

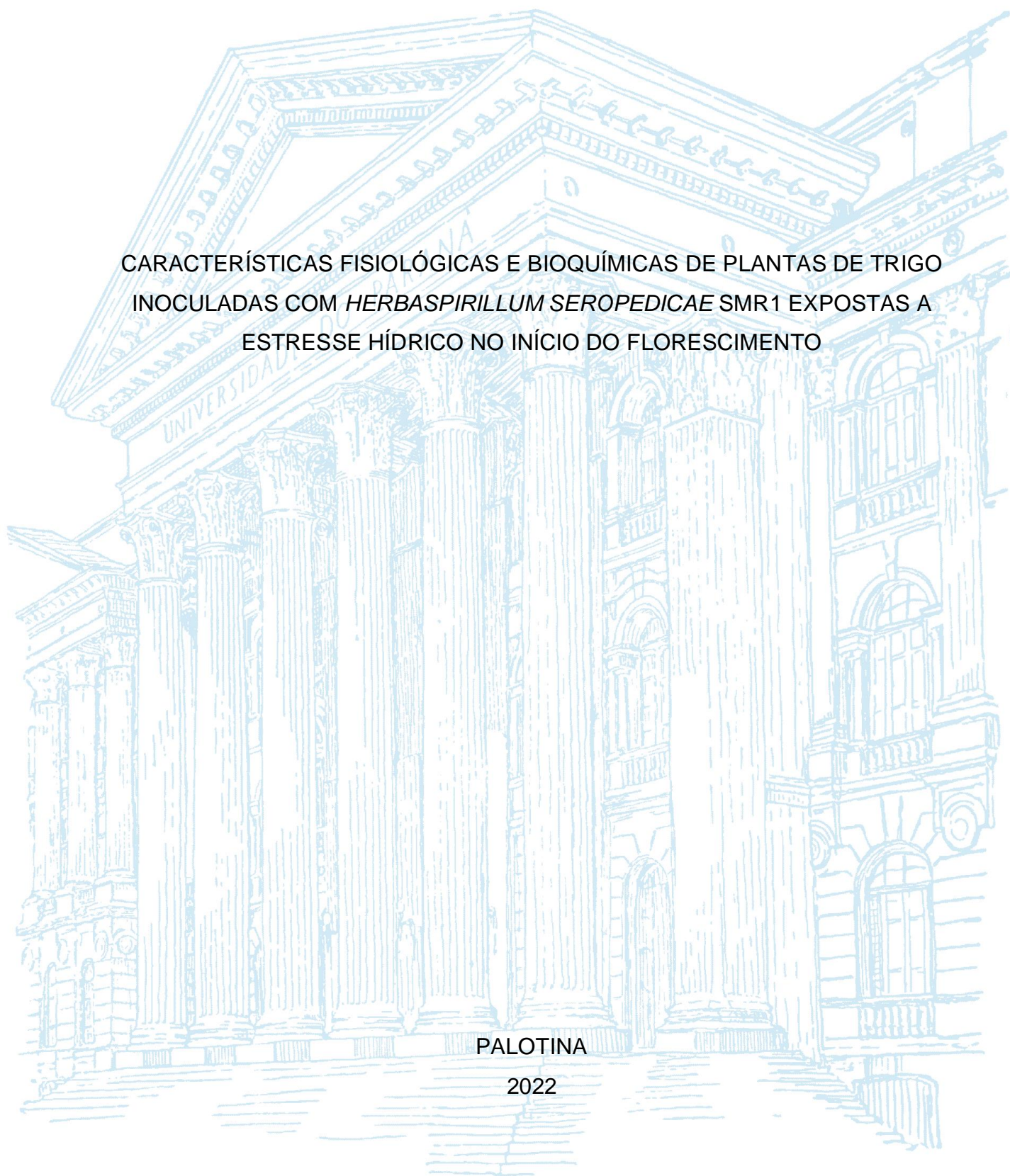
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

HEMILLY KARINI REZENDE

CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE PLANTAS DE TRIGO
INOCULADAS COM *HERBASPIRILLUM SEROPEDICAE* SMR1 EXPOSTAS A
ESTRESSE HÍDRICO NO INÍCIO DO FLORESCIMENTO

PALOTINA

2022



HEMILLY KARINI REZENDE

CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE PLANTAS DE TRIGO
INOCULADAS COM *HERBASPIRILLUM SEROPEDICAE* SMR1 EXPOSTAS A
ESTRESSE HÍDRICO NO INÍCIO DO FLORESCIMENTO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Graduação em Engenharia de bioprocessos e biotecnologia, Setor Palotina, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Engenharia de bioprocessos e biotecnologia.

Orientador(a): Prof(a). Dr(a). Marise Fonseca dos Santos

PALOTINA

2022



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ATA DE REUNIÃO

Aos 06 dias do mês de maio do ano de dois mil e vinte e dois, às quatorze horas e trinta e três minutos, na Sala Laboratório de Fisiologia e Imunologia do Bloco Multidisciplinar, Departamento de Biociências do Setor Palotina, Universidade Federal do Paraná, realizou-se a Defesa Pública e Oral do Trabalho de Conclusão de Curso intitulado "CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE PLANTAS DE TRIGO INOCULADAS COM *HERBASPIRILLUM SEROPEDICAE* SMR1 EXPOSTAS A ESTRESSE HÍDRICO NO INÍCIO DO FLORESCIMENTO" apresentado pela discente Hemilly Karini Rezende, orientada pela Profa. Dra. Marise Fonseca dos Santos, como um dos requisitos obrigatórios para conclusão do curso de graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia. Iniciados os trabalhos, a orientadora e Presidente da Banca concedeu a palavra à discente, para exposição do seu trabalho. A seguir, foi concedida a palavra em ordem sucessiva aos membros da Banca de Exame, os quais passaram a arguir a discente. Ultimada a defesa, que se desenvolveu nos termos normativos, a Banca de Exame, em sessão secreta, passou aos trabalhos de julgamento, tendo atribuído à discente as seguintes notas: Profa. Dra. Patricia Zonetti, nota: 100 (Cem), Profa. Dra. Cristina Beatriz Aroca Ribeiro, nota: 100 (Cem), e Profa. Dra. Marise Fonseca dos Santos, nota: 100 (Cem). A nota final da discente, após a média aritmética dos três membros da banca de exame, foi 100 (Cem). As considerações e sugestões feitas pela Banca de Exame deverão ser atendidas pela discente sob acompanhamento de sua orientadora. Nada mais havendo a tratar foi lavrada a presente ata, que, lida e aprovada, vai por todos assinada eletronicamente.



Documento assinado eletronicamente por **MARISE FONSECA DOS SANTOS, CHEFE DO DEPARTAMENTO DE BIOCIÊNCIAS - SP**, em 06/05/2022, às 19:01, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **PATRICIA DA COSTA ZONETTI, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 09/05/2022, às 14:05, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **CRISTINA BEATRIZ AROCA RIBEIRO, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 13/05/2022, às 09:24, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



A autenticidade do documento pode ser conferida [aqui](#) informando o código verificador **4486826** e o código CRC **04F6B1F3**.

À minha família que foi minha inspiração e aos meus amigos que foram meu combustível nesta jornada até aqui.

AGRADECIMENTOS

A Nossa Senhora que sempre nos momentos de solidão e angústia me acompanha, a Deus por ser meu guia e me conceder saúde e forças para levar a missão a diante.

A minha querida orientadora Prof. Dr. Marise Fonseca dos Santos, pela sua contribuição impagável no meu crescimento pessoal e profissional, por me acolher como filha e estar sempre que possível presente na rotina de laboratório. Além de tanto conhecimento técnico, me ensinou como ser forte e persistente. A prof. Eliane Vendruscolo por contagiar com seu ânimo na pesquisa científica. A ela devo também meus sinceros agradecimentos por facilitar minha entrada no mercado de trabalho, na minha área de formação.

A Universidade Federal do Paraná pela oportunidade de experiência, por me moldar como cidadã e conceder espaço para a realização do projeto.

Ao LABIOGEN, que foi minha casa e na graduação, onde passei por momentos muito intensos em minha vida. As técnicas do bloco multidisciplinar: Mara, Zenaide, que tanto rezou por mim, Adeline, Marina e Cleuza, guardo um carinho por todas. Além delas, as meninas da limpeza do bloco: Eliete, Cintia e Vera.

Aos meus avós, tios e pais, Flávio e Claudia que nunca mediram esforços para me proporcionar um futuro digno, que investiram em meu estudo suas expectativas, este trabalho e toda graduação só foram possíveis por serem minha inspiração. A Alana, minha irmãzinha meu exemplo de mulher batalhadora e cheia de luz. Aos meus primos por me fazerem acreditar em um futuro melhor.

A irmã que a faculdade me apresentou: Francielli, pelos belos momentos de nossa amizade, estaremos sempre torcendo pela felicidade uma da outra. A minha alma gêmea Brenda, os momentos sempre foram mais felizes em sua companhia. Deus não poderia ter me dado presentes melhores que meus amigos: Pedro, Giovana, Larissa, Simone, Erica, Andressa e Gabrieli, que passaram comigo por momentos de muita alegria e também períodos difíceis da graduação, além da minha grande amiga Jussara que iniciou este trabalho e foi minha guia.

Aos membros da banca examinadora deste trabalho, Prof^a Cristina B. A. Ribeiro, Prof^a Patrícia C. Zonetti, por aceitarem o convite de avaliar este texto e suas considerações, além de serem profissionais que me inspiram entender mais sobre bioquímica e fisiologia vegetal.

Os homens esqueceram essa verdade... Mas tu não deves esquecer. Tu te tornas eternamente responsável por aquilo que cativas
(Antoine Saint-Exupéry)

RESUMO

A produção nacional de trigo, não supre completamente a demanda do mercado interno pelo grão, graças, dentre outros fatores, à contratemporalidade meteorológica como a indisponibilidade hídrica em estágios determinantes de produtividade, como no início da fase reprodutiva, em que a planta se encontra mais sensível a estresses. A utilização de PGPB, é uma alternativa de promover a mitigação dos efeitos de estresse, por meio do aumento da tolerância. A *Herbaspirillum seropedicae* é exemplo de tais bactérias, que atua na fixação biológica de nitrogênio, promoção de crescimento mesmo sob estresse hídrico. O estudo avaliou os efeitos fisiológicos e bioquímicos da restrição hídrica em trigo, ao serem inoculadas com *H. seropedicae*. As cultivares CD 104 e CD 120 foram impostas à restrição hídrica por 15 dias, no início do florescimento, sob 4 condições: com a inoculação da bactéria na sementeira; fertilização com ureia; associação do inóculo e fertilizante, além do controle. O material vegetal foi coletado e armazenado para a procedência de análises de atividade GST, e indicadores e metabólitos do sistema de defesa antioxidante, PRO e MDA, também foram determinados componentes de produtividade. O perfil de atividade enzimática da GST manteve-se semelhante entre condições de CD 104, já a inoculação em CD 120, teve atividade mais expressiva sob restrição hídrica. Este perfil também é observado na mesma cultivar nos dados de prolina, sob restrição hídrica, observa-se que o fertilizante e/ou inóculo levam a queda do aminoácido que age como osmoprotetor e sinalizador. O conteúdo de malondialdeído mostraram-se maiores em todas as condições experimentais em CD 120, na seca, mas inoculada com a *H. seropedicae* foi capaz de minimizar os níveis gerados. Nos dados de rendimento produtivo não foi observado aumento nos parâmetros avaliados em CD 104, já em CD 120 não houve incremento positivo, embora os mesmos tenham sido mantidos entre tratamentos de disponibilidade hídrica. Concluiu-se que a *H. seropedicae* é benéfica ao cultivo da cv. CD 120, promovendo a regulação dos níveis de indicadores de estresse, entretanto, como este efeito não é observado em CD 104, a interação entre planta e bactéria é dependente da escolha de genótipos responsivos.

Palavras-chave: Déficit hídrico. Bactéria promotora do crescimento vegetal. Sistema antioxidante.

ABSTRACT

The national production still doesn't supply completely the demand for the wheat grain in the domestic market, this is a result, between many different factors, from meteorologic setbacks involving water unavailability in determinant productivity stages, for instance in the beginning of the reproductive phase, in which the plant is more sensitive to stress. The use of vegetal growth promoting bacteria, is an alternative way of helping the healthy development of the plant and promoting the mitigation of stress effects, through means of increased tolerance to such conditions. The bacteria *Herbaspirillum seropedicae* is an example of such bacterias, which besides acting on biological nitrogen fixation also promotes the growth even under water stress. The study evaluated of biochemical and physiological effects of water restriction when being inoculated with *H. seropedicae*. For such, the cultivars CD 104 and CD 120 were subjected to water restriction during 15 days during flowering, under 4 planting conditions: relying on the microorganism inoculation on seeding, chemical fertilization with urea, associating the inoculum and the fertilizer, besides the control. The vegetal material was collected and stored for provenance of analyses such as transferase glutathione activity and indicators and metabolites related to the antioxidant defense system, proline and malondialdehyde. A remaining plant was left for obtaining data regarding productivity. The profile of enzymatic activity of transferase glutathione resembled between the conditions of CD 104 and the condition inoculated from CD 120, since the enzyme was more expressed under water stress rather than normal irrigation. The same profile is observed on the data from proline to the same cultivar under drought, it indicates the conditions of fertilization or inoculation promoted a decrease of this amino acid that acts as a stress osmoprotectant and signalizer. Now the content of malondialdehyde, showed up higher in all conditions applied in CD 120, under drought, however, it is noticed that on CD 120 the *H. seropedicae* was able to minimize the generated effects. In the productivity components was not observed increase for the parameters evaluated on CD 104, now on CD 120 although not presenting positive increment, in the analysed parameters, kept equal data between the water disponibility treatments. It was concluded that the *H. seropedicae* is beneficial to the cultivation of the CD 120 variety, promoting regulation on levels of stress indicators, however, since this effect is not observed on CD 104, the interaction between plant and bacteria is dependent on the choice of responsive genotypes.

Keywords: Drought stress. Promoting growth plant bacteria. Antioxidant system.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. ESCALA DE ESTÁDIOS FENOLÓGICOS ZADOKS	20
FIGURA 2 - ATIVIDADE ESPECÍFICA DA ENZIMA GLUTATIONA TRANSFERASE, CONTEÚDO DE PROLINA, CONTEÚDO DE MALONDIALDEÍDO, NAS CULTIVARES CD 104 E CD 120.....	33
FIGURA 3. COMPONENTES DE PRODUTIVIDADE.....	36

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 REATIVIDADE DAS PRINCIPAIS ROS.....	23
TABELA 2 REPRESENTAÇÃO DO ESQUEMA DE COLETA DAS FOLHAS	27

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

PGPB	- <i>Promoting Growth Plant Bacteria</i>
ROS	- <i>Reactive Oxygen Species</i>
GST	- Glutathione transferase
GSH	- Glutathione reduced
MDA	- Malondialdehyde
PRO	- Proline

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
1.1 JUSTIFICATIVA	18
1.2 OBJETIVOS	18
1.2.1 Objetivo geral	18
1.2.2 Objetivos específicos	19
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	20
2.1 TRIGO	20
2.2 ESTRESSE HÍDRICO.....	21
2.3 ESTRESSE OXIDATIVO	22
2.3.1 <i>Herbaspirillum seropedicae</i>	25
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	26
3.1 CULTIVO EM CASA DE VEGETAÇÃO	26
3.2 MANIPULAÇÃO E INÓCULO DA BACTÉRIA <i>HERBASPIRILLUM SEROPEDICAE</i>	27
3.3 ATIVIDADE DE GLUTATIONA-S-TRANSFERASE	28
3.4 QUANTIFICAÇÃO DE PROLINA	29
3.5 QUANTIFICAÇÃO DE MALONDIALDEÍDO	29
3.6 COMPONENTES DE PRODUTIVIDADE	29
3.7 ESTUDO ESTATÍSTICO	30
4 APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS.....	30
4.1 CD 104.....	30
4.2 CD 120.....	31
4.3 COMPONENTES DE PRODUTIVIDADE	34
4.4 DISCUSSÃO	37
4.4.1 Parâmetros de resposta ao estresse	37
4.4.2 Componentes de produtividade.....	40
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	42
REFERÊNCIAS.....	43

1 INTRODUÇÃO

O trigo ocupa o segundo lugar de cereal mais consumido, com significativa importância econômica mundial (FAO, 2018). O Brasil, embora tenha registrado um aumento de 12,5% na produção, correspondente a 32 milhões de toneladas de grãos, não atende totalmente ao consumo interno, sendo necessário importar aproximadamente 490 mil toneladas (CONAB, 2022). Isto se dá pela falta de políticas-econômicas vantajosas ao produtor que é desestimulado pelo baixo preço de comercialização do grão. Além disso, o rendimento é afetado devido ao ambiente propício ao surgimento de doenças e fatores climáticos como a ocorrência de veranicos na fase de florescimento e enchimento de grãos (CONAB, 2016). No florescimento, ocorre a finalização do alongamento do colmo, meiose dos grãos de pólen e a translocação de fotoassimilados entre tecidos vegetais, dessa forma, são períodos mais susceptíveis à estresses, e definem diretamente a produtividade (EMBRAPA, 2014).

Um dos principais nutrientes envolvidos no enchimento de grãos é o elemento nitrogênio, um macronutriente absorvido em grande quantidade pela maioria das culturas; por ser constituinte de diversas biomoléculas, como aminoácidos, ácidos nucléicos e compor a molécula de clorofila e membranas (GUIRRA et al., 2021) está envolvido em processos fisiológicos vitais à planta, como na absorção iônica e de água, na respiração, fotossíntese, multiplicação e diferenciação celular, influencia na distribuição de fotoassimilados nos órgãos vegetativos e reprodutivos, além de atuar sobre a relação fonte e dreno (NETO, 2020).

Embora seja abundante na atmosfera na forma de N_2 , este, não está disponível para a assimilação direta para as plantas, devido a ligação tripla e covalente que une os átomos de nitrogênio atmosférico (PUOZAA; JAISWAL; DAKORA, 2019) sendo necessário o suprimento externo da planta com tais fontes inorgânicas ou orgânicas. Esta fertilização química, tem sido disponibilizada de maneira excessiva no cultivo, causa dentre outros danos, a lixiviação do solo, poluição de águas e ar (LEGHARI et al., 2016; ÇAKMAKÇI et al., 2017). Assim, formas alternativas que maximizem a eficiência do uso de insumos pela planta, aumentando a capacidade de absorção das raízes, pode favorecer o crescimento vegetal mais saudável.

Dessa maneira, bactérias promotoras do crescimento vegetal através da fixação biológica de nitrogênio, por meio da conversão de N_2 em NH_4 , são capazes de melhorar o estado nutricional da planta (SANTOS, 2018). E ainda se associa outras formas por meio da promoção de um melhor enraizamento, produção de fitormônios, como auxina, giberilina, citocinina e etileno (PEREIRA, 2014), atua também na solubilização de fosfato e sintetizando sideróforos, que são compostos orgânicos capazes de remover íons ferro do ambiente e disponibilizá-lo à célula (SANTOYO et al., 2016; TSUKANOVA et al., 2017). Além disso, estudos têm sido realizados buscando, por meio da interação planta e microrganismo, aprimorar a resposta de plantas frente ao estresse (FURLAN, 2017).

A bactéria *Herbaspirillum seropedicae* foi originalmente isolada de diferentes espécies de plantas, e majoritariamente encontrada na família das gramíneas tropicais (PEDROSA et al., 2011; BRUSAMARELLO-SANTOS et al., 2019;). Registros indicam que a associação com a maioria dos isolados é benéfica aos vegetais em decorrência da biofertilização e bioestimulação, promovida pela capacidade de fixação de nitrogênio e indução de resistência do vegetal contra patógenos e na mitigação de estresse abiótico, como escassez hídrica (MATTEOLI et al., 2020).

Um dos benefícios das bactérias promotoras de crescimento vegetal ou “*Promoting Growth Plant Bacteria*” que foi descrito na literatura é a capacidade de algumas delas conferirem tolerância às situações de estresse bióticos e abióticos (LIMA, 2020). Dentre os estresses abióticos foi descrito a capacidade de PGPB conferir tolerância a estresse hídrico (SHETEIWY, 2021). A ausência de água é a principal causadora de estresse em plantas e pode ser desencadeada por um conjunto de fatores que envolvem a baixa capacidade de retenção e a disponibilidade hídrica, além da demanda evapotranspiratória do vegetal (DUARTE et al., 2013). O estresse é um estado fisiológico que promove o aumento da produção de Espécies de Oxigênio Reativas ou “*Reactive Oxygen Species*”.

Como mecanismo de defesa, a planta ativa o sistema antioxidante que disponibiliza agentes capazes de lidar com tais moléculas, a fim de minimizar os efeitos negativos promovidos pelo desequilíbrio entre agentes antioxidantes e ROS para além do seu papel regulatório (MITTLER, 2017). Dentre tais efeitos deletérios, são desencadeadas múltiplas alterações celulares como a lipoperoxidação de membrana, alterações estruturais no DNA e oxidação de proteínas (ARIF, 2020).

Diante disso, é imprescindível compreender a interação entre vegetais e PGPB e conhecer o que promove a obtenção de estratégias para lidar com estresses, de forma a reduzir as influências negativas e diminuir os danos de tal modo contribuindo nos parâmetros de produtividade.

1.1 JUSTIFICATIVA

Para o trigo, plantado no Brasil, a ocorrência de estiagem em períodos de necessidade hídrica, como no plantio e emborrachamento, é um fator que influencia significativamente na produtividade (EMBRAPA, 2014).

Frente a tal condição, a possibilidade de utilização de PGPB pode conferir aumento no rendimento de culturas, promover tolerância à estresse hídrico (SHETEIWY, 2021) e fazer a manutenção da fertilidade do solo (PEREIRA, 2014).

Apesar de algumas PGPB já serem comercializadas como inoculantes, muitas informações precisam ser adicionadas, e inconsistências esclarecidas, como a relação com o solo e sua microbiota, entre outras (OLIVEIRA et al., 2022).

A resposta gerada da interação do microrganismo é dependente, dentre outros fatores, do genótipo selecionado (NEIVERTH, 2014). Para regiões que sofram déficit hídrico, são selecionadas principalmente variedades que sejam tolerantes ao estresse (BASTOS et al, 2011).

Dessa forma, é importante conhecer como o vegetal responde a interação com microrganismos capazes de minimizar os danos do estresse hídrico, e como este comportamento é influenciado em genótipo sensível e tolerante.

1.2. OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

O trabalho buscou avaliar os efeitos fisiológicos e bioquímicos da restrição hídrica em duas variedades de trigo, CD 104 e CD 120, a primeira com capacidade tolerante e a outra sensível a estresse hídrico, durante o início do estágio de florescimento, ao serem inoculadas na sementeira com a bactéria promotora do crescimento vegetal *Herbaspirillum seropedicae*, por meio de resposta enzimática de glutathione transferase e metabólitos relacionados ao sistema antioxidante.

1.1.2 Objetivos específicos

Avaliar em folhas de trigo semeadas com *H. seropedicae* a atividade enzimática de Glutathione-S-Transferase, conteúdo de prolina e malondialdeído.

Determinar os componentes de produtividade do trigo pelos parâmetros: comprimento e peso de espiga, número total de sementes e peso de 100 sementes.

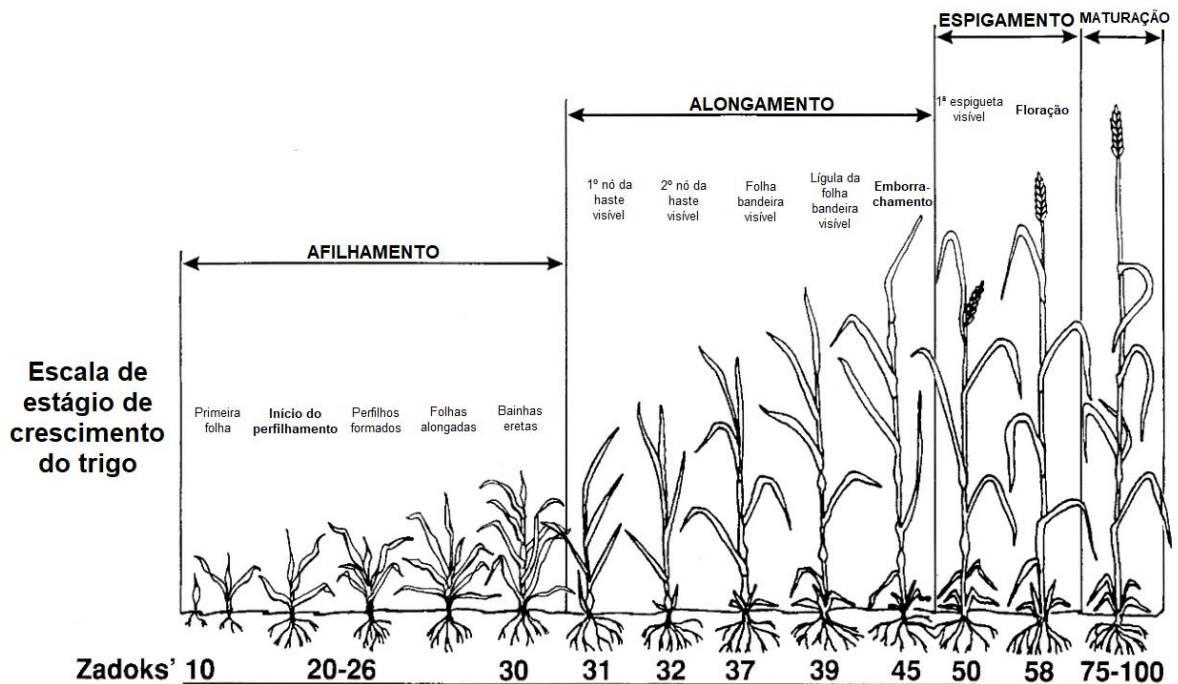
Correlacionar os dados com as características de tolerância a restrição hídrica da CD 104 e de não tolerância da CD 120 com dados da literatura para contribuir com as informações de aplicação da bactéria, *H. seropedicae*, como bioinoculante.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 TRIGO

Segundo classificação botânica, o trigo (*Triticum aestivum*), pertence à família Poaceae, é uma gramínea que se estrutura em raízes, colmo, folhas, e inflorescências, denominadas espigas (BORÉM; SCHEEREN, 2015). Seu ciclo de desenvolvimento é anual e se dá em três etapas: vegetativa, reprodutiva e de enchimento de grãos (BEVILACQUA, 2019). A escala Zadoks, Figura 1, descreve as etapas de crescimento e desenvolvimento e segundo esta escala, a fase vegetativa compreende-se nos eventos de germinação, estabelecimento da plântula, produção de folhas, perfilhamento e diferenciação da espiga. Já a fase reprodutiva é marcada pela emergência da espiga e florescimento e a última refere-se à maturação de grãos (CORRÊA, 2018).

FIGURA 1. ESCALA DE ESTÁDIOS FENOLÓGICOS ZADOKS



FONTE: Adaptado de Basden et al. (2022).

A duração de cada estágio de desenvolvimento é determinada pela interação de genótipo e ambiente. Dessa forma, os fatores mais influentes no desenvolvimento são o fotoperíodo e a temperatura, ao passo que conforme a

sensibilidade do genótipo e quanto maior o tempo de incidência luminosa, mais acelerado será o desenvolvimento, já o aumento da temperatura leva a ativação de sistemas enzimáticos, o que acelera a taxa de desenvolvimento e consequentemente, encurta o ciclo fenológico (RODRIGUES et al., 2011).

O cultivo de trigo exige alta umidade e temperatura na faixa de 20 – 25 °C no fechamento da fase vegetativa (CONDÉ et al., 2013). É na transição do estágio vegetativo ao reprodutivo, que a planta se encontra mais sensível a estresses, pois coincide com o processo de meiose de grãos de pólen (EMBRAPA, 2014; ZINTA et al., 2016), dessa forma, o rendimento de grãos pode ser prejudicado, em decorrência da elevação da esterilidade de flores e enchimento parcial de grãos quando a planta é submetida ao estresse (CUNHA et al., 2016).

2.2 ESTRESSE HÍDRICO

Qualquer modificação ambiental que gere alterações metabólicas ou impacte negativamente no crescimento vegetal, pode ser considerado estresse. A fisiologia do estresse está associada ao tipo de resposta efetuada. O organismo pode ter suas funções celulares normalizadas após a injúria, ou perder sua funcionalidade regular, conforme o efeito suportado (CORRÊA, 2018).

Vários mecanismos podem estar envolvidos na adaptação de plantas submetidas à estresse, entretanto, aquelas plantas que são capazes de detectar o fator de estresse, ativar processos morfológicos, fisiológicos e bioquímicos (DUARTE et al., 2013) pela modulação de seu sistema hormonal, de modo a sofrer menor ou nenhum dano são descritas como tolerantes e, consequentemente, aptas a enfrentar um ambiente desfavorável (LOPES; LIMA, 2015).

Um dos principais estresses abióticos, que comumente afeta a produtividade em cultivos, é o déficit hídrico (SILVA et al., 2014; ANSARI et al., 2015). Ocorre em decorrência à redução sazonal da disponibilidade de água no solo ou pela baixa capacidade de retenção, ocasionado pela demanda evapotranspiratória do vegetal (DUARTE et al., 2013). O estresse hídrico consiste no conjunto de fatores climáticos que limitam a disponibilidade de água à planta, isto é, baixa disponibilidade hídrica no solo, baixa umidade relativa atmosférica e a temperatura ambiental (CORRÊA, 2018), por períodos intermitentes ou contínuos (TAIZ et al., 2017). A baixa umidade relativa de ar, acarreta amplos gradientes de vapor e, com isso, a perda de água por

transpiração, o que é também desencadeado por altas temperaturas (ANSARI et al., 2015; SCHNEIDER, 2019).

Como estratégia de economia de água e manutenção do equilíbrio térmico interno, ocorre o fechamento estomático (YANG et al., 2014). Isto incide na concentração disponível de CO_2 , expondo a planta ao excesso de energia livre, já que o ciclo de Calvin não ocorre de maneira efetiva (SMIRNOFF, 1993). Dessa forma, a concentração de moléculas de ATP e NADPH torna-se alta em relação à NADP^+ e $\text{ADP} + \text{P}_i$, já que a enzima RUBISCO não atua reduzindo o CO_2 . Neste contexto, os elétrons estimulados pela radiação luminosa, nos fotossistemas, passam a reduzir outros agentes, como o O_2 , formado pela quebra de água no fotossistema II (KUKI, 1997). Esta reação forma a primeira molécula precursora de cascatas reacionais, o ânion superóxido (O_2^-) (SANTOS et al., 2018).

2.3 ESTRESSE OXIDATIVO

As ROS, são formadas como subproduto do metabolismo aeróbico (BARBOSA, 2014), dessa forma, organelas que envolvem mecanismos de fluxo energético produzem ROS, como cloroplastos, mitocôndrias, peroxissomos, apoplasto e núcleo (TUTEJA, 2010). Nessas organelas, em decorrência de atividades energéticas, a produção de ROS inicia-se através da redução do oxigênio molecular (O_2) (GILL, 2015), podendo gerar radicais altamente instáveis e reativos, como o superóxido (O_2^-) e o radical hidroxila (HO^*), além disso, pode produzir também moléculas que não possuem elétrons desemparelhados, como as anteriores, embora sejam muito reativas, como o peróxido de hidrogênio (KLEINGESINDS et al., 2016).

O estresse oxidativo consiste em uma condição causada por um desequilíbrio molecular, gerando alta concentração de ROS em relação à capacidade que o sistema antioxidante tem de estabilizar estes compostos eletronicamente, ou degradá-los (ALVES et al., 2016). Este desequilíbrio se caracteriza pela geração excessiva de ROS ou pela diminuição da velocidade de degradação destas (HALLIWELL; WHITEMAN, 2004).

Em níveis adequados, um aumento breve de ROS no início da exposição ao estresse age como sinal de vias de transdução, ao passo que esses sinais emitidos são controlados por mecanismos do sistema antioxidante (CARVALHO, 2011).

Todavia, os efeitos deletérios são mais conhecidos em função da capacidade de oxidação de proteínas, inibição enzimática, e danos ao DNA e RNA (PAULA, 2019). A extensão destes efeitos é dependente da toxicidade da ROS, determinada pelo tempo de meia-vida, como demonstra a Tabela 1, isto é, tempo necessário para que uma determinada quantidade de ROS seja reduzida à metade (KLEINGESINDS et al., 2016).

TABELA 1 REATIVIDADE DAS PRINCIPAIS ROS

Tipos de ROS	Meia-vida*	Moléculas oxidadas
Hidroxila (HO [•])	1 ns	Proteínas, lipídios, DNA, carboidratos
Oxigênio singlete (¹ O ₂)	1 μs	Lipídios, DNA, proteínas
Superóxido (O ₂ ^{•-})	1 μs	Proteínas, lipídios (raro)
Peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂)	1 ms	Proteínas, lipídios (raro)

LEGENDA: *ns = nanossegundo; μs= microssegundo; ms = milissegundo

FONTE: Adaptado de Kleingesinds (2016).

A lipoperoxidação é um dos principais efeitos causados por ROS, principalmente o radical hidroxila (HO[•]), visto que é um processo que consiste na quebra de ligações covalentes de lipídeos contendo cadeias carbônicas poli-insaturadas de membranas celulares, isto impacta na seletividade de troca iônica e consequentemente causa a liberação de produtos tóxicos das organelas, levando à morte celular (CAMPOS, 2017). A peroxidação lipídica é especialmente nociva para membrana tilacoides dos cloroplastos, pois a eficiência fotossintética é diretamente dependente da integridade desta membrana (CARVALHO, 2011).

O estresse hídrico é prejudicial em todas as fases, mas durante a floração e enchimento de grãos causa perdas consideráveis em decorrência à redução da assimilação de CO₂ e condutância estomática, taxa de transpiração e teor de clorofila (NAVEED et al., 2013).

2.4 SISTEMA ANTIOXIDANTE

Para Rufino et al. (2006) antioxidante é qualquer substância que em menores concentrações, em relação ao substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação, deste substrato de maneira eficaz, portanto, são bons exemplos de sequestradores/recolhedores de ROS.

Frente ao aumento desordenado no conteúdo de ROS, o vegetal apresenta mecanismos que mitigam os danos causados, por vias enzimáticas e não-enzimáticas. Em particular, sob estresse oxidativo, as enzimas superóxido dismutase(SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX) e glutathione-S-transferase (GST), têm sua atividade aumentada (ARIF et al., 2020), a primeira a ter sua produção acentuada é a SOD, que atua na primeira linha de defesa, catalisando a conversão do ânion superóxido em peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que é degradado pelas enzimas CAT em H_2O e O_2 , ou APX, que atua no ciclo ascorbato-glutathione, (BALI; SIDHU, 2019). A via ascorbato-glutathione promove a regeneração do ascorbato, utilizado pela enzima APX para a conversão do H_2O_2 em água (ROQUE, 2018).

A molécula de glutathione participa de reações de conjugação fundamentais ao processo de destoxificação do organismo, e atua na proteção contra xenobióticos. Estas reações são catalisadas por uma família de GST, através da desprotonação da glutathione reduzida (GSH) por meio do centro ativo que atua como base catalítica (NETO, 2010). A enzima contém dois sítios ativos, nas quais suas funcionalidades independem uma da outra, nesses sítios, há pelo menos duas regiões de ligação, uma para GSH e outro para substratos eletrofílicos. Os substratos são classificados em dois grupos: os eletrofílicos e os produzidos durante a fase I e II da biotransformação em uma espécie mais solúvel em água e menos tóxica (HUBER; ALMEIDA, 2008).

2.5 PGPB E PROMOÇÃO DE TOLERÂNCIA AO ESTRESSE

No ambiente, bactérias colonizam tecidos de plantas, e essa associação pode surtir efeitos benéficos, neutros ou maléficos ao vegetal. As PGPB hospedam-se de maneira epifítica ou endofítica e não exercem fitopatogenicidade, as que se tem mais estudos empreendidos estão entre: *Pseudomonas* spp., espécies de *Bacillus*, *Streptomyces*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Acetobacter* e *Herbaspirillum*, *Agrobacterium radiobacter*, *Enterobacter cloacae* e *Burkholderia cepacia*, dentre outras (MARIANO et al., 2004). Tais bactérias promovem o crescimento vegetal devido à capacidade de produção e manutenção de fitormônios nos tecidos vegetais e em função disso, o aumento da absorção pelas raízes, fixação biológica de nitrogênio, solubilização de fosfatos, controle biológico (GUIMARÃES; KLEIN; KLEIN, 2021) auxiliar na mineralização de nutrientes e formação de complexos

quelados com poluentes, o que reduz sua toxicidade (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006), outro efeito positivo é a promoção de tolerância a estresses bióticos ou abióticos, dado pela regulação de hormônios como o etileno, que incide sobre o crescimento vegetal, interferindo em processos como a senescência de folhas, abortamento de flores, crescimento de raízes, etc (LIMA, 2020).

As interações entre bactéria e o sistema radicular de gramíneas é uma técnica ambientalmente correta e economicamente viável (DUARTE, 2020). Leite et al. (2018) observaram em plantas de capim-marandu a mitigação do estresse hídrico pela inoculação com *Azospirillum brasilense*, os autores indicam também 14% de rendimento anual de massa de forragem.

Plantas como trigo, milho, soja, arabidopsis entre outras já mostraram desenvolvimento de tolerância ao estresse hídrico, como *Azospirillum* sp., *Azospirillum brasilense*, *Azospirillum lipoferum*, *Rhizobium leguminosarum*, *Mesorhizobium ciceri*, *Rhizobium phaseoli*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas* spp entre outros (VURUKONDA et al., 2016; RISEH et al., 2021). Incluindo a bactéria *Herbaspirillum seropedicae* (CURÁ et al., 2017).

2.5.1 *Herbaspirillum seropedicae*

Dentre as bactérias promotoras do crescimento vegetal, a associação da *Herbaspirillum seropedicae* foi descrita de maneira endofítica, por se localizarem internamente aos tecidos vegetais e não atribuírem danos físicos ou moleculares à planta hospedeira, tendo sido encontradas em raízes, caules e folhas (MARIANO et al., 2004).

A maioria dos isolados de *H. seropedicae* promovem efeitos positivos às plantas, devido principalmente à biofertilização e bioestimulação dada pela sua capacidade de fixação de N₂, síntese e secreção de fitormônios, solubilização de fosfato, bioproteção de mecanismos através da produção de sideróforos, atividade de ACC-desaminase (MATTEOLI, 2020) esta enzima tem papel na modulação dos 3 níveis de etileno nas plantas (FERREIRA et al., 2020) além disso, é relatada como sendo capaz de induzir efeitos de resistência contra fatores bióticos e na mitigação de estresses abiótico.

A inoculação com *H. seropedicae* foi avaliada em uma variedade de genótipos no cultivo de girassol e diferentes respostas entre genótipos foram

observadas. A inoculação surtiu diferentes efeitos entre plantas, para alguns genótipos, que foram expostos ao estresse, houve aumento nos teores de aminoácidos, prolina e açúcares solúveis totais, sendo estes, fatores indicativos de tolerância à seca. Para outros, não houve influência significativa, indicando que a planta nem sempre é responsiva a inoculação e que esta pode desencadear diferentes respostas na planta (PAIVA, 2019).

Em gramíneas, como milho, sorgo trigo e arroz, quando inoculadas com *H. seropedicae*, foi confirmado o estabelecimento endofítico, demonstrando que cerca de 25% do nitrogênio acumulado era proveniente da fixação biológica de nitrogênio (EL-KOMY et al., 2003).

Diferentes cultivares de trigos inoculadas com *H. seropedicae* apresentaram diferentes respostas à inoculação, Neiverth et al. (2014) notaram efeitos negativos, nas variedades CD 104 e CD 108, evidenciados pela diminuição de peso da parte aérea e de raízes, depois da inoculação. Paralelamente, os autores obtiveram efeitos neutros e positivos entre os genótipos CD 119, CD 120 e CD 150.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 CULTIVO EM CASA DE VEGETAÇÃO

O experimento foi conduzido em casa de vegetação de maio a agosto do ano de 2016. Foram utilizadas sementes de dois genótipos CD 104 e CD 120 fornecidos pela COODETEC. Em casa de vegetação com temperatura controlada a 25 °C (± 2 °C) e com o controle de umidade desligado, os vasos foram preparados com 10 Kg de solo tipo Latosolo roxo, eutrófico e 50% de areia e adicionado fertilizante: NPK (8:20:20) e peneirado.

O plantio foi procedido de maneira manual, sendo semeadas 10 sementes por vaso. Após 30 dias de crescimento foram deixadas 4 plantas por vaso sendo que as que apresentavam menor vigor foram removidas. A irrigação foi feita de com regularidade de 1-2 dias em função da retenção de umidade do solo, que foi controlada por observação das características de brilho e drenagem.

Os vasos foram dispostos aleatoriamente e divididos em dois tratamentos de irrigação: continuamente irrigado (T1) e não irrigado por 15 dias (T2), ambos, no início do emborrachamento até o início do florescimento; estes foram divididos em 4

condições de semeadura, em que uma foi inoculada com aproximadamente 1×10^6 UFC de *H. seropedicae* SmR1 (H); outra recebeu somente fertilização com ureia, na quantidade proporcional 50 Kg/ha aos 30 dias do perfilhamento (N); outra recebeu inoculação e fertilização, nas mesmas condições descritas (HN) e ainda, o controle, que não recebeu inóculo ou fertilização (C).

Durante o desenvolvimento foram realizados cuidados culturais conforme necessidade (controle de pragas e doenças), como a aplicação de fungicida Opera® diluído proporcionalmente, baseado na dosagem recomendada na bula de 0,5 a 0,75 litros por hectare.

No início do emborrachamento, os vasos destinados a este tratamento, tiveram a irrigação interrompida até que se percebeu perda de coloração nas folhas mais velhas, o que ocorreu após 15 dias, portanto, aos 83 dias de desenvolvimento da CD 120 e 90 dias da CD104, T1 e T2 foram coletados. Durante a aplicação da restrição hídrica foi observada uma alta umidade do ar ambiente no período, com média acima de 70% de umidade relativa como o registrado para o mês de junho e julho conforme dados do Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR, 2016).

A coleta foi realizada com tesoura, cortando a folha selecionada de uma planta a cada vaso para a posterior análise, cada folha foi destinada a uma análise, Tabela 2, conforme sua posição na arquitetura da planta. As amostras foram armazenadas em um ultra freezer à -80 °C, Após a coleta das amostras, apenas uma planta foi deixada por vaso, sendo está destinada a avaliação de componentes de produtividade.

TABELA 2 REPRESENTAÇÃO DO ESQUEMA DE COLETA DAS FOLHAS

	Folha bandeira	Folha 02
Planta 01	GST	MDA
Planta 02	PRO	
Planta 03	COMPONENTES DE PRODUTIVIDADE	
Planta 04	Ensaios não descritos neste trabalho	

LEGENDA: Quantificação de prolina (PRO), malondialdeído (MDA), determinação de atividade enzimática de glutathione transferase (GST).

FONTE: O autor, (2022).

3.2 MANIPULAÇÃO E INÓCULO DA BACTÉRIA *Herbaspirillum seropedicae*

A bactéria foi fornecida pelo Prof. Dr. Emanuel M. Souza do Laboratório de Biologia Molecular de microrganismo do Departamento de Bioquímica e Biologia

Molecular da UFPR. As células foram mantidas e cultivadas em meio de cultivo NFB-Malato sólido e líquido, respectivamente (KLASSEN et al., 1997).

O pré inóculo foi preparado em meio Dygs, depositando uma raspagem de células, crescidas em placas de petri com meio NFB-M, em tubos de ensaio à 28 °C (± 2 °C) sob agitação de 120 rpm. A escala foi aumentada em Erlenmeyer contendo NFB-M, mantidos sob as mesmas condições para devido crescimento.

Após 24 horas, foi observado o turvamento e alterações visuais de cor do meio de cultura, sendo o crescimento confirmado por leitura turbidimétrica. A curva de crescimento do microrganismo indicou 1 unidade de absorvância equivalente a $4,4 \times 10^8$ células.

Seguindo as devidas técnicas assépticas, o cultivo foi centrifugado a 12.000g por 10 minutos e ressuspenso em solução salina, após homogeneização intensa 200 sementes foram inoculadas, contendo $1,0 \times 10^6$ células por semente.

3.3 ATIVIDADE DE GLUTATIONA-S-TRANSFERASE

A atividade da GST foi detectada por espectrofotometria, a partir de Venisse, (2001) que ocorre pela utilização de um substrato artificial, 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) reagindo com a glutatona reduzida (GSH), formando um conjugado tioéster (GSH-CDNB) que tem absorvidade molar a 340nm de $9,6 \text{ mmol L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Para o preparo do extrato enzimático foi macerado 0,5 g de massa vegetal, folha bandeira em gral e pistilo com nitrogênio líquido, seguida da adição de 3 mL de tampão de extração (fosfato de sódio 50mM, pH 7,5, Polietilenoglicol 1mM, fluoreto de fenilmetilsulfonil 1mM, 0,8% (p/v) de polivinilpirrolidona 40000 e 0,01 v/v % Triton X-100). Foi centrifugado por 20 minutos a 18.000 g à 4 °C, separado o sobrenadante decantado e mantido em banho de gelo. A mistura reacional em cubeta de quartzo foi em tampão de fosfato de potássio 100 mM, pH 6,5, 5 μM CDBN e 18 μM de GSH. O volume foi completado com água destilada e, por último, com a adição de 10 μL do extrato enzimático. A leitura foi procedida espectrofotometricamente à 340 nm, durante 2 minutos para o acompanhamento da reação.

3.4 QUANTIFICAÇÃO DE PROLINA

A quantificação de prolina foi procedida conforme descrito por Bates (1973). A folha bandeira foi coletada e macerada em gral e pistilo, utilizou-se 0,5 gramas de amostra fresca em 5 ml de ácido sulfosalicílico 3% até completo descoramento. Todo o conteúdo foi submetido à centrifugação por 5 minutos a 16.000 g. Foram tomadas alíquotas de 250 µl do sobrenadante, adicionado 500 µl de ninidrina e 500 µl de ácido acético glacial. A mistura foi aquecida por 1 hora a 100 °C e para que a reação fosse imediatamente interrompida, a reação foi submersa em gelo. Posteriormente, foi adicionado tolueno. Este, após decantado foi tomado para leitura espectrofotométrica em um comprimento de onda de 520 nm. Os resultados de absorbância foram comparados às concentrações da curva padrão de 0,01 a 0,1 mM.

3.5 QUANTIFICAÇÃO DE MALONDIALDEÍDO

A quantificação de malondialdeído seguiu o método descrito por Hodges (1999). Para esta avaliação foi utilizado 0,5 gramas da segunda folha macerada em gral e pistilo em 10 mL de ácido tricloroacético 0,1%, esta mistura foi centrifugada a 15.000g por 5 minutos. Foi tomado 1 mL sobrenadante e adicionado 2 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,5%, posteriormente aquecida a 95 °C durante 30 minutos e imediatamente interrompida em banho de gelo. A mistura foi novamente centrifugada a 10.000g por 10 minutos para a leitura espectrofotométrica em dois comprimentos de onda, onde 532 nm representa o máximo de absorbância do complexo TBA-MDA, e 600 nm a correlação para a turbidez inespecífica. A determinação da concentração seguiu o cálculo que considera a diferença entre as leituras e o coeficiente de extinção molar do MDA de $155 \times 10^{-3} \text{ M}^{-1}$.

$$\text{Concentração de MDA (mol.l}^{-1}\text{)} = \left(\frac{(A_{532} - A_{600})}{155} \right) 10^3$$

3.6 COMPONENTES DE PRODUTIVIDADE

Ao completar o período do ciclo de desenvolvimento, as plantas remanescentes à coleta e ao desbaste foram destacadas para a aferição dos dados

relativos à análise de produtividade. Avaliou-se o número de espiga, por meio de contagem manual, além da massa de espiga e de 100 sementes, medidas através de balança semi-analítica Shimadzu modelo BL – 320H, com capacidade de medição de 320 g \pm 0,001 g e, o comprimento de espigas, por meio de uma régua graduada, com capacidade de medição de 30 cm \pm 0,05 cm.

3.7 ESTUDO ESTATÍSTICO

O delineamento experimental foi em blocos, ao acaso com 3 repetições por condições hídricas de inoculação e/ou fertilização e em 2 genótipos de trigo, em esquema fatorial 3 x 2 x 4 x 2, totalizando 48 análises.

Os resultados foram submetidos a teste de variância totalmente randomizada por meio da realização do teste ANOVA, seguido de comparações entre médias através do teste Tukey, com nível de significância de 5%. As análises estatísticas foram realizadas pelo programa Genes (CRUZ, 2006).

Os parâmetros de componente de produtividade (comprimento e massa de espiga, número total e peso de 100 sementes), foi tomada a partir de 5 plantas para as repetições. Entretanto em virtude de o número de resultados não ser homogêneo para algumas avaliações, foi utilizado o software PAST 2.17c (HAMMER; HARPER; RYAN, 2001). Foram aplicados os mesmos testes estatísticos e, ainda o teste de correlação linear de Pearson (r) com 5% de probabilidade.

4 APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS

4.1 CD 104

Os dados bioquímicos obtidos das avaliações na cultivar CD 104 se encontram na figura 2 (A, C e E). Observa-se que no estágio de florescimento, sob restrição hídrica, todas as condições ensaiadas mostraram um aumento na atividade de GST (Figura 2A), comparadas a plantas de irrigação contínua. Em relação a imposição de inoculação e/ou fertilização no tratamento não irrigado, não foi observada diferença estatisticamente significativa entre as condições. Contudo, dentre os tratamentos T1 e T2, na inoculação, foi observado uma maior atividade enzimática, nas plantas irrigadas.

As concentrações de prolina (Figura 2C) sob restrição hídrica, nas condições controle e com ureia se mostraram maiores, especialmente sob fertilização, se

comparadas às outras condições. No tratamento irrigado, as plantas de todas as condições se mantiveram estatisticamente semelhantes. Uma observação importante, em complementação à avaliação, foi o aspecto morfológico do material vegetal analisado, visto que tanto no tratamento irrigado quanto sob restrição hídrica, as plantas se mantiveram com aspecto de folhas verdes, para todas as condições aplicadas na CD 104.

Os níveis de MDA na CD 104 (Figura 2E), nas condições de fertilização, inoculação e associação de ambos, sob irrigação contínua, mostram-se aumentados em relação ao controle. Entretanto, ao comparar plantas com e sem irrigação, os valores entre as condições, inclusive no controle, mostraram que o conteúdo de MDA é semelhante na condição que envolve o inóculo, enquanto em plantas contendo fertilizante químico, foram inferiores sob restrição hídrica.

4.2 CD 120

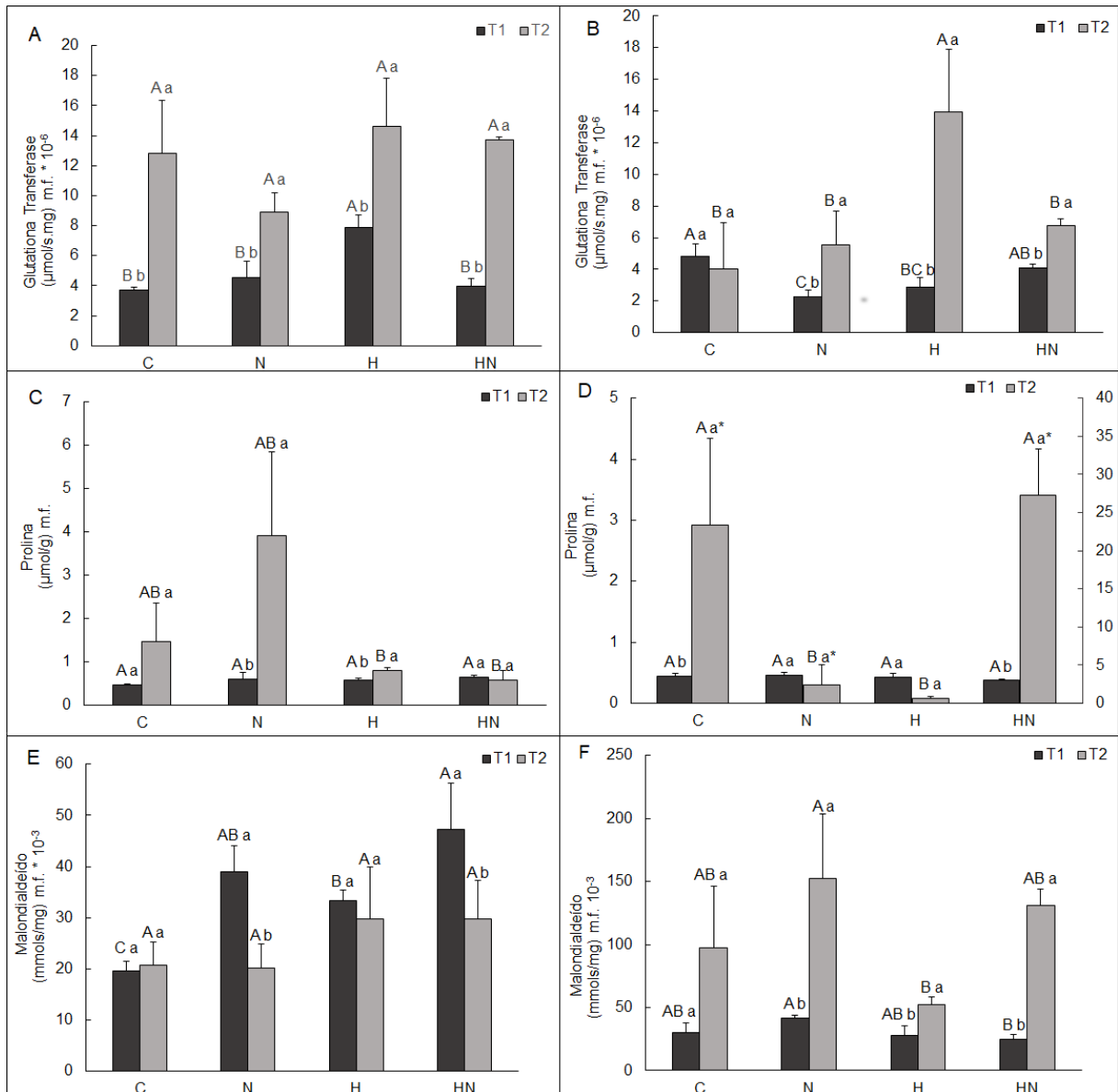
Os resultados dos dados bioquímicos observados das avaliações estão expressos na figura 2 (B, D e F). Foi evidenciada resposta à falta de irrigação onde a GST (Figura 2B) teve sua atividade aumentada em todas as condições aplicadas, com exceção ao controle. Destacam-se as plantas que receberam inoculação com *H. seropedicae* na semente, a resposta mostrou um nível elevado, semelhante aos níveis do CD 104 também em indisponibilidade hídrica.

Avaliando o conteúdo de prolina em plantas fertilizadas e inoculadas (Figura 2D) observa-se que este último se apresentou menor na seca, se comparados às outras condições. Todavia, o aspecto morfológico da folha para as plantas fertilizadas, sob restrição hídrica, mostrou-se descolorado (seco) em relação às inoculadas. Nas condições controle e inóculo com ureia, na seca, observa-se aumento excessivamente elevado, no conteúdo de prolina, acompanhados de aspectos de injúria pelo ressecamento e descoloração foliar.

É importante observar que as ordens de grandeza dos conteúdos de prolina são semelhantes (1 a 4 μmols de prolina/g p.f.), entre as variedades e o tratamento com irrigação, excetuando as condições fertilizado e de associação de inoculação e fertilização. Além disso, sob restrição hídrica na CD 120, a concentração do aminoácido é cerca de 10 vezes maior nas condições controle e associação de fertilização e inoculação.

As plantas de CD 120 apresentam aumento do conteúdo de MDA (Figura 2F), para todas as condições aplicadas, tal fato é corroborado pela relação dos valores de média entre tratamentos de irrigação, visto que são significativamente diferentes ($p = 0,00321$). A condição contendo inoculação, apresenta menor sob restrição hídrica comparada às demais, embora, apresente valor ainda maior que a da CD 104 e o tratamento irrigado de CD 120.

FIGURA 2 - ATIVIDADE ESPECÍFICA DA ENZIMA GLUTATIONA TRANSFERASE, CONTEÚDO DE PROLINA, CONTEÚDO DE MALONDIALDEÍDO, NAS CULTIVARES CD 104 E CD 120.



LEGENDA: Resultados de avaliações nos tratamentos com irrigação (T1) e restrição hídrica (T2) no florescimento de trigo, CD 104 (esquerda) e CD 120 (direita), nas condições controle (C), com fertilizante químico na forma de ureia (N), inoculação com *Herbaspirillum seropedicae* (H), inoculação com a mesma bactéria e fertilizante nitrogenado (HN). O quadrante D expressa os resultados de T1 na escala do eixo principal (à esquerda), enquanto T2 acompanha a escala do eixo secundário (à direita). Para a mesma avaliação, o símbolo (*) indica o aspecto morfológico seco da folha. Letras maiúsculas e minúsculas iguais indicam não haver diferença estatística significativa pelo teste de Tukey ao nível de 5%, respectivamente, maiúsculas comparam entre condições de inoculação e/ou fertilização e minúsculas nos tratamentos com irrigação contínua e restrição hídrica no mesmo estágio de desenvolvimento.

FONTE: O autor, (2022)

4.3 COMPONENTES DE PRODUTIVIDADE

Observa-se na figura 3 (A, C, E e G), os resultados obtidos das componentes de produtividades da CD 104 enquanto que na figura 3 (B, D, F e H) dados da CD120. Na cultivar CD 120, nos tratamentos com restrição hídrica, as ordens de grandeza entre todas as condições são estatisticamente próximas, contudo, o comprimento de espigas no controle se mostrou maior que nas plantas inoculadas com a *H. seropedicae*. Dentro desta condição, entre os tratamentos não foi observada diferença estatística, neste parâmetro. Já CD 104, apresenta valores de comprimento de espiga semelhantes, entre tratamentos de irrigação, e na condição inoculada apresenta diminuição. Além disso, a CD 104 apresentou comprimento de espiga de cerca 2 cm maior que CD 120, o pode ser atribuído, entretanto, à característica fenotípica do genótipo.

Avaliando-se o peso de espiga também não foi observada diferença estatística entre as condições em irrigação, na CD120. Entretanto, sob déficit hídrico houve queda na massa de espigas e, os valores das condições controle, inoculado e na associação entre inóculo e fertilizante assemelharam-se, indicando uma diminuição, de aproximadamente 0,3 g no peso de espiga nas plantas impostas à restrição, comparadas às irrigadas. Já a condição em que houve adição apenas de ureia não apresentou diferença entre os tratamentos irrigado e não-irrigado. Na CD 104, o comportamento de declínio no tratamento sob restrição foi observado apenas para condições inoculada e com associação de inoculação e fertilização.

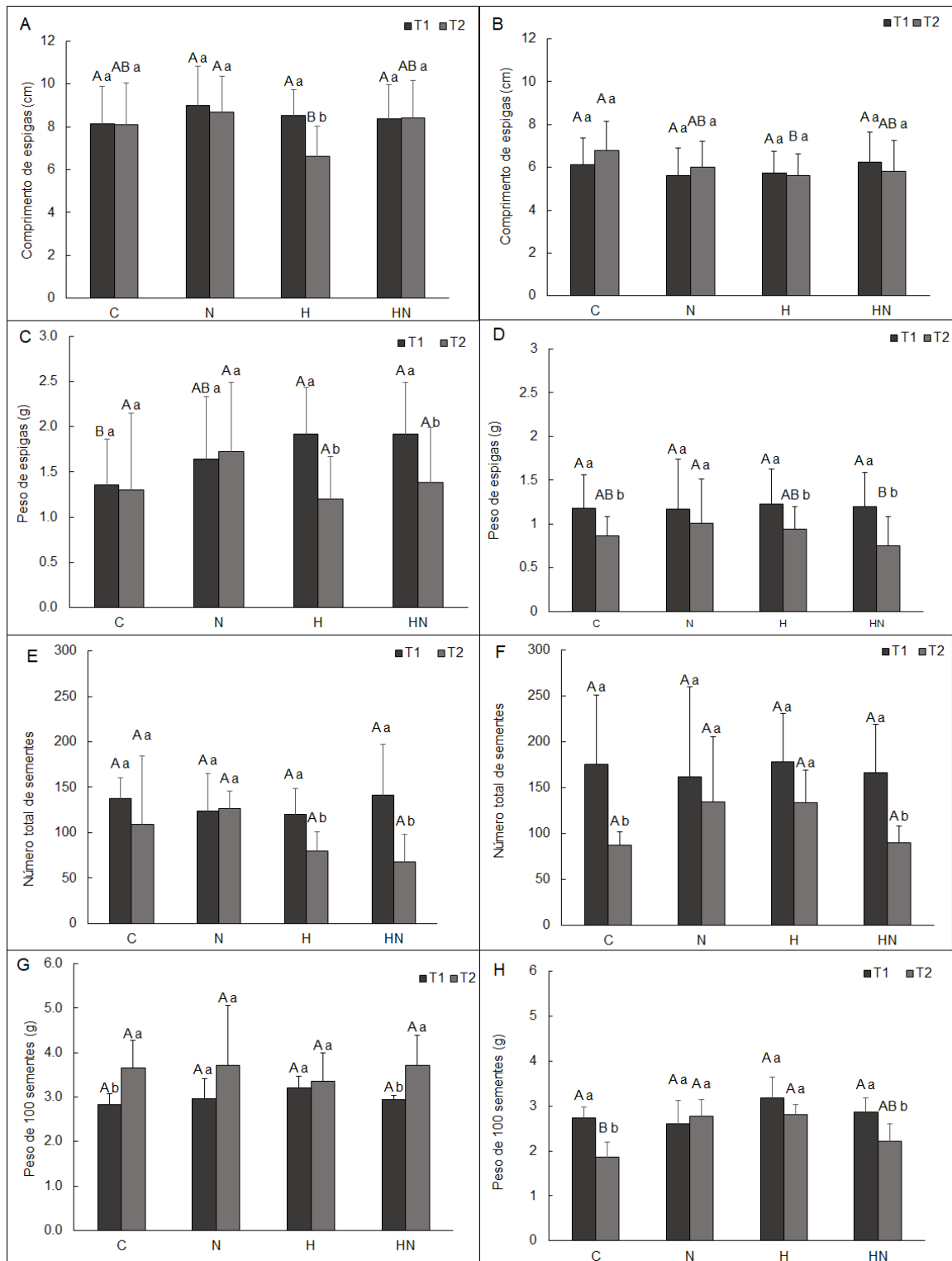
O número total de sementes não sofreu alterações frente as condições aplicadas nos tratamentos, para ambos os genótipos. Entretanto, a CD120 no tratamento com restrição hídrica não mostrou diferença estatística entre as condições de inoculação com fertilização com relação ao tratamento irrigado, assim como o controle. As condições com ureia e inoculado com a restrição hídrica, se assemelham estatisticamente ao irrigado.

O perfil de resultados para o número total de sementes na CD 104, parecem assemelhar ao perfil de peso de espigas, no qual foi visto um declínio nas condições que envolvem o microrganismo.

Os dados de peso de 100 sementes da cultivar CD 120 permaneceram inalterados entre as condições com adição de ureia e inoculado, no tratamento irrigado, comparados ao não irrigado, e para isso as condições de fertilização e

inoculação sob restrição hídrica foram maiores em relação às plantas controle. A massa de 100 sementes da cultivar CD 104 não demonstrou qualquer alteração em função das condições de inoculação e/ou fertilização aplicados em ambos tratamentos (de irrigação/não irrigação). Se observa maior valor médio de peso de 100 sementes sob restrição em relação ao tratamento irrigado, sendo que nas condições controle e inoculado com ureia são maiores na seca do que com irrigação.

FIGURA 3. COMPONENTES DE PRODUTIVIDADE



LEGENDA: Ao lado esquerdo são expressos os dados de CD104, enquanto à direita, CD 120, as avaliações seguem a ordem de comprimento de espiga (A) e (B), peso de espigas (C) e (D), número total de sementes (E) e (F), peso de 100 sementes (G) e (H). Letras maiúsculas e minúsculas iguais indicam não haver diferença estatística significativa pelo teste de Tukey ao nível de 5%, respectivamente, entre as condições de inoculação e/ou fertilização e nos tratamentos com irrigação contínua e restrição hídrica no mesmo estágio de desenvolvimento.

FONTE: O autor, (2022).

4.4 DISCUSSÃO

4.4.1 Parâmetros bioquímicos de resposta ao estresse

Embora os mecanismos bioquímicos e moleculares de tolerância à déficit hídrico não sejam totalmente compreendidos (LABUDDA; AZAM; MOHAMMAD, 2014) análises de expressão, durante o período de enchimento de grãos, envolvendo padrões moleculares de mRNA de glutationa-S-transferase em folha bandeira de cultivares de trigo sensíveis e tolerantes, indicam maiores níveis de transcrição, induzidos pela seca, em plantas tolerantes (GALLÉ et al., 2009). Este perfil é confirmado pela atividade enzimática de GST, na CD 104, que já foi descrita como sendo uma cultivar tolerante ao estresse hídrico (COODETEC, 2010). Observa-se para todas as condições impostas uma tendência de aumento na atividade enzimática em sob restrição comparado às plantas irrigadas, entretanto, sob contínua irrigação a condição de inoculação favorece também o aumento da atividade de GST. Isto, é atribuído à interação negativa entre o genótipo CD 104 e a *H. seropedicae*, segundo o que indicam os estudos de Neiverth et al. (2014), visto que se notou diferença de resposta à inoculação com o microrganismo entre genótipos, observando que plantas de CD 104 e CD 108 tiveram uma diminuição no peso de broto e raiz.

Em plantas da cultivar CD 120, sensíveis a estresses, o mesmo perfil de aumento na atividade enzimática foi observado na condição inoculada, sugerindo que a bactéria promoveu de tolerância de estresses. Esta observação é também confirmada pelos apontamentos de Neiverth et al. (2014), que indicam que o genótipo é mais responsivo a inoculação e sugere aplicar o microrganismo como um potencial biofertilizante, além de promover maior enraizamento lateral.

Frente as condições de baixo potencial hídrico, são ativados mecanismos de manutenção de equilíbrio osmótico a fim de driblar a perda de pressão, isto ocorre por meio do ajuste osmótico através do acúmulo de osmólitos, como carboidratos solúveis ou aminoácidos livres (JALES FILHO, 2019). A prolina além de um importante exemplo de osmoprotetor, controla a acidose citoplasmática (FURLAN et al., 2020), além disso, graças a sua capacidade de interação com fosfolipídios é capaz de estabilizar biomoléculas e membranas celulares, por ser um bom sequestrador de radical hidroxila diminuindo os efeitos gerados por ROS (TONHATI, 2018).

Maghsoudi et al. (2018) apresentaram dados que mostram que o conteúdo de prolina é significativamente maior sob estresse hídrico do que em condições normais, tanto em folhas de cultivares tolerantes quanto sensíveis à tal estado. Scarassati et al. (2018) observaram que a imposição de estresse em plantas de sorgo sensíveis gerou um aumento do nível de prolina de 77,27% enquanto em plantas tolerantes os níveis foram 5,48% maiores. Em contraponto a este estudo, as afirmações expostas vão de encontro ao observado, visto que a cultivar tolerante mostrou maior conteúdo de prolina, sob imposição de restrição hídrica apenas na condição controle e com ureia. Na CD 120, cultivar susceptível à estresse (MARCHIORO et al., 2011), o nível do aminoácido chegou a ser 16 vezes maior, dentre as condições aplicadas do que em CD 104, cultivar tolerante (COODETEC, 2010) nas condições controle e inoculada com ureia. Já nos tratamentos com ureia e inoculado, apresentou diminuição, indicando que nas condições com inoculação do CD 104 este diminuiu sua capacidade protetiva, tanto que diminuiu o peso de espiga e número de sementes. Já o CD 120, cultivar não tolerante a diminuição de prolina na presença de ureia e da bactéria *H. seropedicae* se refletiu em menor perda no número total de semente e peso de 100 sementes. Apesar do conteúdo de prolina, em plantas tolerantes seja uma estratégia a fim de mitigar o déficit hídrico, a fim de contribuir a manutenção de um maior potencial hídrico frente a esta condição, na CD 120 não foi observado.

A cultivar CD 120 apresentou concentrações reduzidas de prolina no tratamento com restrição hídrica nas condições com ureia e inoculada, todavia, o aspecto morfológico da folha nas plantas fertilizadas mostrou-se descorado, ao contrário das inoculadas. Dessa forma, o baixo nível de prolina, sugere que a *H. seropedicae* estabeleceu algum efeito sobre a planta, de forma que não houvesse sinalização metabólica que levasse ao ressecamento. Nas condições controle e com associação ureia e *H. seropedicae*, sem irrigação, observa-se aumento no conteúdo de prolina, indicando ser uma resposta significativa ao estresse. Paiva (2019) avaliou respostas bioquímicas e fisiológicas de diferentes cultivares de girassol, sob inoculação de *H. seropedicae*, frente imposição de 4 níveis de irrigação, e observou que enquanto as plantas inoculadas apresentavam maior teor de prolina sob o menor nível de irrigação (40% da capacidade do vaso), as não inoculadas requeriam o nível maior de água (100% da capacidade do vaso), dessa forma, concluiu-se que

o microrganismo contribuiu para a minimização dos efeitos da seca, visto que o genótipo de girassol testado, tornou-se mais tolerante inoculado.

Sob imposição de estresse hídrico, na CD 104, os valores de MDA foram mantidos constantes ou diminuídos, comparando ao tratamento irrigado, tratando-se de uma cultivar tolerante ao déficit hídrico, este efeito era esperado, devido ao mecanismo de defesa promovido pelas suas características genéticas. Ao comparar a cultivar CD 120, os valores de CD 104, nestas condições mencionadas, apresentam-se na mesma ordem de grandeza que plantas irrigadas continuamente. Já as que foram submetidas a estresse, na CD 120, se observou um importante aumento na concentração de MDA chegando a quantidades 5 vezes maior em controle, fertilizado e com a associação fertilização e inoculação, na condição com inoculação, não observada diferença estatística entre tratamentos irrigado e não-irrigado, porém não sendo tão elevada. Schneider (2019) correlacionou um maior dano à membrana ao potencial de água no solo, onde o dano da membrana foi 50% maior em solo com potencial de água mais negativo. Paralelamente, constatou também que quanto maior o tempo restrição hídrica às plantas de soja, maior é o teor de MDA, e um aumento ainda mais evidente na lipoperoxidação ao aplicar produtos xenobióticos.

Lata (2011) avaliou resultados de MDA em cultivares de milho sensíveis e tolerantes à limitação hídrica frente ao estresse oxidativo induzido por desidratação. Neste trabalho, as cultivares altamente sensíveis apresentaram alta de concentração de produtos de lipoperoxidação frente aos indivíduos controle, e o oposto se deu com plantas tolerantes. Já Chandra et al. (2018) analisando o desempenho das PGPB, sob estresse hídrico em variedades sensíveis e tolerantes de trigo, observaram que a inoculação com a bactéria *Variovorax paradoxus* RAA3 reduziu significativamente o conteúdo de MDA e H₂O₂ sob restrição hídrica comparada à irrigada. Neste trabalho, correlacionaram o nível de expressão de aquaporinas e concluíram que independentemente da capacidade de tolerância à estresse hídrico os vegetais que se apresentam em estado de déficit hídrico elevam o nível da transcrição das proteínas aquaporinas, dentre as variedades testadas, e que as variedades tolerantes apresentaram maior nível de expressão. Aquaporinas são proteínas relacionadas à resposta de estresse hídrico, através do aumento da permeabilidade da membrana celular, facilitam de entrada de água na planta de

modo que a passagem de água ocorra de maneira mais veloz, conforme a demanda de água da célula (FERREIRA, 2014).

4.4.2 Componentes de produtividade

Os parâmetros de produtividade demonstram que a CD 104 não mostrou associar-se positivamente com a *H. seropedicae*, visto que com restrição hídrica, envolvendo as plantas inoculadas, as avaliações de comprimento, massa de espiga e número total de sementes apresentaram decréscimo nos valores. Já a média de massa de 100 sementes se manteve como nas plantas da condição controle. Tal dado pode ser função da tolerância ao estresse hídrico.

Dotto et al. (2010), avaliaram o comportamento de duas variedades de milho sob inoculação de *Herbaspirillum seropedicae*, com diferentes níveis de nitrogênio, e observaram que nos resultados de massa de espiga a inoculação não proporcionou efeitos positivos no desenvolvimento da cultura. Reis et al. (2000) atribuem a falta de resposta de gramíneas à inoculação com bactérias diazotróficas ao uso de linhagens inadequadas ou que não se associem de maneira eficaz.

O prejuízo gerado pelo déficit hídrico pode ser notado em diferentes fases de desenvolvimento, por meio da redução da taxa de transpiração, condutância estomática, assimilação de CO₂, taxa de transpiração e teor de clorofila, tais fatores afetam negativamente o rendimento de grãos tanto no perfilhamento, quanto na floração (NAVEED et al., 2013). Semenov e Shewry, (2011) impuseram plantas de trigo sensíveis ao calor ao estresse térmico, durante a etapa de florescimento e verificaram a redução do número e do tamanho de grãos. O contrário se vê sob restrição hídrica da CD 120 que indicaram uma resposta positiva da planta em relação às condições de fertilização e inoculação com *Herbaspirillum seropedicae*.

Além de promover a fixação biológica de nitrogênio, a simbiose, com bactérias diazotróficas que pertencem ao gênero *Azospirillum*, auxilia no crescimento do sistema radicular, o aumento da superfície de exploração de raízes prolonga a durabilidade de tecidos verdes, influenciando positivamente na capacidade fotossintética, dessa forma, a translocação de fotoassimilados ocorre de forma mais estendida, assim, o peso e o número de grãos são aumentados (VOGEL et al., 2013). Os resultados são corroborados por Szeucuk et al. (2016) visto que indicam aumento na produtividade de grãos na cultura de milho aplicando *Azospirillum seropedicae* frente à condição utilizando 50% de nitrogênio sem

inoculação. Estudos mostram que na ausência de fertilizante nitrogenado, a inoculação pode influenciar negativamente na massa de matéria seca da parte aérea (DIDONET et al., 2000), isto se dá pela dependência que o microrganismo tem pelas fontes de carbono provenientes da planta, dessa forma, qualquer fator que prejudique a planta, influencia nas bactérias associadas a ela também (QUADT-HALLMANN et al., 1997).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados das avaliações de indicadores de estresse mostraram importante diferença entre as cultivares ensaiadas sob restrição hídrica, a partir disto, conclui-se que:

O início do florescimento se confirma como um estágio muito susceptível a estresses, devido ao evento de translocação de fotoassimilados, o que incide diretamente no rendimento da cultura.

Sob estresse, os níveis de prolina, de produtos da lipoperoxidação, em especial o MDA e de atividade enzimática de glutathione-S-transferase, de cultivares tolerantes são aumentados, como forma de estratégia à mitigação dos efeitos de tal condição imposta sobre o vegetal.

Bactérias promotoras do crescimento vegetal são capazes de promover o controle dos efeitos gerados pelo déficit hídrico, entretanto, é dependente da interação entre planta e bactéria nem sempre é benéfica.

A *Herbaspirillum seropedicae* é uma PGPB com potencial aplicação para cultura de trigo, para atuar na mitigação dos efeitos do déficit hídrico, entretanto, seu efeito é dependente da seleção de cultivares eficientemente responsivas.

A CD 104 se confirma como uma variedade tolerante ao estresse e não associativa com a bactéria *H. seropedicae*.

A CD 120 se confirma como uma variedade que tem potencial de associação benéfica com a bactéria *H. seropedicae*, e apresenta fortes indícios de ser benéfica em situação de estresse hídrico.

REFERÊNCIAS

- ALVES, L.R.; REIS, A.R.; GRATÃO, P.L. Heavy metals in agricultural soils: from plants to our daily life (a review). **Científica**. v.44, n.3, p.346–361, 2016.
- ANSARI, M.R. *et al.* Genetic improvement of rice for biotic and abiotic stress tolerance. **Turkish Journal of Botany**, v. 39, n. 6, p. 911–919, 2015.
- ARIF Y., SINGH P., SIDDIQUI H., BAJGUZ A., HAYAT S. Salinity induced physiological and biochemical changes in plants: An omic approach towards salt stress tolerance. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 156, p. 64-77, 2020.
- BABU, R.C., ZHANG, J., BLUM, A., HO, T.H.D., WU, R., NGUYEN, H.T. HVA1, a LEA gene from barley confers dehydration tolerance in transgenic rice (*Oryza sativa* L.) via cell membrane protection. **Plant Science**, v.166, p. 855–862, 2004.
- BALI, A.S.; SIDHU, G.P.S. Abiotic Stress-Induced Oxidative Stress in Wheat **Springer Nature Singapore Pte Ltd**. 2019.
- BARBOSA, K.B.F.; COSTA, N.M.B.; ALFENAS, R.C.G.; DE PAULA, S.O.; MINIM, V.P.R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010.
- BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M. A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, v.44, n.3, p.453-460, 2014.
- BASDEN, TOM & ABAYE, A. & TAYLOR, RICHARD. Chapter 5. Crop Production. 2022.
- BASTOS, E. A.; NASCIMENTO, S. P. do; SILVA, E. M. da; FREIRE FILHO, F. R.; GOMIDE, R.L. Identification of cowpea genotypes for drought tolerance. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 42, n. 1, p. 100-107. 2011.
- BATES, L.S. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, v.39, p. 205-207, 1973.
- BENITE, A.M.C.; MACHADO, S.P.; MACHADO, B.C. Siderophores: a microorganism's answer. **Quim. Nova** v.25, n.6, p. 1155-1164, 2002.
- BEVILACQUA, G.H. **Desempenho agrônômico de cultivares de trigo em diferentes datas de semeio em condições de alta temperatura**. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Jaboticabal, 2019.
- BORÉM, A.; SCHEEREN, P.L. **Trigo do plantio à colheita**. Universidade Federal de Viçosa, ISBN: 978-85-7269-522-0, 2015.
- BRUSAMARELLO-SANTOS, L. C. C. *et al.* Modulation of defence and iron homeostasis genes in rice roots by the diazotrophic endophyte *Herbaspirillum seropedicae*. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–15, 2019.

ÇAKMAKÇI, R. et al. **The Role of Soil Beneficial Bacteria in Wheat Production: A Review.** *Wheat Improvement, Management and Utilization.* [S.l: s.n.], p. 116–149, 2017.

CAMPOS, M.T.G. LEME, F.O.P. Estresse oxidativo: fisiopatogenia e diagnóstico laboratorial. **Pubvet**, v. 12, p. 139, 2017.

CARVALHO, V. **Estresse oxidativo na bromélia C3-CAM facultativa *Guzmania monostachia* (L.) Rusby ex Mez em resposta ao déficit hídrico.** Dissertação de mestrado, Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, 2011.

CAVATTE, P. C.; MARTINS, S. C. V.; MORAIS, L. E.; SILVA, P. E. M.; SOUZA, L. T.; DAMATTA, F. M. A fisiologia dos estresses abióticos. In: Melhoria de Plantas para condições de estresses abióticos. **Suprema**, cap. 3, p. 39-79, 2011.

CHANDRA, D. et al. Influence of IAA and ACC deaminase producing fluorescent pseudomonads in alleviating drought stress in wheat (*Triticum aestivum*). **Agricultural Research**, v. 7, n. 3, p. 290-299, 2018.

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Trigo: Produção e mercados.** Caderno Setorial ETENE Banco Nordeste. n. 151, jan. 2021.

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento de safra brasileiro – grãos:** Nono levantamento – safra 2015/2016. Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento. jun. 2016.

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Análise mensal – Trigo.** Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento, 2022.

CONDÉ, A. B. T.; ANDRADE, A. T.; MARTINS, F. A. D.; SOBRINHO, J. S.; MORESCO, E. R.; CAIXETA, C, G. Trigo de sequeiro: potencialidades. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.34, n. 274, p.24-29, junho 2013. Bimestral, 2013.

COODETEC – Cooperativa Central de Pesquisa Agrícola. **Guia de produtos – Trigo.** Cascavel, 2010.

CORRÊA, A.A.P. **Desempenho de cultivares de trigo em condições de estresses térmico e hídrico.** Tese de doutorado, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2018.

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

CUNHA, G. R.; PASINATO, A.; PIRES, J. L. F.; DALMAGO, G. A.; SANTI, A.; GOUVÊA, J.A. Bioclimatologia e zoneamento agrícola. In: **Trigo: o produtor pergunta, a Embrapa responde**, Brasília, DF: Embrapa, 2016.

CURÁ, J. A. et al. Inoculation with *Azospirillum* sp. and *Herbaspirillum* sp. Bacteria Increases the Tolerance of Maize to Drought Stress. **Microorganisms**, v. 5, n. 3, p. 41–57, 2017.

DAVID L, N., COX, M.M. **Princípios de bioquímica de Lehninger.** Artmed. ed.6. Porto Alegre: Artmed, 2014. ISBN 978-85-8271-073-9.

DEMIDCHIK, V. Mechanisms of oxidative stress in plants: From classical chemistry to cell biology. **Environmental and Experimental Botany**, v. 109, p. 212–228, 2015.

DIDONET, A. D. et al. Realocação de nitrogênio e de biomassa para os grãos, em trigo submetido a inoculação de *Azospirillum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 2, p. 401-411, 2000.

DOBEREINER, J.; BALDANI, V.L.D.; BALDANI, J.I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas**. EMBRAPA – SPI. Brasília, 1995.

DOTTO, A. P. et al. Produtividade do milho em resposta à inoculação com *Herbaspirillum seropedicae* sob diferentes níveis de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 5, n. 3, p. 376-382, 2010.

DUARTE, C. F. D., et al. Inoculação de bactérias promotoras do crescimento vegetal em *Urochloa ruziziensis*. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 8, p. e630985978-e630985978, 2020.

DUARTE, E.A.A.; MELO FILHO, P. A.; SANTOS, R.C. Características agrônômicas e índice de colheita de diferentes genótipos de amendoim submetidos a estresse hídrico. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, n. 8, p. 843-847, 2013.

EL-KOMY, H.M.A., SAAD, O.A.O., HETTA, A.M.A. Significance of *Herbaspirillum seropedicae* inoculation and/or straw amendment on growth and dinitrogen fixation of wheat using ¹⁵N-dilution method. **Folia Microbiol.** p.787-793, v.48, 2003.

EMBRAPA. **Sistemas de produção** – Cultivo de trigo. ISSN 1809-2985-4. 2014.

FAO. Food Outlook Biannual Report on Global Food Market. 2018. Disponível em: <<https://www.fao.org/3/CA0239EN/ca0239en.pdf>>. Acesso em: 25 de mar de 2022.
FERREIRA, J.P.; VIDAL, M.S.; BALDANI, J.I. **Método para detecção e quantificação da atividade de ACC-deaminase em bactérias diazotróficas promotoras de crescimento vegetal**. Seropédica, 2020.

FERREIRA, J.S.; SANTOS, K.K.A.; LIMA, M.C.D. NASCIMENTO, M.S.; ÁVILA, J.S.; ALMEIDA FILHO, R.L.S.; BALDANI, V.L.D. Inoculação e reinoculação de *Herbaspirillum seropedicae* em duas variedades de arroz irrigado. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 16, p. e458101623873-e458101623873, 2021.

FERREIRA, S. Aquaporinas. **Revista de Ciência Elementar**, v.2, n. 2, p. 58, 2014.

FURLAN, A. L. et al. Proline metabolic dynamics and implications in drought tolerance of peanut plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 151, p. 566-578, 2020.

FURLAN, F.; SAATKAMP, K.; VOLPIANO, C. G.; et al. Plant growth-promoting bacteria effect in withstanding drought in wheat cultivars. **Scientia agraria**, v. 18, n.2, p. 104–113, 2017.

GALLÉ, A et al. Glutathione transferase activity and expression patterns during grain filling in flag leaves of wheat genotypes differing in drought tolerance: response to water deficit. **Journal of plant physiology**, v. 166, n. 17, p. 1878-1891, 2009.

GILL, S.S., ANJUM, N.A., GILL, R. et al. Superoxide dismutase - mentor of abiotic stress tolerance in crop plants. **Environ Sci Pollut Res.** v.22, p. 10375–10394, 2015.

GUIRRA, B.S.; SILVA, M.F.; SILVA, J.E.E.; GUIRRA, K.S. Nutrição da planta matriz determina a qualidade de propágulos. **Cad. Ciênc. Agrá.**, v. 13, p. 01–06, 2021.

GUIMARÃES, V. F.; KLEIN, J.; KLEIN, D. K. Inoculante líquido contendo estirpe de *Azospirillum brasilense*, via sementes na cultura do milho, associado à adubação nitrogenada promovendo ganhos em produtividade. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 3, p. e8210311292-e8210311292, 2021.

HALLIWELL, B., WHITEMAN, M., Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? **British Journal of Pharmacology.** v.142. p. 231-55, 2004.

HAMMER, Ø.; HARPER, D.A.T., RYAN, P.D. PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. **Paleontologia Eletrônica** v.4, n.1, 2001.

HODGES, D. M.; DELONG, J. M.; FORNEY, C. F.; PRANGE, R. K. 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.

HUBER, P. C.; ALMEIDA, W. P.; FÁTIMA, Ângelo de. Glutathione and related enzymes: biological roles and importance in pathological processes. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1170-1179, 2008.

IAPAR. Cartas climáticas do Paraná, 2016. Disponível em: www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/pluvio.xls. Acesso em: 16 de set. 2017.

JAKOBY, W.B.; HABIG, W.H. Enzymatic basis of detoxication. Academic press. v.2, p.63, New York, 1980.

JALES FILHO, R. C. et al. **Ácido salicílico e prolina como indutores de tolerância a estresse hídrico em feijão-caupi**. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual da Paraíba, 2019.

KLASSEN, G.; PEDROSA, F.O.; SOUZA, E.M.; FUNAYAMA, S.; RIGO, L.U. Effect of nitrogen compounds on nitrogenase activity in *Herbaspirillum seropedicae* SMR1, **Can. J. Microbiol.** v. 43, n. 9, p. 887-891, 1997.

KLEINGESINDS, C. et al. **Sinalização entre plantas e bactérias**. VI Botânica no Inverno, **Anais...** Universidade de São Paulo Instituto de Biociências. P. 161-168, São Paulo, 2016.

KUKI, K.N. Efeito de estresses hídrico e salino sobre algumas espécies nativas da restinga. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Viçosa, 1997.

LABUDDA, M.; AZAM, F.; MOHAMMAD S. Glutathione-dependent responses of plants to drought: a review. **Acta Societatis Botanicorum Poloniae**, v. 83, n. 1, p 3-12, 2014.

LATA, C. et al. Differential antioxidative responses to dehydration-induced oxidative stress in core set of foxtail millet cultivars [*Setaria italica* (L.)]. **Protoplasma**, v. 248, n. 4, p. 817-828, 2011.

LEGHARI, S. J. et al. Role of nitrogen for plant growth and development: a review. **Advances in Environmental Biology**, v. 10, n. 9, p. 209–219, 2016.

LEITE, R. D. C., SANTOS, J. G., SILVA, E. L., ALVES, C. R., HUNGRIA, M.; SANTOS, A. C. Productivity increase, reduction of nitrogen fertiliser use and drought-stress mitigation by inoculation of Marandu grass (*Urochloa brizantha*) with *Azospirillum brasilense*. **Crop and Pasture Science**, v.70, n. 1, p.61-67, 2018.

LEVITT, J. Response of plants to environmental stress. II: Water radiation, salt and other stress. **Academic Press**, p. 606. New York, 1980.

LIMA, B. C. Atenuação do estresse por alta temperatura durante o estágio reprodutivo do feijoeiro-comum, em função da inoculação de *Bacillus subtilis*. Dissertação de mestrado, Universidade do Oeste Paulista, São Paulo, 2020.

LOPES, N. F.; LIMA, M. G. S. Fisiologia do estresse vegetal. **Fisiologia da produção**. Viçosa, Editora UFV, p. 482, 2015.

MAGHSOUDI, K. et al. P5CS expression level and proline accumulation in the sensitive and tolerant wheat cultivars under control and drought stress conditions in the presence/absence of silicon and salicylic acid. **Journal of Plant Interactions**, v. 13, n. 1, p. 461-471, 2018.

MARCHIORO, V.S., FRANCO, F.A., NORA, T.D., OLIVEIRA, E.F., SCHUSTER, I., EVANGELISTA, A., ROCHA, R., POLO, M. CD 120 – wheat cultivar, standard quality soft, for the Southern Region of Brazil. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**. 2011.

MARIANO, R. DE L. R.; SILVEIRA, E. B. DA; ASSIS, S. M. P. DE; et al. Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável. **Anais...** Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica, v. 1, p. 89–111, 2004.

MATTEOLI, F. P. et al. *Herbaspirillum*. In: **Beneficial Microbes in Agro-Ecology**. Academic Press, p. 493-508, 2020.

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

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Universidade Federal de Lavras, 2 ed., p. 729, 2006.

NAVEED, M. et al. Drought stress amelioration in wheat through inoculation with Burkholderia phytofirmans strain PsJN. **Plant Growth Regulation**, v. 73, n. 2, p. 121-131, 2014.

NEIVERTH, A. 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.

NETO, A. **Glutathione**: envolvimento em defesa antioxidante, regulação de morte celular programada e destoxificação de drogas. Dissertação de mestrado, Universidade Fernando Pessoa. 2010.

NETO, J.V.L. **Produtividade e qualidade pós-colheita da minimelancia sob doses de nitrogênio e posição do fruto na planta**. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Campina Grande. Pombal, 2020.

OLIVEIRA, A. M. DE; COSTA, M. R. DA; GRAZZIOTTI, P. H.; et al. Brazilian scenario of inoculant production: A look at patents. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 46, p.e0210081. 2022.

OLIVEIRA, J. T. A.; GONDIM, D. M. F.; VASCONCELOS, I. M. Ensaio enzimáticos de proteínas e inibidores de proteases envolvidos com a defesa de plantas a patógenos. **Biociência aplicada à agricultura: textos de apoio e protocolos experimentais**. EMBRAPA Informação Tecnológica, Brasília, p. 62-92, 2010.

PAIVA, T.S.S. **Genótipos de girassol submetidos ao déficit hídrico e inoculação com *Herbaspirillum seropedicae***. Tese de doutorado. Universidade Estadual Do Sudoeste Da Bahia. Bahia, 2019.

PAULA, R.J. **Respostas antioxidantes de cultivares de cana-de-açúcar tolerantes à seca e a herbicidas ao déficit hídrico**. Dissertação de doutorado, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2019.

PEDROSA, O. et al. Genome of *Herbaspirillum seropedicae* Strain SmR1, a Specialized Diazotrophic Endophyte of Tropical Grasses. **PLoS genetics**, v. 7, n. 5, p. e1002064, 2011.

PEREIRA, T.P. **Interação entre a bactéria promotora do crescimento vegetal *Herbaspirillum seropedicae* cepa SmR1 e plantas de milho inoculadas: quantificação de DNA bacteriana por qPCR**. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

PUOZAA, D. K.; JAISWAL, S. K.; DAKORA, F. D. Phylogeny and distribution of *Bradyrhizobium symbionts* nodulating cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) and their association with the physicochemical properties of acidic African soils. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 42. p.403-414, 2019.

QUADT-HALLMANN, A.; KLOPPER, J. W.; BENHAMOU, N. Bacterial endophytes in cotton: mechanisms of entering the plant. **Canadian journal of microbiology**, v. 43, n. 6, p. 577-582, 1997.

RAWSON, H.; MACPHERSON, H.G. **Irrigated wheat** – Managing your crop. Food and agriculture organization of the United Nations Rome, 2000.

REIS JUNIOR, F. B. et al. Ocorrência de bactérias diazotróficas em diferentes genótipos de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, p. 985-994, 2000.

RISEH, R. S. et al. Reducing drought stress in plants by encapsulating plant growth-promoting bacteria with polysaccharides. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 23, p. 12979, 2021.

RODRIGUES, O.; TEIXEIRA, M. C. C.; COSTENARO, E. R.; SANA, D. Ecofisiologia de trigo: bases para elevado rendimento de grãos. In: PIRES, J. L. F.; VARGAS, L.; CUNHA, G. R. **Trigo no Brasil: bases para produção competitiva e sustentável**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2011. Cap. 5, p. 115-134.

ROQUE, A.L.M. **Caracterização, análise filogenética e perfil de expressão dos genes do ciclo ascorbato-glutationa de soja (*Glycine max*)**. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Ceará Fortaleza, 2018.

RUFINO, M.S.M.; ALVES, R.E.; BRITO, E.S.; MORAIS, S.M.; SAMPAIO, C.G.; JIMÉNEZ, J.P.; CALIXTO, F.D.S. **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP)**, EMBRAPA, Fortaleza, 2006.

SANTOS, A.F., et al. Efeito antioxidante da diosmina: revisão integrativa **ABCS Health Sci**, v.43, n.3, p. 175-180, 2018.

SANTOS, J.F.; SACRAMENTO, B.L.; MOTA, K.N.A.B.; SOUZA, J.T.; AZEVEDO NETO, A.D. Crescimento de girassol em função da inoculação de sementes com bactérias endofíticas. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 44, n. 2, p. 142-150, abr./jun. 2014.

SANTOS, P.S. **Determinação do papel das proteínas NodD1 e NodD2 na ativação dos genes *nod* em *Bradyrhizobium elkanii* SEMIA 587**. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2018.

SANTOYO, Gustavo et al. Plant growth-promoting bacterial endophytes. **Microbiological Research**, v. 183, p. 92–99, 2016.

SEMENOV, M. A.; SHEWRY, P. R. Modelling predicts that heat stress, not drought, will increase vulnerability of wheat in Europe. **Scientific reports**, v. 1, n. 1, p. 1-5, 2011.

SCARASSATTI, T. V. et al. Osmorregulação e potencial hídrico foliar em híbridos de sorgo cultivados sob estresse hídrico. In: **Embrapa Milho e Sorgo-Resumo em anais de congresso (ALICE)**. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 32., 2018, Lavras. Soluções integradas para os sistemas de produção de milho e sorgo no Brasil: resumos. Sete Lagoas: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2018.

SCHNEIDER, J.R. Bioquímica e fisiologia da soja em ambiente protegido sob variações de déficit hídrico, xenobióticos e bioestimulante. Dissertação de mestrado, Universidade de Passo Fundo, 2019.

SHETEIWY, M. S. et al. Inoculation with *Bacillus amyloliquefaciens* and mycorrhiza confers tolerance to drought stress and improve seed yield and quality of soybean plant. **Physiologia Plantarum**, v. 172, n. 4, p. 2153-2169, 2021.

SILVA, M. A.; JOHN, J. L.; DA SILVA J. A. G.; SANTOS, C. M.; SHARMA, V. Relationships between physiological traits and productivity of sugarcane in response to water deficit. **The Journal of Agricultural Science**. v.152, n. 1, p. 104 -118, 2014.

SIMÕES, W. L.; OLIVEIRA, A. R. de; REIS, V. M.; PEREIRA, W.; LIMA, J. A. Aplicação de bactérias diazotróficas via sistema de irrigação para fixação biológica de nitrogênio na cana-de-açúcar. **Energia na Agricultura**, v. 33, n. 1, p. 45-51. Botucatu, 2018.

SMIRNOFF, N.T. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. **New phytologist**, Review, n. 52 p. 27-58, 1993.

SZEUCZUK, K. et al. Redução de nitrogênio na cultura do milho e uso de *Azospirillum brasilense* em espaçamento reduzido. In: **Milho e sorgo: Inovações, mercados e segurança alimentar**. In: XXXI CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 2016, Bento Gonçalves. 2016.

TAIZ, L., ZEIGER, E., MOLLER, I.M. MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed. ed.6, 2017.

TONHATI, R. **L-prolina no alívio do estresse térmico em tomateiro cultivado em ambiente protegido**. dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2018.

TSUKANOVA, K. A. et al. Effect of plant growth-promoting Rhizobacteria on plant hormone homeostasis. **South African Journal of Botany**, v. 113, p. 91–102, 2017.

TUTEJA, N. Cold, salt and drought stress. In: Hirt H (ed) *Plant stress biology: from genomics towards system biology*. **Wiley-Blackwell**, p. 137–159. Weinheim, 2010.

VENISSEJ, S.; GULLNER, G.; BRISSETM, N. Evidence for the Involvement of an Oxidative Stress in the Initiation of Infection of Pear by *Erwinia amylovora*. **Plant Physiology**, v. 125, n. 4, p. 2164–2172, 2001.

VOGEL M, HUSSAIN MB, ZAHIR ZA, MITTER B, SESSITSCH A Drought stress amelioration in wheat through inoculation with *Burkholderia phytofirmans* strain PsJN. **Plant Growth Regul**. v. 73, p. 121-131, 2013.

VURUKONDA, S. S. K. P. *et al.* Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. **Microbiological Research**, v. 184, p. 13–24, 2016.

WEATHERLEY, P.E. Studies in the water relations of the cotton plant, **New Phytol**. Manchester, 1949.

YANG, P.M.; HUANG, Q.C.; QIN, G.Y.; ZHOA, J.G. Different drought-stress responses in photosynthesis and reactive oxygen metabolism between autotetraploid and diploid rice. **Photosynthetica**, v.52, p.193-202, 2014.

ZINTA, G. et al. Unveiling the redox control of plant reproductive development during abiotic stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 1–6, 2016.