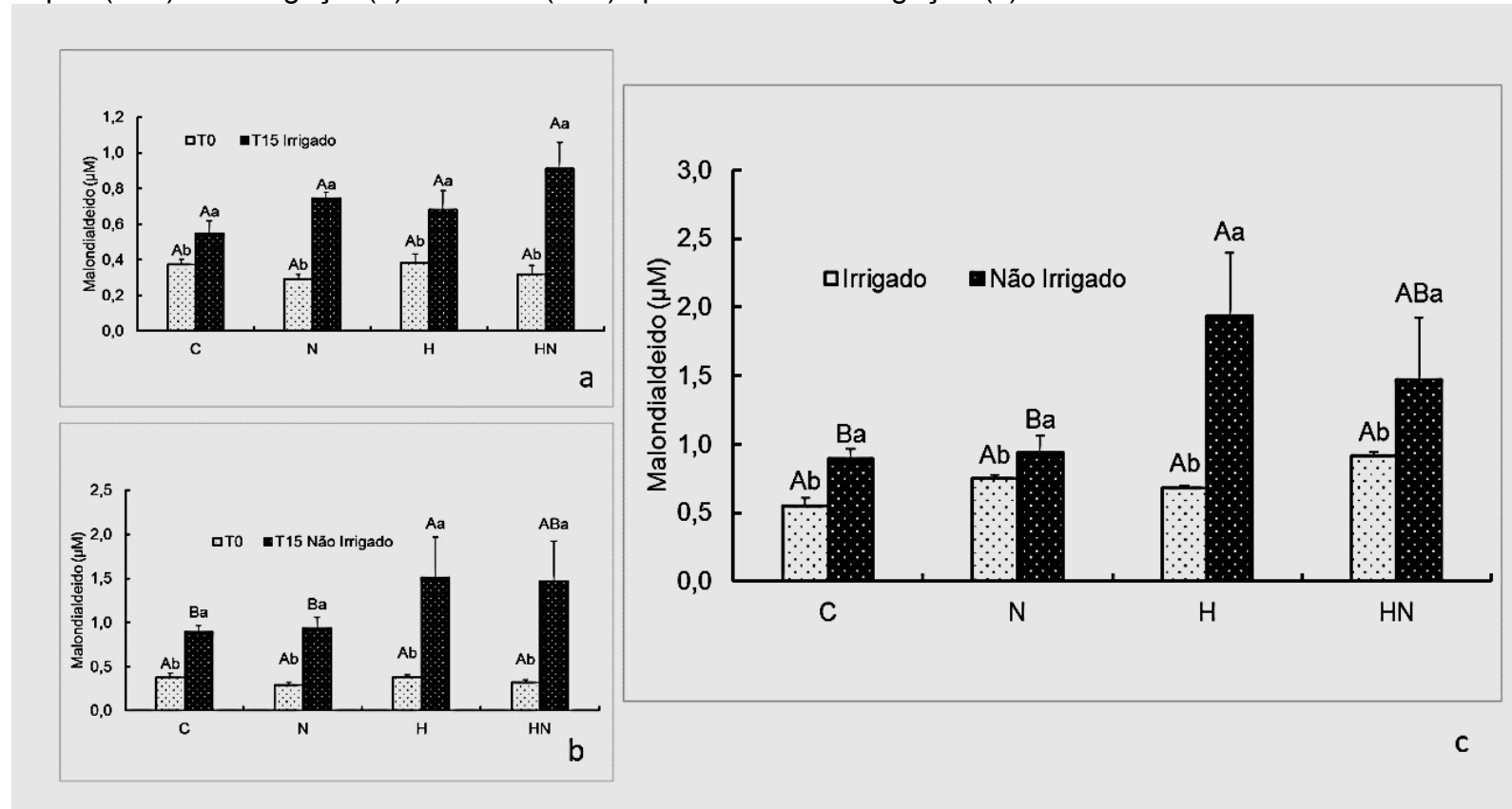
Segundo Kishor e Sreenivasulu (2014), “a concentração de prolina aumenta significativamente em condições fisiológicas normais tanto em células de que tecido vegetal que se dividem ativamente, no tecido senescente e em tecido reprodutivo e dessecante”. Em trigo cv CD 104, parental do ensaiado neste trabalho a evolução não houve aumento em 8 dias dentro do estágio de emborrachamento para o mesmo parâmetro avaliado, tampouco para MDA, apenas entre o perfilhamento e emborrachamento (Lemos, 2011).

Ainda Mattioli, Costantino e Trovato (2009), afirmam que semelhantemente ao estresse osmótico causado por qualquer tipo de fator ambiental, ocorre processo de dessecação naturalmente em tecidos reprodutivos, que tem a capacidade de danificar e comprometer a célula vegetal e é possível que este seja compensado pelo acúmulo de prolina pelas plantas. Portanto, visto que não foram encontradas evidências de que em nosso trabalho as plantas sofreram estresse por falta de irrigamento, é provável que a variação dos níveis de prolina em especial na condição controle (sem inoculação e sem adição de ureia), possa ser explicado pela não alagamento na condição não irrigado, da mesma forma para a condição de inoculação associada com adição de ureia. Sendo possível ainda supor efeito benéfico da atuação em separado das condições de adição de ureia e inoculação com *H. seropedicae* pois atenuou o efeito do excesso de água nas plantas que foram mantidas irrigadas.

#### 4.4 NÍVEL DE PEROXIDAÇÃO DE LIPÍDIOS: CONTEÚDO DE MALONDIALDEÍDO (MDA)

O nível de peroxidação de lipídios (medido em termos de conteúdo de malondialdeído) aumentou para as condições irrigado e não irrigado após 15 dias do início do emborrachamento (T15) (fig. 4 c).

Figura 4. Teor de malondialdeído do *Triticum aestivum* cv. CD 120 nas condições de inoculação/ fertilização do início do emborrachamento aos 60 dias. Comparação entre: tempo inicial (T0) e 15 dias após (T15) com irrigação (a); o tempo inicial (T0) e 15 dias após (T15) sem irrigação(b) e 15 dias (T15) após com e sem irrigação (c)



Letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente entre T0 e T15 (a) e (b) nas condições irrigado e não irrigado (c) pelo teste Tukey 5%. Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre si nas condições de inoculação/fertilização pelo teste Tukey 5%

FONTE: O autor (2017).

Observa-se também que entre as condições de inoculação e/ou fertilização, as condições onde houve inoculação de *H. seropedicae* destacou-se entre as demais, apresentando maior conteúdo de peroxidação lipídica na presença.

Em análise com a cultivar de trigo CD120, Hendges e colaboradores, (2015), utilizaram Latossolo Vermelho eutrófico corrigido em seu experimento e observaram no emborrachamento, uma média de teor de malondialdeído mais alta do que observada nesta dissertação.

Arcoverde e colaboradores (2011) estudando *Jatropha curcas* L. (pinhão-mansão) em dois padrões de estresse hídrico diferentes e fazendo uso de solo onde foi misturado terra preta, argila do horizonte-B e areia na proporção de 3:1:1. Observaram aumento do teor de MDA somente quando as plantas foram submetidas a estresse hídrico severo. O que se assemelha com os dados nesta dissertação. Considerando que as plantas não sofreram falta de água (por não ter havido mudança no TRA), o aumento do teor de malondialdeído deve-se a efeito do solo, muito argiloso o que, segundo Ahmed e colaboradores (2012), acarreta em falta de oxigênio para as raízes das plantas, causando danos.

Da mesma forma que apresentado neste experimento, Lima, (2013) em seu experimento com *A. millefolium* L. (mil folhas) ensaiando condições de luminosidade, observou aumento da peroxidação de lipídios (MDA). O solo utilizado no plantio do experimento foi solo do horizonte-B e ocorreu aumento do teor de MDA a cada coleta, que foram realizadas com intervalos de duas semanas, sugerindo que há influência do solo neste comportamento. A autora ainda indicou que houve interação entre os fatores luminosidade e período de coleta.

An e colaboradores (2016), submeteram *Ficus carica* Linn a estresse por alagamento (waterlogging) e observaram aumento do teor de malondialdeído nas plantas em comparação a outras que não sofreram estresse. Li e parceiros (2015), observaram que em cultivares de *Brassica napus* L. o teor de MDA foi maior, quanto mais suscetíveis ao waterlogging foram as cultivares

Em experimento com duas cultivares de trigo sob estresse salino, El-Bassiouny e Bekheta (2005), notaram que peroxidação lipídica foi aumentada

com o aumento do nível de salinidade para ambas as cultivares. Da mesma forma, sob o mesmo estresse Esfadiari e colaboradores (2007), observaram que em plantas de trigo houve aumento do MDA especialmente na cultivar suscetível a salinidade.

Ainda, Ashraf, Ashraf e Ali (2010), observaram aumento da peroxidação de lipídeos em cultivares de trigo expostas ao estresse salino, em que o aumento foi maior no cultivar suscetível comparada a cultivar tolerante, mas para ambas o aumento dos teores de MDA foram maiores nos estádios de embotramento e reprodutivos do que no estágio vegetativo, demonstrando grande influência dos estádios fenológicos das plantas sobre parâmetros fisiológicos. Jun e colaboradores (2005), também observaram aumento no conteúdo de malondialdeído em plantas de arroz com o progresso de seu desenvolvimento fenológico.

A literatura indica que todos os fatores abióticos observados aumentam os níveis de peroxidação lipídica. Entretanto este efeito também acompanha o desenvolvimento das folhas nos estádios fenológicos. Neste trabalho ficam evidenciados os efeitos da não irrigação, causando maior dano aos lipídios de membrana do que as plantas que foram irrigadas normalmente (T15). Entretanto se somam a este o efeito do desenvolvimento das folhas dentro do embotramento.

As condições de inoculação, sobremaneira aumentaram o conteúdo de MDA, indicando efeito prejudicial na associação nas condições deste experimento.

#### 4.5 COMPONENTES DA PRODUÇÃO

Não houve diferença estatística, para a maioria dos parâmetros de produtividade, entre as plantas que não foram submetidas a 15 dias de restrição hídrica após o início do emborrachamento (irrigado) e as que foram submetidas (seco) (tabela 1). Entretanto, na condição em que as sementes foram inoculadas no plantio e também foram fertilizadas com uréia após 30 dias de plantio (HN) na condição seca houve aumento significativo de produtividade em relação a condição irrigada nos parâmetros avaliados: Peso de Espiga (g), Peso de sementes (g) e Número de Sementes. (tabela 2). Estes resultados que demonstram que as plantas sofreram algum efeito relacionado ao solo pouco permeável, por isso as plantas que sofreram restrição hídrica obtiveram melhor desempenho.

Entre os tratamentos, dentro da condição Irrigado somente apresentou diferença estatística o parâmetro de comprimento de espiga, onde o Controle teve maior comprimento e o HN teve o menor (tabela 2). Observou-se efeito dos tratamentos na condição Seco, os quais, para os parâmetros de peso de espiga e peso de sementes o Controle apresentou menores pesos e o tratamento N apresentou os maiores. Quanto ao número de sementes, o tratamento N, juntamente com o tratamento HN, estatisticamente apresentaram os maiores valores e o Controle apresentou os menores valores (tabela 2).

Furlan (2013), em experimento utilizando a cultivar CD 120, inoculada com *H. seropedicae* em condições similares de fertilização, obteve resultados parecidos quando as plantas não foram submetidas a restrição hídrica, para o parâmetro peso de sementes. O autor, porém, observou diminuição significativa nesse parâmetro após as plantas sofrerem déficit hídrico parcial e severo. Em sua pesquisa o Furlan (2013), utilizou solo fértil e com características arenosas, diferentemente do solo apresentado neste trabalho, apontando os efeitos do solo sobre os resultados aqui obtidos.

Utilizando plantas de trigo Gaertner, Dedeczek e Biscaia (2003), conduziram experimento em solo de textura muito argilosa e, apesar de imporem regimes hídricos diferenciados, também não apresentaram diferenças

significativas no parâmetro produtivo de peso de grãos entre eles, evidenciando que há sim, influência das características do solo sobre o comportamento da planta.

Sob efeito de estresse hídrico Allahverdiyev e colaboradores (2015), observaram redução dos valores de parâmetros produtivos, bem como Ihsan e parceiros (2016), que notaram diferentes respostas dependendo da cultivar de trigo, mas em todos os casos houve menor produção após estresse hídrico.

Malik e parceiros (2001), ao estudarem trigo sob waterlogging, concluíram que mesmo em plantas que ficaram períodos curtos sob efeito desse estresse, parou o crescimento de raízes seminais, além de diminuir os perfilhos e crescimento foliar, fatores esses que são de grande influência na produtividade. Steffens e colaboradores (2005), afirmam que a diminuição do crescimento do trigo, se dá porque o excesso de água causa um suprimento sub-ótimo de nutrientes.

Tabela 1. Parâmetros de produtividade do CD 120. Plantas submetidas e não submetidas a restrição hídrica durante 15 dias após o início do emborrachamento, nas diferentes condições de inoculação e/ou fertilização.

Condições de inoculação / fertilização	Comprimento de Espiga (Cm)		Peso de Espiga (g)		Peso Sementes (g)		Número de Sementes	
	Irrigado	Não irrigado	Irrigado	Não irrigado	Irrigado	Não irrigado	Irrigado	Não irrigado
<b>C</b>	7±2 Aa	4,9±0,2 Ba	1,2±0,5 Aa	0,5±0,1Ba	0,7±0,05 Aa	0,46±0,01 Ba	27±12 Aa	13±6 Ba
<b>N</b>	6,4±0,1 ABa	7,4±0,8 Ba	0,8±0,1 Aa	1,3±0,4 Aa	0,6±0,1Aa	0,9±0,3 Aa	17± 3Aa	33±4 Aa
<b>H</b>	5,1±0,1 ABa	5,4±0,5 Ba	0,84±0,03 Aa	0,8±0,3 ABa	0,5±0,09 Aa	0,5±0,03Aba	17,3±0,6 Aa	20±7 ABa
<b>HN</b>	4,5±0,2 Ba	6,1±1,0 ABa	0,55±0,08 Ab	1,0±0,03 ABa	0,3±0,01 Ab	0,8±0,06 Aba	13±4 Ab	29±1 Aa
<b>CV%</b>	17,6	12,2	34,8	30,1	19,6	25,01	3,09	21,07

C – Controle; N – Fertilizado com uréia após 30 dias de plantio na proporção 50 kg ha<sup>-1</sup>; H – Sementes inoculadas com *H. seropedicae SmR1* no momento do plantio; HN - Sementes inoculadas com *H. seropedicae SmR1* no momento do plantio e fertilizadas com uréia após 30 dias de plantio na proporção. Cada valor representa a média (n=5), seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna, e minúscula na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey (p≤0,05).

FONTE: O autor (2017).

Tabela 2. Coeficiente de correlação de Pearson para os parâmetros analisados no experimento.

	TRA	PRO	MDA	FAL	CE	PE	PS	NS
TRA	-	-0,43*	-0,27	0,56**	-0,22	-0,40*	-0,22	0,59**
PRO		-	-0,25	-0,61**	0,32	0,40*	-0,42*	0,01
MDA			-	-0,43*	-0,27	0,51**	-0,23	-0,47**
FAL				-	-0,24	-0,56**	0,58**	0,18
CE					-	-0,43*	-0,26	0,57**
PE						-	-0,27	-0,55**
OS							-	-0,43*
NS								-

TRA: Teor Relativo de Água; PRO: Prolina; MDA: Malondialdeído; CE: Comprimento de Espiga; PE: Peso de Espiga; PS: Peso Total de Sementes; NS: Número de Sementes. As médias numéricas acrescidas de \* são significativas a  $p \leq 0,05\%$  e acrescidas de \*\* são significativas a  $p \leq 0,01\%$ .

FONTE: O autor (2017).

Na tabela 2 apresentam-se os resultados das correlações de Pearson entre os parâmetros fisiológicos, produtivos e enzimático. Apresenta-se correlação significativa positiva entre TRA e FAL, e Peso de sementes e FAL. Há correlação significativa negativa entre Prolina e FAL, Peso de espiga e FAL, e MDA e FAL. Também apresentam correlação significativa positiva: MDA e peso de espiga; Número de Sementes e Comprimento de Espiga; Número de Sementes e TRA; Prolina e Peso de Espiga; Comprimento de Espiga e Numero de Sementes. Peso de Espiga e Número de Sementes correlacionaram-se significativamente negativamente, bem como: Peso de Sementes e Número de Sementes; Comprimento de Espiga e Peso de Espiga; TRA e Peso de Espiga.

Ao contrário do encontrado por Lemos (2013), houve correlação negativa entre PE e NS, indicando alta produção de palha nas espigas de trigo. A correlação significativa positiva entre TRA e NS e negativa entre TRA e PE indica uma preferencia na manutenção hídrica das sementes em detrimento á matéria seca, visto que o PE e NS obtiveram correlação negativa, mesmo que não significativa e o

TRA foi mantido sem alteração estatística entre ao longo do experimento. Em azevém, Müller e colaboradores (2012) observaram correlação estatisticamente negativa entre massa seca total e peso de mil grãos.

Silva e colaboradores (2005), igualmente ao apresentado nessa dissertação, encontraram correlação significativamente positiva entre CE e NS em seis genótipos de trigo, indicando que se trata de uma característica comum em plantas de trigo.

A fenilalanina amônia liase, está envolvida no processo de regulação da lignina, assim, regulação positiva resulta em níveis aumentados de lignina (ANTEROLA A. M. e LEWIS N. G., 2002) indicando, nesse caso, que ao final do estágio de emborrachamento, a deposição de lignina se concentrou nas sementes e diminuiu no resto da espiga, visto que PS e FAL apresentaram correlação positiva e PE e FAL negativa.

Houve correlação significativamente positiva entre FAL e TRA. Jaafar, Ibrahim e Fakri. (2012), em seu experimento testando a influência da capacidade de campo de água do solo, sobre metabólitos secundários em plantas, também encontrou correlação positiva entre eles, mas não significativa. Por outro lado, o mesmo autor também obteve correlação positiva significativa para FAL e MDA, contrariando os resultados aqui observados.

Também em oposição aos dados observados nesse trabalho, Dunn, Duncan e Romeo (1998), encontraram correlação significativamente positiva entre prolina e FAL, quando estudaram *Citrus limon* exposto a estresse salino. Os autores ainda obtiveram correlação estatisticamente positiva entre tempo de exposição ao estresse e as variáveis FAL e prolina separadamente.

Autores afirmam que o conteúdo de prolina e de MDA pode ser aumentado em virtude do estágio de desenvolvimento das plantas, (MATTIOLI, COSTANTINO E TROVATO, 2009; JUN et al., 2005; KISHOR e SREENIVASULU 2014), enquanto que a FAL tem acréscimo de sua atividade em virtude de resposta a estresses abióticos e bióticos (RIVERO et al., 2000; KHAN, PRITHIVIRAJ e SMITH, 2002). Não foi observado estresse sobre as plantas de trigo, mas sim seu desenvolvimento normal entrando no emborrachamento e 15 dias depois entrando no florescimento. Dessa forma, explica-se a correlação significativamente negativa entre prolina e FAL e, MDA e FAL.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Observou-se resultados que demonstram as mudanças ocorridas nas plantas de trigo em virtude de seu avanço fenológico sob inoculação e sob os diferentes regimes de irrigação. Por fim, conclui-se que:

As plantas de trigo não sofreram estresse hídrico, provavelmente por causa das características do solo (argiloso).

Observou-se efeito da inoculação e da combinação da inoculação e fertilização.

Não é possível afirmar que a fertilização nitrogenada, sozinha, exerceu efeito sobre as plantas.

Os efeitos observados nas plantas foram relacionados ao desenvolvimento dentro do estágio fenológico e a efeito do solo.

## REFERÊNCIAS

ABITRIGO –. **O que é o trigo?** Disponível em: <http://www.abitrigo.com.br/trigo.php>. Abitrigo - Associação Brasileira da Indústria do Trigo. Acesso em: 14 de fevereiro de 2017.

ABITRIGO – Trigo na História. Disponível em: <http://www.abitrigo.com.br/trigo-na-historia.php>. Abitrigo - Associação Brasileira da Indústria do Trigo. Acesso em 14 de fevereiro de 2017.

AHMAD, Parvaiz; OZTURK, Munir; GUCEL, Salih. Oxidative damage and antioxidants induced by heavy metal stress in two cultivars of mustard (*Brassica juncea* L.) plants. **Fresenius Environ Bull**, v. 21, p. 2953-2961, 2012.

AHMED, Fahim et al. Waterlogging tolerance of crops: breeding, mechanism of tolerance, molecular approaches, and future prospects. **BioMed research international**, v. 2013, 2012.

ALEXIEVA, V. et al. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant, Cell & Environment**, v. 24, n. 12, p. 1337-1344, 2001.

ALI, Mohammad et al. Lipid Peroxidation as a Biomarker for Exposure of Pesticides. **International Journal**, v. 2, n. 9, p. 717-720, 2014.

ALLAHVERDIYEV, Tofiq I. et al. Effect of drought stress on some physiological parameters, yield, yield components of durum (*Triticum durum* desf.) and bread (*Triticum aestivum* L.) wheat genotypes. **Ekin Journal of Crop Breeding and Genetics**, v. 1, n. 1, p. 50-62, 2015.

AN, Yuyan; QI, Lin; WANG, Liangju. ALA pretreatment improves waterlogging tolerance of fig plants. **PloS one**, v. 11, n. 1, p. e0147202, 2016.

ANTEROLA, Aldwin M.; LEWIS, Norman G. Trends in lignin modification: a comprehensive analysis of the effects of genetic manipulations/mutations on lignification and vascular integrity. **Phytochemistry**, v. 61, n. 3, p. 221-294, 2002.

ARCOVERDE, Gabriela B. et al. Water relations and some aspects of leaf metabolism of *Jatropha curcas* young plants under two water deficit levels and recovery. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 23, n. 2, p. 123-130, 2011.

ARCTOS -Taxonomy Details for *Triticum aestivum*. Disponível em: <http://arctos.database.museum/name/Triticum%20aestivum>. Acesso em: 14 de fevereiro de 2017.

ASHRAF, Muhammad Arslan et al. Response of two genetically diverse wheat cultivars to salt stress at different growth stages: leaf lipid peroxidation and phenolic contents. **Pak J Bot**, v. 42, n. 1, p. 559-565, 2010.

AYALA, Antonio; MUÑOZ, Mario F.; ARGÜELLES, Sandro. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2014, 2014.

BALDANI, J. I. et al. Characterization of *Herbaspirillum seropedicae* gen. nov., sp. nov., a root-associated nitrogen-fixing bacterium. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 36, n. 1, p. 86-93, 1986.

BALSANELLI, Eduardo et al. Exopolysaccharide biosynthesis enables mature biofilm formation on abiotic surfaces by *Herbaspirillum seropedicae*. **PloS one**, v. 9, n. 10, p. e110392, 2014.

BAILEY-SERRES, Julia; MITTLER, Ron. The roles of reactive oxygen species in plant cells. 2006.

BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and soil**, v. 39, n. 1, p. 205-207, 1973.

BIDLACK, J. E. et al. Phenylalanine ammonia lyase as a precursory enzyme of legume stem lignification. **Canadian journal of plant science**, v. 75, n. 1, p. 135-140, 1995.

BRENCHLEY, Rachel et al. Analysis of the bread wheat genome using whole-genome shotgun sequencing. **Nature**, v. 491, n. 7426, p. 705-710, 2012.

BUDAK, Hikmet; KANTAR, Melda; YUCEBILGILI KURTOGLU, Kuaybe. Drought tolerance in modern and wild wheat. **The Scientific World Journal**, v. 2013, 2013.

CANDAN, Nilgün; TARHAN, Leman. Tolerance or sensitivity responses of *Mentha pulegium* to osmotic and waterlogging stress in terms of antioxidant defense systems and membrane lipid peroxidation. **Environmental and experimental botany**, v. 75, p. 83-88, 2012.

CARVALHO, Maura Renata; DIAS, Gleide Alencar; SOARES, José Agnelo. Estudo Experimental do Efeito da Argilosidade Sobre as Propriedades Físicas de Solos. **Anuário do Instituto de Geociências**, v. 39, n. 2, p. 108-115, 2016.

CHAMAN, Mercedes E.; COPAJA, Sylvia V.; ARGANDOÑA, Victor H. Relationships between salicylic acid content, phenylalanine ammonia-lyase (PAL) activity, and resistance of barley to aphid infestation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 8, p. 2227-2231, 2003.

CHAVES, Valfredo Almeida et al. Initial Development of Two Sugarcane Varieties Inoculated with Diazotrophic Bacteria. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 39, n. 6, p. 1595-1602, 2015.

CHEN, Chunquan et al. Defense enzymes induced in cucumber roots by treatment with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and *Pythium aphanidermatum*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 56, n. 1, p. 13-23, 2000.

CICEK, Nuran; CAKIRLAR, Husnu. The effect of salinity on some physiological parameters in two maize cultivars. **Bulg. J. plant physiol**, v. 28, n. 1-2, p. 66-74, 2002.

COCHRANE, Fiona C.; DAVIN, Laurence B.; LEWIS, Norman G. The Arabidopsis phenylalanine ammonia lyase gene family: kinetic characterization of the four PAL isoforms. **Phytochemistry**, v. 65, n. 11, p. 1557-1564, 2004.

COODETEC – **Guia de produtos 2012**. Disponível em: [http://www.coodetec.com.br/downloads/Guia\\_de\\_produtos\\_Trigo.pdf](http://www.coodetec.com.br/downloads/Guia_de_produtos_Trigo.pdf). COODETEC – Cooperativa Central de Pesquisa Agrícola. Acesso em: 14 de fevereiro de 2017.

CONAB – **Acompanhamento da Safra Brasileira: grãos 2016/17, Quinto levantamento – Fevereiro de 2017**. Brasília: Conab – Comoanhia Nacional de Abastecimento, 2017. 129 p.

CONAB – **Relatório Sintético das Atividades da Conab – Outubro de 2016**. Brasília: Conab – Comoanhia Nacional de Abastecimento, 2016. 35 p.

CRUZ, C. D. Programa Genes - Estatística Experimental E Matrizes. Viçosa: UFV - Universidade Federal de Viçosa, v.1. 2006. 285 p.

DELAUNEY, Ashton J.; VERMA, Desh Pal S. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. **The plant journal**, v. 4, n. 2, p. 215-223, 1993.

DIXON, Richard A.; PAIVA, Nancy L. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. **The plant cell**, v. 7, n. 7, p. 1085, 1995.

DUNN, Denise C.; DUNCAN, Larry W.; ROMEO, John T. Changes in arginine, pal activity, and nematode behavior in salinity-stressed citrus in honour of Professor GH Neil Towers 75th birthday. **Phytochemistry**, v. 49, n. 2, p. 413-417, 1998.

EL-BASSIOUNY, HALA MS; BEKHETA, M. A. Effect of salt stress on relative water content, lipid peroxidation, polyamines, amino acids and ethylene of two wheat cultivars. **Int. J. Agric. Biol**, v. 7, n. 3, p. 363-368, 2005.

ESFANDIARI, Ezatollah et al. THE EFFECT OF SALT STRESS ON ANTIOXIDANT ENZYMES'ACTIVITY AND LIPID PEROXIDATION ON THE WHEAT SEEDLING. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 35, n. 1, p. 48, 2007.

FARBER, John L. Mechanisms of cell injury by activated oxygen species. **Environmental health perspectives**, v. 102, n. Suppl 10, p. 17, 1994.

- FARRANT, Jill M. et al. A molecular physiological review of vegetative desiccation tolerance in the resurrection plant *Xerophyta viscosa* (Baker). **Planta**, v. 242, n. 2, p. 407-426, 2015.
- FERREIRA, J. et al. Produção de grãos de arroz em função da inoculação com *Herbaspirillum seropedicae*. **Enciclopédia Biosfera**, v. 7, n. 13, p. 826-833, 2011.
- FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.
- FUMIS, Terezinha; PEDRAS, José Figueiredo. Variação nos níveis de prolina, diamina e poliaminas em cultivares de trigo submetidas a déficits hídricos. **Pesq. agropec. bras., Brasília**, v. 37, n. 4, p. 449-453, 2002.
- FURLAN, FERNANDO. CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MESTRADO EM AGRONOMIA. Dissertação, Universidade Federal do Paraná, 2013.
- GADALLAH, M. A. A. Effect of waterlogging and kinetin on the stability of leaf membranes, leaf osmotic potential, soluble carbon and nitrogen compounds and chlorophyll content of *Ricinus* plants. **PHYTON-HORN-**, v. 35, p. 199-208, 1995.
- GAERTNER, Carlos; DEDECEK, Renato Antonio; BISCAIA, Rui Maranhão. Produtividade de trigo e soja em Latossolo Vermelho distrófico sob erosão simulada e causada pela chuva. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 12, p. 1443-1449, 2003.
- GAO, S. et al. Effects of salt stress on growth, antioxidant enzyme and phenylalanine ammonia-lyase activities in *Jatropha curcas* L. seedlings. **Plant Soil Environ**, v. 54, n. 9, p. 374-381, 2008.
- GONZÁLEZ, Juan A. et al. Physiological responses of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) to drought and waterlogging stresses: dry matter partitioning. **Botanical Studies**, v. 50, n. 1, p. 35-42, 2009.
- HARE, P. D.; CRESS, W. A. Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. **Plant growth regulation**, v. 21, n. 2, p. 79-102, 1997.
- HAYAT, Shamsul et al. Growth of tomato (*Lycopersicon esculentum*) in response to salicylic acid under water stress. **Journal of Plant Interactions**, v. 3, n. 4, p. 297-304, 2008.
- HAYAT, Shamsul et al. Role of proline under changing environments: a review. **Plant Signaling & Behavior**, v. 7, n. 11, p. 1456-1466, 2012.
- HE, L. et al. Endophyte-infection reduces leaf dehydration of ryegrass and tall fescue plants under moderate water deficit. In: **New Zealand Grasslands Association**. 2013. p. 5-7.

HENDGES, Flávia Bordignon et al. Avaliação enzimática e fisiológica de plântulas de milho submetidas à seca. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v. 4, n. 2, 2015.

HODGES, D. Mark et al. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. **Planta**, v. 207, n. 4, p. 604-611, 1999.

HONG, Zonglie et al. Removal of feedback inhibition of  $\Delta$ 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase results in increased proline accumulation and protection of plants from osmotic stress. **Plant physiology**, v. 122, n. 4, p. 1129-1136, 2000.

HOSSAIN, Mohammad Anwar et al. Proline protects plants against abiotic oxidative stress: biochemical and molecular mechanisms. **Oxidative damage to plants. Elsevier, San Diego, USA**, p. 477-522, 2014.

HUANG, Xue-Ling et al. Genes involved in adult plant resistance to stripe rust in wheat cultivar Xingzi 9104. **Physiological and molecular plant pathology**, v. 81, p. 26-32, 2013.

IHSAN, Muhammad Z. et al. Wheat phenological development and growth studies as affected by drought and late season high temperature stress under arid environment. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, 2016.

JAAFAR, Hawa; IBRAHIM, Mohd Hafiz; FAKRI, Nur Farhana. Impact of soil field water capacity on secondary metabolites, phenylalanine ammonia-lyase (PAL), malondialdehyde (MDA) and photosynthetic responses of Malaysian Kacip Fatimah (*Labisia pumila* Benth). **Molecules**, v. 17, n. 6, p. 7305-7322, 2012.

JIANG, Yiwei; HUANG, Bingru. Physiological responses to heat stress alone or in combination with drought: A comparison between tall fescue and perennial ryegrass. **HortScience**, v. 36, n. 4, p. 682-686, 2001

JONES, D. Hugh. Phenylalanine ammonia-lyase: regulation of its induction, and its role in plant development. **Phytochemistry**, v. 23, n. 7, p. 1349-1359, 1984.

JU, Zhi-Guo et al. Relationships among phenylalanine ammonia-lyase activity, simple phenol concentrations and anthocyanin accumulation in apple. **Scientia Horticulturae**, v. 61, n. 3, p. 215-226, 1995.

NIE, Jun et al. Physiological basis of photosynthetic function and senescence of rice leaves as regulated by controlled-release nitrogen fertilizer. **Rice Sci**, v. 12, n. 4, p. 275-282, 2005.

KEYVAN, Shamsi et al. The effects of drought stress on yield, relative water content, proline, soluble carbohydrates and chlorophyll of bread wheat cultivars. **J. Anim. Plant Sci**, v. 8, n. 3, p. 1051-1060, 2010.

KHAN, Wajahatullah; PRITHIVIRAJ, Balakrishnan; SMITH, Donald L. Chitosan and chitin oligomers increase phenylalanine ammonia-lyase and tyrosine ammonia-lyase activities in soybean leaves. **Journal of plant physiology**, v. 160, n. 8, p. 859-863, 2003.

KIM, Yoon-Ha et al. Comparative analysis of endogenous hormones level in two soybean (*Glycine max* L.) lines differing in waterlogging tolerance. **Frontiers in plant science**, v. 6, 2015

KISHOR, KAVI; POLAVARAPU, B.; SREENIVASULU, NESE. Is proline accumulation per se correlated with stress tolerance or is proline homeostasis a more critical issue? **Plant, cell & environment**, v. 37, n. 2, p. 300-311, 2014.

KOVACIK, J. e KLEJDUS, B. Tissue and method specificities of phenylalanine ammonia-lyase assay. **J Plant Physiol**, v.169, n.13, Sep 1, p.1317-20. 2012

KLASSEN, G., F. O. PEDROSA, E. M. SOUZA, S. FUNAYAMA e L. U. RIGO. Effect of Nitrogen Compounds on Nitrogenase Activity in *Herbaspirillum Seropedicae* Smr1. **Canadian Journal of Microbiology**, v.43, n.9, p.887-891. 1997.

KISHOR, Polavarapu B. Kavi et al. Role of proline in cell wall synthesis and plant development and its implications in plant ontogeny. **Frontiers in plant science**, v. 6, 2015.

LAFUENTE, M. T. et al. Physiological and Biochemical Responses Associated With Chilling Sensitivity of "Fortune" Mandarins and Temperature Conditioning. In : Gerasopoulos D. (ed.). Post-harvest losses of perishable horticultural products in the Mediterranean region. Chania: CIHEAM, 1999. p. 125-14 **Cahiers Options Méditerranéennes**; n.42, 1999.

LE GALL, Hyacinthe et al. Cell wall metabolism in response to abiotic stress. **Plants**, v. 4, n. 1, p. 112-166, 2015.

LEMOS, Juliane Mendes et al. Resposta de cultivares de trigo à inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense*, e à adubação nitrogenada em cobertura. **Científica**, v. 41, n. 2, p. 189-198, 2013.

LI, Weimin et al. Proteomics analysis of alfalfa response to heat stress. **PLoS One**, v. 8, n. 12, p. e82725, 2013.

LI, Hao-Jie et al. Consistency of Different Indices in Rapeseed (*Brassica napus*) may Predict the Waterlogging Tolerance. **International Journal of Agriculture & Biology**, v. 18, n. 1, 2016.

LI, Weiyu et al. Favorable alleles for stem water-soluble carbohydrates identified by association analysis contribute to grain weight under drought stress conditions in wheat. **PloS one**, v. 10, n. 3, p. e0119438, 2015.

LIANG, X. W. et al. Differential regulation of phenylalanine ammonia-lyase genes during plant development and by environmental cues. **Journal of Biological Chemistry**, v. 264, n. 24, p. 14486-14492, 1989.

LIANG, Xinwen et al. Proline mechanisms of stress survival. **Antioxidants & redox signaling**, v. 19, n. 9, p. 998-1011, 2013.

LIMA, Milene Conceição. Atividade biológica e parâmetros bioquímicos e fisiológicos influenciados por fatores abióticos em *Achillea millefolium* L. 2013, 116 p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Pelotas. 2013.

MAHER, Eileen A. et al. Increased disease susceptibility of transgenic tobacco plants with suppressed levels of preformed phenylpropanoid products. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 91, n. 16, p. 7802-7806, 1994.

MALIK, Al Imran et al. Short-term waterlogging has long-term effects on the growth and physiology of wheat. **New Phytologist**, v. 153, n. 2, p. 225-236, 2002.

MARTINEZ-TELLEZ, M. A.; LAFUENTE, M. T. Effect of high temperature conditioning on ethylene, phenylalanine ammonia-lyase, peroxidase and polyphenol oxidase activities in flavedo of chilled «Fortune» mandarin fruit. **Journal of Plant Physiology**, v. 150, n. 6, p. 674-678, 1997.

MATTOS, Ivanildo Luiz et al. Peróxido de hidrogênio: importância e determinação. **Química nova**, v. 26, n. 3, p. 373-380, 2003

MATTIOLI, Roberto; COSTANTINO, Paolo; TROVATO, Maurizio. Proline accumulation in plants: not only stress. **Plant signaling & behavior**, v. 4, n. 11, p. 1016-1018, 2009.

MELONI, Diego Ariel et al. The effects of salt stress on growth, nitrate reduction and proline and glycinebetaine accumulation in *Prosopis alba*. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 16, n. 1, p. 39-46, 2004.

MOUTIA, J. F. Y., G. UMRIT, A. S. SAUMTALLY e K. F. NG KEE KWONG. The Role of Diazotrophic Bacteria in the Nitrogen Nutrition of Sugar Cane in Mauritius: Preliminary Results. **AMAS - Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius.**, p.29-39. 2003.

MÜLLER, Liziany et al. Correlações de Pearson e canônica entre componentes da matéria seca da forragem e sementes de azevém. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, n. 1, p. 086-093, 2012.

NIELSEN, Flemming et al. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. **Clinical chemistry**, v. 43, n. 7, p. 1209-1214, 1997.

NEIVERTH, Adeline et al. Performance of different wheat genotypes inoculated with the plant growth promoting bacterium *Herbaspirillum seropedicae*. **European Journal of Soil Biology**, v. 64, p. 1-5, 2014.

NEHRA, Vibha; CHOUDHARY, Madhu. A review on plant growth promoting rhizobacteria acting as bioinoculants and their biological approach towards the production of sustainable agriculture. **J Appl Nat Sci**, v. 7, n. 1, p. 540-556, 2015.

NGUYEN, Tran-Nguyen et al. Lignin biosynthesis in wheat (*Triticum aestivum* L.): its response to waterlogging and association with hormonal levels. **BMC plant biology**, v. 16, n. 1, p. 28, 2016.

NIELSEN, Flemming et al. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. **Clinical chemistry**, v. 43, n. 7, p. 1209-1214, 1997.

ORTOLAN, SARAH ROMANI; ESTRESSE, NITROGÊNIO E. DE RESPOSTAS AO; DE TRIGO, NA ASSOCIAÇÃO. CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON. Dissertação, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2015.

PARVIN, Dilruba; KARMOKER, J. L. Effects of waterlogging on ion accumulation and sugar, protein and proline contents in *Corchorus capsularis* L. **Bangladesh Journal of Botany**, v. 42, n. 1, p. 55-64, 2013.

PEDROSA, Fábio O. et al. Genome of *Herbaspirillum seropedicae* strain SmR1, a specialized diazotrophic endophyte of tropical grasses. **PLoS Genet**, v. 7, n. 5, p. e1002064, 2011.

PENG, Dianliang et al. Lodging resistance of winter wheat (*Triticum aestivum* L.): Lignin accumulation and its related enzymes activities due to the application of paclobutrazol or gibberellin acid. **Field Crops Research**, v. 157, p. 1-7, 2014.

PINTRO, José Carlos; FLORES, Feliciano Edi Vieira. Crescimento e Trocas De Co<sub>2</sub> de Plantas Jovens de Erva-Mate Cultivadas Sob Diferentes Níveis De Disponibilidade de Água no Solo. **Scientia Agraria**, v. 4, n. 1, p. 35-40, 2003.

PRASANA Y. W. e RAMARAO G. . Effect of Waterlogging on Physiological and Biochemical Parameters and Seed Yield in Greengram Genotypes. **International Journal of Food**, v. 4, n. 2, p.176-183, 2014.

RAY, Shuma Rani et al. Chitosan ameliorates growth and biochemical attributes in mungbean varieties under saline condition. **Research in Agriculture Livestock and Fisheries**, v. 3, n. 1, p. 45-51, 2016.

RIVERO, Rosa M. et al. Resistance to cold and heat stress: accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants. **Plant Science**, v. 160, n. 2, p. 315-321, 2001.

RONCATO-MACCARI, Lauren DB et al. Endophytic *Herbaspirillum seropedicae* expresses nif genes in gramineous plants. **FEMS microbiology ecology**, v. 45, n. 1, p. 39-47, 2003.

SALA, Valeria Marino Rodrigues et al. Novas bactérias diazotróficas endofíticas na cultura do trigo em interação com a adubação nitrogenada, no campo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 3, p. 1099-1106, 2008.

SAHA, R. R. et al. Physiological and biochemical changes in waterlog tolerant sesame genotypes. **SAARC Journal of Agriculture**, v. 14, n. 2, p. 31-45, 2017.

SCHMIDT, M. A. et al. Evidence for the endophytic colonization of *Phaseolus vulgaris* (common bean) roots by the diazotroph *Herbaspirillum seropedicae*. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 44, n. 3, p. 182-185, 2011.

SHALINI, Purwar; SANJAY MOHAN, Gupta; ANIL, Kumar. Enzymes of phenylpropanoid metabolism involved in strengthening the structural barrier for providing genotype and stage dependent resistance to Karnal bunt in wheat. **American Journal of Plant Sciences**, v. 2012, 2012.

SILVA, Simone Alves et al. Path analysis for the yield components of seeds in wheat. **Bragantia**, v. 64, n. 2, p. 191-196, 2005.

SINGH, M. et al. Proline and salinity tolerance in plants. **Biochem. Pharmacol**, v. 3, p. 1000170, 2014.

STEFFENS, D. et al. Water logging may inhibit plant growth primarily by nutrient deficiency rather than nutrient toxicity. **Plant Soil and Environment**, v. 51, n. 12, p. 545, 2005.

ÜNYAYAR, Serpil; KELEP, Yüksel; ÜNAL, Elif. Proline and ABA levels in two sunflower genotypes subjected to water stress. In: **Bulg. J. Plant Physiol.** 2004.

VENDRUSCOLO, Eliane Cristina Gruszka et al. Stress-induced synthesis of proline confers tolerance to water deficit in transgenic wheat. **Journal of plant physiology**, v. 164, n. 10, p. 1367-1376, 2007.

VOLPIANO, Camila Gazolla et al. Análise Fisiológica do Co-cultivo das BPCV *Herbaspirillum seropedicae* SmR1 e *Azospirillum brasilense* AbV5 com Plântulas de Trigo in vitro sob Condições de Estresse Hídrico. **BBR-Biochemistry and Biotechnology Reports**, v. 2, n. 3esp, p. 94-97, 2013

VLOT, A. Corina; DEMPSEY, D.'Maris Amick; KLESSIG, Daniel F. Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease. **Annual review of phytopathology**, v. 47, p. 177-206, 2009.

ZHANG, Xuebin; LIU, Chang-Jun. Multifaceted regulations of gateway enzyme phenylalanine ammonia-lyase in the biosynthesis of phenylpropanoids. **Molecular plant**, v. 8, n. 1, p. 17-27, 2015.

WADA, Kaede C. et al. Stress enhances the gene expression and enzyme activity of phenylalanine ammonia-lyase and the endogenous content of salicylic acid to induce flowering in Pharbitis. **Journal of plant physiology**, v. 171, n. 11, p. 895-902, 2014.

WEATHERLEY, P. E. Studies in the water relations of the cotton plant. **New Phytologist**, v. 49, n. 1, p. 81-97, 1950

WEATHERLEY, P. E. Studies in the water relations of the cotton plant. **New Phytologist**, v. 50, n. 1, p. 36-51, 1951.