

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

BRENDA VILSEQUE FERNANDES

EFEITO NO SISTEMA ANTIOXIDANTE DA INOCULAÇÃO DA BACTÉRIA *H. seropedicae* NA FASE REPRODUTIVA DO TRIGO

PALOTINA

2022

BRENDA VILSEQUE FERNANDES

EFEITO NO SISTEMA ANTIOXIDANTE DA INOCULAÇÃO DA BACTÉRIA *H.*
seropedicae NA FASE REPRODUTIVA DO TRIGO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia da Universidade Federal do Paraná como requisito à obtenção do título de obtenção do grau de Engenheiro de Bioprocessos e Biotecnologia.

Orientadora: Profa. Dra. Marise Fonseca dos Santos

PALOTINA

2022



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ATA DE REUNIÃO

Aos seis dias do mês de maio do ano de dois mil e vinte e dois, às 16 horas e 33 minutos, na Sala virtual "[Defesa de TCC - Brenda V. F.](https://cutt.ly/6GOWPd8)" (<https://cutt.ly/6GOWPd8>) a Plataforma Teams da Microsoft, de forma virtual pela Universidade Federal do Paraná, realizou-se a Defesa Pública e Oral do Trabalho de Conclusão de Curso intitulado "EFEITO NO SISTEMA ANTIOXIDANTE DA INOCULAÇÃO DA BACTÉRIA *H. seropedicae* NA FASE REPRODUTIVA DO TRIGO" apresentado pela discente Brenda Vilseque Fernandes, 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. Eliane C. G. Vendruscolo, nota: 90 (noventa), Profa. Dra. Cristina Beatriz Aroca Ribeiro, nota: 98 (noventa e oito), 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 96 (noventa e seis). 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 BIOCÊNCIAS - SP**, em 06/05/2022, às 19:05, 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 09:23, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **ELIANE CRISTINA GRUSZKA VENDRUSCOLO, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 13/05/2022, às 10:07, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



A autenticidade do documento pode ser conferida [aqui](#) informando o código verificador **4488014** e o código CRC **B5956F41**.

Aos meus pais, por todo apoio e amor que me concederam.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente quero agradecer a todos que fizeram parte da minha jornada na minha formação acadêmica na Universidade Federal do Paraná com certeza aprendi muito por causa de todos que trilharam ou passaram, nem que por um instante, este caminho comigo. Em especial quero agradecer a Profa. Dra. Marise Fonseca dos Santos, por me auxiliar e me ensinar muitas metodologias e experimentos em laboratório, a minha amiga e parceira de laboratório Hemilly por toda a ajuda e instruções nos projetos desenvolvidos em conjunto. Aos meus amigos da universidade por sempre me apoiarem, Simone, Agatha, Erika, Beatriz, Julia e Matheus. Aos amigos de outras cidades que apesar da distância sempre estiveram torcendo por mim, Mariana, Isabela, Barbara, Ana, Fernanda, André e Larissa. E principalmente aos meus pais e minha família por não somente o apoio material, mas também o amor e compreensão. Por último, porém não menos importante a Deus que colocou todas essas pessoas no meu caminho e possibilitou meu aprendizado e crescimento de uma forma que nunca imaginei.

RESUMO

O trigo é um dos cereais mais cultivados do mundo, um alimento dito como básico para grande parte da população. Contudo, o Brasil não consegue atender a demanda interna do cereal. Existem vários motivos para o déficit da produção, como a falta de políticas específicas para o grão e estresses sofridos pela planta durante seu desenvolvimento. Uma das fases de desenvolvimento mais importante para o cereal é a fase reprodutiva onde ocorre a translocação de fotoassimilados para posterior enchimento de grãos. Uma das alternativas para melhorar o desenvolvimento e crescimento do cereal, assim como seu rendimento na produção, é a aplicação de PGPB (Plant Growth Promoting Bacteria). Portanto, o presente trabalho avaliou respostas bioquímicas e fisiológicas de dois genótipos de trigo cv. CD 104 e cv. CD 120, com inoculação da bactéria *Herbaspirillum seropedicae* (H), controle (C), adubação nitrogenada (N) e adubação com inoculação (HN) nas etapas de início de emborrachamento e início do florescimento do trigo. As análises realizadas foram, a atividade enzimática de SOD (Superóxido Dismutase), concentrações de prolina e MDA (Malondialdeído), e teor relativo de água – Relative Water Content (RWC). Componentes da produtividade do trigo, também foram contabilizados no final do desenvolvimento, com diferenças de densidade de plantas em vaso durante sua fase reprodutiva. Os resultados do presente trabalho demonstraram que a inoculação com a *H. seropedicae* na cultivar CD 120 não apresentaram diferença nos componentes de produtividade comparado as outras condições (C, N e HN), porém os dados de atividade enzimática e RWC se mantiveram melhores diminuindo os danos da peroxidação lipídica no tratamento (HN). A cv. CD 104 apresentou um comportamento negativo perante a inoculação, pois os níveis de MDA aumentaram e ocorreu uma diminuição no número de sementes. De acordo com os dados de densidade de plantas, ambas as cultivares tem uma resposta positiva com maior número de plantas em vaso, na fase reprodutiva.

Palavras-chave: fase reprodutiva. *H. seropedicae*. análises bioquímicas e fisiológicas.

ABSTRACT

Wheat is one of the most cultivated cereals in the world, a food said to be an essential for a big part of the population. However, Brazil can't supply the domestic demand for the cereal. There are many motives for the production deficit, like the lack of specific politics for the grain and stress suffered by the plant during its development. One of the most important development phases for the cereal is the reproductive phase where the translocation of photoassimilates for posterior grain filling happens. One of the alternatives to better the development and growth of the cereal, as well as its return in production, is the application of PGPB (Plant Growth Promoting Bacteria). Therefore the presented work avaliated biochemical and physiological responses of two wheat genotypes cv CD 104 and cv CD 120, with inoculation of the bacteria *Herbaspirillum seropedicae* (H), control (C), nitrogenated adubation (N) and adubation with inoculation (HN) during the stages of initial booting and initial flowering of the wheat. The analysis done were the enzymatic activity of superoxide dismutase (SOD), concentrations of proline and malondialdehyde (MDA), and relative content of water (RWD). Components of wheat productivity were also contabilized on the end of the development, with density differences during its reproductive phase. The results of this research demonstrated that inoculation with *H. seropedicae* on the variety cv. CD 120 didn't show differences when compared to other conditions (C, N and HN), however the enzymatic activity and RWC data were kept better, decreasing injuries resulted from lipid peroxidation. The cv. CD 104 showed a negative behaviour during the inoculation, for the levels of MDA increased and there was a decrease in the number of seeds. On the same variety were observed tolerance characteristics, already described by literature. According to density data, both varieties have a positive response with a bigger number of plants in vase, on the reproductive stage.

Keywords: reproductive phase. biochemical and physiological analisys. *Herbaspirillum seropedicae*.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – FASES FENOLÓGICAS DO DESENVOLVIMENTO DO TRIGO, APRESENTADO ETAPAS COMO, EMERGENCIA (EM), ELONGAÇÃO (EL), ANTESE (AN) E COLHEITA (CO).....	17
FIGURA 2 – FASE REPRODUTIVA DO TRIGO E CRESCIMENTO DAS ESPIGAS PARA POSTERIOR PROCESSO DE ENCHIMENTO DE GRÃOS.	18
FIGURA 3 – CATALIZE ENZIMÁTICA DA SUPERÓXIDO DISMUTASE.	21
FIGURA 4 – RESPECTIVAS COLETAS DE AMOSTRAS NOS TEMPOS T0 E T1 DO EXPERIMENTO.....	23
FIGURA 5 – FASES DO DESENVOLVIMENTO DO TRIGO	27
FIGURA 6 – ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA SOD, CONTEÚDO DE PROLINA E MALONDIALDEÍDO E VALORES PERCENTUAIS DE RWC, DAS CULTIVARES DE TRIGO (<i>TRITICUM AESTIVUM</i> VAR. LINE) CD 104 (A, C, E e G) E CD 120 (B, D, F e H) EM DOIS ESTÁDIOS DA FASE REPRODUTIVA (T0 E T1) SUBMETIDOS A CONDIÇÕES DE INOCULAÇÃO COM <i>H. SEROPEDICAE</i> E/OU FERTIZAÇÃO COM UREIA.....	30
FIGURA 7 – COMPONENTES DA PRODUTIVIDADE, DAS CULTIVARES DE TRIGO (<i>TRITICUM AESTIVUM</i> VAR. LINE) CD 104 (A, C, E e G) E CD 120 (B, D, F e H) COM DUAS DENSIDADES DISTINTAS DE PLANTAS NO VASO, MENOR DENSIDADE (T0), E MAIOR DENSIDADE (T1), SUBMETIDOS A CONDIÇÕES DE INOCULAÇÃO COM <i>H. SEROPEDICAE</i> E/OU FERTIZAÇÃO COM UREIA.....	32

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – AMOSTRAS DE FOLHAS TRIGO DAS CULTIVARES CD 104 E CD 120 UTILIZADAS PARA OS ENSAIOS FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS	27
--	----

LISTA DE EQUAÇÕES

EQUAÇÃO 1 – FÓRMULA PARA CÁLCULO DO MALONDIALDEÍDO (MDA).	24
EQUAÇÃO 2 – FÓRMULA PARA CÁLCULO DO TEOR RELATIVO DE ÁGUA, (RWC).	25

LISTA DE SIGLAS

ABITRIGO - Associação Brasileira da Indústria do Trigo.

BNF - Biological Nitrogen Fixation.

MDA – Malondialdeído.

PGPB - Plant Growth Promoting Bacteria.

PRO – Prolina.

ROS - Reactive Oxygen Species.

RWC – Relative Water Content.

SOD - Superóxido Dismutase.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
1.1. JUSTIFICATIVA	14
1.2. OBJETIVOS	15
1.2.1. Objetivo geral.....	15
1.2.2. Objetivos específicos.....	15
2. REVISÃO BIBLIOGRAFICA	16
2.1. A NOTORIEDADE DO TRIGO NA AGROINDÚSTRIA	16
2.2. FASES DE DESENVOLVIMENTO DO TRIGO	16
2.3. FASE REPRODUTIVA.....	18
2.4. BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO VEGETAL - PLANT GROWTH PROMOTING BACTERIA (PGPB).	19
2.5. COMPOSIÇÃO E FORMAÇÃO DAS ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO - REACTIVE OXYGEN SPECIES (ROS).	20
2.6. ENZIMAS ANTIOXIDANTES	21
3. MATERIAIS E MÉTODOS	22
3.1. CULTIVO DE CD 104 E CD 120 USANDO SOLO TRATADO.....	22
3.2. ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA SUPERÓXIDO DISMUTASE – (SOD).23	
3.3. CONCENTRAÇÃO DE PROLINA.	24
3.4. CONCENTRAÇÃO DE MALONDIALDEÍDO (MDA).....	24
3.5. TEOR RELATIVO DE ÁGUA – RELATIVE WATER CONTENT (RWC). 25	
3.6. ANÁLISES ESTATÍSTICAS	25
4. RESULTADOS	26
4.1. ORGANIZAÇÃO DAS AMOSTRAS NO EXPERIMENTO	26
4.2. ANÁLISES BIOQUÍMICAS	27
4.3. COMPONENTES DE PRODUTIVIDADE	31
5. DISCUSSÃO	33
5.1. DISCUSSÃO DAS ANÁLISES BIOQUÍMICAS	33

5.2. COMPONENTES DE PRODUTIVIDADE COMPARANDO DENSIDADE DE PLANTAS A VASO.	37
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	38
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

1. INTRODUÇÃO

O trigo é um dos cereais mais cultivados na agroindústria. Segundo Zhang et al. (2021), esse cereal é tido como básico para 35% da população mundial. Portanto, é de extrema importância que sejam realizadas pesquisas e estudos sobre o grão, para o desenvolvimento de técnicas que otimizem a produção e a qualidade da cultura. Conforme a Associação Brasileira da Indústria do Trigo (ABITRIGO) (2022), o consumo mundial pode chegar à 788.683 milhões de toneladas, (janeiro/2021 – maio/2022) e a produção, no mesmo período, deve atingir 788.978 milhões de toneladas. Apesar de ocorrer um saldo de aproximadamente 295 milhões de toneladas de trigo produzidos mundialmente, o Brasil, conforme a previsão, sofrerá um déficit de quase 50% da produção em relação ao consumo (ABITRIGO, 2022). Fato usual no Brasil, que não produz o suficiente para atender sua demanda e sempre precisou importar esse grão de outros países.

Segundo Souza et al. (2021), o principal motivo do não suprimento interno dessa cultura no país é a falta de adoção de uma política específica para o setor tritícola, pois este cereal possui um alto custo de produção e recebe preços de comercialização que não suprem o cultivo. Esse cenário pode afetar investimentos no setor e a produção de pesquisas e estudos em relação ao cereal. Contudo, são necessários a aplicação desses esforços para mudar o atual cenário do setor de trigo brasileiro. O estudo e o conhecimento das etapas do desenvolvimento do trigo, em conjunto com os fatores externos e internos ocorridos no mesmo são de fundamental importância para maximizar a utilização dos recursos do ambiente e assim aprimorar sua produção (RODRIGUES et al., 2011).

O desenvolvimento do trigo pode ser dividido em três fases sendo elas: fase vegetativa, fase reprodutiva e enchimento de grãos (RODRIGUES et al., 2011). A fase reprodutiva é um período muito significativo para a planta, pois é nessa fase que ocorre a translocação dos fotoassimilados, provenientes da fase vegetativa, para o enchimento dos grãos (WALTER et al., 2009). Dessa forma, torna-se imprescindível o estudo de fatores presentes nessa etapa, sejam eles bioquímicos ou fisiológicos.

Várias condições podem afetar o desenvolvimento da planta, sejam eles bióticos ou abióticos e alguns podem influenciar positivamente ou negativamente o crescimento. As PGPB (Bactérias Promotoras do Crescimento Vegetal), são consideradas como biótico positivo para o crescimento e desenvolvimento da planta. Influenciando o crescimento vegetal através da fixação de nitrogênio, solubilização de

fosfato e absorção de minerais, produção de sideróforos, antibiose e síntese de enzimas hidrolíticas (RAI; NABTI, 2017; GLICK, 2012). A bactéria *Herbaspirillum seropedicae* é uma conhecida PGPB. Estudos demonstraram que a aplicação desse microrganismo melhorou o desenvolvimento de gramíneas, como, arroz e cana-de-açúcar (PEDROSA et al. 2011). Um trabalho realizado por Neiverth (2014), demonstrou respostas distintas de duas cultivares de trigo quando aplicada *H. seropedicae* na semente, no crescimento da cv. CD 120 ocorreu aumento de pelos radiculares e a cv. CD 104 não surtiu o mesmo efeito.

Portanto, no presente trabalho foram analisadas respostas bioquímicas e fisiológicas de duas cultivares de trigo, CD 104 e CD 120 em casa de vegetação com inoculação da bactéria *H. seropedicae*, na semente, em duas etapas distintas da fase reprodutiva, início do emborrachamento e início do florescimento.

1.1. JUSTIFICATIVA

Além do déficit que o país apresenta em relação ao mercado tritícola sendo um dos motivos o alto custo de produção do cereal, o uso de fertilizantes nitrogenados encarece esse cultivo e é aproveitado apenas 1/3 do total colocado nas plantações, e a outra fração causa poluição do solo, água e ar (DI BENEDETTO et al., 2017; KONG et al., 2021). Assim, uma das alternativas para diminuir custos e danos ao meio ambiente e auxiliar a produção e o crescimento dessa cultura é a utilização de bactérias promotoras de crescimento vegetal (Plant Growth Promoting Bacteria – PGPB), pois elas podem aumentar a eficiência na absorção e uso do nitrogênio do solo ou de fixar nitrogênio pelo processo da fixação biológica do nitrogênio (Biological Nitrogen Fixation – BNF). E dados têm sido obtidos para o trigo (SILVEIRA et al. 2016; DI BENEDETTO et al., 2017).

No presente trabalho foram avaliadas respostas bioquímicas e fisiológicas das cultivares de trigo CD 120 e CD 104 em dois diferentes estádios de desenvolvimento com inoculação de *H. seropedicae* e/ou adição de ureia, o que pode levar há uma maior compreensão da interação com PGPB em etapas importantes para o desenvolvimento do trigo.

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. Objetivo geral

Avaliação bioquímica e fisiológica de dois genótipos de trigo cv. CD 104 e CD 120 em dois pontos dos estádios distintos de desenvolvimento, início do emborrachamento e pré - antese, quando inoculados com a bactéria *H. seropedicae*. Foi avaliado a produtividade referente a densidade de plantas a vaso em casa de vegetação.

1.2.2. Objetivos específicos

- Semeou-se trigo das cultivares CD 104 e CD 120 a vaso com inoculação na semeadura da bactéria *H. seropedicae*, (H). Para controle, tratamentos adicionais foram utilizados, onde, sementes não inoculadas e sem adição de ureia (C), com adição de ureia, como fertilizante (N), e onde sementes inoculadas na semeadura receberam adubação com ureia (HN).
- Avaliado a atividade enzimática da Superóxido Dismutase e concentração de Prolina nas folhas bandeira do trigo.
- Avaliado também a concentração de Malondialdeído e Teor relativo de água em folha secundária do trigo.
- Foram quantificados os componentes de produtividade em relação a diferença de densidade de plantas nos vasos utilizados nos estádios de início de emborrachamento a início do florescimento.

2. REVISÃO BIBLIOGRAFICA

2.1. A NOTORIEDADE DO TRIGO NA AGROINDÚSTRIA

O trigo é um dos cereais mais cultivados na agroindústria. Segundo Zhang et al. (2021), esse cereal é tido como básico para 35% da população mundial e seu papel é significativo nas necessidades nutricionais e energéticas dos seres humanos. Portanto, é de extrema importância pesquisas e estudos sobre grão, para o desenvolvimento de técnicas que otimizem a produção e a qualidade da cultura.

Conforme a Associação Brasileira da Indústria do Trigo - ABITRIGO (2022), o consumo mundial pode chegar à 788.683 milhões de toneladas, janeiro/2021 – maio/2022 e a produção, no mesmo período, deve atingir 788.978 milhões de toneladas. Apesar de ocorrer um saldo de aproximadamente 295 milhões de toneladas de trigo produzidos mundialmente, o Brasil, conforme a previsão, sofrerá um déficit de quase 50% da produção em relação ao consumo (ABITRIGO, 2022). O que de fato é usual no Brasil que não produz o suficiente para atender sua demanda. O Brasil sempre precisou importar esse grão de outros países para suprir seu consumo interno.

Conforme Souza et al. (2021), o principal motivo do não suprimento interno dessa cultura no país é a falta de adoção de uma política específica para o setor tritícola, pois este cereal possui um alto custo de produção e recebe preços de comercialização que não suprem o cultivo. Esse cenário pode afetar investimentos no setor e a produção de pesquisas e estudos em relação ao cereal.

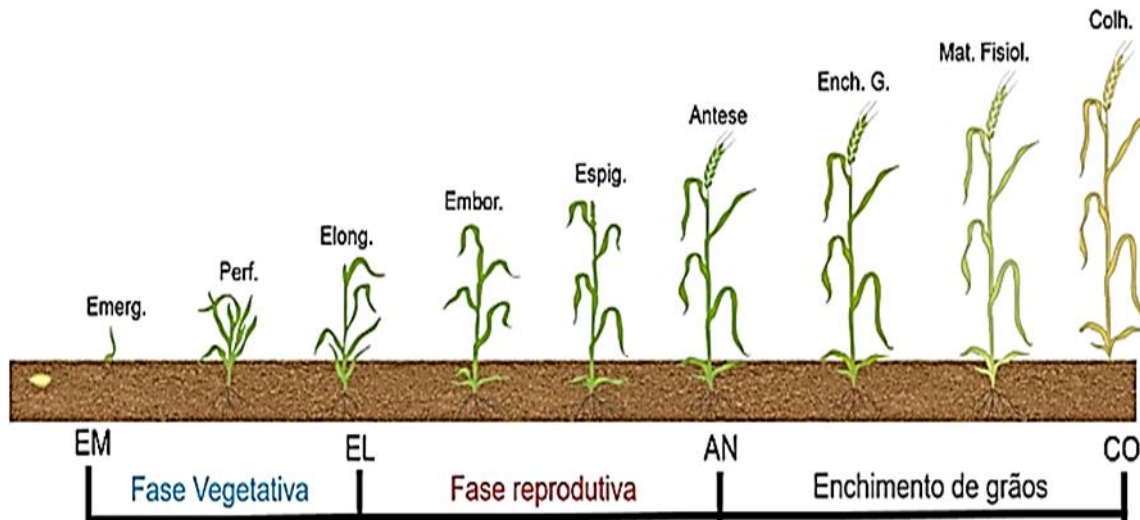
2.2. FASES DE DESENVOLVIMENTO DO TRIGO

O início do cultivo desse grão foi na Mesopotâmia, e depois espalhou-se pelo mundo, tornando-se, como citado anteriormente, um dos cereais mais importantes e comercializados mundialmente. O trigo é uma gramínea pertencente à família Poaceae e do gênero *Triticum*, detendo aproximadamente 30 espécies, sendo o *Triticum aestivum* var. *lini* objeto de estudo do presente trabalho.

O estudo e o conhecimento das etapas do desenvolvimento do trigo em conjunto com os fatores externos e internos ocorridos no mesmo são de fundamental importância para maximizar a utilização dos recursos do ambiente e assim aprimorar sua produção (RODRIGUES et al., 2011). As fases fenológicas do desenvolvimento do trigo, apresentam diferentes modificações, como por exemplo morfológicas e bioquímicas, ao longo do seu crescimento e podem ser simplificadas em três fases

principais: fase vegetativa, fase reprodutiva e enchimento de grãos. A Figura 1 demonstra as três fases principais com as correspondentes etapas do desenvolvimento do trigo.

FIGURA 1 – FASES FENOLÓGICAS DO DESENVOLVIMENTO DO TRIGO, APRESENTADO ETAPAS COMO, EMERGENCIA (EM), ELONGAÇÃO (EL), ANTESE (AN) E COLHEITA (CO).



Fonte: (Kochinski et al. 2020)

Na fase vegetativa são possíveis observar três etapas distintas, sendo elas, emergência (EM), perfilhamento e alongação (EL). Na primeira etapa ocorre a diferenciação dos órgãos da planta responsáveis por sua germinação, logo após, o perfilhamento, que é definido pelo crescimento dos ramos laterais, e na última etapa há o alongamento do caule (KOCHINSKI et al. 2020; OCHAGAVÍA et al. 2021).

A fase reprodutiva também conta com três etapas, emborrachamento, espigamento e antese (AN). O início do emborrachamento possui como uma das características a extensão da bainha da folha bandeira, posterior a esse estágio há o crescimento de espigas, espigamento, após as espigas já estarem fora da bainha ocorre o início do processo de antese que indica o princípio do florescimento do trigo (KOCHINSKI et al. 2020; OCHAGAVÍA et al. 2021). Posterior a essa etapa, ocorre a terceira e última fase, enchimento de grãos, nesse processo ocorre a maturação do grão, que alcança seu acúmulo máximo de matéria seca (KOCHINSKI et al. 2020).

2.3. FASE REPRODUTIVA

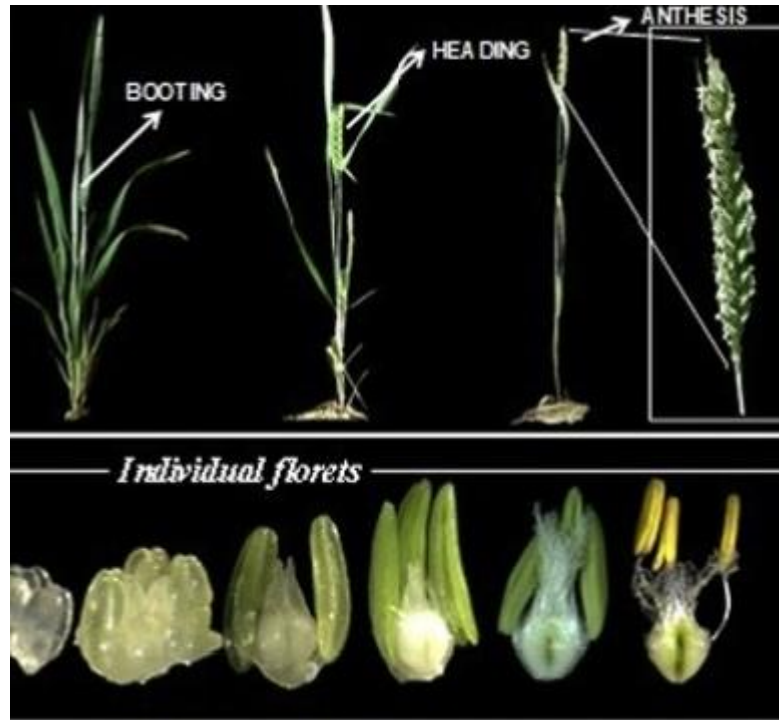
A fase reprodutiva é um período muito significativo para a planta, pois é nessa fase que ocorre a translocação dos fotoassimilados, provenientes da fase vegetativa, para o enchimento dos grãos (WALTER et al. 2009). É nessa fase que também ocorre a divisão por meiose para formação de gametas e subsequente fecundação.

“O momento do Desenvolvimento reprodutivo tem principal efeito no rendimento de cereais como o trigo (*Triticum aestivum* L.). E um dos possíveis efeitos é aumento do tempo da fase reprodutiva para diminuir a competição pelos assimilados por toda a planta” (GOL; TOMÉ; VON, 2017).

Dessa forma torna-se imprescindível o estudo de fatores presentes nessa etapa, sejam eles bioquímicos ou fisiológicos.

O emborrachamento, primeiro processo dentro da fase reprodutiva, é caracterizado pelo aparecimento da última folha do trigo, esta é chamada de folha bandeira. Ao redor da bainha dessa folha encontra-se a inflorescência já com seu maior tamanho para posterior crescimento da espiga. A próxima etapa é o espigamento do trigo onde ocorre a formação e crescimento das espigas logo depois o início do florescimento ou início da fase também denominada de antese, que já demonstra as espigas bem visíveis (RODRIGUES et al., 2011). É importante ressaltar que essas fases são as que a planta está mais suscetível ou vulnerável a sofrer estresses, como temperatura baixa, fotoperíodo prolongado ou rápido e estresse hídrico, culminando com má qualidade do grão conforme a quantidade de nutrientes (JI et al. 2017; SERRAGO; MIRALLES; SLAFER, 2008; SONG et al. 2020). A figura 2 demonstra a fase reprodutiva e também o desenvolvimento das espigas.

FIGURA 2 – FASE REPRODUTIVA DO TRIGO E CRESCIMENTO DAS ESPIGAS PARA POSTERIOR PROCESSO DE ENCHIMENTO DE GRÃOS.



Fonte: (Ochagavía et al. 2021)

2.4. BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO VEGETAL - PLANT GROWTH PROMOTING BACTERIA (PGPB).

O solo possui um grande microbiota e nesta podemos destacar as bactérias que convivem, tanto com os outros microrganismos ali presentes, quanto também com as plantas. Um grande número dessas bactérias pode promover o crescimento da planta, chamadas de Bactérias Promotoras do Crescimento Vegetal (PGPB). As PGPB afetam o crescimento vegetal através da fixação de nitrogênio, solubilização de fósforo e absorção de minerais, produção de sideróforos, antibiose e síntese de enzimas hidrolíticas (RAI; NABTI, 2017; GLICK, 2012).

Algumas alcançam as camadas mais internas como os feixes de xilema e meio intercelular sem causar danos ou doenças, conhecidas como bactérias endofíticas (MA et al. 2016).

A bactéria *Herbaspirillum seropedicae* é uma conhecida PGPB e é endofítica. Estudos com a inoculação desta bactéria demonstraram que ela auxilia no crescimento vegetal de gramíneas como, arroz e cana-de-açúcar (PEDROSA et al. 2011). Experimentos realizados por Lima et al. (2014), a *H. seropedicae* inoculada juntamente com substâncias húmicas também aumentou a produção de grãos em cultivares de milho, tanto em laboratório como no campo. Neiverth et al. (2014),

estudou os genótipos de trigo CD 120 e CD 104, inoculados com *H. seropedicae*, que apresentaram respostas diferenciadas tanto *in vitro* como em casa de vegetação. A bactéria foi capaz de promover o aumento de pelos radiculares e se estabelecer endofiticamente na cv. CD 120, quando cultivada *in vitro*, enquanto na cv. CD 104 não foi detectada estas características. Em casa de vegetação, a inoculação com a bactéria em sementes de CD 120 foi capaz de promover aumento de rendimento de grãos (massa de grãos/planta) e massa seca de folhas (massa de folhas/ grãos) se assemelhando aos valores da planta adubada com ureia. Enquanto que o CD 104 não apresentou tais diferenças, mesmo quando comparando - se o rendimento de plantas não inoculadas ou adubadas. A conclusão do trabalho indica essa espécie como uma provável PGPB para o CD 120 e não para o CD 104.

2.5. COMPOSIÇÃO E FORMAÇÃO DAS ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO - REACTIVE OXYGEN SPECIES (ROS).

Estudos anteriores consideravam as ROS, apenas, como produtos tóxicos provenientes do metabolismo aeróbico, contudo pesquisas atuais trazem-nas como sinalizadores celulares. O que leva essas moléculas a participarem de vários processos que ocorrem na planta como o crescimento e o desenvolvimento (CHOUDHARY; KUMAR; KAUR, 2020).

Estudos mostraram que elas participam no processo de germinação e floração da planta, podem atuar no desenvolvimento do tubo polínico e nas folhas das plantas. (MITTLER, 2017; NOCTOR; REICHHELD; FOYER, 2018).

Está descrito na literatura que as etapas da reprodução sexual de plantas com inflorescências são controladas por níveis específicos de ROS, moléculas antioxidantes e atividades enzimáticas. A excessiva produção de ROS podem causar a esterilização masculina na flor, e de como é essencial a glutatona (GSH) para o desenvolvimento do pólen e, ainda os defeitos no desenvolvimento do saco embrionário causados por ausência da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) mitocondrial (ZINTA *et al.*, 2016). As ROS (Espécies Reativas de Oxigênio), são oriundas do metabolismo da planta dos processos de fotossíntese e respiração (BIANCHI; GERMINO; ALMEIDA, 2016).

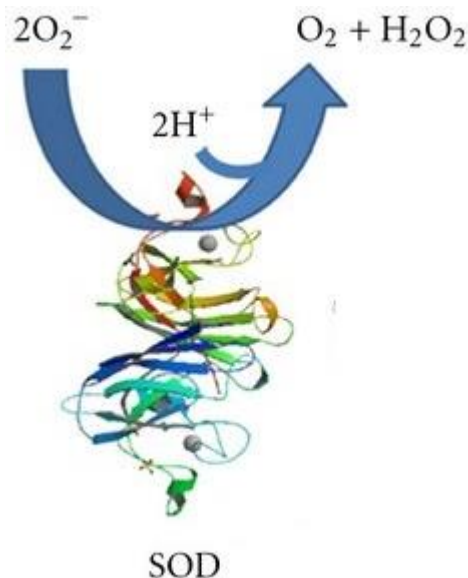
São exemplos desses radicais, superóxido (O_2^-), radicais hidroxila ($OH\cdot$), radicais de peróxido ($ROO\cdot$) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (BHATTACHARJEE, 2010).

2.6. ENZIMAS ANTIOXIDANTES

Para a regulação de espécies reativas de oxigênio, nas células vegetais, as plantas desenvolverem mecanismos antioxidantes, enzimático e não enzimático (BARBOSA et al., 2014). Um conjunto de enzimas muito importante são as enzimas antioxidantes, que como mencionado anteriormente responsáveis pela regulação de níveis de ROS perante a célula vegetal. Entre as principais enzimas antioxidantes temos as Superóxido Dismutase (SOD), Ascorbato Peroxidase (APX), Glutathione Redutase (GR) e Catalase (CAT) (MAIA et al. 2012).

A Superóxido Dismutase é uma das primeiras enzimas a atuar no sistema antioxidante da célula, ela é responsável por catalisar a reação de dismutação do íon superóxido em peróxido de hidrogênio (SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004). Que apesar dessa reação transformar uma molécula em outra espécie reativa de oxigênio, o peróxido de hidrogênio, quando em excesso, gera um menor dano na célula e também continua a cascata enzimática para redução em água. A figura 3 demonstra esse processo de catalise da enzima e sua estrutura tridimensional.

FIGURA 3 – CATALISE ENZIMÁTICA DA SUPERÓXIDO DISMUTASE.



Fonte: (MELO et al. 2011)

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. CULTIVO DE CD 104 E CD 120 USANDO SOLO TRATADO.

Foram utilizadas sementes de trigo *Triticum aestivum* var. Lini de dois genótipos cv. CD 120 e CD 104, oriundo da empresa COODETEC - Desenvolvimento, Produção e Comercialização Agrícola Ltda.

O experimento ocorreu em casa de vegetação com temperatura controlada a 25° ($\pm 2^\circ$) C e com o controle de umidade desligado. Foram preparados vasos com 10 kg de solo tipo Latosolo roxo eutrófico, adicionado 50% de areia e NPK (8:20:20) (300kg/ha) e peneirado. Os vasos foram dispostos aleatoriamente e divididos para as cultivares CD 104 e CD 120.

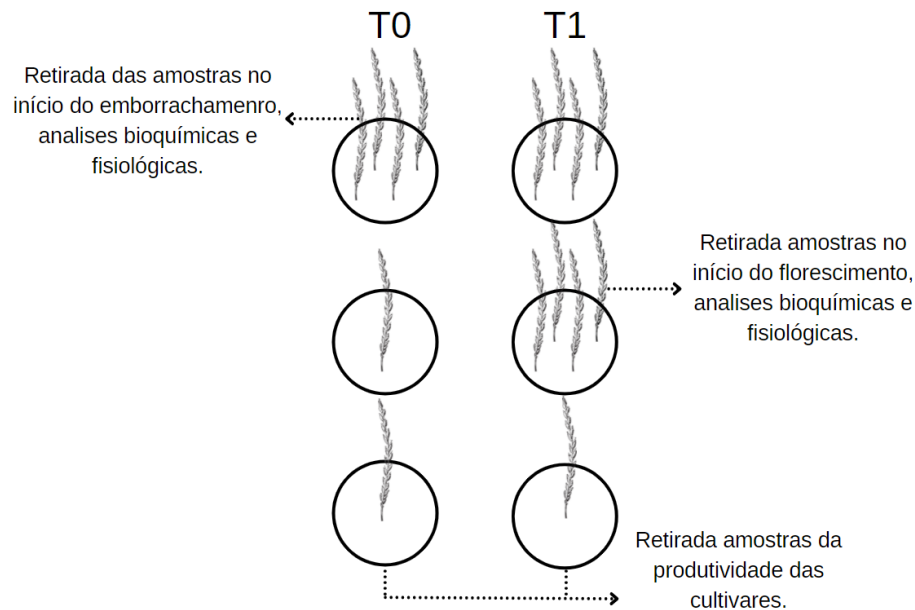
Os dois genótipos de trigo CD 104 e CD 120 foram plantados com sete dias de diferença, pois apresentam ciclo de respectivamente, 116 e 120 dias e para organização da obtenção das amostras. As duas cultivares foram submetidas a quatro condições, (C) Controle, (N) adição de ureia na quantidade proporcional 50 kg de nitrogênio/ha ao estágio Zadok 1.3 / 2.1 (aproximadamente aos 30 dias do perfilhamento), (H) Inoculado na semente, cada semente foi tratada com 10 uL de solução salina contendo 10^6 UFC de *H. seropedicae* SmR1, e (HN) Inoculado com bactéria e adição de ureia. Amostras para análises fisiológicas e bioquímicas foram coletadas com 68 e 75 dias, de plantio, dos cv. CD 104 e CD 120 respectivamente, período este que iniciou o emborrachamento (T0). Após 15 dias foram coletadas novamente amostras, 83 e 90 dias para CD 104 e CD 120, início do florescimento/antese do cereal (T1).

Foram coletadas amostras da folha bandeira e 2ª folha das cultivares, de cada tratamento mencionado anteriormente por corte realizado com tesoura, posteriormente armazenadas em um ultra freezer à -80°C, para manter a atividade enzimática até a extração e dosagem, excetuando-se as amostras de RWC que foram analisadas imediatamente. Após, o restante da planta foi cortado rente ao solo e deixada apenas uma planta.

Os vasos foram levados ao final do ciclo fenológico do trigo para obtenção de dados de componentes de produtividade: comprimento de espiga, peso de espiga, número total de sementes e peso de 100 sementes.

A Figura 4 demonstra o experimento, nos dois tempos T0 e T1 e as respectivas coletas das amostras.

FIGURA 4 – RESPECTIVAS COLETAS DE AMOSTRAS NOS TEMPOS T0 E T1 DO EXPERIMENTO.



Fonte: (O autor)

3.2. ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA SUPERÓXIDO DISMUTASE – (SOD).

A análise para determinar a atividade enzimática da SOD foi realizada conforme Piacham et al. (2003), utilizando a riboflavina para excitação fotoquímica e posterior formação de superóxido através da metionina, o superóxido sendo o substrato da reação enzimática, quando não convertido pela enzima, transforma o nitroblue tetrazolium (NBT), em formazana que possui um aspecto azulado. Para tanto foi utilizado o equipamento espectrofotômetro UV-VIS a $\lambda = 630 \text{ nm}$ para medir a absorbância e realizar os cálculos da atividade.

Para obtenção do extrato 0,5 g, de material congelado a -80°C , foi macerado com nitrogênio líquido juntamente com tampão de extração, logo após centrifugado a -4°C por 20 minutos e retirado o sobrenadante. A excitação fotoquímica foi obtida através da incidência de luz fluorescente diretamente na amostra a um tempo de 15 segundos. A reação foi determinada para volume final de 1mL, contendo 750 μM NBT, 34 mM riboflavina, 130 mM metionina e volume do extrato enzimático de 10 μL .

3.3. CONCENTRAÇÃO DE PROLINA.

A determinação de concentração de prolina foi realizado conforme, Bates (1973), primeiramente fez-se uma curva padrão com prolina purificada, as concentrações no ensaio foram de 0,01 à 0,1 mM. A reação, as análises prolina na amostra, foi realizada com ninhidrina em solução de ácido acético glacial e ácido fosfórico. Foram coletadas 0,5 g de material vegetal, congelado a -80°C, e homogeneizado a 10 ml de ácido sulfosalicílico em sequência macerado até descoloramento da amostra, logo após, colocado para centrifugar e coletado, 250 uL do sobrenadante em seguida adicionados com 500 uL da solução de ninhidrina e mais 500 uL de ácido acético glacial. Colocou-se então a solução em banho maria a uma temperatura de 100°C por uma hora, depois desse tempo, foi retirado e colocado em gelo. Posteriormente foram adicionados 2 mL de tolueno para leitura no espectrofotômetro a 520 nm.

3.4. CONCENTRAÇÃO DE MALONDIALDEÍDO (MDA).

Os dados de malondialdeído também foram realizados a partir de amostras congeladas a -80°C. O experimento foi sucedido conforme Hodges et al. (1999), que utiliza como base a reação de MDA com o ácido tiobarbitúrico (TBA) produzindo um composto cromogênio vermelho-rosado com absorbância em 532nm. Foram coletadas 0,5g de folha e maceradas com 10mL de ácido tricloroacético, posteriormente centrifugadas a 15000 rpm por 5 minutos. Do sobrenadante foi retirado 1mL e nesse adicionado 2mL de 0,5% p/v TBA para a reação, e aquecida a 95°C por 30 min e depois colocada em gelo. Centrifugou-se e a amostra e uma alíquota do sobrenadante foi tomada para realizar a leitura a 532nm (valor da absorbância específica). Em seguida foi realizada a leitura a 600nm para os compostos não específicos. Os cálculos, tomaram o valor de $155 \times 10^{-3} \text{ M}^{-1}$ de coeficiente de absorvidade de MDA e a fórmula abaixo.

EQUAÇÃO 1 – FÓRMULA PARA CÁLCULO DO MALONDIALDEÍDO (MDA).

$$MDA (M) = \frac{(Abs\ 532nm - Abs\ 600\ nm)}{155} \times 1000$$

Fonte: (O autor)

3.5. TEOR RELATIVO DE ÁGUA – RELATIVE WATER CONTENT (RWC).

O teor relativo de água foi realizado com folha fresca, ou seja, logo após a retirada das amostras da casa de vegetação. O experimento foi efetuado conforme, Garcia; Scardua; Klar (1974), para essa determinação são necessárias três medidas do material vegetal, sendo elas, primeiro a massa fresca (*mf*), que foi medido logo após a retirada das folhas e cortadas em disco. Depois a massa turgida (*mt*) determinada nos discos da folha cortadas da planta ao ficarem em água autoclavada por 18 horas. Por último foi a massa seca (*ms*), onde foi colocada os discos em estufa para secagem. A fórmula para determinação do teor relativo de água encontra-se abaixo:

EQUAÇÃO 2 – FÓRMULA PARA CÁLCULO DO TEOR RELATIVO DE ÁGUA, (RWC).

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

Fonte: (O autor)

3.6. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram tabelados em planilhas do excel, organizados e separados em dados da produtividade e dados bioquímicos e fisiológicos. Os dados bioquímicos e fenológicos foram transformados em arquivos txt para que fossem usados no programa Genes, que é um software livre disponível na página da Universidade Federal de Viçosa (CRUZ, 2006). Para realizar a estatística foram utilizadas 3 réplicas e submetidas a análise de variância randomizada e a testes comparativos de média pelo teste Tukey.

Os dados da produtividade do trigo foram analisados no programa estatístico PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis (HAMMER; HARPER; RYAN, 2001), que faz cálculos de variância e teste de Tukey com quantidade distintas de amostras ao mesmo tempo.

4. RESULTADOS

4.1. ORGANIZAÇÃO DAS AMOSTRAS NO EXPERIMENTO

As sementes do trigo *Triticum aestivum* var. Lini foram cultivadas em casa de vegetação a uma temperatura de aproximadamente 25° (\pm 2°) C sem controle de umidade. Conforme dados do Instituto Agronômico do Paraná – IAPAR (2016), a umidade do ar ficou acima de 70% no período do experimento, junho e julho de 2016. Desde o desbaste o experimento seguiu com quatro plantas em cada vaso de cultivo. Sendo uma planta seguiu até o final do ciclo para obtenção de dados dos componentes de produtividade as demais foram destinadas às análises bioquímico-fisiológicas e seguiriam até a retiradas das amostras de folhas e em seguida foram cortadas na base do caule.

Amostras para análises fisiológicas e bioquímicas foram coletadas com 68 e 75 dias, de semeadura das cultivares CD 104 e CD 120 respectivamente, período este que inicia o emborrachamento (T0). Após 15 dias foram coletadas novamente amostras, 83 e 90 dias para CD 104 e CD 120, início do florescimento do cereal (T1). Os dois genótipos de *T. aestivum* CD 104 e CD 120 foram plantados com diferença de 7 dias, pois apresentam ciclo de respectivamente, 116 e 120 dias e para facilitar a obtenção e organização das amostras. O experimento foi montado em vasos para que as duas cultivares de trigo, CD 104 e CD 120, fossem submetidas às 4 condições: Controle (C), adição de ureia (N), inoculado com *H. seropedicae* (H) e inoculado com bactéria e adição de ureia (HN), e para obtenção das amostras nos 2 estádios de T0 e T1.

O experimento desta forma conduzido nos permitiu avaliar entre as cultivares de trigo CD 104 e CD 120, as distintas respostas fisiológicas e bioquímicas da transição do início do estágio de emborrachamento ao início do estágio de florescimento. E, também foi possível observar o efeito da densidade de plantas presentes dentro do vaso, pois ao retirar as plantas do vaso em T0 e T1, com 15 dias de diferença, a quantidade de plantas no vaso em T1 foi maior durante os 15 dias, do início do emborrachamento ao início do florescimento, quando comparado a T0, conforme demonstrou a figura 4. Tal diferença é avaliada quanto a possibilidade de produzir efeito sobre os componentes de produtividade em relação a diferença de densidade de plantas a vaso em casa de vegetação.

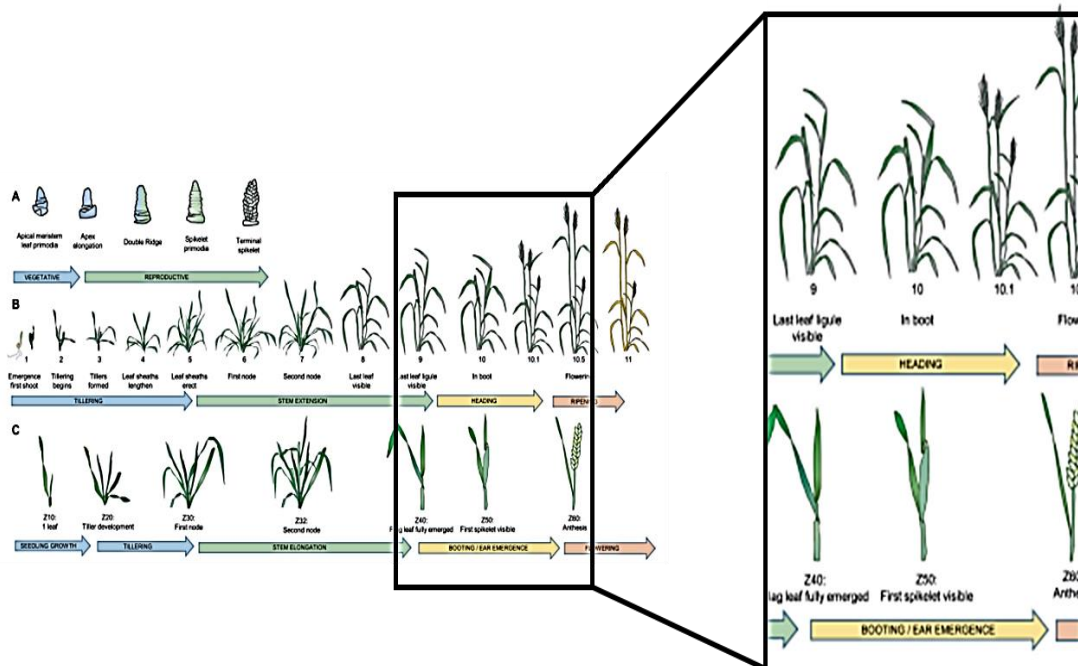
A Tabela 1 dispõe informações das amostras de folhas utilizadas para cada um dos ensaios bioquímicos/fisiológicos realizados. Assim como na Figura 5 podemos ver a representação das folhas nos estádios de desenvolvimento do trigo.

TABELA 1 – AMOSTRAS DE FOLHAS TRIGO DAS CULTIVARES CD 104 E CD 120 UTILIZADAS PARA OS ENSAIOS FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS

	Folha bandeira	Folha 2
Planta 1		MDA (Malondialdeído)
Planta 2	SOD (Superóxido Dismutase)	
Planta 3	PRO (Prolina)	RWC (Teor Relativo de Água)
Planta 4	Deixada até o fim do ciclo fenológico para tomada para dos componentes de produtividade	

Fonte: (O autor)

FIGURA 5 – FASES DO DESENVOLVIMENTO DO TRIGO



Fonte: (HYLES et al. 2020)

4.2. ANÁLISES BIOQUÍMICAS

A figura 6 (A) demonstra a atividade da SOD na cv. CD 104, que apresentou diferença estatística em quase todas as condições, comparando as duas fases reprodutivas distintas, início do emborrachamento (T0) e início do florescimento (T1), só apenas na condição com adição de ureia não houve diferença estatística. Sendo

que as atividades de T0 são em média menores do que T1. Entre os menores valores da atividade está o valor da condição H, e em T1 o valor de N. Em média os valores de T1 do CD 104 são maiores que os valores da cultivar CD 120. Esta, representada na figura 6 (B), que não se observou o mesmo comportamento, pois a atividade não apresentou diferença estatística entre três condições C, N, H, nos dois estádios de desenvolvimento. Porém em HN a atividade da enzima aumentou no início do florescimento.

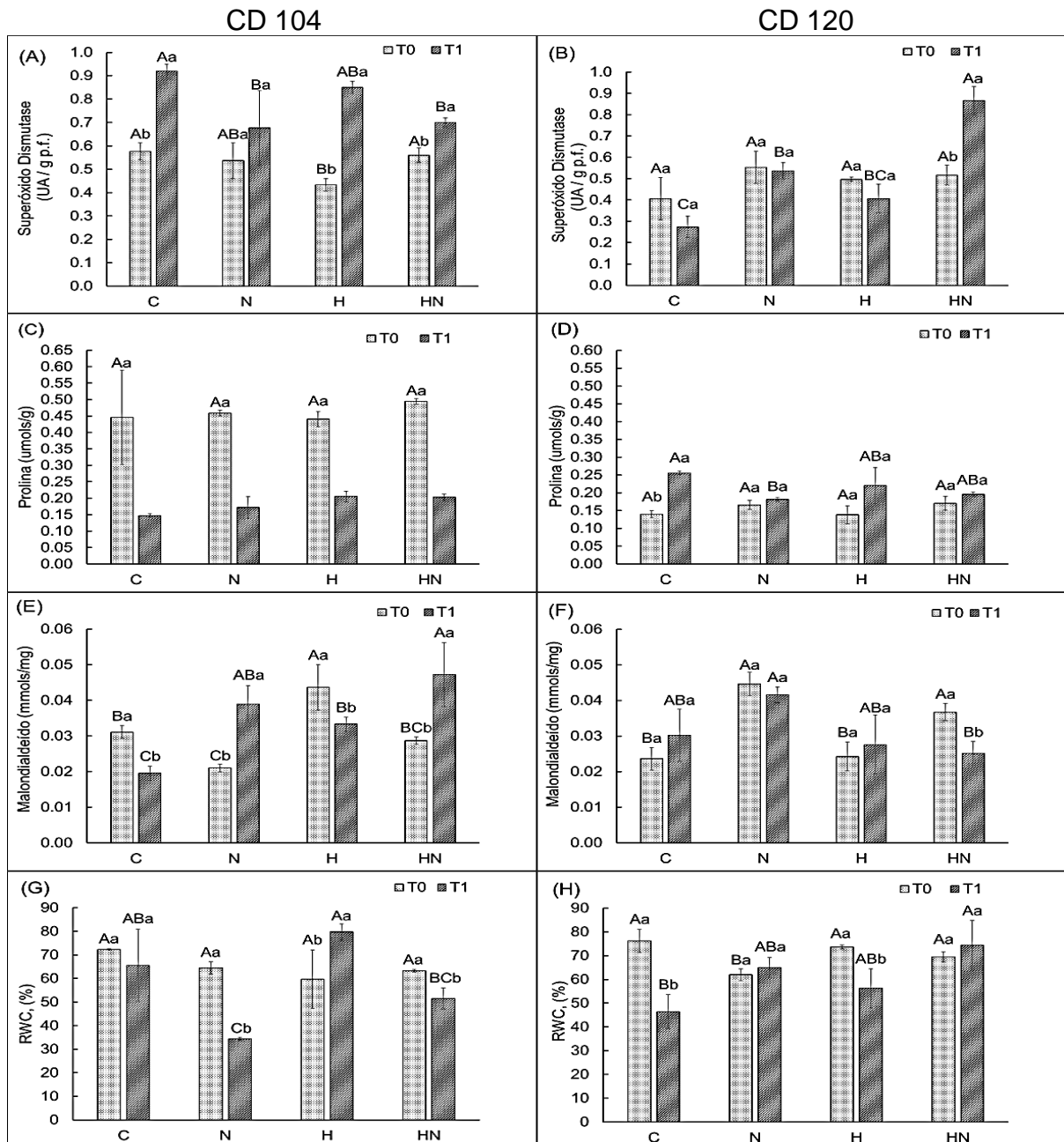
Os dados de concentração de prolina no trigo CD 104, figura 6 (C), apresentaram um resultado maior em todos os tratamentos no T0 em relação ao T1. Já cv. CD 120, figura 6 (D), apresentou um aumento de prolina somente no C em T1, os outros permaneceram constantes estatisticamente.

O malondialdeído está representado na figura 6 (E) e (F), respectivamente CD 104 e CD 120. A cultivar CD 104 apresentou respostas distintas nos estádios de desenvolvimento avaliados, início do emborrachamento (T0) e início do florescimento (T1), na condição controle (C) e inoculado com bactéria (H) o malondialdeído diminuiu estatisticamente no início do florescimento comparado ao início do emborrachamento. E as condições com ureia (N) e inoculado com ureia (HN), demonstrou um aumento no estágio início do florescimento. Cabe o destaque que os valores da condição inoculada (H) em T0 são maiores que em C, porém entre T0 e T1 de N e HN são iguais estatisticamente. Entre as condições de inoculação e/ou fertilização para a cv. CD 120 apenas em uma condição, a inoculada com a bactéria e com ureia, apresentou valor estatisticamente distinto entre os dois estádios de desenvolvimento (T0 e T1), onde ocorre a diminuição de malondialdeído durante o desenvolvimento. Entre tratamentos no início do emborrachamento tanto C e H apresentaram menor concentração, enquanto o maior valor de MDA é na condição N independente do estágio do desenvolvimento.

O teor relativo de água, figura 6 (G) e (H), CD 104 e CD 120 respectivamente. É possível observar que no trigo CD 104 ocorreu a diminuição de teor relativo de água, no início do florescimento nos tratamentos com ureia e inoculado mais adição de ureia, já o tratamento com adição de H. seropedicae apresentou o oposto, aumentando o RWC. A planta CD 120 apresentou diminuição de teor de água relativo na condição inoculado com a bactéria e controle. Destaca-se que as condições com nitrogênio (N) e inoculado com nitrogênio (HN) não tiveram alteração na passagem de estágio fenológico. Enquanto a condição controle e inoculado apresentou diminuição

do RWC, porém o valor da condição inoculado foi maior estatisticamente do que na condição controle

FIGURA 6 – ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA SOD, CONTEÚDO DE PROLINA E MALONDIALDEÍDO E VALORES PERCENTUAIS DE RWC, DAS CULTIVARES DE TRIGO (*TRITICUM AESTIVUM* VAR. LINE) CD 104 (A, C, E e G) E CD 120 (B, D, F e H) EM DOIS ESTÁDIOS DA FASE REPRODUTIVA (T0 E T1) SUBMETIDOS A CONDIÇÕES DE INOCULAÇÃO COM *H. SEROPEDICAE* E/OU FERTILIZAÇÃO COM UREIA.



Legenda: As condições de inoculação e/ou fertilização foram: com *H. seropedicae* (H), com ureia (N), com *H. seropedicae* e com ureia (HN) e controle (C), sem inoculação ou fertilização. Os estádios da fase reprodutiva foram o início do emborrachamento (T0) e início do florescimento (T1). 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 no mesmo estádio de desenvolvimento e, entre os estádios de desenvolvimento (T0 e T1) em cada condição de inoculação/fertilização.

4.3. COMPONENTES DE PRODUTIVIDADE

Ao fim do ciclo fenológico, as espigas foram tomadas e secas para debulha. Antes, porém, medidos seu comprimento e peso. As sementes foram contadas e pesadas 100 semente de cada condição de inoculação e/ou fertilização em cada fase da fase reprodutiva avaliada neste trabalho (T0 e T1).

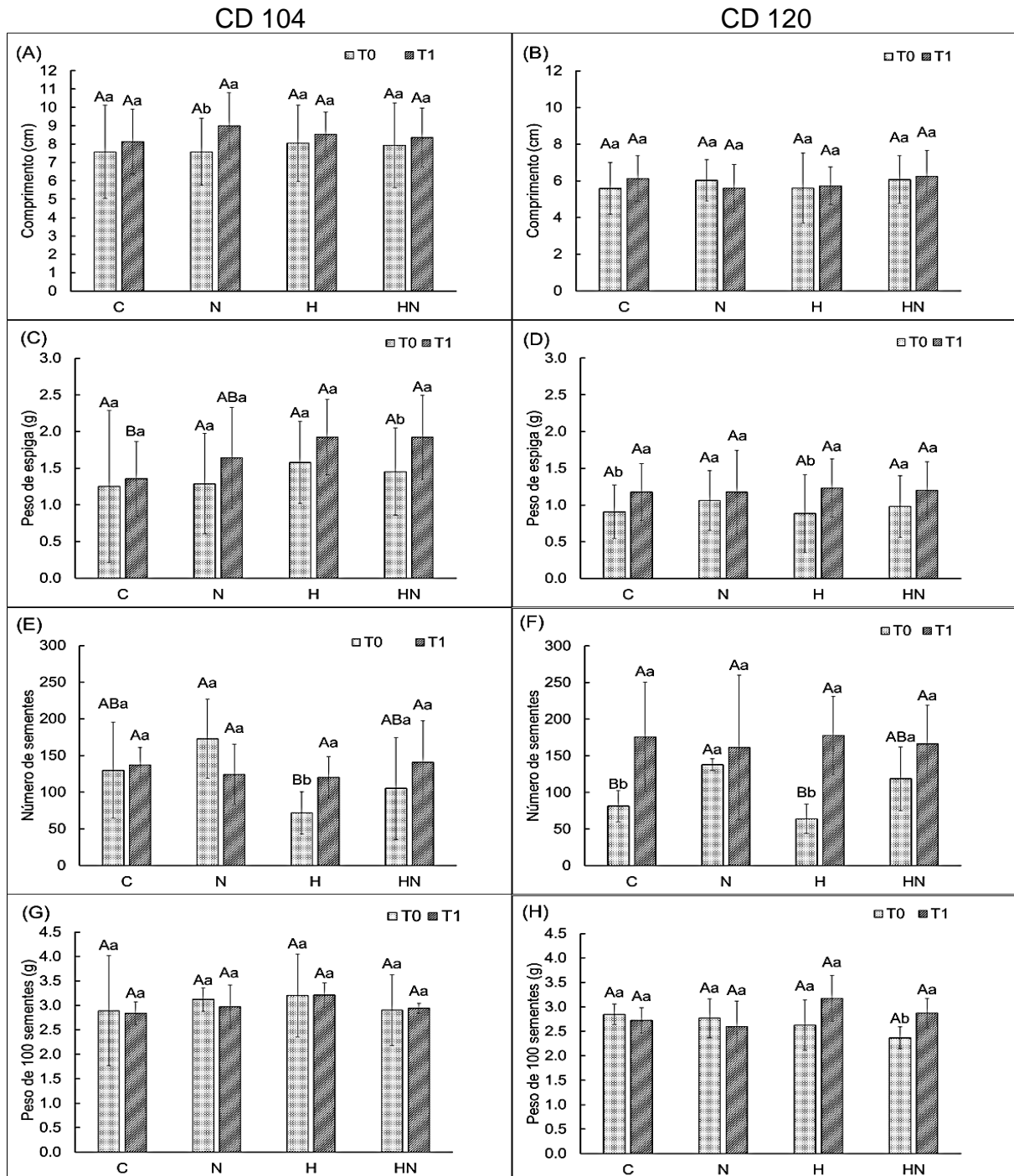
Em relação ao comprimento de espiga, figura 7, (A) sendo CD 104 e (B) CD 120, apenas a cv. CD 104 apresentou uma diferença na condição com adição de ureia (N), onde ocorreu um aumento do comprimento em T1 e, portanto, onde densidade de plantas no vaso foi maior durante 15 dias, quando comparado com T0.

O peso de espiga, o trigo CD 104 figura 7 (C) apresentou diferença na condição inoculado com adição de ureia (HN), onde ocorreu um aumento do peso em T1 e, portanto, onde densidade de plantas foi maior durante 15 dias, quando comparado com T0. O peso de espiga do trigo CD 120, figura 7 (D) apresentou diferença entre as duas distintas densidades nas condições controle e inoculado com bactéria, aumentando o peso com a maior densidade de plantas em vaso durante 15 dias.

Outro componente de produtividade avaliado foi o número total de sementes, figura 7 (E) e (F), CD 104 e CD 120 respectivamente. A cv. CD 104 com maior densidade de plantas no vaso durante de 15 dias (T1) apresentou aumento na condição inoculado com a bactéria, porém os outros permaneceram constantes. E a condição inoculado apresentou menor número de sementes com a densidade menor das plantas no vaso (T0) e comparada as demais condições, menor também. O trigo CD 120 demonstrou um aumento no número de sementes nas condições controle e inoculado quando estão com maior densidade no vaso, assemelhando às demais condições.

O peso de 100 sementes está apresentado em (G) e (H), figura 7, cultivares CD 104 e CD 120 respectivamente. Porém só apresentou diferença na cv. CD 120 nas condições inoculado e com adição de ureia (HN) em relação a densidade sendo que com maior densidade ocorreu um aumento no peso de 100 sementes. De fato, em CD 104, os valores da condição T0 são todas semelhantes assim como as de T1.

FIGURA 7 – COMPONENTES DA PRODUTIVIDADE, DAS CULTIVARES DE TRIGO (*TRITICUM AESTIVUM* VAR. LINE) CD 104 (A, C, E e G) E CD 120 (B, D, F e H) COM DUAS DENSIDADES DISTINTAS DE PLANTAS NO VASO, MENOR DENSIDADE (T0), E MAIOR DENSIDADE (T1), SUBMETIDOS A CONDIÇÕES DE INOCULAÇÃO COM *H. SEROPEDICAE* E/OU FERTILIZAÇÃO COM UREIA.



Legenda: As condições de inoculação e/ou fertilização foram: com *H. seropedicae* (H), com ureia (N), com *H. seropedicae* e com ureia (HN) e controle (C), sem inoculação ou fertilização. As diferenças de densidade de planta no vaso, foram com uma densidade menor em 15 dias (T0) e densidade maior em 15 dias (T1). Letras maiúsculas e minúsculas iguais indicam não haver diferença estatística significativa pelo teste de Tukey ao nível de 5%, respectivamente, nas condições de inoculação e/ou fertilização e nas duas distintas densidade de plantas no vaso (T0 e T1) em uma condição de inoculação/fertilização.

Fonte: (O autor)

5. DISCUSSÃO

5.1. DISCUSSÃO DAS ANÁLISES BIOQUÍMICAS

No presente trabalho foram analisadas duas cultivares de trigo submetidas a quatro diferentes condições e duas fases distintas do desenvolvimento a serem comparadas.

As cultivares foram escolhidas pois apresentaram comportamento distintos em experimentos *in vitro* e a vaso sob inoculação com a bactéria *H. seropedicae* (Neiverth, 2014). E ainda, apresentam distintas características como a tolerância ao estresse hídrico da cv. CD 104 (COODETEC, 2012) e cv. CD 120 tolerante a principais doenças (MARCHIORO et al. 2011).

Os resultados da atividade enzimática da SOD para o cv. CD 104 permitiram observar um aumento de atividade enzimática no início do florescimento. Estudos realizado por Sheoran et al. (2015), demonstraram que genes codificantes da enzima SOD quando não submetidos a estresse e no início do florescimento apresentaram níveis relativamente altos de expressão em trigos tolerante a seca. Os dados avaliados cv. CD 104 o que corrobora os resultados. Contudo a condições com adição de ureia não apresentou diferença estatística.

No trabalho realizado por Neiverth et al. (2014) foi demonstrada uma interação positiva com a bactéria *H. seropedicae*. Os resultados da atividade da SOD, na cultivar CD 120, não apresentaram diferença estatística entre as duas fases de desenvolvimento do trigo analisadas, exceto na condição inoculada com adição de ureia (HN), onde ocorreu a maior atividade no início do florescimento. Alguns estudos mostram que a co-inoculação de bactéria mais fertilizante pode melhorar o crescimento e desenvolvimento do trigo. (SHIRMOHAMMADI et al. 2020).

Comparando apenas as condições na da fase do emborrachamento, não houve diferença estatística entre as condições de controle, inoculação e/ou adição de ureia na cv. CD 120. A atividade enzimática como mencionada anteriormente se manteve igual nos dois estádios de desenvolvimento com inoculação, e em relação a antese o tratamento (H) se manteve igual estatisticamente ao controle e a adição de ureia, indicando uma forma estável da cultivar CD 120 em relação as duas etapas de desenvolvimento apresentadas.

Dados em relação a atividade enzimática da SOD, entre estádios de desenvolvimento do trigo são escassos na literatura. Os dados comparativos são abstraídos em experimento controle no conjunto de ensaios de estresses sofridos pela planta, como, estresse hídrico, salino e metais pesados. Porém, estudos realizados demonstram que essas atividades não dependem somente do ambiente que estão inseridas, mas também do genótipo e fases de desenvolvimento da cultura. (HONGBO; ZONGSUO; MINGAN, 2005; HUSEYNOVA; ALIYEVA; ALIYEV, 2014).

É importante observar que nos dois genótipos estudados, nas condições em que ocorreu diferença estatística entre as duas fases de desenvolvimento estudadas, o florescimento apresentou as maiores atividades da SOD, o mesmo foi observado em Wang et al. (2014) em trigo. Contudo, foi possível analisar que nessa mesma fase os dois genótipos apresentaram maiores oscilações entre as condições que foram submetidos, controle, adubação com ureia, inoculado com *H. seropedicae* e inoculado mais adição de ureia, o que pode indicar o início do florescimento como uma etapa suscetível a variações no ambiente. Segundo Tshewang; Jessop; Birchall, (2017), a floração é a fase mais suscetível, durante a fase de desenvolvimento do trigo, pois é onde as partes reprodutivas da planta não estão protegidas pela bainha foliar.

A prolina é um aminoácido solúvel que é produzido por plantas superiores. Trabalhos demonstram que a maior quantidade desse aminoácido tem relação com estresses sofrido pela planta (SELVAKUMAR, 2018; PEDREIRA, 2007).

A cv. CD 104 apresentou maiores níveis de prolina em todos os tratamentos no estádio de emborrachamento do trigo comparado ao estádio de florescimento. Este resultado já foi mostrado por LEMOS (2011), para esta cultivar onde foi mostrado que a fase do início do emborrachamento é a fase de maior produção de prolina para a CD 104. Entretanto, a literatura é pouca em relação a essas duas fases de desenvolvimento do trigo referente a quantidade de prolina, porém o trabalho de Van; Krüger; Krüger (1993) demonstra que plantas de tabaco tolerantes ao estresse hídrico obtém um aumento precoce de prolina na folha e depois mantem os níveis estáveis desse aminoácido. Neste trabalho a cv. CD 104 de trigo, como já descrito, um genótipo tolerante a seca. Os tratamentos não se diferenciaram na fase de emborrachamento, porém ocorreu uma diferença na fase de florescimento onde os níveis maiores de prolina concentraram no tratamento inoculado com bactéria e o tratamento inoculado mais adição de ureia, o que pode demonstrar um possível estresse da cultivar com a inoculação com a bactéria *H. seropedicea*, nesta análise bioquímica. Em análises de

correlação de Pearson ocorreu uma interação negativa de 75% entre a análise de atividade de SOD e Prolina em cv. 104. No trabalho realizado por Borzouei et al. (2012), foi mostrado que com o aumento da atividade da SOD ocorreu uma diminuição no conteúdo de prolina em trigo, mesmo este não estando em condição de estresse.

O trigo CD 120 com exceção do controle não apresentou diferenças estatísticas entre as duas fases do desenvolvimento estudadas. Porém com uma inclinação de níveis mais altos de prolina no início do florescimento. Isso também pode ser corroborado por Fumis; Pedras, (2002), onde genótipos de trigo não apresentados como tolerantes, continham maiores níveis de prolina na fase de florescimento do trigo comparado ao emborrachamento. Outro resultado importante a ser apresentado é que a inoculação com bactéria nessa cultivar se comparou a adubação nitrogenada nas duas fases de desenvolvimento o que pode indicar uma relação positiva entre o trigo CD 120 e a bactéria *H. seropedicae*. O perfil entre os dois estádios de desenvolvimento para o CD 120 coincide com o perfil de peso de espigas e número de sementes.

O malondialdeído é um produto da peroxidação lipídica da membrana celular e uma das causas dessa peroxidação ocorre por meio de radicais livres presentes em excesso na célula. Conforme Kong et al. (2016), pode ser um dos principais indicadores para avaliar o estado fisiológico da planta durante seu desenvolvimento. As análises de MDA foram realizadas na folha 2, que é a folha subsequente a folha bandeira, das duas cultivares de trigo. Os resultados apresentados no presente estudo em relação a cv. CD 104 demonstraram resultados divididos, pois a condição com adição de ureia (N) e inoculado com ureia (HN) apresentaram maior concentração de MDA no início do florescimento do trigo comparado ao início do emborrachamento já os tratamentos somente com bactéria e controle apresentaram maiores valores no início do emborrachamento. Em relação aos tratamentos N e HN, são encontrados resultados semelhantes por Borzouei et al. (2012), pois com a progressão do desenvolvimento do trigo ocorreu uma maior concentração de MDA na folha da planta. Com o aumento de aplicação de N ocorre diminuição na concentração de MDA, pois há uma diminuição da produção de superóxido quando o sistema fotossintético está bem suprimido de N, portanto com a adição de ureia não possui produção excessiva de superóxido e menor peroxidação lipídica (CHANG-XING et al. 2008; KLEINGESINDS 2016).

A cv. CD 120 diferentemente da cv. CD 104, não sofreu muitas alterações entre as condições nas duas fases de desenvolvimento em relação a concentração de malondialdeído. A condição com a inoculação da bactéria e controle, foram os menores valores apresentados na cultivar para a concentração de MDA. No trabalho de Lemos (2011), os dados indicam um aumento de MDA ao avançar da fase reprodutiva. Portanto pode haver um adiantamento da fase reprodutiva na condição com ureia e uma diminuição dos danos na condição com ureia e a bactéria. Li; Jiang, (2017), mostraram que plantas de milho inoculadas com PGPB mantiveram concentração de MDA baixa.

A análise do teor relativo de água foi realizada na folha 2 dos dois genótipos de trigo analisados. E apresentou algumas diferenças entre as duas fases de desenvolvimento avaliadas. Em Fumis; Pedras, (2002), o teor relativo de água, com irrigação constante, também apresentou diferença nas etapas de desenvolvimento do trigo.

A cv. CD 104 comparando os dois estádios de desenvolvimento do trigo, se diferenciaram estatisticamente nos tratamentos com adição de ureia e o tratamento com adição de ureia mais inoculação da bactéria, onde em ambos o RWC foi menor na fase do início do florescimento do trigo. Estudos realizados por Andrade et al. (2015) e Pérez; Viega; Castro, (2020), também demonstraram que o teor relativo de água, em condições normais de irrigação, tende a diminuir conforme o avanço das etapas do desenvolvimento do trigo.

A análise de correlação de Pearson, mostram correlação significativa e negativa em 45% dos dados de RWC e MDA, e como mencionado anteriormente as análises de MDA em N e HN aumentaram no florescimento, enquanto que na mesma etapa de desenvolvimento o RWC diminuiu, resultados parecidos dessa relação negativa, entre as duas análises, são encontrados em cultivares de cana-de-açúcar tolerantes a seca, pois a diminuição do teor relativo de água leva a um aumento de produção de H_2O_2 , o que pode aumentar a peroxidação lipídica e conseqüentemente o MDA (CIA et al. 2012).

O genótipo CD 120 apresentou também valores inferiores na pré-antese nas condições inoculado com bactéria e no controle, porém no controle o teor relativo de água apresentou um valor bem menor que no tratamento inoculado com a bactéria. Apesar da diferença estatística os níveis de RWC foram superiores a 50% na folha. Como mencionado anteriormente os níveis de teor de água relativos tendem a diminuir

com o avanço das etapas de desenvolvimento do trigo. O trabalho realizado por Sharifi et al. (2020), com fertilização de diferentes bioinoculantes e irrigação contínua apresentou um índice de aproximadamente 60 a 70%, o que foi igualmente demonstrado no presente trabalho para as duas fases de desenvolvimento.

Uma relação muito importante observada foi as condições de controle e inoculada com *H. seropedicae* na cv. CD 104, pois em todas as análises bioquímicas realizadas se comportam de formas iguais entre as duas etapas estudadas.

5.2. COMPONENTES DE PRODUTIVIDADE COMPARANDO DENSIDADE DE PLANTAS A VASO.

Os resultados de componentes produtividade foram usados para comparar as diferentes densidades de plantas de trigo, em vaso, em casa de vegetação, isto é, os componentes de produtividade obtidos de um tratamento que esteve com menor densidade de plantas desde o início do emborrachamento (T0) e outra desde o início do florescimento (T1). Portanto, tratamento T0 apresentou menor densidade de plantas no vaso por mais tempo do que em T2. Os dados de número de sementes, foram os que apresentaram maiores diferenças estatísticas, sendo que em CD 104 em T0 o valor foi menor na condição com inoculação da *H. seropedicae* e CD 120 apresentou o mesmo resultado para a condição com inoculação e no controle. Comparando as duas densidades distintas (menor a partir de T0 e menor a partir de T1) é possível observar que nos quatro componentes de produtividade avaliados, nas condições em que ocorre diferença estatística, se observa valores maiores quando a densidade de plantas é maior em vaso. Esse resultado não concorda com os resultados de Fioreze (2011), o qual demonstra que com menores densidades de plantas de trigo ocorre maior produtividade de número de grãos e massa de grão, contudo os dados obtidos foram realizados a campo ao contrário do presente estudo que se realizou a vaso e em casa de vegetação. Alguns experimentos mais recentes, também executados a campo, demonstraram que o aumento de densidade de plantas de trigo aumentou a produtividade, porém um desses trabalhos ressalta e avalia que é necessária uma combinação adequada de nitrogênio e densidade de planta para obter tal resultado (YANG et al. 2019; DAI et al. 2014). Literaturas relacionadas a produtividade com diferentes densidades de plantas de trigo em vaso é escassa, não obtendo um comparativo efetivo dos experimentos com o presente trabalho, em relação ao local realizado, casa de vegetação.

Uma justificativa para esses resultados são os diversos genótipos de trigo existentes no mercado e conseqüentemente os distintos comportamentos apresentados por cada um deles, sendo cultivados nas mesmas condições. Conforme Marinho et al. (2018), existe uma densidade adequada para cada genótipo de trigo e o ambiente que foi inserido, nesse trabalho foi avaliado duas cultivares de trigo em diferentes densidades de plantas e mesmo ambiente de cultivo, as duas cultivares apresentaram maiores números de produtividade em maiores densidades. Segundo Zagonel; Venancio; Kunz, (2002) o aumento da densidade pode afetar diretamente no acamamento e qualidade do grão de trigo, mesmo apresentando uma maior massa de grãos. No presente trabalho não foram analisados a viabilidade e qualidade dos grãos de trigo produzidos, porém é sugerível realizar novos teste com esses dois genótipos em densidades diferentes analisando, não somente a quantidade produzida, mas também sua qualidade para determinar a melhor densidade de plantas para os dois genótipos.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após a elaboração do presente trabalho em relação a inoculação da bactéria *H. seropedicae* em dois genótipos de trigo cv. CD 104 e cv. CD 120, já demonstrado em literatura que reagem de forma nula e positiva, respectivamente. É possível concluir que:

- De fato, em termos de componentes de produtividade nesse experimento não houve contribuição da inoculação. E foi importante para dar melhores índices de RWC e atividade SOD quando associado a adição de ureia, e diminuindo os danos da peroxidação lipídica, cv. 120.
- A cultivar CD 104 em relação a inoculação com a bactéria obteve um resultado negativo, tendo promovido aumento os níveis de MDA e em consequência diminuiu o número de sementes.
- Nesse experimento foi possível confirmar as características de tolerância a seca da cv. CD104.
- Nesse experimento a vaso foi possível concluir que com maior densidade de plantas durante a passagem da fase do emborrachamento para o florescimento se obtém boa influência nos componentes de produtividade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABITRIGO, Associação Brasileira da Indústria do Trigo. Disponível em: <http://www.abitrigo.com.br/categoria-estatisticas/farinha-de-trigo/>. Acesso em: 24 fev. 2022.
- ANDRADE, S. R. M. et al. Parâmetros fisiológicos para seleção de trigo tolerante a seca. In: **Embrapa Cerrados Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 8.; SEMINÁRIO TÉCNICO DO TRIGO, 9., 2014, Canela; REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 9.; SEMINÁRIO TÉCNICO DO TRIGO, 10., 2015, Passo Fundo. Anais... Passo Fundo: Biotrigo Genética: Embrapa Trigo, 2015. 1 CD-ROM., 2015.
- BARBOSA, M. R. et al. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, v. 44, p. 453-460, 2014.
- 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.
- BHATTACHARJEE, S. Sites of generation and physicochemical basis of formation of reactive oxygen species in plant cell. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**, p. 1-30, 2010.
- BIANCHI, L.; GERMINO, G. H.; ALMEIDA S. M. Adaptação das plantas ao déficit hídrico. **Acta iguazu**, v. 5, n. 4, p. 15-32, 2016.
- BORZOUEI, A. et al. Estrés salino a largo plazo en relación con peroxidación lipídica, actividad superóxido dismutasa y contenido de prolina de cultivares de trigo sensibles y tolerantes a la salinidad. **Chilean journal of agricultural research**, v. 72, n. 4, p. 476-482, 2012.
- CHANG-XING, Z. H. A. O. et al. Effects of nitrogen application rate and post-anthesis soil moisture content on the flag leaf senescence and kernel weight of wheat. **Yingyong Shengtai Xuebao**, v. 19, n. 11, 2008.
- CHOUDHARY, A.; KUMAR, A.; KAUR, N. ROS and oxidative burst: Roots in plant development. **Plant Diversity**, v. 42, n. 1, p. 33-43, 2020.
- CIA, M. C. et al. Antioxidant responses to water deficit by drought-tolerant and-sensitive sugarcane varieties. **Annals of Applied Biology**, v. 161, n. 3, p. 313-324, 2012.
- COODETEC, 2012. (Guia de Produtos).

- CRUZ, C. D. Programa Genes - Análise multivariada e simulação. 1. ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2006. v. 1. 175 p.
- DAI, X. et al. Increased plant density of winter wheat can enhance nitrogen-uptake from deep soil. **Plant and Soil**, v. 384, n. 1, p. 141-152, 2014.
- FIOREZE, S. L. Comportamento produtivo do trigo em função da densidade de semeadura e da aplicação de reguladores vegetais. 2011.
- FUMIS, T. F.; PEDRAS, J. F. Proline, diamine and polyamines accumulation in wheat cultivars submitted to water deficits. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 4, p. 449-453, 2002.
- GARCIA, G. J.; SCARDUA, R.; KLAR, A. E. The relative water content and the refratometric index on the control of the water irrigation in the tomato crop. **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, v. 31, p. 351-359, 1974.
- GLICK, B. R. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. **Scientifica**, v. 2012, 2012.
- GOL, L.; TOMÉ, F.; VON K. M. Floral transitions in wheat and barley: interactions between photoperiod, abiotic stresses, and nutrient status. **Journal of experimental botany**, v. 68, n. 7, p. 1399-1410, 2017.
- DI BENEDETTO, Nilde Antonella *et al.* The role of Plant Growth Promoting Bacteria in improving nitrogen use efficiency for sustainable crop production: a focus on wheat. *AIMS microbiology*, v. 3, n. 3, p. 413-434, 7 jun. 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31294169>>.
- HARGER, N. et al. Uso de tecnologias em lavouras de trigo no Paraná, Safra 2010. In: **Embrapa Trigo-Resumo em anais de congresso (ALICE)**. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 5., 2011, Dourados. Ata e resumos... Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2011., 2011.
- HAMMER, Ø., HARPER, D.A.T., and P. D. RYAN, 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1): 9pp.
- HODGES, D. M. 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.
- HONGBO, S. ZONGSUO, L. MINGAN, S. Changes of anti-oxidative enzymes and MDA content under soil water deficits among 10 wheat (*Triticum aestivum* L.)

genotypes at maturation stage. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 45, n. 1, p. 7-13, 2005.

HUSEYNOVA, I. M.; ALIYEVA, D. R.; ALIYEV, J. A. Subcellular localization and responses of superoxide dismutase isoforms in local wheat varieties subjected to continuous soil drought. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 81, p. 54-60, 2014.

HYLES, J. et al. Phenology and related traits for wheat adaptation. **Heredity**, v. 125, n. 6, p. 417-430, 2020.

Jl, H. et al. Effects of jointing and booting low temperature stresses on grain yield and yield components in wheat. **Agricultural and Forest Meteorology**, v. 243, p. 33-42, 2017.

IAPAR. Cartas climáticas do Paraná, 2016. Disponível em: www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/pluvio.xls. Acesso em: 15 de fev. 2019.

JUNGES, A. H. Distribuição espacial e temporal do cultivo de trigo no Rio Grande do Sul e ajuste de modelo agrometeorológico-espectral para estimativa e rendimento de grãos. 2011.

KLEINGESINDS, C. K. Sinalização entre plantas e bactérias. **Laboratório de Ensino de Botânica**, p. 193, 2016.

KOCHINSKI, E. G. et al. Ajuste e parametrização do modelo Wang-Engel para estimativa dos estádios fenológicos em genótipos de trigo. 2020.

KONG, W. et al. Non-destructive determination of Malondialdehyde (MDA) distribution in oilseed rape leaves by laboratory scale NIR hyperspectral imaging. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 1-8, 2016.

KONG, L. *et al.* Signaling Responses to N Starvation: Focusing on Wheat and Filling the Putative Gaps With Findings Obtained in Other Plants. A Review. *Frontiers in Plant Science*, v. 12, n. May, p. 1–19, 2021.

LEMOS, J. M. et al. Physiological and biochemical responses of wheat subjected to water deficit stress at different phenological stages of development. **Journal of Agricultural Science and Technology B**, v. 1, n. 8, p. 22-30, 2011.

LI, H. Q.; JIANG, X. W. Inoculation with plant growth-promoting bacteria (PGPB) improves salt tolerance of maize seedling. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 64, n. 2, p. 235-241, 2017.

- LIMA, L. S. et al. Root exudate profiling of maize seedlings inoculated with *Herbaspirillum seropedicae* and humic acids. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v. 1, n. 1, p. 1–18, 2014.
- MA, Y. et al. Beneficial role of bacterial endophytes in heavy metal phytoremediation. **Journal of environmental management**, v. 174, p. 14-25, 2016.
- MAIA, J. M. et al. Atividade de enzimas antioxidantes e inibição do crescimento radicular de feijão caupi sob diferentes níveis de salinidade. **Acta Botanica Brasilica**, v. 26, n. 2, p. 342-349, 2012.
- MARCHIORO, V. S. et al. CD 120 wheat cultivar, standard quality soft, for the Southern Region of Brazil. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 11, p. 375-378, 2011.
- MARINHO, L. J. et al. Produtividade e qualidade fisiológica de sementes de cultivares de trigo em diferentes densidades de semeadura. In: **Colloquium Agrariae. ISSN: 1809-8215**. 2018. p. 122-131.
- MELO, A. et al. Oxidative stress in neurodegenerative diseases: mechanisms and therapeutic perspectives. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2011, 2011.
- MITTLER, R. ROS are good. **Trends in plant science**, v. 22, n. 1, p. 11-19, 2017.
- 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.
- NOCTOR, G.; REICHHELD, J.; FOYER, C. H. ROS-related redox regulation and signaling in plants. In: **Seminars in Cell & Developmental Biology**. Academic Press, 2018. p. 3-12.
- OCHAGAVÍA, H. et al. Developmental patterns and rates of organogenesis across modern and well-adapted wheat cultivars. **European Journal of Agronomy**, v. 126, p. 126280, 2021.
- PEDREIRA, A. C. et al. Conteúdo relativo de água, teor de prolina e carboidratos solúveis totais em folhas de duas cultivares de milho submetidas ao estresse hídrico. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. S2, p. 918-920, 2007.
- PEDROSA, O. et al. Genome of *Herbaspirillum seropedicae* Strain SmR1, a Specialized Diazotrophic Endophyte of Tropical Grasses. v. 7, n. 5, 2011.
- PÉREZ, O.; VIEGA, L.; CASTRO, M. Different leaf water dynamics post-anthesis affects the final kernel weight in wheat. **Agrociencia Uruguay**, v. 24, n. 1, p. e109-e109, 2020.

- PIACHAM, T. et al. A polymer supported manganese catalyst useful as a superoxide dismutase mimic. **Chemical communications**, n. 11, p. 1254-1255, 2003.
- RAI, A.; NABTI, E. Plant growth-promoting bacteria: Importance in vegetable production. In: **Microbial strategies for vegetable production**. Springer, Cham, 2017. p. 23-48.
- RODRIGUES, O. et al. Ecofisiologia de trigo: bases para elevado rendimento de grãos. **Embrapa Trigo-Capítulo em livro científico (ALICE)**, 2011.
- SCHNEIDER, C. D.; OLIVEIRA, A. R. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 10, p. 308-313, 2004.
- SELVAKUMAR, G. et al. Spore associated bacteria regulates maize root K⁺/Na⁺ ion homeostasis to promote salinity tolerance during arbuscular mycorrhizal symbiosis. **BMC plant biology**, v. 18, n. 1, p. 1-13, 2018.
- SERRAGO, R. A.; MIRALLES, D. J.; SLAFER, G. A. Floret fertility in wheat as affected by photoperiod during stem elongation and removal of spikelets at booting. **European Journal of Agronomy**, v. 28, n. 3, p. 301-308, 2008.
- SHARIFI, R. S. et al. Effects of biofertilizers and nano zinc-iron oxide on yield and physicochemical properties of wheat under water deficit conditions. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 51, n. 19, p. 2511-2524, 2020.
- SHEORAN, S. et al. Differential activity and expression profile of antioxidant enzymes and physiological changes in wheat (*Triticum aestivum* L.) under drought. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 177, n. 6, p. 1282-1298, 2015.
- SHIRMOHAMMADI, E. et al. Improved phosphorus (P) uptake and yield of rainfed wheat fed with P fertilizer by drought-tolerant phosphate-solubilizing fluorescent pseudomonads strains: a field study in drylands. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 20, n. 4, p. 2195-2211, 2020.
- SILVEIRA, A. P. D. et al. Nitrogen metabolism and growth of wheat plant under diazotrophic endophytic bacteria inoculation. **Applied Soil Ecology**, v. 107, p. 313-319, 2016.
- SONG, L. et al. Effects of Nitrogen Application in the Wheat Booting Stage on Glutenin Polymerization and Structural–Thermal Properties of Gluten with Variations in HMW-GS at the Glu-D1 Locus. **Foods**, v. 9, n. 3, p. 353, 2020.
- SOUZA, R. G. et al. Produção de trigo no Brasil: análise de políticas econômicas e seus impactos. **Revista de Política Agrícola**, v. 30, n. 2, p. 45, 2021.

- TSHEWANG, S.; JESSOP, R.; BIRCHALL, C. Effect of frost on triticale and wheat varieties at flowering in the north eastern Australian cereal belt. **Cereal Research Communications**, v. 45, n. 4, p. 655-664, 2017.
- VAN RENSBURG, L.; KRÜGER, G. H. J.; KRÜGER, H. Proline accumulation as drought-tolerance selection criterion: its relationship to membrane integrity and chloroplast ultrastructure in *Nicotiana tabacum* L. **Journal of Plant Physiology**, v. 141, n. 2, p. 188-194, 1993.
- WEATHERLEY, PjE. Studies in the water relations of the cotton plant. I. The field measurement of water deficits in leaves. **New Phytologist**, p. 81-97, 1950.
- WALTER, L. C. e al. Desenvolvimento vegetativo e reprodutivo de cultivares de trigo e sua associação com a emissão de folhas. **Ciência Rural**, v. 39, p. 2320-2326, 2009.
- WANG, J. et al. Apoplastic antioxidant enzyme responses to chronic free-air ozone exposure in two different ozone-sensitive wheat cultivars. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 82, p. 183-193, 2014.
- YANG, D. et al. Optimizing plant density and nitrogen application to manipulate tiller growth and increase grain yield and nitrogen-use efficiency in winter wheat. **PeerJ**, v. 7, p. e6484, 2019.
- ZAGONEL, J.; VENANCIO, W. S.; KUNZ, R. P. Efeito de regulador de crescimento na cultura de trigo submetido a diferentes doses de nitrogênio e densidades de plantas. **Planta Daninha**, v. 20, p. 471-476, 2002.
- ZHANG, W. et al. Selected Quality Attributes of Wheat Flour Added with Overozonized Wheat Flour. **Journal of Food Quality**, v. 2021, 2021.
- ZINTA, G. et al. Unveiling the redox control of plant reproductive development during abiotic stress. **Frontiers in plant science**, v. 7, p. 700, 2016.

