



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

ALTAMARA VIVIANE DE SOUZA SARTORI

**PROCESSO GERMINATIVO E ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE  
SEMENTES DE TRIGO EM RESPOSTA À COMBINAÇÃO DE  
ESTRESSES HÍDRICOS E TÉRMICOS**

Londrina  
2021

ALTAMARA VIVIANE DE SOUZA SARTORI

**PROCESSO GERMINATIVO E ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE  
SEMENTES DE TRIGO EM RESPOSTA À COMBINAÇÃO DE  
ESTRESSES HÍDRICOS E TÉRMICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia – Curso de Mestrado da Universidade Estadual de Londrina, como requisito para obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Claudemir Zucareli  
Coorientador: Dra. Carolina M<sup>a</sup>. Gaspar de Oliveira

Londrina  
2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

- S251 SARTORI, ALTAMARA VIVIANE DE SOUZA .  
Processo germinativo e atividade enzimática de sementes de trigo em resposta à combinação de estresses hídricos e térmicos / ALTAMARA VIVIANE DE SOUZA SARTORI. - Londrina, 2021.  
106 f. : il.
- Orientador: Claudemir Zucareli.  
Coorientador: Carolina Maria Gaspar de Oliveira .  
Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2021.  
Inclui bibliografia.
1. Déficit hídrico - Tese. 2. Alta temperatura; - Tese. 3. Estresses múltiplos; - Tese. 4. Potencial fisiológico. - Tese. I. Zucareli, Claudemir. II. Gaspar de Oliveira , Carolina Maria . III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

CDU 63

ALTAMARA VIVIANE DE SOUZA SARTORI

**PROCESSO GERMINATIVO E ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE  
SEMENTES DE TRIGO EM RESPOSTA À COMBINAÇÃO DE  
ESTRESSES HÍDRICOS E TÉRMICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia – Curso de Mestrado da Universidade Estadual de Londrina, como requisito para obtenção do título de Mestre em Agronomia.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Claudemir Zucareli  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Profa. Dra. Carla Gomes Machado  
Universidade Federal de Jataí - UFJ

---

Profa. Dra. Lúcia Sadayo Assari Takahashi  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 31 de março de 2021.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me amparar nos momentos de dificuldades, me dando forças, mostrando o caminho nas horas incertas, iluminando a minha vida para seguir sempre em frente e suprimindo todas as minhas necessidades. Senhor, muito obrigada pela fé que tenho em ti, pois com ela consigo transpor montanhas e vencer os obstáculos, preconceitos, interesses materiais, o orgulho, egoísmo, ódio e a maldade.

À Universidade Estadual de Londrina e ao Programa de Pós-Graduação pela oportunidade oferecida, aos professores vinculados, que contribuíram para meu aprendizado e crescimento.

Ao orientador Prof. Dr. Claudemir Zucareli por toda ajuda, paciência, incentivo e conhecimentos compartilhados.

À minha querida coorientadora, pesquisadora Dra. Carolina Maria Gaspar de Oliveira, por sua dedicação, carinho, paciência, sensibilidade, humildade e por ter me apoiado durante esses oito anos no âmbito acadêmico, me conduzindo desde a graduação até o mestrado com a calma necessária para me ajudar a atravessar os momentos espinhosos. Levarei sempre comigo seus ensinamentos e exemplo de pessoa e profissional transmitidos para mim. Obrigada por acreditar em mim e aceitar-me como co-orientanda, incentivar-me, acalmar-me sempre que precisei, por fazer parte da minha vida nos momentos bons e ruins, por ajudar-me a encontrar o caminho da ciência e pelas orientações e sugestões durante a construção final desta dissertação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado fornecida.

Ao Instituto de Desenvolvimento Rural IDR- Paraná, pela infraestrutura disponibilizada para a realização desse trabalho e a todos seus funcionários.

À minha mãe Cleuza de Souza, meu maior exemplo, pelo amor, segurança, pelo exemplo de caráter, esforço, honestidade e humildade.

Ao meu pai Osmar Sartori (*in memoriam*), saudades, exemplo de força e coragem, essencial para meu esforço em vencer na vida.

Ao meu filho Erick Gabriel Garcia, meu maior tesouro, que é minha calma em meio a todas as turbulências, obrigada por tudo e principalmente pelo amor e paciência.

Às amigas/irmãs Rose Mari Marinho, Cíntia Sorane Good Kitzberger, pela amizade infinita, por todo o apoio e por emocionalmente fazerem parte desse trabalho, sempre permanecendo ao meu lado em todos os momentos

Às amigas Alessandra Rodrigues, Patricia Piva Emrich, Flavia de Oliveira Araújo, Elizeu David dos Santos, Juliana Sawada Buratto, por toda por toda ajuda, companheirismo, risadas, apoio, disponibilidade e paciência de ouvir minhas ideias e questionamentos acadêmicos.

Muito obrigada!

Dedico este trabalho

A Deus, que me concedeu a vida e todas as oportunidades;

À minha mãe mulher guerreira e de fibra que me ensinou a sorrir e ter fé mesmo nos momentos difíceis, por ter lutado pelos meus sonhos e me apoiado em todos eles.

Ao meu filho, minha razão de viver.

Dedico também à memória do meu pai Osmar Sartori, por ter me ensinado seus valores e por ter sido um verdadeiro pai.

A todos os meus amigos, os quais não mediram esforços para me incentivar a buscar meus objetivos.

*“Cabe ao homem compreender que o solo fértil, onde tudo que se planta dá, pode secar; que o chão que dá frutos e flores pode dar ervas daninhas, que a caça se dispersa e a terra da fartura pode se transformar na terra da penúria e da destruição. O homem precisa entender, que de sua boa convivência com a natureza, depende sua subsistência e que a destruição da natureza é sua própria destruição, pois a sua essência é a natureza; a sua origem e o seu fim”*

*Elizabeth Jhin*

*“O êxito da vida não se mede pelo caminho que você conquistou, mas sim pelas dificuldades que superou no caminho”*

*Abraham Lincoln*



SARTORI, Altamara Viviane de Souza. **Processo germinativo e atividade enzimática de sementes de trigo em resposta à combinação de estresses hídricos e térmicos**. 2021. 106f. Dissertação apresentado ao Programa de Pós-graduação em Agronomia – Curso de Mestrado da Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2021.

## RESUMO

Fatores abióticos como os estresses hídricos e térmicos, isolados ou associados, limitam a germinação, o número de plântulas estabelecidas e o seu crescimento e desenvolvimento. Além disso, a resposta das plantas aos estresses combinados é diferente da exposição a uma única fonte de estresse. Assim, objetivou-se com esse experimento avaliar o processo germinativo das sementes e a atividade enzimática das plântulas de trigo submetidas à germinação sob diferentes potenciais hídricos e temperaturas supraótimas (acima de 20 °C), isolados ou associados. Foram utilizados quatro lotes de sementes de trigo, da cultivar IPR-Catuara, selecionados por apresentarem qualidade física e germinação semelhante, para tanto, os lotes foram caracterizados pelo teor de água, massa de 1000 sementes, germinação, primeira contagem da germinação, emergência de plântulas em areia e índice de velocidade de emergência de plântulas. Na avaliação da resposta aos estresses abióticos as sementes de trigo foram colocadas para germinar nos potenciais hídricos de 0,000 (zero), -0,075, -0,223 e -0,444 Mpa, associados às temperaturas de 20, 24, 28 e 32 °C, totalizando 16 tratamentos. Foram avaliadas as características: plântulas normais aos quatro e oito dias e as plântulas anormais e sementes mortas ao final do teste de germinação; a atividade das enzimas catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX), e o conteúdo de proteína da parte aérea e da raiz das plântulas de trigo. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, em esquema fatorial 4x16, sendo quatro lotes de sementes de trigo e 16 combinações dos estresses hídricos e térmicos. Na comparação de médias utilizou-se o teste de Scott-Knott a 5%. A análise de componentes principais (ACP) foi aplicada à matriz original formada pelas 16 combinações, e considerando-se a média dos quatro lotes. Realizou-se também a análise de agrupamento hierárquico. Lotes de sementes de trigo de maior vigor são mais tolerantes aos estresses hídricos e térmicos. O trigo tolera temperaturas até 28 °C e redução dos potenciais hídricos até -0,223 Mpa combinados sem comprometimento da sua germinação. A combinação de temperatura de 32 °C e potencial hídrico de -0,223 Mpa diminuiu a porcentagem de germinação e aumentou as plântulas anormais e sementes mortas. Independentemente da temperatura o potencial hídrico de -0,444 Mpa diminuiu a porcentagem e a velocidade da germinação. Ocorre aumento da atividade da enzima ascorbato peroxidase (APX) quando as plântulas são submetidas à combinação de estresse hídrico e temperatura supraótimas ou a qualquer uma das duas condições de estresse aplicadas individualmente, sendo assim acionada como mecanismo de defesa ao estresse oxidativo resultante dos estresses hídrico e térmico.

**Palavras-chave:** *Triticum aestivum* L.; alta temperatura; déficit hídrico; estresses múltiplos; potencial fisiológico.

SARTORI, Altamara Viviane de Souza. **Germinative process and enzymatic activity of wheat seeds in response to the combination of water and thermal stresses.** 2021. 106f. Dissertation presented to the Graduate Program in Agronomy - Master's Course at the State University of Londrina, Londrina, 2021

## ABSTRACT

Abiotic factors such as water and thermal stresses, isolated or associated, limit germination, the number of established seedlings and their growth and development. In addition, the response of plants to combined stresses is different from exposure to a single source of stress. Thus, the objective of this experiment was to evaluate the germination process of seeds and the enzymatic activity of wheat seedlings submitted to germination under different water potentials and supra-optimum temperatures (above 20 °C), isolated or associated. Four lots of wheat seeds, from the cultivar IPR-Catuaara, were used, selected for their physical quality and similar germination. For that purpose, the lots were characterized by tests of water content, mass of 1000 seeds, germination, first count of germination, seedling emergence in sand and emergence speed index. In assessing the response of wheat batches to abiotic stresses, seeds were placed to germinate in water potentials of 0,000 (zero), -0,075, -0,223 and -0,444 Mpa, associated with temperatures of 20, 24, 28 and 32 °C, totaling 16 treatments. The characteristics were evaluated: normal seedlings at four and eight days and abnormal seedlings and dead seeds at the end of the germination test; the activity of the enzymes catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX), and the protein content of the aerial part and root of wheat seedlings. The experimental design was completely randomized, with four replications, in a 4x16 factorial scheme, with four lots of wheat seeds and 16 combinations of water and thermal stresses. In the comparison of means, the Scott-Knott test at 5% was used. The principal component analysis (PCA) was applied to the original matrix formed by the 16 treatments, and considering the average of the four batches. The hierarchical cluster analysis was also carried out. Lots of wheat seeds of greater vigor are more tolerant to water and thermal stresses. Wheat tolerates temperatures up to 28 °C and reduced water potential down to -0,223 Mpa combined without compromising germination. The combination of temperature of 32 °C and water potential of -0,223 Mpa decreased the percentage of germination and increased the abnormal seedlings and dead seeds. Regardless of the temperature, the water potential of -0,444 Mpa decreases the percentage and speed of germination. There is an increase in the activity of the enzyme ascorbate peroxidase (APX) when the seedlings are subjected to a combination of water stress and supra-optimum temperature or to any of the two stress conditions applied individually, thus being activated as a defense mechanism against oxidative stress resulting from water stress and thermal.

**Key-words:** *Triticum aestivum* L.; high temperature; water deficit; multiple stresses; physiological potential.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Representação esquemática do padrão trifásico de absorção de água durante a embebição de sementes, em relação aos conteúdos aproximados de água (linha preta) em que os diferentes eventos do processo germinativo..... 26
- Figura 2** – Biplot da análise de componentes principais dos dezesseis tratamentos com a combinação (T) (20, 24, 28 e 32 °C) e potenciais hídricos ( $\psi_h$ ) (0,000, -0,075, -0,223 e -0,444 Mpa) ..... 83
- Figura 3** – Dendrograma de agrupamento de classes para os tratamentos com a combinação (T) (20, 24, 28 e 32 °C) e potenciais hídricos ( $\psi_h$ ) (0,000, -0,075, -0,223 e -0,444 Mpa), obtido da análise de agrupamento utilizando o método a partir da distância euclidiana ..... 85

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Caracterização física e fisiológica das sementes dos quatro lotes de trigo cultivar IPR-Catuara utilizadas no experimento ..... 62
- Tabela 2** – Quantidade de soluto utilizado na preparação de solução dos diferentes potenciais hídricos com Polietileno glicol (PEG) 6000, à temperatura de 20 °C..... 63
- Tabela 3** – Resultados das análises de variância de quatro lotes de sementes de trigo submetidas aos tratamentos com diferentes combinações de temperaturas (T) (20, 24, 28 e 32 °C) e potenciais hídricos ( $\psi_h$ ) (0,000, -0,075, -0,223 e -0,444 Mpa) ..... 66
- Tabela 4** – Germinação (%) de sementes de quatro lotes de trigo submetidas aos tratamentos com diferentes combinações de temperatura (T) (20, 24, 28 e 32 °C) e potenciais hídricos ( $\psi_h$ ) (0,000, -0,075, -0,223 e -0,444 Mpa) ..... 68
- Tabela 5** – Plântulas anormais (%) de quatro lotes de trigo submetidas aos tratamentos com diferentes combinações de temperatura (T) (20, 24, 28 e 32 °C) e potenciais hídricos ( $\psi_h$ ) (0,000, -0,075, -0,223 e -0,444 Mpa) ..... 70
- Tabela 6** – Sementes mortas (%) de quatro lotes de trigo submetidas aos tratamentos com diferentes combinações de temperatura (T) (20, 24, 28 e 32 °C) e potenciais hídricos ( $\psi_h$ ) (0,000, -0,075, -0,223 e -0,444 Mpa) ..... 70
- Tabela 7** – Primeira contagem do teste de germinação (%) de quatro lotes de sementes de trigo submetidas aos tratamentos com diferentes combinações de temperatura (T) (20, 24, 28 e 32 °C) e potenciais hídricos ( $\psi_h$ ) (0,000, -0,075, -0,223 e -0,444 Mpa) 72
- Tabela 8** – Resumo das análises de variância das características bioquímicas nas plântulas normais dos quatro lotes de sementes de trigo submetidas aos tratamentos com diferentes combinações de temperatura (T) (20,

24, 28 e 32°C) e potenciais hídricos ( $\psi_h$ ) (0,000, -0,075, -0,223 e -0,444 Mpa) ..... 75

**Tabela 9** – Teor de proteína total (mg de proteína.  $g^{-1}$  MF) da parte aérea e radicular de plântulas de trigo de quatro lotes germinados sob 16 tratamentos com diferentes combinações de temperatura (T) (20, 24, 28 e 32°C) e potenciais hídricos ( $\psi_h$ ) (0,00, -0,075, -0,223 e -0,444 Mpa) ..... 76

**Tabela 10** – Atividade da enzima catalase (CAT) ( $mmol H_2O_2 mg^{-1}$  proteína  $min^{-1}$ ) de plântulas de trigo (parte aérea e radicular) de quatro lotes germinados sob 16 tratamentos com diferentes combinações de temperatura (T) (20, 24, 28 e 32 °C) e potenciais hídricos ( $\psi_h$ ) (0,00, -0,075, -0,223 e -0,444 Mpa)..... 79

**Tabela 11** – Atividade da enzima ascorbato peroxidase (APX) ( $UA.min^{-1}.mg MF^{-1}$ ) de plântulas de trigo (parte aérea e radicular) de quatro lotes germinados sob 16 tratamentos com diferentes combinações de temperatura (T) (20, 24, 28 e 32 °C) e potenciais hídricos ( $\psi_h$ ) (0,00, -0,075, -0,223 e -0,444 Mpa)..... 81

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ABRITRIGO	Associação Brasileira da Indústria de Trigo.
ACP	Análise de componentes principais
APX	Ascorbato peroxidase
ATP	Adenosina trifosfato
BSA	Albumina Sérica Bovina
CAT	Catalase
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EROs	Espécies reativas de oxigênio
G (%)	Porcentagem germinação
H <sub>2</sub> O	Água
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
HO <sup>·</sup>	Radical hidroxílico
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDR-Paraná	Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná- IAPAR-EMATER
IPCC	Intergovernmental Panel on Climate Change
MF	Matéria fresca
mM	Milimolar
<sup>1</sup> O <sup>2</sup>	Oxigênio singleto
O <sub>2</sub>	Gás oxigênio
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Radical superóxido
PEG	Polietilenoglicol
pH	Potencial hidrogeniônico
PNT	Proteína bruta total
RNA	Ácido ribonucleico
SOD	Superóxido dismutase
T	Temperatura (°C)
UEL	Universidade Estadual de Londrina

USDA	Departamento de Agricultura dos Estados Unidos
$\psi_h$	Potencial hídrico
$\Psi_m$	Potencial matricial
$\Psi_p$	Potencial de pressão
$\Psi_\pi$	Potencial osmótico

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	16
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	18
2.1	ASPECTOS GERAIS DA CULTURA DO TRIGO .....	18
2.2	FATORES ABIOTICOS DE ESTRESSE PARA O TRIGO .....	20
2.3	GERMINAÇÃO DAS SEMENTES DE TRIGO .....	24
2.3.1	Importância da água na germinação das sementes .....	25
2.3.2	Influência da temperatura na germinação de sementes .....	27
2.4	ESTRESSE OXIDATIVO EM SEMENTES .....	29
2.4.1	Ascorbato peroxidase (APX) .....	30
2.4.2	Catalase (CAT) .....	31
2.4.3	Teor de proteínas solúveis totais .....	32
2.5	ESTRESSES ABIÓTICOS NA GERMINAÇÃO DAS SEMENTES .....	33
2.6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	36
<b>3</b>	<b>ARTIGO</b> .....	57
3.1	RESUMO .....	57
3.2	ABSTRACT .....	58
3.3	INTRODUÇÃO .....	58
3.4	MATERIAL E MÉTODOS .....	61
3.4.1	Germinação sob diferentes potenciais hídricos e temperaturas supraótimas	63
3.4.2	Análises bioquímicas nas plântulas germinadas em condições de estresses abióticos .....	64
3.4.3	Análise Estatística .....	65
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	66
4.1	Germinação sob diferentes potenciais hídricos e temperaturas supraótimas	66
4.2	Análises bioquímicas nas plântulas normais em condições de estresses abióticos .....	75
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	88
<b>6</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	89



## 1 INTRODUÇÃO

As plantas podem ser afetadas pelos estresses abióticos em qualquer época, entretanto os estágios de germinação e crescimento de plântulas são os mais críticos, pois são fatores determinantes para o estabelecimento do estande com reflexos no desempenho produtivo.

Dentre os estresses abióticos destacam-se o déficit hídrico e o estresse térmico. Nesse sentido, a ocorrência de temperaturas supraótimas no momento da implantação da cultura afeta diretamente o processo de germinação de sementes, com maior influência nos períodos de semeadura-emergência e crescimento inicial.

Além da temperatura, a germinação e o crescimento das plântulas são dependentes do potencial osmótico do solo, que está diretamente relacionado a disponibilidade hídrica, sendo que caso a presença de água não seja suficiente para as sementes completarem seu processo germinativo, pode haver efeitos prejudiciais ao crescimento da parte aérea e da raiz das plântulas, como diminuição da porcentagem final das sementes germinadas e plântulas emergidas.

Os estresses abióticos resultam em alterações metabólicas durante os processos de germinação das sementes e crescimento das plântulas, dentre elas destacam-se o aumento das espécies reativas de oxigênio (EROs), sendo que a resposta ao sistema de defesa antioxidativo pode indicar a tolerância ao estresse. Somente as plantas que conseguem ativar o sistema de defesa é que tem crescimento em situações de estresse.

Assim, embora a cultura do trigo apresente relativa tolerância às diferentes condições edafoclimáticas, devido principalmente a plasticidade adaptativa que possui em seu genoma, a resposta ao estresse pode variar entre espécies, cultivares e inclusive entre lotes com diferentes níveis de vigor.

Como consequências das variabilidades ambientais, espera-se em futuro próximo um cenário de eventos climáticos extremos com secas, inundações e ondas de calor mais frequentes, além de aumento de temperatura global. É possível afirmar que essas alterações climáticas provocam perdas significativas em todas as culturas, entre elas destaca-se o trigo que é um dos cereais de maior importância mundial em área cultivada, volume produzido e consumido. Além disso, a seca recorrente associada à outras variabilidades climáticas como as temperaturas, estão entre as principais restrições que ameaçam a produtividade global do trigo.

É importante destacar que a resposta das plantas ao estresse combinado é diferente da exposição a uma única fonte de estresse. Assim, embora diversas pesquisas sobre estresses abióticos por temperatura ou déficit hídrico tenham sido desenvolvidas na cultura do trigo, são poucas as informações sobre como os mecanismos de defesa como a atividade enzimática e do teor de proteínas atuam na germinação das sementes sob estresses combinados de restrições hídrica e altas temperaturas.

Dessa forma a hipótese deste estudo é que os estresses abióticos, seja por seca ou alta temperatura, isolados ou combinados, se relacionam com o desempenho germinativo das sementes e com a atividade do sistema enzimático de defesa. Sendo assim, objetivou-se avaliar o processo germinativo das sementes e a atividade enzimática das plântulas de trigo em resposta à diferentes potenciais hídricos e temperaturas supraótimas, isolados ou associados.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 ASPECTOS GERAIS DA CULTURA DO TRIGO

O trigo (*Triticum sp.*) é originário de gramíneas silvestres que se desenvolveram nas proximidades dos rios Tigre e Eufrates (Ásia), no período 10.000 a 15.000 a.C. (SILVA et al., 1996). Os primeiros relatos de espécies domesticadas são sobre o trigo-einkorn (*Triticum monococum*) e o trigo amidoreiro (*Triticum dicocum*), os quais foram datados por volta de 9.500 a.C. (MAZOYER; ROUDART, 2010).

O gênero *Triticum* apresenta aproximadamente 30 espécies, geneticamente diferentes entre si, das quais fazem parte os trigos selvagens, sendo que destas aproximadamente 15 espécies são utilizadas comercialmente. É uma planta de ciclo anual, autógama, pertencente à família *Poaceae* (*Gramineae*), subfamília *Pooideae* e ao gênero *Triticum* (POPPER; SCHÄFER; FREUND, 2006).

Mais de 90% do trigo cultivado pertence à espécie *Triticum aestivum* L. e *Triticum durum*, sendo que a *T. aestivum* L. é conhecida como trigo comum, e é a que apresenta maior interesse comercial. Esta é uma planta hexaploide, oriunda de um cruzamento natural entre uma planta tetraploide com uma gramínea, sendo assim estruturada por raízes, colmo, folhas e inflorescência (SCHEEREN; CASTRO; CAIERÃO, 2015).

A semente de trigo é uma cariopse, constituída de pericarpo e tegumento, o qual por estar localizado mais externamente, tem a função principal de proteção das estruturas internas; possui também camada de aleurona, a qual possui proteínas e minerais que são importantes na síntese de enzimas, que iniciam o processo germinativo e são fonte de aminoácidos para a síntese de novas proteínas. A maior parte da semente é constituída pelo endosperma, onde está armazenado o amido, o qual é fonte de carboidratos que são mobilizados ao embrião, para a formação da plântula. O eixo embrionário, ou embrião, contém as estruturas essenciais da futura planta e é constituído pela coleorriza, radícula, hipocótilo, plúmula, folhas primárias, coleóptilo e escutelo (POPINIGIS, 1985).

A germinação é do tipo hipógea, caracteriza-se pelo crescimento rápido do epicótilo e a plúmula, formando a parte aérea (BEWLEY, BLACK, 1994; CARVALHO, NAKAGAWA, 2012).

O primeiro relato registrado da introdução das plantas de trigo às terras brasileiras foi em 1534, trazido por Martim Afonso de Souza, que desembarcou na capitania de São Vicente. Por se tratar de uma espécie ambientada para temperaturas amenas, o clima

quente da região dificultou a expansão da cultura. Colonizadores registravam em cartas a falta do trigo e reclamavam dos pães preparados com farinha de mandioca (ADNAN et al., 2020). Na segunda metade do século XVIII começou a se desenvolver no Rio Grande do Sul, porém, no começo do século XIX a ferrugem dizimou os trigais (ABITRIGO, 2019).

Em 2019 foram produzidas cerca de 766 milhões de toneladas de trigo. A produção mundial para a safra (2020/2021), é de 774 milhões de toneladas, segundo o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA, 2021). Atualmente no Brasil o trigo é cultivado desde a Região Sul até o Brasil Central, no Cerrado. Os principais estados brasileiros produtores de trigo são o Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo e Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso do Sul, Bahia e Distrito Federal. O estado do Paraná é o maior produtor nacional, seguido pelo Rio Grande do Sul, juntos são responsáveis por 88% da produção total (CONAB, 2020).

Em relação a produção brasileira observou-se no ano de 2020 que a área cultivada foi de 2341,5 milhões de hectares, com produção de 6371,0 milhões de toneladas. Já em 2020 a área cultivada teve um crescimento de 14% com produção de 6234,6 milhões de toneladas, cerca de 54% do consumo nacional, embora produção relatada, a maior parte do trigo consumido nacionalmente é importado, cuja média gira em torno de 11,4 milhões/ano. O estado do Paraná também apresentou aumento em sua área cultivada passando de 1023,7 mil hectares em 2019 para 1117,9 mil hectares em 2020, com produção de 2129,3 milhões de toneladas em 2019 para 3088,8 milhões de toneladas na safra de 2020 (CONAB, 2020; IBGE, 2020).

Entretanto, essa produção de trigo pode ser drasticamente afetada pelas variabilidades climáticas. A nível global, estima-se que as temperaturas mais elevadas e as tendências de menor precipitação pluvial desde 1980 reduziram os rendimentos do trigo em 5,5 %. Estima-se que nas próximas décadas aconteçam aumentos nas temperaturas, do nível do mar, pressões intensas de pragas e doenças e escassez de água (LOBELL; SCHLENKER; COSTA-ROBERTS, 2011).

Além disso, estudos recentes sobre os impactos das variabilidades climáticas na agricultura mostraram que, sem a adequação dos agricultores, as safras globais em 2050 sofreriam uma diminuição de 6,9 % na produtividade estimada produção de cereais diminuiria em até 10% nas regiões desenvolvidas e em desenvolvimento. Os impactos negativos afetariam gravemente as áreas onde os solos degradados não têm a capacidade

de proteger as culturas contra a seca e o estresse térmico (REEVES; THOMAS; RAMSAY, 2016).

Programas de melhoramento, incluindo o progresso em genômica e tecnologia da informação, podem mitigar os efeitos prejudiciais do calor e da seca por meio do uso de práticas de manejo agrônomo e do desenvolvimento de variedades com aumento da produtividade sob estresse. Além disso, os avanços provenientes da biotecnologia, podem contribuir para maiores rendimentos na região de cultivo do trigo. Assim, um melhor entendimento dos mecanismos que atuam como intervenções frente a estes estresses na germinação e fisiologia pode fornecer novos direcionamentos sobre as características de tolerância à seca no trigo brasileiro (CARGNIN et al., 2007). Estudos relacionados à estresses na germinação do trigo, seja com base em estudos moleculares ou fisiológicos, as características ambientais específicas podem mitigar os efeitos prejudiciais do calor e da seca por meio do uso de práticas de manejo agrônomo e do desenvolvimento de variedades de culturas com aumento da produtividade sob estresse, sendo estas informações podem ser incorporadas aos programas de melhoramento e auxiliar no desenvolvimento de cultivares de trigo adaptadas a eventos extremos acentuados (CARGNIN et al., 2006; RIBEIRO, PIMENTE, SOUZA, FONSECA, 2012).MATIAS, 2019).

## **2.2 FATORES ABIÓTICOS DE ESTRESSE PARA O TRIGO**

O trigo é ser cultivado desde regiões de clima seco até as mais úmidas, isso devido ao melhoramento genético e à introdução de cultivares adaptadas às diferentes condições de clima e solo (ECCO et al., 2020). Entretanto, a produtividade varia conforme as condições meteorológicas de cada ano de cultivo, como seca, geadas e chuva na colheita. Além desses fatores a ocorrência de pragas, doenças e plantas daninhas, aumentam o custo de produção (EMBRAPA, 2014). As condições ambientais adversas alteram a produtividade das culturas e estão diretamente relacionadas com as regiões e época de semeadura, porém a utilização de séries climáticas históricas e o zoneamento agrícola aplicadas a modelos de cultura para estimar a produtividade de forma que a escolha da melhor data de semeadura e regiões (SCHMIDT et al., 2009; KHODARAHMI; NABIPOUR; ZARGARI, 2010; SANTI et al., 2017).

Somado a isso, a degradação dos recursos naturais, espaço limitado para a expansão de terras cultivadas, escassez de água e os efeitos potencialmente catastróficos

das variabilidades climáticas podem impactar na produção de cereais e na segurança alimentar mundial (SHIFERAW, 2013).

Para minimizar esses efeitos o planejamento de safra é fundamental para tomadas de decisões, devendo ser consideradas todas as práticas que promovam o rendimento de grãos, com um menor risco de perdas, iniciando com a escolha de cultivar adequada, época de semeadura indicada pelo Zoneamento Agrícola para cada região, espaçamento, população e nutrição das plantas na época e nas doses indicadas e a escolha de métodos eficazes para controle de doenças, pragas e plantas daninhas (EMBRAPA, 2014).

A recomendação de épocas de semeadura é fundamentada nos resultados de produção em cada região tritícola, onde diferentes variedades são semeadas em datas escalonadas (CUNHA et al., 2016). Assim, apesar do trigo apresentar relativa tolerância às diferentes condições edafoclimáticas, devido principalmente a plasticidade adaptativa que possui em seu genoma (BORÉM; SCHEEREN, 2015), para que se obtenha sucesso em seu cultivo, é necessário levar em consideração alguns fatores, tais como, adaptabilidade e produtividade sob diferentes condições ambientais e de manejo para verificar a sua viabilidade de rendimento, para que a mesma consiga expressar seu potencial genético (SCHEEREN, 1999).

Ao longo do seu ciclo as plantas passam constantemente por desequilíbrios abióticos (inundações, seca, temperaturas altas ou baixas, salinidade do solo, nutrientes minerais inadequados e excesso ou luz insuficiente), que promovem alterações no equilíbrio homeostático e acabam por limitar o seu crescimento e desenvolvimento (BRAY, 1997; LAWLOR, 2002; CAMBRAIA, 2005; LOKHANDE; SUPRASANNA, 2012).

Dessa forma, os estresses abióticos e seus efeitos nas plantas é um tópico que está recebendo muita atenção devido ao potencial de impacto das variabilidades climáticas nos padrões de chuva, temperaturas extremas, salinização pela irrigação e a necessidade de manter ou aumentar a produtividade agrícola (VERSLUES et al., 2006).

O déficit hídrico é um dos fatores que podem causar impactos significativos no crescimento e desenvolvimento das plantas (MARTINS et al., 2008), levando a alterações no comportamento que dependem da duração e da severidade do estresse e do estágio de desenvolvimento da planta e da capacidade genética das plantas em responder às variabilidades do ambiente (CHAVES, 1991).

O déficit hídrico resulta da redução no potencial de água, e quanto mais negativo os valores de potencial, menos água disponível, ou livre. É definido como a consequência

de um período contínuo ou transitório de seca que provoca a restrição no crescimento das plantas devido à redução do potencial osmótico, condutância estomática, fotossíntese e da assimilação de nitrogênio pela planta (REDDY; CHAITANYA; VIVEKANANDAN, 2004; TAIZ et al., 2017).

A cultura do trigo apresenta certa tolerância à deficiência hídrica, em virtude de ser originário de uma região semiárida e por apresentar significativa eficiência no uso da água (SCHLEHUBER; TUCKER; QUISENBERRY, 1967; CUNHA et al., 2012). Apesar disso, alguns de seus estágios de desenvolvimento são mais influenciados por este tipo de estresse, como, por exemplo, a germinação, e o período entre o início do florescimento e a fase de grãos leitosos (FRIZZONE; OLITTA, 1990; RODRIGUES et al., 1998).

Assim, estudos relacionados às relações hídricas e adaptações da planta-ambiente causadas pelo déficit hídrico são de fundamental importância, tendo em vista que vários processos fisiológicos das plantas podem ser comprometidos pela redução da disponibilidade de água (JAIMEZ, RADA, GARCÍA-NÚÑEZ, AZÓCAR, 2005; GARCÍA-TEJERO et al., 2010).

Outro fator de estresse abiótico que se destaca é o aumento da temperatura ambiente, a qual também afeta drasticamente o cultivo e a produtividade do trigo. De acordo com a modelagem matemática de simulação para esta cultura o impacto do estresse por alta temperatura é mais prejudicial do que o da condição de déficit hídrico (SEMENOV; SHEWRY, 2011), já que o trigo é uma espécie originalmente de clima temperado (ASSENG et al., 2017; MISHRA et al., 2017).

O estresse térmico é definido como o aumento da temperatura acima do valor crítico, por determinado período de tempo que seja suficiente para causar danos irreversíveis ao crescimento e desenvolvimento das plantas. Assim, a irregularidade nos valores da temperatura, ou seja, acima da faixa ótima, provoca alterações em diversos processos metabólicos, podendo culminar na morte prematura das plantas (SOUZA; PIMENTEL; RIBEIRO, 2011).

A temperatura controla a velocidade do processo metabólico das plantas, desta forma, todos os estágios de desenvolvimento, bem como os processos de crescimento e maturação serão afetados por esse fator, entretanto existem diferenças genotípicas nestas reações (TAIZ et al., 2017).

De maneira geral, a faixa de temperatura ótima para o desenvolvimento da cultura do trigo está entre 18 a 24 °C, dessa forma, períodos curtos de exposição das plantas às

temperaturas superiores a esta faixa, principalmente acima de 30 °C, podem ocasionar perdas significativas no rendimento de grãos e redução da qualidade dos mesmos (STONE; NICOLAS, 1994).

As respostas das plantas às diferentes temperaturas podem ser determinadas pelos processos que ocorrem nas mesmas, como as atividades das enzimas e a fotossíntese, assim as taxas e a eficiência de cada uma são dependentes deste fator. Um exemplo é a janela termal para as atividades enzimáticas que descreve a faixa de temperatura para o ótimo funcionamento da enzima. Essa janela para o trigo se situa entre 17,5 a 23°C (BURKE; MAHAN; HATFIELD, 1988).

Destaca-se que as temperaturas altas no início do ciclo da cultura podem representar efeito positivo na produção, por permitir maior velocidade de crescimento, porém não podem estar associadas com escassez de água disponível para as plantas, para que não haja um comprometimento da produção (PITTER, 1977; SANTI et al., 2017). Isso mostra que todos os processos fisio-metabólicos das plantas sofrem influência da temperatura, seja de uma forma isolada, ou em sinergia com outros fatores ambientais.

Diversos trabalhos foram conduzidos ao longo dos anos para elucidar o mecanismo de sinalização mediado pelo estresse por altas temperaturas em várias espécies de culturas, como no arroz (CHANDEL; DUBEY; MEENA, 2013), trigo (CHAUHAN et al., 2011), milho (FREY et al., 2015), tomate (SHAHEEN, et al., 2015), amendoim (PRASAD et al., 2000), soja (DJANAGUIRAMAN; PRASAD; AL-KHATIB, 2011), cevada (ROLLINS et al., 2013) e tabaco (TAN et al., 2011). Entretanto a maioria dos estudos foi realizada sobre enchimento e maturação de grãos, enquanto a investigação sobre as respostas dos mecanismos de defesa ao estresse por altas temperaturas no estágio de germinação e desenvolvimento é escassa.

A temperatura do solo é um dos fatores determinantes da velocidade de germinação das sementes e de desenvolvimento das plântulas, sendo sua influência maior nos subperíodos de semeadura-emergência e crescimento inicial. Nestes períodos, tendem a ocorrer acentuadas amplitudes térmicas diárias, principalmente próximas à superfície do solo, justamente pela falta de cobertura (SCHNEIDER et al., 1993).

Segundo Essemine; Ammar e Bouzid (2010) durante a germinação de sementes de trigo temperaturas superiores aos 35 °C influenciam na mobilização de compostos de reservas. Assim, durante o desenvolvimento da plântula, o alongamento da radícula e a expansão das folhas que são sustentados pela mobilização de reservas, são prejudicados, pois o estresse pela alta da temperatura afeta as enzimas envolvidas na hidrólise do amido,



suprimindo os nutrientes no embrião, e comprometendo a capacidade e velocidade de germinação, prejudicando o estabelecimento das plântulas.

De acordo com Porter e Gawith (1999) para as sementes de trigo a faixa de temperatura da semente até a emergência é de mínima de 3,5 °C, máxima de 32,7 °C e ótima de 22 °C.

Conseqüentemente, os estresses abióticos e bióticos combinados influenciam negativamente a produtividade e a qualidade da cultura (MORISON et al., 2008; KERCHEV et al., 2012). A fim de melhorar o rendimento da cultura, se torna necessário a compreensão dos mecanismos subjacentes às respostas das plantas à exposição individual ou combinado sob diferentes estresses abióticos e biótico, sendo que as respostas a dois ou mais fatores de estresse simultaneamente são únicas e não podem ser consideradas como a soma das respostas a cada um dos estresses individuais que afetam a planta (MITTLER 2006, ZANDALINAS et al. 2018).

Assim, o estudo da germinação das sementes de trigo sob diferentes condições de estresse hídrico e por temperatura podem contribuir para o entendimento dos fatores que levam ao melhor desenvolvimento das plântulas.

### **2.3 GERMINAÇÃO DAS SEMENTES DE TRIGO**

A semente de trigo é uma cariopse, constituída de pericarpo e tegumento, o qual por estar localizado externamente, tem a função de proteção das estruturas internas; possui também camada de aleurona, com proteínas e minerais que são importantes na síntese de enzimas, que iniciam o processo germinativo e são fonte de aminoácidos para a síntese de novas proteínas. A maior parte da semente é constituída pelo endosperma, onde está armazenado o amido, fonte de carboidratos que são mobilizados ao embrião, para a formação da plântula. O ciclo fenológico é um processo contínuo, caracterizado ou diferenciado em três fases, sendo, vegetativa, reprodutiva e enchimento de grãos. Cada fase possui suas subdivisões (subperíodos), que tem sua duração alterada pela interação entre os fatores genótipo e ambiente, expressando os estádios de desenvolvimento, e resultando nas características de adaptação das cultivares em relação às mudanças edafoclimáticas (principalmente temperatura e fotoperíodo), sendo que esta adaptação pode ocasionar uma aceleração ou retardamento do desenvolvimento, em razão da época do ano (PIRES; VARGAS; CUNHA, 2011).

A disseminação e perpetuação da espécie são garantidas pelas sementes, através de algumas propriedades fisiológicas e bioquímicas. Para que a germinação de uma semente ocorra, ela deve estar viva, sem dormência e dispor de condições internas e externas favoráveis para que ocorra. Os fatores internos são basicamente a longevidade e a viabilidades das mesmas, enquanto que os fatores do ambiente que influem o processo germinativo são a água, a temperatura e o oxigênio (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

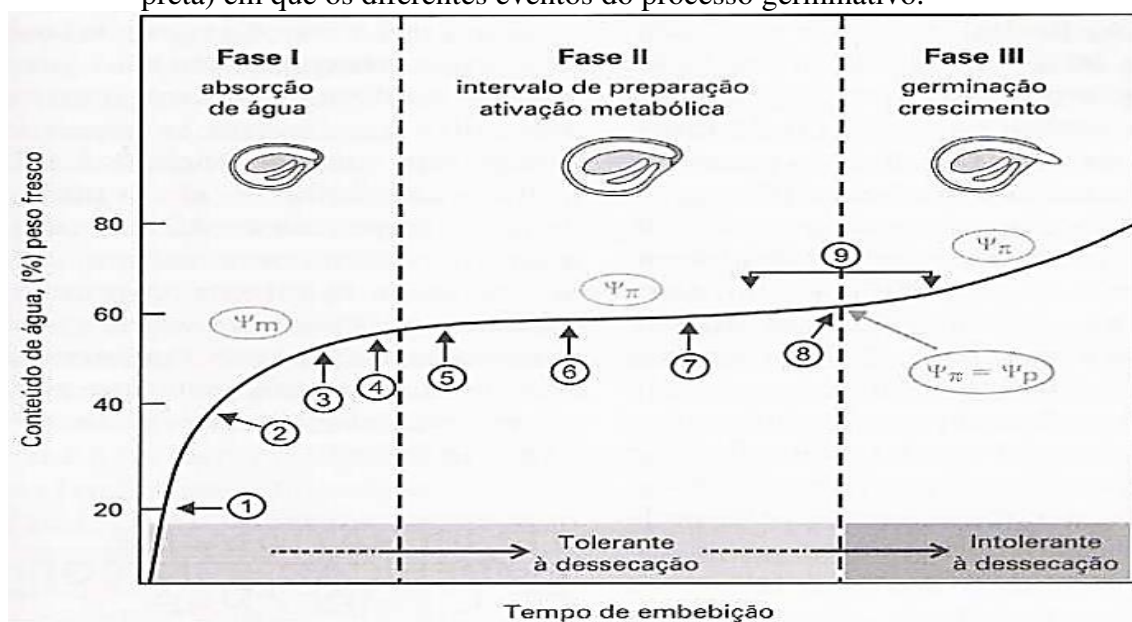
A germinação pode ser definida como a saída do estado de repouso e a retomada da atividade metabólica, sendo também o desenvolvimento do embrião e a emergência da plântula até tornar-se independente das reservas da semente (FERREIRA; BORGHETTI, 2004; CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). Externamente é marcada pelo rompimento da testa e a extrusão da plântula ou raiz primária (FENNER; FENNER; THOMPSON, 2005). Existem diversos fatores que influenciam no processo de germinação, podendo ser classificados como internos e externos, relacionados às condições ambientais, como umidade, temperatura, luz e oxigênio.

### **2.3.1 Importância da água na germinação das sementes**

No processo de germinação das sementes ocorre uma série de reações de hidrólise e síntese de substâncias e tecidos, as quais exigem plena disponibilidade de água. Desta forma, a água é responsável por iniciar o processo germinativo, e está direta ou indiretamente envolvida em todas as outras etapas metabólicas subsequentes. Sua participação é decisiva nas reações enzimáticas, na solubilização e transporte de metabólitos, assim como um reagente na digestão de proteínas hidrolíticas, carboidratos e lipídeos, nos tecidos de armazenamento das sementes (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). Além de intermediar os processos metabólicos da germinação, a água é responsável pela manutenção da organização do sistema de membranas celulares (NEVES et al., 2010).

O processo de germinação se inicia com a absorção de água e a embebição acompanha um padrão trifásico (Figura 1), que consistem em um período inicial de rápida absorção (fase I), seguido de um período estacionário, com pouca mudança no conteúdo de água, quando ocorre a ativação dos processos metabólicos requeridos para o crescimento do embrião (fase II) e na iniciação do crescimento do embrião (fase III) (BEWLEY, BLACK, 1994; CASTRO; BRADFORD; HILHORST, 2004).

**Figura 1.** Representação esquemática do padrão trifásico de absorção de água durante a embebição de sementes, em relação aos conteúdos aproximados de água (linha preta) em que os diferentes eventos do processo germinativo.



Tradução de RNAm = linha tracejada verde; Eventos fisiológicos e metabólicos = linhas vermelhas. As siglas em colunas coloridas representam grupos de proteínas sintetizadas de novo nas diferentes fases de embebição, com a descrição das respectivas funções. (1) Respiração e acúmulo de ATP. (2) Síntese de mRNA e reparo de DNA. (3) Ativação de polissomos. (4) Síntese de proteínas a partir de mRNAs recentemente sintetizados. (5) Síntese e duplicação de DNA. (6) Início da degradação de reservas. (7) As células da radícula alongam-se. (8) Protrusão radicular. (9) Mitose. Potencial matricial ( $\Psi_m$ ); Potencial osmótico ( $\Psi_\pi$ ); Potencial de pressão ( $\Psi_p$ ). Fonte: Adaptado do Capítulo 9: Embebição e reativação do metabolismo. CASTRO; BRADFORD; HILHONST/Germinação: Do básico ao aplicado/ FERREIRA; BORGHETTI, 2004.

De modo geral, a fase I geralmente ocorre durante oito a dezesseis horas, quando surgem os primeiros sinais da reativação do metabolismo paralisado após a maturidade fisiológica, e pode ser afetado por fatores internos, externos ou ambientais (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). Na fase II, a velocidade de absorção de água se torna mais lenta, sua ocorrência e duração são variáveis de acordo com a espécie, tendendo para o equilíbrio entre os potenciais; ocorrem diversas reações metabólicas preparatórias à emergência da raiz primária. Na fase III, com o metabolismo ativado e em função da produção de substâncias osmoticamente ativas, ocorre uma redução no potencial hídrico das sementes, resultando em rápida absorção de água do meio (BEWLEY; BLACK, 1994).

Assim a água se torna essencial para o processo de germinação, e quando em falta ou abaixo do limite suportado pela célula, pode causar alterações na concentração dos solutos, assim como, do pH da solução intracelular, aceleração de reações degenerativas, desnaturação de proteínas e perda da integridade das membranas (SUN; LEOPOLD, 1997).

Para o início dos processos metabólicos a quantidade de água necessária pode variar de acordo com as características da própria semente, como: composição química, teor de água inicial e a constituição e espessura do tegumento, além do tamanho da semente. Já a taxa e a duração desse processo de embebição é dependente do potencial de água no solo e da resistência do movimento de água no sistema solo-semente (ALVARADO; BRADFORD, 2002; ZUCHI et al., 2012).

Em solos excessivamente úmidos ou secos, a água pode retardar ou inibir a germinação de sementes de várias espécies (PIANA; SILVA, 1998; ROMAN, MURPHY, SWANTON, 2000). No entanto, o excesso de umidade, em geral, provoca decréscimo na germinação, visto que impede a penetração do oxigênio e reduz todo o processo metabólico resultante (RODRIGUES; MENDONÇA; GENTIL, 2014).

Já a deficiência hídrica durante o processo de germinativo pode inviabilizar a sequência dos processos de germinação, alterando sua velocidade, tempo e uniformidade, resultando em diminuição da percentagem de emergência das sementes, consequentemente comprometendo o estabelecimento da cultura (ADEGBUYI; COOPER; DON, 1981). Os níveis de respostas em relação a essas variáveis dependem tanto do grau do déficit hídrico quanto da tolerância do genótipo (KRANNER et al., 2010).

Desta maneira pode-se afirmar que a germinação é considerada uma fase extremamente crítica, pois está relacionada aos aspectos fisiológicos e bioquímicos, e estes associados a fatores ambientais e da própria semente (BEWLEY, 1997; CARVALHO, NAKAGAWA, 2000; CASTRO; BRADFORD; HILHORST, 2004). Assim, a disponibilidade de água e a capacidade de retenção da água absorvida do substrato pela semente é que determinarão o sucesso da germinação.

### **2.3.2 Influência da temperatura na germinação de sementes**

Do mesmo modo que a água, a temperatura atua diretamente no processo germinativo, regulando as reações metabólicas, já que cada uma apresenta exigências térmicas individuais. Um dos principais processos influenciados pela temperatura é a embebição, que neste caso regula a velocidade com que a água transpassa o tegumento seminal e as membranas celulares (AZERÊDO; PAULA; VALERI, 2011).

Sendo a germinação das sementes um processo extremamente complexo, no qual diversas reações metabólicas e fatores individuais estão envolvidos, destaca-se que a

temperatura afeta todos estes processos, podendo alterar tanto a porcentagem e quanto a velocidade de germinação (FONSECA; PEREZ, 1999).

Nesse sentido, a germinação ocorre em limites bem definidos de temperatura, dentro dos quais existe uma temperatura em que o processo ocorre com maior eficiência, sendo considerada como ótima aquela que possibilita a combinação mais eficiente entre a velocidade e a germinação final (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012; MARCOS FILHO, 2005). Assim, é possível classificar a temperatura para a germinação em três faixas: mínima, ótima e máxima (MARCOS FILHO, 2005).

Este fator é variável entre as diferentes espécies, estando relacionada à sua distribuição geográfica. Sendo assim, as sementes de algumas espécies germinam melhor no regime de temperatura constante, enquanto que as de outras requerem temperaturas alternadas para germinarem adequadamente (SOCOLOWSKI et al, 2008).

Em ambientes com temperaturas mais elevadas, mais eficiente e rápido será o processo de germinação, desde que não ultrapasse a temperatura máxima, determinada para cada espécie (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). Temperaturas acima da ideal podem causar estresse, ocasionando uma inibição térmica, dormência térmica ou até mesmo perda da viabilidade da semente (SILVA, 2020). Conseqüentemente, o estresse térmico causa o retardamento do processo da germinação ou mesmo pode cancelá-lo temporariamente em sementes que já iniciaram seus processos metabólicos (POLLOCK; ROSS, 1972; CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

A perda da viabilidade durante a germinação sob alta temperatura pode ocorrer devido à desintegração das estruturas proteicas, pois a permeabilidade da membrana é afetada, alterando a velocidade da água e conseqüentemente prejudicando a absorção de água das sementes (LIN et al., 2016; PEREIRA et al., 2016).

Da mesma maneira, as altas temperaturas podem provocar a redução da função enzimática, danos à membrana, alteração do metabolismo energético, síntese de DNA e vazamento de eletrólitos e potássio (RIX et al., 2015). Este extravasamento está ligado a aceleração dos movimentos moleculares, tornando mais fracas as ligações químicas que associam os átomos que formam as moléculas, e as camadas de lipídios das biomembranas tornam-se mais fluidas, o que ocasiona um aumento do fluxo de material celular para o meio (BELLO et al., 2008).

O estudo do efeito da alta temperatura na germinação das sementes pode auxiliar a prever o comportamento das mesmas no campo em situações de estresse térmico, demonstrando assim a importância deste tópico.

## 2.4 ESTRESSE OXIDATIVO EM SEMENTES

Os estresses abióticos, como por exemplo o déficit hídrico e a alta temperatura, resultam em alterações metabólicas durante os processos de germinação das sementes e desenvolvimento das plântulas, dentre elas destacam-se o aumento das espécies reativas de oxigênio (EROs). As EROs podem provocar danos oxidativos em vários componentes celulares, tais como: proteínas, lipídios e DNA, e como forma de equilibrar as mesmas nas células, há o estímulo dos sistemas antioxidantes enzimáticos e não-enzimáticos que atuam na desintoxicação de EROs (WANG et al., 2016).

Conceitualmente, radical livre pode ser uma molécula ou um átomo que possua um ou mais elétrons desemparelhados em seus orbitais (GUTTERIDGE; HALLIWELL 2000). Em sua maioria estes radicais estão na forma de EROs e são subprodutos de reações redox (KOVALCHUK, 2010). As EROs são normalmente produzidas nas células, pois do mesmo modo que outros organismos aeróbicos as plantas produzem radicais livres, os quais são um resultado natural de seus processos metabólicos ligados à respiração, realizados nas mitocôndrias, cloroplastos e peroxissomos. Entretanto, quando a planta se encontra sob estresse o complexo mecanismo de defesa antioxidante tem seu funcionamento comprometido, resultando no acúmulo das EROs (BARBOSA et al., 2014).

Quantidades excessivas de EROs podem alterar o metabolismo normal da célula e causar danos nos cloroplastos, inibir as reações fotoquímicas, diminuir a fotossíntese e causar a perda da integridade da célula pela peroxidação de lipídios da membrana celular e degradação de proteínas enzimáticas e ácidos nucleicos, podendo levar a destruição oxidativa das células (SCANDALIOS, 1993; VAN BREUSEGEM et al., 2001; LI et al., 2013). Assim, quando a formação de EROs aumenta além da capacidade dos sistemas de defesa, dá-se o estresse oxidativo e suas consequências deletérias (SCANDALIOS, 2005).

O estresse oxidativo pode ser considerado um dos principais fatores responsáveis pelo declínio do crescimento da planta e, conseqüentemente, a diminuição da produtividade (FAROOQ et al., 2009; BHATTACHARJEE, 2010; KARUPPANAPANDIAN et al., 2011; LITING et al., 2015).

Para evitar o dano induzido pelo estresse oxidativo as plantas desenvolveram vias de sinalização coordenadas que lhes permitem perceber alterações no ambiente. Por exemplo, à medida que a temperatura aumenta, ocorre a desnaturação das proteínas e as

membranas se tornam mais fluidas, provocando danos nas mesmas e o extravasamento do seu conteúdo, ou seja a bicamada lipoproteica das células é afetada em altas temperaturas ocasionado desorganização dos seus constituintes, assim essa fluidez induzida por alta temperatura é um fator chave para tais danos (RUELLAND; ZACHOWSKI, 2010).

Esse complexo sistema de defesa é constituído por enzimas e metabólitos antioxidantes que agem conjuntamente no combate ao excesso de EROs (DEWIR et al., 2006). As enzimas antioxidantes estão presentes em diferentes compartimentos celulares, contribuem para o controle das EROs evitando a formação de radicais livres, sequestrando ou promovendo sua degradação, neutralizando o poder destrutivo, prevenindo a ocorrência de danos às células das plantas (MITTLER, 2002; SZABADOS; SAVOURÉ, 2010; MILLER et al., 2010).

Entre as enzimas destacam-se a superóxido dismutase (SOD), a ascorbato peroxidase (APX) e a catalase (CAT) (MILLER et al., 2010; RIVAS; OLIVEIRA; SANTOS, 2013), cujas funções são, respectivamente, compostos que bloqueiam o início da oxidação (removem as espécies reativas) e moléculas que se unem aos radicais orgânicos, sendo consumidas durante as reações. Assim, o balanço de atividade entre SOD, APX e CAT é importante para determinar os níveis de equilíbrio da produção de radical superóxido e peróxido de hidrogênio (MITTLER, 2002, SHARMA et al., 2012).

Assim, é de grande importância entender como ocorre e quais as enzimas do sistema antioxidante enzimático que são ativadas durante o estresse, pois a resposta ao sistema de defesa antioxidativo indica a tolerância ao estresse. Somente as plantas que conseguem ativar o sistema de defesa é que tem crescimento em situações de estresse (ZHENG et al., 2009).

#### **2.4.1 Ascorbato peroxidase (APX)**

A APX é considerada a enzima mais importante na eliminação rápida de  $H_2O_2$  no citosol e nos cloroplastos, por possuir alta afinidade com essa molécula, removendo-a mesmo em baixas concentrações (INZÉ; MONTAGU, 1995; MITTLER, 2002). A APX é responsável pela degradação do  $H_2O_2$  utilizando o ascorbato como substrato e agindo na defesa de tecidos fotossintéticos contra o estresse fotooxidativo (INZÉ; MONTAGU, 1995; SHIGEOKA et al., 2002; MARUTA et al., 2016). Pode ser encontrada no citosol

das células não fotossintetizantes, atuando na redução dos níveis de EROs onde não existe atividade da catalase presente (MITTLER, 2002).

As isoenzimas de APX são distribuídas em quatro compartimentos celulares distintos: no estroma e ligadas à membrana dos tilacóides dos cloroplastos; ligada à membrana nos microcorpos, incluindo glioxissomos e peroxissomos; e no citosol (SHIGEOKA et al., 2002). Da mesma forma, há a isoforma de APX ligada a membrana mitocondrial. Todas estas isoenzimas têm uma alta especificidade pelo ascorbato como doador de elétrons (LEONARDIS, DIPIERRO, DIPIERRO, 2000).

As peroxidases atuam na prevenção e redução dos efeitos deletérios causados por radicais livres e pela peroxidação dos lipídios participando de inúmeros processos fisiológicos (HIRAGA, SASAKI, ITO, OHASHI, MATSUI, 2001). Desta forma, quando submetidas ao estresse, as plantas aumentam sua atividade da enzima peroxidase que é considerado uma ação protetora, pois quebrariam as espécies reativas de oxigênio em água e oxigênio molecular, evitando a peroxidação dos lipídios.

#### **2.4.2 Catalase (CAT)**

As catalases são enzimas que convertem o  $H_2O_2$  em  $H_2O$  e  $O_2$  em plantas e estão presentes nos peroxissomas e glioxissomas (DEL RÍO et al., 1998). Devido à sua ampla distribuição e capacidade de degradar rapidamente o peróxido de hidrogênio esta enzima desempenha um papel fundamental nos sistemas que capacitam os organismos a viverem em ambientes aeróbicos (MALLICK; MOHN, 2000). É uma das enzimas chave envolvida na remoção de peróxidos tóxicos nas células quando estes estão em concentrações altas, pois apresenta baixa afinidade pelo  $H_2O_2$  (MITTLER, 2002).

A CAT apresenta função combinada com as SODs, sendo que a CAT converte o  $H_2O_2$  originado pela atividade da SOD, em  $H_2O$  e  $O_2$ . Esta enzima é sensível a luz, a qual pode ocasionar sua inativação, assim como situações de estresse promovidas por baixas ou altas temperaturas e condições que suprimem a síntese proteica também causam sua inativação (CATANEO et al., 2008).

As catalases podem ser divididas em três classes: 1ª são responsáveis por remover o  $H_2O_2$  produzido durante a fotorrespiração em tecidos fotossintéticos; 2ª são produzidas em tecidos vasculares; 3ª estão presentes abundantemente em sementes e plantas jovens, e cuja atividade está relacionada à remoção do  $H_2O_2$  produzido durante a degradação dos ácidos graxos no glioxissoma (RESENDE, SALGADO, CHAVES, 2003).



### 2.4.3 Teor de proteínas solúveis totais

Em situações de estresse novas proteínas podem ser sintetizadas para atuar como sinalizadores e interagir com outras moléculas desencadeando uma resposta contra o agente estressor (CHAGAS, 2007).

Nas sementes a ação das proteínas e outras enzimas também marcam o início da germinação. As hidrólises das proteínas de reserva ocorrem de acordo com a atividade hidrolítica das proteases. As endopeptidases atacam ligações peptídicas internas do polipeptídeo, produzindo oligopeptídeos que são reduzidos aos seus aminoácidos. As aminopeptidases atuam no terminal amino, e as carboxipeptidases no terminal carboxílico do peptídeo (LABOURIAU, 1983; MUNTZ et al., 2001).

Assim durante o processo de germinação as proteínas de reserva são consumidas, demonstrando a importância da mesma para o início do desenvolvimento da plântula. A concentração das reservas é importante como fonte de energia para ocorrer a germinação e o crescimento da plântula, assim as proteínas de reserva podem suprir os aminoácidos, produzir substâncias de substratos respiráveis ou participar de outros processos (LABOURIAU, 1983; FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

Nas sementes de trigo o acúmulo de proteínas ocorre no endosperma, e a síntese das proteinases ocorre principalmente na camada de aleurona. Por sua vez, estas enzimas hidrolisam as proteínas do endosperma durante a germinação convertendo as mesmas em amidas (glutamina e asparagina) e deslocam-se para o eixo em crescimento (FERREIRA; BORGHETTI, 2004). Durante a fase de desenvolvimento das sementes a concentração de nutrientes é alta (DONKOR et al., 2012; PAJAK et al., 2014).

Como os principais componentes químicos das sementes, responsáveis pela embebição, são as proteínas, e, em menor intensidade, a celulose e substâncias pécicas; o amido e os lipídios apresentam interferência reduzida no processo. As substâncias são mobilizadas durante a germinação, e no decorrer do desenvolvimento das plântulas seus produtos de degradação são usados para diferentes propósitos, como a geração de energia e a produção de matéria-prima para a construção de novas células e tecidos (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000).

Sob o ponto de vista fisiológico, as reservas acumuladas são responsáveis pelo fornecimento de nutrientes e energia necessários para a plena manifestação das funções vitais das sementes (MARCOS FILHO, 2005). Essas reservas presentes nas sementes são

utilizadas pelo embrião como fonte de energia e substrato para estruturas celulares (PONTES et al., 2002). Desta maneira, a principal função das proteínas é a proteção das estruturas celulares e subcelulares contra danos oxidativos.

Com o intuito de obter informações que possam elucidar como os mecanismos de respostas bioquímicas atuam sob o estresse nas plantas, a busca por informações de quais substâncias e como estão envolvidas nesse processo é importante, pois podem ser utilizados como indicadores de sua tolerância ao estresse.

Diversos estudos têm sido realizados com a finalidade de se obter respostas quanto aos mecanismos de defesa das plantas ao estresse abiótico, particularmente devido às inúmeras possíveis aplicações em programas de melhoramento genético de espécies cultivadas (WANG, VINOCUR, ALTMAN, 2003; ZHU, 2001; CARGNIN et al., 2006; CARGNIN et al. 2007; RIBEIRO et al., 2012).

## **2.5 ESTRESSES ABIÓTICOS NA GERMINAÇÃO DAS SEMENTES**

O teste de germinação é uma ferramenta que fornece informações sobre o potencial máximo de germinação das sementes sob condições ótimas de ambiente, ou seja, de temperatura, disponibilidade de água e aeração, desta maneira este teste é utilizado rotineiramente em laboratórios para a avaliação da qualidade fisiológica de sementes (MARCOS FILHO, 2005; BRASIL, 2009). Entretanto, em condições de campo, as sementes podem ser afetadas por condições desfavoráveis tais como o estresse hídrico ou térmico, o que comprometem a emergência das plântulas (RODO; PANOBIANCO; MARCOS FILHO, 2000).

Diversos estudos com sementes têm sido conduzidos sob condições de deficiência hídrica, utilizando soluções osmóticas para simular um ambiente com pouca umidade. Dentre estas, pode-se citar o polietilenoglicol  $[H(OCH_2CH_2)_nOH]$ , um composto quimicamente inerte e não tóxico, que é usado em quantidades específicas, como agente osmótico para simular condições de déficit hídrico (PARMAR; MOORE, 1968; JAJARMI, 2009).

Quando as sementes são colocadas em contato com uma solução aquosa de um composto quimicamente inerte, mas osmoticamente ativo, como é o caso do PEG 6000, elas iniciam normalmente a embebição. Ainda, segundo o mesmo autor, paralisam o processo assim que entram em equilíbrio com o potencial osmótico da solução, e dessa

forma a porcentagem e a velocidade de germinação são afetadas na medida em que diminui o potencial hídrico (MARCOS-FILHO, 2015).

Os testes de germinação utilizando soluções polietilenoglicol têm sido empregados para simular condições de estresse hídrico em diferentes culturas, como em trigo (DHANDA; SETHI; BEHL, 2004; ALMAGHRABI, 2012; GIROTTO et al., 2012), milho (ABREU et al., 2014), soja (BRACCINI et al., 1996; SILVA, RODRIGUES, VIEIRA, 2006; SCHUAB et al., 2007; TEXEIRA et al., 2008), feijão-caupi (PAIVA et al., 2018), nabiça e fedegoso (PEREIRA, CATÃO, CAIXETA, 2020) tomate (FLORIDO et al., 2018), rabanete (MAHESH et al., 2013) girassol (BARROS; ROSSETTO, 2009), algodão (MENESES et al., 2011), milho (TONIN et al., 2000), arroz (PIRDASHTI et al., 2003), beterraba (SADEGHIAN; YAVARI, 2004).

Essa simulação de déficit hídrico pode auxiliar na identificação de cultivares com elevado nível de resistência a esta condição, uma vez que sementes mais tolerantes ao estresse apresentam maior germinação e vigor (VAZQUEZ, 1995).

Assim, diversos trabalhos estudaram o efeito da temperatura na germinação das sementes, como por exemplo, em trigo (HAMPSON, SIMPSON, 1990), *Arabidopsis* (TOH et al., 2008), arroz (LIU et al., 2015; LIU et al., 2019), girassol mexicano (WEN, 2015), *Baccaurea ramiflora* (WEN et al., 2016), milho (ZHOU et al., 2018), rabanete e pinheiro-açucareiro (MURPHY; NOLAND, 1982), manjerição doce (RAMIM, 2006), *Origanum compactum*. (Benth) (LAGHMOUCHI et al., 2017).

Estresses abióticos causam perdas econômicas na agricultura, limitando o rendimento e a produção das colheitas. Como consequências das mudanças climáticas, verificam-se diferentes combinações de estresse abiótico, o que têm gerado um enorme impacto sobre as culturas, e a extensão dos danos causados à agricultura por diferentes combinações de estresse é relatada por vários autores como (MITTLER, 2006; MITTLER; BLUMWALD, 2010; SUZUKI et al., 2014; ZANDALINAS et al., 2017), em cinco diferentes espécies de pastagens alpinas (BOECK et al., 2016), na compreensão das respostas fisiológicas, metabólicas e moleculares de milho, arroz e peônia a uma combinação de diferentes condições de estresse abiótico (HU, et al., 2015; LIU et al., 2015; ZHANG et al., 2015).

Nos últimos anos esforços adicionais foram feitos para investigar as respostas das plantas aos diferentes estresses combinados (SUZUKI et al., 2014; ZANDALINAS et al., 2017). Entre as combinações de estresse abiótico o déficit hídrico e as altas temperaturas

são consideradas as mais frequentes, pois afetam drasticamente os sistemas agrícolas globais (BARNABÁS, JÄGER, FEHÉR, 2008).

A resposta das plantas ao estresse combinado é diferente da exposição a uma única fonte de estresse (MITTLER, 2006). Assim, embora diversas pesquisas sobre estresse abiótico tenham sido desenvolvidas na cultura do trigo como tolerância à seca (BAHIELDIN et al., 2005; VENDRUSCOLO et al., 2007; DATLA et al., 2014), tolerância térmica (FU et al., 2008; XUE, DRENTH, MCINTYRE, 2014; QIN et al., 2016; LI et al., 2016), além da tolerância ao sal, à seca e ao congelamento (PELLEGRINESCHI et al., 2004), tolerância à seca e ao estresse salino (SAAD et al., 2013), relativamente são poucas as informações sobre o comportamento da germinação das sementes sob estresses combinados de seca e alta temperatura.

Além dos resultados relacionados ao teste de germinação, outro indicativo da resposta das sementes aos estresses abióticos impostos é a avaliação da atividade enzimática e do teor de proteínas das plântulas. Vários trabalhos relataram que a capacidade das plantas de equilibrar a produção e eliminação de EROs está associada a uma maior tolerância a diferentes estresses ambientais (HERNANDEZ, JIMENEZ, MULLINEAUX, SEVILIA, 2000; LIN et al., 2004; ARBONA et al., 2008; MARTINEZ et al., 2016).

Destaca-se que a expressão de diferentes proteínas e enzimas sequestrantes de EROs e o acúmulo de diversos antioxidantes exibem um mecanismo único de resposta durante a combinação de estresse que é diferente daquele encontrado em resposta a cada estresse individual (RIZHSKY, LIANG, MITTLER, 2002; RIZHSKY et al., 2004; KOUSSEVITZKY et al., 2008; SRIVASTAVA et al., 2012; PRASCH; SONNEWALD, 2013; RIVERO et al., 2013; PANDEY, RAMEGOWDA, SENTHIL-KUMAR, 2015; JIN et al., 2016; SUZUKI et al., 2016; ZANDALINAS et al., 2016). Assim, o papel da defesa antioxidante envolvendo enzimas eliminadoras de EROs na tolerância das sementes de trigo sob combinação de déficit hídrico e alta temperatura é pouco conhecido.

As respostas aos estresses podem variar entre as cultivares e até quando se comparam lotes de níveis distintos, sendo que de acordo com a literatura lotes de maior vigor são mais tolerantes à germinação sob estresse abiótico.

Portanto, a análise das diferenças na tolerância do trigo à seca, altas temperaturas supraótimas e à combinação desses estresses beneficiaria muito o entendimento da germinação das sementes sob essas condições e poderia beneficiar o desenvolvimento de novos cultivares de trigo com maior tolerância ao estresse.

## 2.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABITRIGO. Associação Brasileira da Indústria de Trigo. *O que é o Trigo*. Disponível em: <<http://www.abitrigo.com.br/trigo.php>>. Acesso em: 16 jun. 2019.

ABREU, V. M. D., PINHO, É. V. D. R. V., PINHO, R. G. V., NAVES, G. M. D. F., SILVA NETA, I. C., GUIMARÃES, R. M., CARVALHO, M. R. D. Physiological performance and expression of isozymes in maize seeds subjected to water stress. **Journal of Seed Science**, v. 36, n. 1, p. 40-47, 2014.

ADEGBUYI, E.; COOPER, S. R.; DON, R. Osmotic priming of some herbage grass seed using polyethylene glycol (PEG). **Seed Science and Technology (Netherlands)**, v. 9, p. 867-878, 1981.

ADNAN, M., HUSSAIN, M., ANJUM, M. Z., REHMAN, F., BILAL, H. B., TOOR, M. D., & AHMAD, R. Role of phosphorous in wheat production: A review. **International Journal of Agricultural Science Research**, v. 8, n. 2, p. 10-15, 2020.

ALMAGHRABI, O. A. Impact of drought stress on germination and seedling growth parameters of some wheat cultivars. **Life Science Journal**, v. 9, n. 1, p. 590-598, 2012.

ALVARADO, V.; BRADFORD, K. J. A hydrothermal time model explains the cardinal temperatures for seed germination. **Plant, Cell & Environment**, v. 25, n. 8, p. 1061-1069, 2002.

ARBONA, V., HOSSAIN, Z., LÓPEZ-CLIMENT, M. F., PÉREZ-CLEMENTE, R. M., GÓMEZ-CADENAS, A. Antioxidant enzymatic activity is linked to waterlogging stress tolerance in citrus. **Physiologia Plantarum**, v. 132, n. 4, p. 452-466, 2008.

ASSENG, S., CAMMARANO, D., BASSO, B., CHUNG, U., ALDERMAN, P. D., SONDER, K., LOBELL, D. B. Hot spots of wheat yield decline with rising temperatures. **Global Change Biology**, v. 23, n. 6, p. 2464-2472, 2017.

AZERÊDO, G. A.; PAULA, R. C.; VALERI, S. V. Temperatura e substrato para a germinação de sementes de *Piptadenia moniliformis Benth.* **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 39, n. 92, p. 479-488, 2011.

BAHIELDIN, A., MAHFOUZ, H. T., EISSA, H. F., SALEH, O. M., RAMADAN, A. M., AHMED, I. A., MADKOUR, M. A. Field evaluation of transgenic wheat plants stably expressing the HVA1 gene for drought tolerance. **Physiologia Plantarum**, v. 123, n. 4, p. 421-427, 2005.

BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M. S.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 3, 2014.

BARNABÁS, B.; JÄGER, K.; FEHÉR, A. The effect of drought and heat stress on reproductive processes in cereals. **Plant, Cell & Environment**, v. 31, n. 1, p. 11-38, 2008.

BARROS, C. S.; ROSSETTO C. A. V. Germination test under water restriction to evaluate sunflower seeds vigor. **Ciência Rural**, v. 39, p. 2621-2624, 2009.

BELLO, E. P., ALBUQUERQUE, M. C. D. F., GUIMARÃES, S. C., MENDONÇA, E. A. Germinação de sementes de *Amburana acreana* (Ducke) AC Sm. submetidas a diferentes condições de temperatura e de estresse hídrico. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina v. 30, n. 3, p. 16–24, 2008.

BEWLEY, J. D. Seed germination and dormancy. **The Plant Cell**, v. 9, n. 7, p. 1055, 1997.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. Seeds. In: *Physiology of Development and Germination*. **Springer Science & Business Media**, Boston, MA, p. 1-33, 1994.

BHATTACHARJEE, S. Sites of generation and physicochemical basis of formation of reactive oxygen species in plant cell. In: GUPTA, S. Dutta. *Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Higher Plants*. Enfield: **Science Publishers**, p. 1-30, 2010.

BOECK, H. J.; BASSIN, S., VERLINDEN, M., ZEITER, M., HILTBRUNNER, E. Simulated heat waves affected alpine grassland only in combination with drought. **New Phytologist**, v. 209, n. 2, p. 531-541, 2016.

BORÉM, A.; SCHEEREN, P. L. Trigo: do plantio à colheita. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2015. 260p.

BRACCINI, A.L.; RUIZ, H.A.; BRACCINI, M.C.L.; REIS, M.S. Germinação e vigor de sementes de soja sob estresses hídrico induzidos por soluções de cloreto de sódio, manitol e polietilenoglicol. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, v. 18, n.1, p. 10-16, 1996.

BRASIL - Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília, 2009, 399p.

BRAY, E. A. Plant responses to water deficit. *Trends in Plant Science*, v. 2, n. 2, p. 48-54, 1997.

BURKE, J. J.; MAHAN, J. R.; HATFIELD, J. L. Crop- specific thermal kinetic windows in relation to wheat and cotton biomass production. *Agronomy Journal*, v. 80, n. 4, p. 553-556, 1988.

CAMBRAIA, J. Aspectos bioquímicos, celulares e fisiológicos dos estresses nutricionais em plantas. In: **Estresses ambientais danos e benefícios em plantas**. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, 2005. p. 127-137.

CARGNIN, A., DE SOUZA, M. A., MACHADO, C. G., & PIMENTEL, A. J. B Genetic gain prediction for wheat with different selection criteria. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, v. 7, n. 4, 2007.

CARGNIN, A., SOUZA, M. A., DIAS, D. C. F. S., MACHADO, J. C., MACHADO, C. G., SOFIATTI, V. Tolerância ao estresse de calor em genótipos de trigo na fase de germinação. *Bragantia*, Campinas, v. 65 n .2, p. 245-251, 2006.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: Ciência, Tecnologia e Produção**. Jaboticabal: Funep, p. 6-11, 2012.

CARVALHO, N.; NAKAGAWA, J. **Sementes: Ciência, Tecnologia e Produção**. Jaboticabal: Funep, 588p, 2000.

CASTRO, R. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M. Embebição e reativação do metabolismo. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, Imbibition and reactivation of metabolism (in Portuguese). In: **Germinação. Do básico ao aplicado**. Artmed Editora, 2004. p. 149-162.

CATANEO, C. B.; CALIARI, V.; GONZAGA, L. V.; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R. Atividade antioxidante e conteúdo fenólico do resíduo agroindustrial da produção de vinho. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n. 1, p. 93-102, 2008.

CHAGAS, R. M. **Alterações fotossintéticas e respostas oxidativas em plantas de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) tratadas com paraquat**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 82p, 2007.

CHANDEL, G.; DUBEY, M.; MEENA, R. Differential expression of heat shock proteins and heat stress transcription factor genes in rice exposed to different levels of heat stress. **Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology**, v. 22, n. 3, p. 277-285, 2013.

CHAUHAN, H., KHURANA, N., TYAGI, A. K., KHURANA, J. P., KHURANA, P. Identification and characterization of high temperature stress responsive genes in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) and their regulation at various stages of development. *Plant molecular biology*, v. 75, n. 1-2, p. 35-51, 2011.

CHAVES, M. M. Effects of water deficits on carbon assimilation. **Journal of Experimental Botany**, v. 42, n. 1, p 1-16, 1991.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. *Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos: Décimo segundo levantamento, safra 2019/2020*. Brasília: Conab. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuario-e-extrativista/analises-do-mercado/historico-mensal-de-trigo/item/14207-trigo-analise-mensal-agosto-2020>. Acesso em: 28 set. 2020.

CUNHA, G. R.; PASINATO, A.; PIMENTEL, M. B. M.; HAAS, J. C. MALUT, J. R. T., PIRES, L. F. G.; DALMAGO, A.; SANTI, A. Regiões para trigo no Brasil: ensaios de VCU, zoneamento agrícola e época de semeadura. *In: Embrapa Trigo-Artigo em anais de congresso (ALICE)*. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 6., 2012, Londrina. [Anais...]. Londrina: IAPAR, p. 27-40, 2012.

CUNHA, G. R.; PASINATO, A.; PIRES, J. L. F.; DALMAGO, G. A.; SANTI, A.; GOUVÊA, J. A. **Bioclimatologia e Zoneamento Agrícola**. In: **MORI, C. de. O produtor pergunta, a EMBRAPA responde**. Brasília: EMBRAPA, p.31-57, 2016.



DATLA, R., REN M., QIU S., SELVARAJ G. **Tor-interacting proteins (TIPs) and genes therefor**. U.S. Patent n. 8,704,042, 22 abr. 2014.

DEL RIO, L. A; PASTORI, G. M; PALMA, J. M; SANDALIO, L. M; SEVILLA, F; CORPAS, F. J; JIMÉNEZ, A; LÓPEZ-HUERTAS, E; HERNÁNDEZ, J. A. The activated oxygen role of peroxisomes in senescence. **Plant Physiology**, v.116, p.1195-1200, 1998.

DEWIR, Y. H.; CHAKRABARTY, D.; ALI, M. B.; HAHN, E. J.; PAEK, K. Y. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities of *Euphorbia millii* hyperhydric shoots. **Environmental and experimental botany**, v. 58, n. 1-3, p. 93-99, 2006.

DHANDA, S. S.; SETHI, G. S.; BEHL, R. K. Indices of Drought Tolerance in Wheat Genotypes at Early Stages of Plant Growth. **J. Agronomy & Crop Science**, Berlin, 190, 6-12, 2004.

DJANAGUIRAMAN, M., PRASAD, P. V. V., AL-KHATIB, K. Ethylene perception inhibitor 1-MCP decreases oxidative damage of leaves through enhanced antioxidant defense mechanisms in soybean plants grown under high temperature stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 71, n. 2, p. 215-223, 2011.

DONKOR, O. N.; STOJANOVSKA, L.; GINN, P.; ASHTON, J.; VASILJEVIC, T. Germinated grains—Sources of bioactive compounds. **Food Chemistry**, v. 135, n. 3, p. 950-959, 2012.

ECCO, M.; BEDULLI, D. L.; LOPES, A. B.; RICHART, A.; KIELING, P. Adubação nitrogenada em cobertura em diferentes estádios fenológicos da cultura do trigo. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 10, n. 1, p. 9-16, 2020.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. *Sistema de produção Embrapa: Cultivo do trigo*. 2014. Disponível em: [https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p\\_p\\_lifecycle=0&p\\_p\\_id=conteudoportlet\\_WAR\\_sistemasdeproducaolf6\\_1ga1ceportlet&p\\_p\\_col\\_count=1&p\\_p\\_col\\_id=column\\_2&p\\_p\\_state=normal&p\\_r\\_p\\_76293187\\_sistemaProducaoId=3704&p\\_r\\_p\\_996514994\\_topicoId=3044&p\\_p\\_mode=view](https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p_p_lifecycle=0&p_p_id=conteudoportlet_WAR_sistemasdeproducaolf6_1ga1ceportlet&p_p_col_count=1&p_p_col_id=column_2&p_p_state=normal&p_r_p_76293187_sistemaProducaoId=3704&p_r_p_996514994_topicoId=3044&p_p_mode=view). Acesso em: 20 jun. 2019.

ESSEMINE, J.; AMMAR, S.; BOUZID, S. Impact of heat stress on germination and growth in higher plants: physiological, biochemical and molecular repercussions and mechanisms of defence. **Journal of Biological Sciences**, v. 10, n. 6, p. 565-572, 2010.

FAROOQ, M., WAHID, A., KOBAYASHI, N., FUJITA, D. B. S. M. A., BASRA, S. M. A. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. In: **Sustainable Agriculture**. Springer Netherlands, 153-188, 2009.

FENNER, M. K., FENNER, M., THOMPSON, K. **The ecology of seeds**. Cambridge University Press £26 (softback) £55 (hardback) 260 pp., 2005.

FERREIRA, A. G., BORGHETTI, F. Interpretação de resultados de germinação. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 209-222, 2004.

FONSECA, S. S. C. L.; PEREZ, C. J. G. A. Efeito de sais e da temperatura na germinação de sementes de olho-de-dragão (*Anadenanthera pavonina* L.-Fabaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 21, n. 2, p. 70-77, 1999.

FLORIDO, M., BAO, L., LARA, R. M., CASTRO, Y., ACOSTA, R., ALVAREZ, M. Effect of water stress simulated with peg 6000 on tomato seed germination (*Solanum section Lycopersicon*). **Cultivos Tropicales**, v. 39, n. 1, p. 87-92, 2018.

FREY, F. P., URBANY, C., HÜTTEL, B., REINHARDT, R., STICH, B. Genome-wide expression profiling and phenotypic evaluation of European maize inbreds at seedling stage in response to heat stress. **BMC Genomics**, v. 16, n. 1, p. 1-15, 2015.

FRIZZONE, J. A.; OLITTA, A. F. L. Efeitos da supressão de água em diferentes fases do crescimento na produção do trigo. **Engenharia Rural**, v. 1, n. 1, p. 1-76, 1990.

FU, J., MOMČILOVIĆ, I., CLEMENTE, T. E., NERSESIAN, N., TRICK, H. N., RISTIC, Z. Heterologous expression of a plastid EF-Tu reduces protein thermal aggregation and enhances CO<sub>2</sub> fixation in wheat (*Triticum aestivum*) following heat stress. *Plant molecular biology*, v. 68, n. 3, p. 277-288, 2008.

GARCÍA-TEJERO, I., ROMERO-VICENTE, R., JIMÉNEZ-BOCANEGRA, J. A., MARTÍNEZ-GARCÍA, G., DURÁN-ZUAZO, V. H., MURIEL-FERNÁNDEZ, J. L. Response of citrus trees to deficit irrigation during different phenological periods in

relation to yield, fruit quality, and water productivity. **Agricultural Water Management**, v. 97, n. 5, p. 689-699, 2010.

GIROTTI, L.; ALVES, J.D.; DEUNER. S.; ALBUQUERQUE, A.C.S.; TOMAZONI. A.P. Tolerância à seca de genótipos de trigo utilizando agentes indutores de estresse no processo de seleção. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 59, n.2, p. 192-199, 2012.

GUTTERIDGE, J. M. C; HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants in the year 2000: a historical look to the future. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 899, n. 1, p. 136-147, 2000.

HAMPSON, C. R.; SIMPSON, G. M. Effects of temperature, salt, and osmotic potential on early growth of wheat (*Triticum aestivum*). I. Germination. **Canadian Journal of Botany**, v. 68, n. 3, p. 524-528, 1990.

HERNANDEZ J. A., JIMENEZ A., MULLINEAUX P., SEVILIA F. Tolerance of pea (*Pisum sativum* L.) to long- term salt stress is associated with induction of antioxidant defences. **Plant, Cell & Environment**, v. 23, n. 8, p. 853-862, 2000.

HIRAGA, S.; SASAKI, K.; ITO, H.; OHASHI, Y.; MATSUI, H. A large family of class III plant peroxidases. **Plant and Cell Physiology**, v. 42, n. 5, p. 462-468, 2001.

HU, X., WU, L., ZHAO, F., ZHANG, D., LI, N., ZHU, G., WANG, W. Phosphoproteomic analysis of the response of maize leaves to drought, heat and their combination stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 298, 2015.

IBGE: Instituto Brasileiro De Geografia e Estatística. (2020). Disponível em: <[https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/2415/epag\\_2020\\_jun.pdf](https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/2415/epag_2020_jun.pdf) >. Acesso em 23 jun. 2020.

INZÉ, D.; VAN MONTAGU, M. Oxidative stress in plants. **Current Opinion in Biotechnology**, New York, v. 6, p. 153-158, 1995.

JAIMEZ, R. E., RADA, F., GARCÍA-NÚÑEZ, C., AZÓCAR, A. Seasonal variations in leaf gas exchange of plantain cv. Hartón (*Musa AAB*) under different soil water conditions in a humid tropical region. **Scientia Horticulturae**, v. 104, n. 1, p. 79-89, 2005.

JAJARMI, V. Effect of water stress on germination indices in seven wheat cultivar. **World Academy of Science, Engineering and Technology**, 49, 105-106, 2009.

JIN. R., WANG. Y., LIU R., GOU. J., CHAN. Z. Physiological and metabolic changes of purslane (*Portulaca oleracea* L.) in response to drought, heat, and combined stresses. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 1123, 2016.

KARUPPANAPANDIAN, T., MOON, J. C., KIM, C., MANOHARAN, K., KIM, W. Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. **Australian Journal of Crop Science**, v. 5, n. 6, p. 709-725, 2011.

KERCHEV, P. I, FENTON, B., FOYER, CH E HANCOCK, R. D. Infestation of potato (*Solanum tuberosum* L.) by the peach- potato aphid (*Myzus persicae* Sulzer) alters cellular redox status and is influenced by ascorbate. **Plant, Cell & Environment**, v. 35, n. 2, p. 430-440, 2012.

KHODARAHMI, M.; NABIPOUR, A.; ZARGARI, K. Genetic improvement of agronomic and quality traits of wheat cultivars introduced to temperate regions of Iran during 1942-2007. **African Journal of Agricultural Research**, v. 5, n. 9, p. 947-954, 2010.

KOUSSEVITZKY, S., SUZUKI, N., HUNTINGTON, S., ARMIJO, L., SHA, W., CORTES, D., MITTLER, R. Ascorbate peroxidase 1 plays a key role in the response of *Arabidopsis thaliana* to stress combination. **Journal of Biological Chemistry**, v. 283, n. 49, p. 34197-34203, 2008.

KOVALCHUK, I. Multiple roles of radicals in plants. In: GUPTA, S.D. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. Enfield: Science Publishers, p.31-44. 2010.

KRANNER, I., MINIBAYEVA, F. V., BECKETT, R. P., SEAL, C. E. What is stress? Concepts, definitions and applications in seed science **New Phytologist**, v. 188, n. 3, p. 655-673, 2010.

LABOURIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Secretaria-Geral da Organização dos Estados Americanos, Programa Regional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, 174 p., 1983.

LAGHMOUCHI, Y., BELMEHDI, O., BOUYAHYA, A., SENHAJI, N. S., ABRINI, J. Effect of temperature, salt stress and pH on seed germination of medicinal plant *Origanum compactum*. **Biocatalysis and agricultural biotechnology**, v. 10, p. 156-160, 2017.

LAWLOR, D. W. Limitation to photosynthesis in water- stressed leaves: stomata vs. metabolism and the role of ATP. **Annals of Botany**, v. 89, n. 7, p. 871-885, 2002.

LEONARDIS, S.; DIPIERRO, N.; DIPIERRO, S. Purification and characterization of an ascorbate peroxidase from potato tuber mitochondria. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 38, p. 773-779, 2000.

LI, L., ZHENG, M., DENG, G., LIANG, J., ZHANG, H., PAN, Z., YU, M. Overexpression of AtHDG11 enhanced drought tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Molecular Breeding**, v. 36, n. 3, p. 23, 2016.

LI, X., JIANG, H., LIU, F., CAI, J., DAI, T., CAO, W., JIANG, D. Induction of chilling tolerance in wheat during germination by pre-soaking seed with nitric oxide and gibberellin. **Plant Growth Regulation**, v. 71, n. 1, p. 31-40, 2013.

LIN, J., SHAO, S., WANG, Y., QI, M., LIN, L., WANG, Y., YAN, X. Germination responses of the halophyte *Chloris virgata* to temperature and reduced water potential caused by salinity, alkalinity and drought stress. **Grass and Forage Science**, v. 71, n. 3, p. 507-514, 2016.

LIN, K. H. R., WENG, C. C., LO, H. F., CHEN, J. T. Study of the root antioxidative system of tomatoes and eggplants under waterlogged conditions. **Plant Science**, v. 167, n. 2, p. 355-365, 2004.

LITING, W., LINA, W., YANG, Y., PENGFEI, W., TIANCAI, G., & GUOZHANG, K. Abscisic acid enhances tolerance of wheat seedlings to drought and regulates transcript levels of genes encoding ascorbate-glutathione biosynthesis. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 458, 2015.

LIU, J., HASANUZZAMAN, M., WEN, H., ZHANG, J., PENG, T., SUN, H., ZHAO, Q. High temperature and drought stress cause abscisic acid and reactive oxygen species

accumulation and suppress seed germination growth in rice. **Protoplasma**, v. 256, n. 5, p. 1217-1227, 2019.

LIU, S. J, XU, H. H, WANG, W. Q, LI, N, WANG W. P, MØLLER, I. M, SONG, S. Q  
A proteomic analysis of rice seed germination as affected by high temperature and ABA treatment. **Physiologia Plantarum**, v. 154, n. 1, p. 142-161, 2015.

LOBELL, D. B.; SCHLENKER, W.; COSTA-ROBERTS, J. Climate trends and global crop production since 1980. **Science**, v. 333, n. 6042, p. 616-620, 2011.

LOKHANDE, V. H.; SUPRASANNA, P. Prospects of halophytes in understanding and managing abiotic stress tolerance. In: **Environmental adaptations and stress tolerance of plants in the era of climate change**. Springer, New York, NY p. 29-56, 2012.

MAHESH, K., BALARAJU, P., RAMAKRISHNA, B., RAO, S. S. R. Effect of *brassinosteroids* on germination and seedling growth of radish (*Raphanus sativus* L.) under PEG-6000 induced water stress. **American Journal of Plant Sciences**, v. 2013, 2013.

MALLICK, N.; MOHN, F.H. Reactive oxygen species: response of algal cells. **Journal of Plant Physiology**, v.157, p.183-193, 2000.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. ABRATES. Londrina, ed. 2, p.659, 2015.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de Sementes de Plantas Cultivadas**. Piracicaba: Fealq, 495p. 2005.

MARCOS FILHO, J.; NOVENBRE, A.D.L.C.; CHAMMA, H.M.C.P. Tamanho da semente e teste de envelhecimento acelerado para soja. **Scientia Agricola**, v. 57, n.3, p. 473-482, 2000.

MARTINEZ, V., MESTRE, T. C., RUBIO, F., GIRONES-VILAPLANA, A., MORENO, D. A., MITTLER, R., RIVERO, R. M. Accumulation of flavonols over hydroxycinnamic acids favors oxidative damage protection under abiotic stress. **Front. Plant Science**, v. 7, p. 838, 2016.

MARTINS, F. B., STRECK, N. A., SILVA, J. C. D., MORAIS, W. W., SUSIN, F., NAVROSKI, M. C., VIVIAN, M. A. Deficiência hídrica no solo e seu efeito sobre transpiração, crescimento e desenvolvimento de mudas de duas espécies de eucalipto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 3, p. 1297-1306, 2008.

MARUTA, T., SAWA, Y., SHIGEOKA, S., ISHIKAWA, T. Diversity and evolution of Ascorbate Peroxidase Functions in Chloroplasts: More Than Just a Classical Antioxidant Enzyme? **Plant and Cell Physiology**, v. 57, n. 7, p. 1377–1386, 2016.

MATIAS, J. R. **Vulnerabilidade de sementes de *Cenostigma pyramidale* (TUL.) aos estresses abióticos**. 2019. 68f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2019.

MAZOYER, M.; ROUDART, L. **História das agriculturas no mundo: do neolítico à crise contemporânea**. São Paulo: Editora UNESP, 100-185, 2010.

MENESES, C. H. S. G, BRUNO, R. L. A, FERNANDES, P. D, PEREIRA, W.E, LIMA L. H. G. M, LIMA, M. M. A, VIDAL, M. S. Germination of cotton cultivar seeds under water stress induced by polyethyleneglycol-6000. **Scientia Agricola**, v. 68, n. 2, p. 131-138, 2011.

MILLER, G. A. D., SUZUKI, N., CIFTCI- YILMAZ, S. U. L. T. A. N., MITTLER, R. O. N. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. **Plant, Cell & Environment**, v. 33, n. 4, p. 453-467, 2010.

MISHRA, D., SHEKHAR, S., AGRAWAL, L., CHAKRABORTY, S., & CHAKRABORTY, N. Cultivar-specific high temperature stress responses in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) associated with physicochemical traits and defense pathways. **Food Chemistry**, v. 221, p. 1077-1087, 2017.

MITTLER, R. Abiotic stress, the field environment and stress combination. **Trends in Plant Science**, v. 11, n. 1, p. 15-19, 2006.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v.7, p. 405-410, 2002.

MITTLER, R.; BLUMWALD, E. Genetic engineering for modern agriculture: challenges and perspectives. **Annual Review of Plant Biology**, v. 61, p. 443-462, 2010.

MORISON, J. I. L, BAKER, N. R, MULLINEAUX, P. M E DAVIES, WJ Improving water use in crop production. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 363, n. 1491, p. 639-658, 2008.

MÜNTZ, K., BELOZERSKY, M. A., DUNAEVSKY, Y. E., SCHLERETH, A., TIEDEMANN, J. Stored proteinases and the initiation of storage protein mobilization in seeds during germination and seedling growth. **Journal of Experimental Botany**, v. 52, n. 362, p. 1741-1752, 2001.

MURPHY, J. B; NOLAND, T. L. Temperature effects on seed imbibition and leakage mediated by viscosity and membranes. **Plant physiology**, v. 69, n. 2, p. 428-431, 1982.

NEVES, J. M. G., JUNIOR, D. D. S. B., DA SILVA, H. P., DE AMORIM BRANDÃO, A., SALES, N. D. L. P. Padrão de absorção de água em sementes de *Cutieira*. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 5, n. 1, p. 190-195, 2010.

PAIVA, E. P. D., SÁ, F. V. D. S., TORRES, S. B., BRITO, M. E., MOREIRA, R. C., SILVA, L. D. A Germination and tolerance of cowpea (*Vigna unguiculata*) cultivars to water stress. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 22, n. 6, p. 407-411, 2018.

PAJAK, P.; SOCHA, R.; GALKOWSKA, D.; ROZNOWSKI, J.; FORTUNA, T. Phenolic profile and antioxidant activity in selected seeds and sprouts. **Food Chemistry**, v. 143, p. 300-306, 2014.

PANDEY, P., RAMEGOWDA, V., SENTHIL-KUMAR, M. Shared and unique responses of plants to multiple individual stresses and stress combinations: physiological and molecular mechanisms. **Frontiers Plant Science**, v. 6, p. 723, 2015.

PARMAR, M. T.; MOORE, R. P. Carbowax 6000, Mannitol, and Sodium Chloride for Simulating Drought Conditions in Germination Studies of Corn (*Zea mays* L.) of Strong and Weak Vigor 1. **Agronomy Journal**, v. 60, n. 2, p. 192-195, 1968.



PELLEGRINESCHI A., REYNOLDS M., PACHECO M., BRITO R. M., ALMERAYA R., YAMAGUCHI-SHINOZAKI K., Hoisington, D. Stress-induced expression in wheat of the *Arabidopsis thaliana* DREB1A gene delays water stress symptoms under greenhouse conditions. **Genome**, v. 47, n. 3, p. 493-500, 2004.47, 493–500.

PEREIRA, F. E. C. B.; MEDEIROS FILHO, S.; TORRES, S. B.; MARTINS, C. C.; BRITO, S. F. Saline stress and temperatures on germination and vigor of *Piptadenia moniliformis Benth.* Seeds. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 20, n. 7, p. 649–653, 2016.

PEREIRA, I. C.; CATÃO, H. C; CAIXETA, F. Seed physiological quality and seedling growth of pea under water and salt stress. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 24, n. 2, p. 95-100, 2020.

PIANA, Z.; SILVA, W. R. Respostas de sementes de milho, com diferentes níveis de vigor, à disponibilidade hídrica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 33, n. 9, p. 1525-1531, 1998.

PIRDASHTI, H., TAHMASEBI, Z. S, NEMATZADEH G. H, ISMAIL, A. Effect of water stress on seed germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. **Pakistan Journal of Agronomy**, v. 2, p. 2217-222, 2003.

PIRES, J. L. F.; VARGAS, L.; CUNHA, G. R. **Trigo no Brasil: bases para produção competitiva e sustentável**. EMBRAPA, 488 p., 2011, 2011.

PITTER, R. L. The effect of weather and technology on wheat yields in Oregon. **Agricultural Meteorology, Amsterdam**, v. 18, n. 2, p. 115-131, 1977.

POLLOCK, B. M.; ROOS, E. E. Seed and seedling vigor. **Seed Biology, I. Importance, development and germination**, p. 314-387, 1972.

PONTES, C. A, BORGES, E. E. L, BORGES, R. C. G, SOARES, C. P. B. Mobilização de reservas em sementes de Apuleia leiocarpa (*Vogel*) J.F. Macbr. (*garapa*) durante a embebição. **Revista Árvore**, v. 26, n. 5, p. 593-601, 2002.

POPINIGIS, F. Fisiologia da semente. **Brasília: Agiplan**, v. 2, 1985.

POPPER, L.; SCHÄFER, W. & FREUND, W. Future of Flour – A Compendium of Flour Improvement. Kansas City: **Agrimedia**, 325. p. 309–318, 2006.

PORTER, J. R.; GAWITH, M. Temperatures and the growth and development of wheat: a review. **European Journal of Agronomy**, v. 10, p. 23-36, 1999.

PRASAD, P. V., CRAUFURD, P. Q., SUMMERFIELD, R. J., WHEELER, T. R. Effects of short episodes of heat stress on flower production and fruit- set of groundnut (*Arachis hypogaea* L.). **Journal of Experimental Botany**, v. 51, n. 345, p. 777-784, 2000.

PRASCH, C. M., SONNEWALD, U. Simultaneous application of heat, drought, and virus to *Arabidopsis* plants reveals significant shifts in signaling networks. **Plant Physiology**, v. 162, n. 4, p. 1849–1866, 2013.

QIN, N., XU, W., HU, L., LI, Y., WANG, H., QI, X., FANG, Y. AND HUA, X. Drought tolerance and proteomics studies of transgenic wheat containing the maize C4 phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPC) gene. **Protoplasma**, v. 253, n.6, p. 1503–1512, 2016.

RAMIN, A. A. Effects of salinity and temperature on germination and seedling establishment of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). **Journal of herbs, spices & medicinal plants**, v. 11, n. 4, p. 81-90, 2006.

REDDY, A. R.; CHAITANYA, K. V.; VIVEKANANDAN, M. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. **Journal of Plant Physiology**, v. 161 n.11, p. 1189-1202, 2004.

REEVES, T. G.; THOMAS, G.; RAMSAY, G. Save and grow in practice: maize, rice, wheat--a guide to sustainable cereal production. **UN Food and Agriculture Organization, Rome**, 2016.

RESENDE, M. L. V.; SALGADO, S. M. L.; CHAVES, Z. M. Espécies ativas de oxigênio na resposta de defesa de plantas a patógenos. **Fitopatologia Brasileira**, v. 8 n. 2, p. 123-130, 2003.

RIBEIRO, G., PIMENTE, A. J. B., DE SOUZA, M. A., DA FONSECA, W. B. Estresse por altas temperaturas em trigo: impacto no desenvolvimento e mecanismos de tolerância. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 18, n. 2, 2012.

RIVAS, R.; OLIVEIRA, M. T.; SANTOS, M. G. Three cycles of water deficit from seed to young plants of *Moringa oleifera* woody species improves stress tolerance. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 63, p. 200-208, 2013.

RIVERO, R. M., MESTRE, T. C., MITTLER, R., RUBIO, F., GARCIA-SANCHEZ, F., MARTINEZ, V. The combined effect of salinity and heat reveals a specific physiological, biochemical and molecular response in tomato plants. **Plant Cell Environ.** v. 37, p. 1059–1073, 2013

RIX, K. D.; GRACIE, A. J.; POTTS, B. M.; BROWN, P. H.; GORE, P. L. Genetic control of *Eucalyptus globulus* seed germination. **Annals of Forest Science**, Alenya, v. 72, n. 4, p. 457–467, 2015.

RIZHSKY, L., LIANG, H. J, MITTLER, R. The combined effect of drought stress and heat shock on gene expression in tobacco. **Plant Physiology**, v. 130, p. :1143–1151, 2002.

RIZHSKY, L., LIANG, H. J, SHUMAN, J, SHULAEV, V, DAVLETOVA, S, MITTLER, R. When defense pathways collide. The response of *Arabidopsis* to a combination of drought and high temperature. *Plant Physiology*, v. 134, p. 1683–1696, 2004.

RODO, A.B.; PANOBIANCO, M.; MARCOS FILHO, J. Metodologia alternativa do teste de envelhecimento acelerado para sementes de cenoura. **Scientia Agricola**, v. 57, n. 2, p. 289-292, 2000.

RODRIGUES, J. K., MENDONÇA, M. S. D., & GENTIL, D. F. D. O. Effect of temperature, extraction and soaking in seeds in the germination of *Bactris maraja* Mart. (*Arecaceae*). **Revista Árvore**, v. 38, n. 5, p. 857-865, 2014.

RODRIGUES, O., LHAMBY, J. C. B., DIDONET, A. D., MARCHESE, J. A., SCIPIONI, C. Efeito da deficiência hídrica na produção de trigo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 33, n. 6, p. 839-846, 1998.

ROLLINS, J. A., HABTE, E., TEMPLER, S. E., COLBY, T., SCHMIDT, J., VON KORFF, M. Leaf proteome alterations in the context of physiological and morphological responses to drought and heat stress in barley (*Hordeum vulgare* L.). **Journal of Experimental Botany**, v. 64, n. 11, p. 3201-3212, 2013.

ROMAN, E. S.; MURPHY, S. D.; SWANTON, C. J. Simulation of *Chenopodium album* seedling emergence. **Weed Science**, v. 48, n. 2, p. 217-224, 2000.

RUELLAND, E., ZACHOWSKI, A. How plants sense temperature. **Environmental and Experimental Botany**, v. 69, n. 3, p. 225-232, 2010.

SAAD, A. S., LI, X., LI, H. P., HUANG, T., GAO, C. S., GUO, M. W., CHENG, W., ZHAO, G.Y. AND LIAO, Y.C. A rice stress-responsive NAC gene enhances tolerance of transgenic wheat to drought and salt stresses. **Plant Science**, v. 203, p. 33–40, 2013.

SADEGHIAN, S. Y.; YAVARI, N. Effect of water- deficit stress on germination and early seedling growth in sugar beet. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 190, n. 2, p. 138-144, 2004.

SANTI, A.; VICARI, M.B.; PANDOLFO, C.; DALMAGO, G.A.; MASSIGNAM, A.M.; PASINATO, A. Impacto de cenários futuros de clima no zoneamento agroclimático do trigo na região Sul do Brasil. **Agrometeoros**, v. 25, n. 2, p. 303-311, 2017.

SCANDALIOS, J. G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 38, n. 7, p. 995-1014, 2005.

SCANDALIOS, J. G. Oxygen stress and superoxide dismutases. **Plant Physiology**, v. 101, n. 1, p. 7, 1993.

SCHEEREN, P. L. Trigo no Brasil. In: CUNHA, G. R.; TROMBINI, M. F. **Trigo no Mercosul: coletânea de artigos. Passo Fundo: Embrapa Trigo**, p. 122-133, 1999.

SCHEEREN, P. L.; CASTRO, R. L.; CAIERÃO, E. Botânica, morfologia e descrição fenotípica. In: BORÉM, A.; SCHEEREN, P. L. (Ed.). **Trigo: do plantio à colheita**. Viçosa, MG: Ed. UFV, v. 2, p. 35-55, 2015.

SCHLEHUBER, A. M.; TUCKER, B. B.; QUISENBERRY, K. S. Wheat and Wheat Improvement. ASA, CSSA, SSSA, **Madison, WI**, p. 117-119, 1967.

SCHMIDT, D. A. M., CARVALHO, F. I. F. D., OLIVEIRA, A. C. D., SILVA, J. A. G. D., BERTAN, I., VALÉRIO, I. P., GUTKOSKI, L. C. Variabilidade genética em trigos brasileiros a partir de caracteres componentes da qualidade industrial e produção de grãos. **Bragantia**, v. 68, n. 1, p. 43-52, 2009.

SCHNEIDER, F. M., BURIOL, A. G., ANDRIOLI, J. L., ESTEFANEL, V., STRECK, N. A. Modificação na temperatura do solo causada por estufas de polietileno transparente de baixa densidade em Santa Maria, RS. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, v. 1, n. 1, p. 37-42, 1993.

SCHUAB, S. R. P., BRACCINI, A. L., SCAPIM, C. A., FRANÇA-NETO, J. B., MESCHEDÉ, D. K., ÁVILA, M. R. Germination test under water stress to evaluate soybean seed vigour. **Seed Science & Technology**, v. 35, p. 187-199, 2007.

SEMENOV, M. A.; SHEWRY, P. R. Modelling predicts that heat stress, not drought, will increase vulnerability of wheat in Europe. **Scientific Reports**, v. 1, p. 66, 2011.

SHAHEEN, M. R., AYYUB, C. M., AMJAD, M., & WARAICH, E. A. Morpho-physiological evaluation of tomato genotypes under high temperature stress conditions. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 8, p. 2698-2704, 2016.

SHARMA, P., JHA, A. B., DUBEY, R. S., PESSARAKLI, M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of botany**, v. 2012, 2012.

SHIFERAW, B., SMALE, M., BRAUN, H. J., DUVEILLER, E., REYNOLDS, M., MURICHO, G. Crops that feed the world 10. Past successes and future challenges to the role played by wheat in global food security. **Food Security**, v. 5, n. 3, p. 291-317, 2013.

SHIGEOKA, S., ISHIKAWA, T., TAMOI, M., MIYAGAWA, Y., TAKEDA, T., YABUTA, Y., YOSHIMURA, K. Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 372, p. 1305-1319.2002.

SILVA, D. B.; GUERRA, A. F.; REIN, T. A.; ANJOS, J. R. N.; ALVES, R. T.; RODRIGUES, G. C.; SILVA, L. A. C. **Trigo para o abastecimento familiar: do plantio à mesa**. Brasília: Embrapa SPI, v. 176, 1996.

SILVA, H. A. **A mobilização das reservas é afetada diferencialmente pela restrição hídrica e pelo estresse térmico durante o estabelecimento da plântula em *P. moniliformis***. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.2020

SILVA, J. B, RODRIGUES, T. J. D, VIEIRA, R. D. Desempenho de sementes de soja submetida a diferentes potenciais osmóticos em polietilenoglicol. **Ciência Rural**, v. 23, p. 1634-1637, 2006.

SOCOLOWSKI, FÁBIO; VIEIRA, DANIELA CRISTINE MASCIA; TAKAKI, MASSANORI. Interaction of temperature and light on seed germination in *Tecoma stans* L. Juss. ex Kunth (*Bignoniaceae*). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 51, n. 4, p. 523-530, 2008.

SOUZA, M.A.; PIMENTEL, A.J.B.; RIBEIRO, G. Melhoramento para tolerância ao calor. In: Fritsche-Neto, R.; & Borém, A. (Eds.) **Melhoramento de plantas para condições de estresses abióticos**. Visconde do Rio Branco: Suprema, v. 9, p. 199-226, 2011.

SRIVASTAVA, G., KUMAR, S., DUBEY, G., MISHRA, V., PRASAD, S. M. Nickel and ultraviolet-B stresses induce differential growth and photosynthetic responses in *Pisum sativum* L. seedlings. **Biological Trace Elem. Research**, v. 149, n. 1, p. 86–96, 2012.

STONE, P.J.; NICOLAS, M.E. Wheat cultivars vary widely in their responses of grain-yield and quality to short periods of post-anthesis heat-stress. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 21, p. 887– 900, 1994.

SUN, W. Q.; LEOPOLD, A. C. Cytoplasmic vitrification and survival of anhydrobiotic organisms. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology**, v. 117, n. 3, p. 327-333, 1997.

SUZUKI N., RIVERO R. M., SHULAEV V., BLUMWALD E., MITTLER R. Abiotic and biotic stress combinations. **New Phytologist**, v. 203, p. 32–43, 2014.

SUZUKI, N., BASSIL, E., HAMILTON, J. S., INUPAKUTIKA, M. A., ZANDALINAS, S. I., TRIPATHY, D., MITTLER, R. ABA is required for plant acclimation to a combination of salt and heat stress. **PLoS One**, v. 11, n. 1, 2016, e0147625

SZABADOS, L; SAVOURE, A. Proline: a multifunctional amino acid. **Trends in plant science**, v. 15, n. 2, p. 89-97, 2010.

TAIZ, L., ZEIGER, E., MØLLER, I. M., & MURPHY, A. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. Porto Alegre: *Artmed*, 732- 761, 2017.

TAN, W., WEI MENG, Q., BRESTIC, M., OLISOVSKA, K., YANG, X. Photosynthesis is improved by exogenous calcium in heat-stressed tobacco plants. **Journal of Plant Physiology**, v. 168, n. 17, p. 2063-2071, 2011.

TOH, S, IMAMURA, A, WATANABE A, NAKABAYASHI, K, OKAMOTO, M, JIKUMARU, Y, HANADA A, ASO, Y, ISHIYAMA, K, TAMURA, N, IUCHI, S, KOBAYASHI, M, YAMAGUCHI, S, KAMIYA, Y, NAMBARA, E, KAWAKAMI, N High temperature-induced abscisic acid biosynthesis and its role in the inhibition of gibberellin action in *Arabidopsis* seeds. **Plant Physiology**, v. 146, p. 1368–1385, 2008.

TONIN, G. A, CARVALHO, N. M, KRONKA, S. N; FERRAUDO, A. S. Culture systems, velvet bean and mineral fertilization influence on maize seeds physiological quality. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 22, p. 276-279, 2000.

USDA - United States Department of Agriculture. Production, Supply and Distribution (PSD) on line. Disponível em: [https:// http://www.fao.org/3/cb3672en/cb3672en.pdf](https://http://www.fao.org/3/cb3672en/cb3672en.pdf). Acesso em: 26 abr. 2021.

VAN BREUSEGEM, F., VRANOVÁ, E., DAT, J. F., & INZÉ, D. The role of active oxygen species in plant signal transduction. **Plant Science**, v. 161, n. 3, p. 405-414, 2001.

VAZQUEZ, G. H. **Condicionamento fisiológico de sementes de soja: efeitos sobre a germinação, vigor e potencial de armazenamento**. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1995.

VENDRUSCOLO, E. C., SCHUSTER, I., PILEGGI, M., SCAPIM, C. A., MOLINARI, H. B., MARUR, C. J., VIEIRA, L. G. E. Stress-induced synthesis of proline confers tolerance to water deficit in transgenic wheat. **Journal of Plant Physiology**, v. 164, p. 1367–1376, 2007.

VERSLUES, P. E.; AGARWAL, M.; KATIYAR- AGARWAL, S.; ZHU, J.; ZHU, J. K. Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. **The Plant Journal**, v. 45, n. 4, p. 523-539, 2006.

WANG, W. X.; VINO CUR, B.; ALTMAN, A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. **Planta**, Oxford, v. 218, p.1-14, 2003.

WANG, X.; MA, X.; XINQUAN-ZHANG; LINKAI-HUANG; LI, Z.; NIE, W. X. G. Analysis of Antioxidant Enzyme Activity and Antioxidant Genes Expression During Germination of Two Different Genotypes of *Lolium multiflorum* Under Salt Tolerance. **Protein and Peptide Letters**, [s.l], v. 23, n. 5, p. 433–41, 2016.

WEN, B. Effects of high temperature and water stress on seed germination of the invasive species Mexican sunflower. **PLoS One**, v. 10, n. 10, 2015. e0141567

WEN, B., LIU, M., TAN, Y., & LIU, Q. Sensitivity to high temperature and water stress in recalcitrant *Baccaurea ramiflora* seeds. **Journal of plant research**, v. 129, n. 4, p. 637-645, 2016.

XUE, G. P., DRENTH, J., MCINTYRE, C. L. TaHsfA6f is a transcriptional activator that regulates a suite of heat stress protection genes in wheat (*Triticum aestivum* L.) including previously unknown Hsf targets **Journal of Experimental Botany**, v. 66, p. 1025–1039, 2014.

ZANDALINAS, S. I., BALFAGÓN, D., ARBONA, V., GÓMEZ-CADENAS, A., INUPAKUTIKA, M. A., MITTLER, R. ABA is required for the accumulation of APX1 and MBF1c during a combination of water deficit and heat stress. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n. 18, p. 5381-5390, 2016a.



ZANDALINAS, S. I., MITTLER, R., BALFAGÓN, D., ARBONA, V., GÓMEZ-CADENAS, A. Plant adaptations to the combination of drought and high temperatures. **Physiology Plant**, v. 162, n. 1, p. 2-12, 2017.

ZANDALINAS, S. I., MITTLER, R., BALFAGÓN, D., ARBONA, V., GÓMEZ-CADENAS, A. Plant adaptations to the combination of drought and high temperatures. **Physiologia plantarum**, v. 162, n. 1, p. 2-12, 2018.

ZHANG, YZ; CHENG, YW; YA, HY; HAN, JM; ZHENG, L. Identification of heat shock proteins via transcriptome profiling of tree peony leaf exposed to high temperature. **Genetics and Molecular Research**, v.14, n.3, p.8431-8442, 2015.

ZHENG, C.; JIANG, D.; LIU, F.; DAI, T.; LIU, W.; JING, Q.; CAO, W. Exogenous nitric oxide improves seed germination in wheat against mitochondrial oxidative damage induced by high salinity. **Environmental and Experimental Botany**, v. 67, n. 1, p. 222-227, 2009.

ZHOU, Z. H., WANG, Y., YE, X. Y., & LI, Z. G. Signaling molecule hydrogen sulfide improves seed germination and seedling growth of maize (*Zea mays* L.) under high temperature by inducing antioxidant system and osmolyte biosynthesis. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 1288, 2018.

ZHU, J.K. Cell signaling under salt, water and cold stresses. **Current Opinion in Plant Biology**, v.4, p.401-406, 2001.

ZUCHI, J., PANOZZO, L. E., HEBERLE, E., ARAUJO, E. F. Imbibition and electrical conductivity of castor bean seeds classified by size. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, n. 3, p.504-509, 2012.

### 3 ARTIGO

## PROCESSO GERMINATIVO E ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE SEMENTES DE TRIGO EM RESPOSTA À COMBINAÇÃO DE ESTRESSSES HÍDRICOS E TÉRMICOS

### 3.1 RESUMO

Fatores abióticos como os estresses hídricos e térmicos, isolados ou associados, limitam a germinação, o número de plântulas estabelecidas e o seu crescimento e desenvolvimento. Além disso, a resposta das plantas aos estresses combinados é diferente da exposição a uma única fonte de estresse. Assim, objetivou-se com o avaliar o processo germinativo das sementes e a atividade enzimática das plântulas de trigo submetidas à germinação sob diferentes potenciais hídricos e temperaturas supraótimas (acima de 20 °C), isolados ou associados. Foram utilizados quatro lotes de sementes de trigo, da cultivar IPR-Catuara, selecionados por apresentarem qualidade física e germinação semelhante, para tanto, os lotes foram caracterizados pelos testes de teor de água, massa de 1000 sementes, germinação, primeira contagem da germinação, emergência de plântulas em areia e índice de velocidade de emergência. Na avaliação da resposta dos lotes de trigo aos estresses abióticos, as sementes foram colocadas para germinar nos potenciais hídricos de 0,000 (zero), -0,075, -0,223 e -0,444 Mpa, associados às temperaturas de 20, 24, 28 e 32 °C, totalizando 16 tratamentos. Foram avaliadas as características: plântulas normais aos quatro e oito dias e as plântulas anormais e sementes mortas ao final do teste de germinação; a atividade das enzimas catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX), e o conteúdo de proteína da parte aérea e da raiz das plântulas de trigo. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, em esquema fatorial 4x16, sendo quatro lotes de sementes de trigo e 16 combinações dos estresses hídrico e térmico. Na comparação de médias utilizou-se o teste de Scott-Knott a 5%. A análise de componentes principais (ACP) foi aplicada à matriz original formada pelos 16 tratamentos, e considerando-se a média dos quatro lotes. Realizou-se também a análise de agrupamento hierárquico. Lotes de sementes de trigo de maior vigor são mais tolerantes aos estresses hídrico e térmico. O trigo tolera temperaturas até 28 °C e redução dos potenciais hídricos até -0,223 Mpa combinados sem comprometimento da sua germinação. A combinação de temperatura de 32 °C e potencial hídrico de -0,223 Mpa diminuiu a porcentagem de germinação e aumentou as plântulas anormais e sementes mortas. Independentemente da temperatura o potencial hídrico de -0,444 Mpa diminui a porcentagem e a velocidade da germinação. Ocorre aumento da atividade da enzima ascorbato peroxidase (APX) quando as plântulas são submetidas à combinação de estresse hídrico e temperatura supraótimas ou a qualquer uma das duas condições de estresse aplicadas individualmente, sendo assim acionada como mecanismo de defesa ao estresse oxidativo resultante dos estresses hídrico e térmico.

**Palavras-chave:** *Triticum aestivum* L.; alta temperatura; déficit hídrico; estresses múltiplos; potencial fisiológico.

### 3.2 ABSTRACT

Abiotic factors such as water and thermal stresses, isolated or associated, limit germination, the number of established seedlings and their growth and development. In addition, the response of plants to combined stresses is different from exposure to a single source of stress. Thus, the objective of this experiment was to evaluate the germination process of seeds and the enzymatic activity of wheat seedlings submitted to germination under different water potentials and supra-optimum temperatures (above 20 °C), isolated or associated. Four lots of wheat seeds, from the cultivar IPR-Catuara, were used, selected for their physical quality and similar germination. For that purpose, the lots were characterized by tests of water content, mass of 1000 seeds, germination, first count of germination, seedling emergence in sand and emergence speed index. In assessing the response of wheat batches to abiotic stresses, seeds were placed to germinate in water potentials of 0,000 (zero), -0,075, -0,223 and -0,444 Mpa, associated with temperatures of 20, 24, 28 and 32 °C, totaling 16 treatments. The characteristics were evaluated: normal seedlings at four and eight days and abnormal seedlings and dead seeds at the end of the germination test; the activity of the enzymes catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX), and the protein content of the aerial part and root of wheat seedlings. The experimental design was completely randomized, with four replications, in a 4x16 factorial scheme, with four lots of wheat seeds and 16 combinations of water and thermal stresses. In the comparison of means, the Scott-Knott test at 5% was used. The principal component analysis (PCA) was applied to the original matrix formed by the 16 treatments, and considering the average of the four batches. The hierarchical cluster analysis was also carried out. Lots of wheat seeds of greater vigor are more tolerant to water and thermal stresses. Wheat tolerates temperatures up to 28 °C and reduced water potential down to -0.223 Mpa combined without compromising germination. The combination of temperature of 32 °C and water potential of -0.223 Mpa decreased the percentage of germination and increased the abnormal seedlings and dead seeds. Regardless of the temperature, the water potential of -0.444 Mpa decreases the percentage and speed of germination. There is an increase in the activity of the enzyme ascorbate peroxidase (APX) when the seedlings are subjected to a combination of water stress and supra-optimum temperature or to any of the two stress conditions applied individually, thus being activated as a defense mechanism against oxidative stress resulting from water stress. and thermal.

**Key-words:** *Triticum aestivum* L.; high temperature; water deficit; multiple stresses; physiological potential.

### 3.3 INTRODUÇÃO

Com as mudanças climáticas, resultantes da constante elevação do aquecimento global, prevê-se um aumento da ocorrência de eventos extremos com secas, inundações e ondas de calor mais frequentes e, neste cenário o estresse por altas temperaturas e secas se tornam ainda mais importantes para o cultivo de plantas. Segundo dados do Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas - IPCC o aquecimento projetado para o final deste século pode variar entre 1,5 e 4,8 °C, sendo que diversos estudos têm demonstrado

que a produção agrícola será grandemente afetada, com maior interferência nas regiões tropicais e subtropicais, tendo em vista, o aumento no período de secas e acréscimos na temperatura influenciando diretamente a produtividade (DAI, 2013; IPCC, 2014; ZANDALINAS et al., 2018).

O trigo (*Triticum aestivum* L.) é um importante cereal para a alimentação humana, é a cultura agrícola mais cultivada no mundo, com produção estimada em 774 milhões de toneladas (MICHEL, SCUZE, 2018, USDA, 2021). Seu desenvolvimento é dependente da temperatura média do ar durante o ciclo de cultivo (SILVA et al., 2011). Santi et al. (2017) e Fallahpour et al. (2012) destacam a temperatura sendo a principal responsável pela limitação do número de decêndios aptos à semeadura.

A germinação e o crescimento inicial das plantas são afetadas por diversos estresses abióticos. Entre eles, a água, a temperatura e a aeração são os fatores que exercem as maiores influências nesses processos (AL – BADAIRI, 2013). Ainda, a resposta aos estresses pode variar entre as cultivares e até quando se comparam lotes de níveis distintos, sendo que, de acordo com a literatura, lotes de maior vigor normalmente são mais tolerantes à germinação sob estresse abiótico (MARCOS FILHO, 2015).

A disponibilidade de água do solo é um dos fatores necessários para a iniciação do processo germinativo e está direta e indiretamente envolvida em todos os processos metabólicos subsequentes. Assim, é primordial nas reações enzimáticas, solubilização e transporte de metabólicos, na digestão das proteínas hidrolíticas, lipídeos, carboidratos, e nos tecidos de armazenamento da semente, sendo que sua falta pode afetar eventos fisiológicos, morfogênicos e bioquímicos no interior da semente (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012; FERREIRA et al., 2015; TAIZ et al., 2017).

A temperatura age sobre a velocidade de absorção de água e sobre as reações bioquímicas que determinam todo o processo germinativo (FERREIRA; BORGHETTI, 2004; CARVALHO; NAKAGAWA, 2012; AL-SHEBLY, 2020). A restrição na disponibilidade hídrica geralmente está associada as altas temperaturas e a combinação simultânea de ambos fatores tem efeitos negativos nos processos fisiológicos dependendo da severidade e duração. Podem também ocasionar redução na germinação total e resultar em emergência tardia e /ou plântulas anormais (ANTOLÍN et al., 2008), além de trazer consequências drásticas, como o estresse osmótico, desequilíbrio nutricional, reduzir a taxa de fotossíntese das plantas e limitar o crescimento e desenvolvimento das plantas (SUZUKI et al., 2014; RAMEGOWDA; SENTHIL-KUMAR, 2015; MAHALINGAM,

2015; DIKILITAS, YUCEL, DERSIS, 2017; DIKILITAS, KARAKAS, AHMAD, 2018; MARTINEZ et al., 2018).

Assim, os estresses abióticos resultam em alterações metabólicas durante os processos de germinação das sementes e crescimento das plântulas, dentre elas destacam-se o aumento das espécies reativas de oxigênio (EROs), sendo que a resposta ao sistema de defesa antioxidativo indica tolerância ao estresse. Somente as plantas que conseguem ativar o sistema de defesa é que tem crescimento em situações adversas (ZHENG et al., 2009).

A produção das EROs é uma das primeiras respostas bioquímicas das plantas sinalizadoras de estresse (RUELLAND; ZACHOWSKI, 2010; ANJUM et al., 2011), as quais quando produzidas em desequilíbrio causam danos oxidativos às membranas celulares (peroxidação lipídica), proteínas, moléculas de RNA e DNA e, finalmente, a morte da célula (KARUPPANAPANDIAN et al. 2011; BHATTACHARJEE et al. 2012; FOYER, NOCTOR, 2013; VAAHTERA et al., 2014; CONSIDINE, SANDALIO, FOYER, 2015; DIETZ, 2015; MIGNOLET-SPRUYT et al., 2016). A sinalização das EROs é principalmente com base em um equilíbrio entre produção e eliminação, que ocorre nas plantas, sendo que a capacidade antioxidante é importante para manter uma concentração de EROs intercelular equilibrada, evitando os potenciais danos causados aos componentes celulares (BHATTACHARJEE, 2010; ANJUM et al., 2011).

Uma das respostas imediatas da planta ao estresse oxidativo é remover as EROs, para tanto utiliza-se de mecanismos bioquímicos, moleculares e genéticos para evitar ou tolerar o estresse, pelo estímulo dos sistemas antioxidantes enzimáticos e não enzimático que desempenham um papel crítico na desintoxicação das EROs (KUSVURAN, ELLIALTIUGLU, POLAT, 2013; VAAHTERA et al., 2014; CONSIDINE, SANDALIO, FOYER, 2015; MIGNOLET-SPRUYT et al., 2016; KAUR et al., 2016; WANG, LI, LI, 2016).

Essas enzimas são proteínas desintoxicantes que catalisam reações químicas e ajustam todas as reações bioquímicas, assim, são essenciais para a manutenção adequada de qualquer organismo, estão presentes em diferentes compartimentos celulares e auxiliam no controle das EROs nas células, o que confere um estágio de homeostase redox no sistema. Destacam-se entre as enzimas antioxidantes a ascorbato peroxidase (APX) e a catalase (CAT) (MITTLER, 2002; KIM et al., 2010; DINAKAR, DJILIANOV, BARTELS, 2012).

Um exemplo da ação das EROs, é quando da formação do peróxido de hidrogênio, ele é sequestrado, conseguinte degradado, resultando em H<sub>2</sub>O e O<sub>2</sub> pela CAT nos peroxissomos e pela APX nos cloroplastos (FAVARETTO et al., 2011), assim segurando a ocorrência de danos às células das plantas (SERKEDJIEVA, 2011). O nível de danos oxidativos nas células depende de quão eficiente são as plantas na ativação dessas enzimas antioxidantes (ESPOSITO et al., 2018; FAVARETTO et al., 2011).

A resposta das plantas ao estresse combinado é diferente da exposição a uma única fonte de estresse. Por exemplo, uma onda de calor simultânea durante um período de seca pode levar a mais evaporação da água do solo, resultando em condições de seca agravadas e aumento da perda de rendimento da safra. Além disso, a seca e o estresse térmico têm efeitos sinérgicos na fisiologia da planta, resultando em um maior impacto líquido negativo manifestado como reduções drásticas de produção (MITTLER, 2006). Assim, embora diversas pesquisas sobre estresse abiótico tenham sido desenvolvidas na cultura do trigo (BAHIELDIN et al., 2005; FRANCES et al., 2006; LUO, LI, WANG, 2008), relativamente são poucas as informações sobre o comportamento da germinação das sementes e crescimento inicial das plântulas sob condições de estresses combinados de restrição hídrica e altas temperaturas.

Ainda, entender como as plantas respondem ao estresse abiótico, seja por seca ou alta temperatura, ou combinados, e qual a correlação com a germinação das sementes, e com a atividade do sistema enzimático de defesa, permitiria a compreensão das estratégias de sementes para germinação sob condições de estresse.

Assim, objetivou-se avaliar o processo germinativo das sementes e a atividade enzimática das plântulas de trigo submetidas à germinação sob diferentes potenciais hídricos e temperaturas supraótimas (acima de 20 °C), isolados ou associados.

### **3.4 MATERIAL E MÉTODOS**

O trabalho foi conduzido no Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná – IAPAR-EMATER (IDR-Paraná), em Londrina-PR, no Laboratório de Sementes da Área de Propagação Vegetal e no Laboratório de Fisiologia Vegetal, na Área de Agrometeorologia, Ecofisiologia e Tecnologia de Alimentos.

Foram utilizados quatro lotes de sementes de trigo do cultivar IPR Catuara RNC/MAPA, N°. 27495, em 11/03/2011 (L1, L2, L3 e L4) fornecidas pelo IDR-Paraná,

com germinação inicial semelhantes superior a 80% e dentro dos padrões de comercialização para a espécie. Os lotes foram caracterizados quanto à sua qualidade física e fisiológica pelos seguintes testes:

**Germinação:** Realizado com quatro repetições de 50 sementes, colocadas em rolos de papel toalha previamente umedecidos com água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco. Os rolos foram acondicionados em germinador tipo *Biochemical Oxygen Demand* (B.O.D.) à temperatura de 20° C. As avaliações consistiram na contagem do número de plântulas normais no quarto (primeira contagem - PC) e oitavo dia após a montagem do teste (germinação total – G (%)), quando também foram contabilizados o total de plântulas anormais e sementes mortas (BRASIL, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem.

**Emergência de plântulas em areia:** conduzido com quatro repetições de 50 sementes, distribuídas na profundidade de 1 cm, em caixas de plástico (11 cm × 11 cm × 3,5 cm) contendo areia. Foram realizadas contagens diárias do número de plântulas emergidas (maior que 5 mm) até a estabilização e determinação da porcentagem de emergência. Para o cálculo do Índice de velocidade de emergência (IVE) foi utilizada a fórmula proposta por Maguire (1962).

**Teor de água:** Determinado pelo método da estufa a 105°C ±3°C durante 24 horas (BRASIL, 2009), utilizando-se duas repetições de 100 sementes.

**Massa de mil sementes:** Obtida mediante a contagem e pesagem de oito repetições de 100 sementes por tratamento. A média desses valores foi multiplicada por 10 para obtenção do valor da massa de 1.000 sementes (BRASIL, 2009), a após ajustada para o teor de água de 13%.

Os lotes selecionados apresentaram germinação semelhantes de acordo com os resultados da caracterização inicial (Tabela 1).

**Tabela 1.** Caracterização física e fisiológica das sementes dos quatro lotes de trigo cultivar IPR-Catuaara utilizados no experimento.

Testes	Lotes				CV (%)
	L1	L2	L3	L4	
Primeira contagem (%)	92 b*	99 a	97 a	97 a	2,98
Germinação (%)	96 a	99 a	97 a	97 a	2,31
Índice de velocidade emergência	15 a	14 a	15 a	13 b	8,21
Emergência de plântulas em areia (%)	94 b	100 a	100 a	96 b	1,87
Teor de água (%)	10,9 a	10,5 b	10,4 b	11,0 a	1,57
Massa de mil sementes (g)	52 a	50 b	47 c	51 b	2,32

\*Médias seguidas de letras minúsculas iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Entretanto apresentaram diferenças de vigor, verificada pelos testes de primeira contagem, emergência em areia, índice de velocidade de emergência e massa de mil sementes, sendo que os lotes 2 e 3 com maior vigor que os lotes 1 e 4 (Tabela 1).

### 3.4.1 Germinação sob diferentes potenciais hídricos e temperaturas supraótimas

As sementes de trigo dos quatro lotes da cultivar IPR Catuara foram colocadas para germinar seguindo os mesmos procedimentos descritos para o teste de germinação, e o invés do umedecimento do papel com água destilada, utilizaram-se soluções com diferentes concentrações de polietileno glicol 6000 (PEG 6000) para simular os potenciais hídricos (Tabela 2), pré-determinados: 0,00000; - 0,075; - 0,223 e - 0,444 MPa (MICHEL; KAUFMANN, 1973). As soluções de PEG foram realizadas com a diluição do PEG 6000 em água destilada a 20 °C.

**Tabela 2.** Quantidade de soluto utilizado na preparação de solução dos diferentes potenciais hídricos com Polietileno glicol (PEG) 6000, à temperatura de 20° C.

Concentração de PEG 6000 (g. L H <sub>2</sub> O <sup>-1</sup> )	Potencial hídrico (bar)	Potencial hídrico (MPa)
0	0,00	0,000
60	-0,75	-0,075
120	-2,23	-0,223
180	-4,44	-0,444

\* Por meio da equação proposta por Michel; Kaufmann (1973).  $\psi_{os} = - (1,18 \times 10^{-2}) C - (1,18 \times 10^{-4}) C^2 + (2,67 \times 10^{-4}) CT + (8,39 \times 10^{-7}) C^2 T$ , em que:  $\psi_{os}$  = potencial hídrico (bar ou MPa); C = concentração (gramas de PEG 6000/L de água); T = temperatura (°C).

Na avaliação da germinação sob diferentes temperaturas testaram-se 20 °C (temperatura ótima) e 24, 28 e 32 °C (temperaturas supraótimas). As sementes foram colocadas para germinar seguindo os mesmos procedimentos descritos para o teste de germinação, com o umedecimento do papel com água destilada, e também com as soluções de PEG 6000 nas concentrações anteriormente mencionadas (Tabela 2).

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado em fatorial 16 x 4, com quatro repetições, sendo 16 estresses abióticos obtidos pela combinação de quatro potenciais hídricos (0,000, -0,075, -0,223 e -0,444 Mpa) e quatro temperaturas (20, 24, 28 e 32 °C) x quatro lotes de sementes de trigo.

Os tratamentos foram avaliados pela porcentagem de plântulas normais, anormais e sementes mortas no oitavo dia após a instalação dos testes de germinação, consistiram na contagem do número de plântulas normais no quarto (primeira contagem - PC) e oitavo dia após a montagem do teste (germinação total - G (%)), quando também foram



contabilizados o total de plântulas anormais e sementes mortas (BRASIL, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem.

### **3.4.2 Análises bioquímicas nas plântulas germinadas em condições de estresses abióticos**

Foram avaliadas o conteúdo de proteína total e as atividades das enzimas antioxidantes catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) e das plântulas de trigo.

As análises foram realizadas com o extrato bruto das plântulas de trigo dos 4 lotes, postas para germinadas nas mesmas condições supramencionadas (16 combinações de potenciais hídricos e temperaturas). Para tanto, após 8 dias da instalação dos testes de germinação as plântulas normais de cada tratamento, com quatro repetições, foram separadas em parte aérea e radicular, retirando-se aproximadamente 2 gramas de amostra. O material vegetal foi então acondicionado em sacos de papel devidamente identificados e levados para o congelamento rápido em ultra freezer a temperatura  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  para preservação da integridade das moléculas proteicas e atividade das enzimas.

Posteriormente 0,500 g do material vegetal foi macerado em almofariz de porcelana, na presença de nitrogênio líquido. Em seguida, adicionou-se 10 mL do tampão fosfato de potássio de potássio 50 mM (pH 7,0) e 1% (p/v) de polivinilpolipirrolidona. O homogenato foi centrifugado por 10 min a 7500 rpm a  $4^{\circ}\text{C}$ , obtendo-se o extrato bruto das amostras. O sobrenadante, considerado a fração de proteínas solúveis totais, foi coletado, transferido para Eppendorfs de 2mL e armazenado para posteriormente usado como um extrato bruto para determinar as atividades das enzimas.

A determinação do conteúdo de proteínas solúveis totais, foi realizada pelo método descrito por Bradford (1976). O método é baseado na mudança da coloração do reagente Coomassie Brilliant Blue G-250 quando ligado a proteína. Os extratos congelados foram lentamente descongelados em banho de gelo ( $\pm 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Foram utilizadas alíquotas de 30  $\mu\text{L}$  (parte aérea) e 120  $\mu\text{L}$  dos extratos (radícula), que foram transferidos para tubos de ensaio, adicionados 570  $\mu\text{L}$  e 480  $\mu\text{L}$  de água destilada respectivamente. 2,4 mL do reagente de Bradford (0,100 mg de Coomassie brilliant blue G-250 + 50 mL de etanol 95 % + 100 mL ácido fosfórico 85 % +  $\text{H}_2\text{O}$  para 1000 mL) foram adicionados ao meio de reação. Após leve agitação realizou-se leitura da reação em espectrofotômetro Evolution 300 UV-VIS, a 595 nm. A concentração de proteínas totais foi obtida pela comparação das leituras, com as obtidas em curva padrão onde a proteína utilizada foi a

Albumina Sérica Bovina (BSA 0 – 15  $\mu\text{g. } \mu\text{L}^{-1}$ ). A concentração de proteínas solúveis foi expressa em mg de proteína.  $\text{g}^{-1}$  MF (matéria fresca).

A análise da atividade da CAT foi determinada segundo a metodologia proposta por Peixoto et al., (1999), com modificações. Para tanto, adicionou-se 200  $\mu\text{L}$  do extrato enzimático em 2,8 mL de tampão fosfato de potássio monobásico 50 mM (pH 7,0 + 0,1mM EDTA), para zerar o aparelho. Em seguida, adicionou-se 200  $\mu\text{L}$  do extrato enzimático em 2,8 mL de tampão fosfato contendo 15 mM de Peróxido de Oxigênio (0,5 M). Para cada amostra foram realizadas duas leituras a 240 nm no modo Kinect em espectrofotômetro Evolution 300 UV-VIS, com 8 ciclos de 30 segundos. A atividade enzimática foi determinada pela decomposição do  $\text{H}_2\text{O}_2$  durante 1 min, considerando o coeficiente de extinção molar do  $\text{H}_2\text{O}_2$  de  $36,0 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$  para calcular a atividade da enzima, expressa em  $\text{mmol H}_2\text{O}_2 \text{ mg}^{-1} \text{ proteína min}^{-1}$  (CAT) quando considerado o teor de proteína e em  $\text{mg de proteína. g}^{-1} \text{ MF min}^{-1}$  (CAT MF) quando expressa em massa fresca.

A atividade de APX foi determinada de acordo com o método de Peixoto et al. (1999) com algumas modificações, onde a presença de APX no extrato bruto diminui a concentração de peróxido de hidrogênio do meio, pela redução do ácido ascórbico fornecido. Para tanto, alíquotas de 100  $\mu\text{L}$  dos extratos foram transferidas para tubos de ensaio, adicionando-se 2,8 mL de tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7,0, contendo ácido L-ascórbico 0,5 mM. O experimento foi iniciado pela adição de 100  $\mu\text{L}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  1,0 mM ao meio de reação, observando o decréscimo da leitura no intervalo de 15 segundos, por 2 minutos à absorvância de 290 nm em espectrofotômetro. Adicionalmente, leituras de tubos controles, com e sem a amostra, na ausência de peróxido de hidrogênio, foram realizadas. A atividade da enzima foi calculada usando coeficiente de extinção molar de  $2,8 \text{ mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ . Os valores expressos em unidades de atividade por minuto por miligrama de matéria fresca (MF) ( $\text{UA}.\text{min}^{-1}.\text{mg MF}^{-1}$ ), sendo uma unidade de atividade representada pela quantidade de enzima que catalisa a oxidação de um micromol de ascorbato.

### 3.4.3 Análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições. A análise de variância foi realizada em fatorial 16 tratamentos x 4 lotes, sendo os 16 tratamentos a combinação de temperatura (T) (20, 24, 28 e 32°C) e potenciais hídricos ( $\psi_h$ ) (0,000, -0,075, -0,223 e -0,444 Mpa), com a comparação de médias pelo teste de

Scott-Knott a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico Sisvar® (Ferreira, 2011). A análise de componentes principais (ACP) foi aplicada à matriz original formada pelos dezesseis tratamentos, considerando-se a média dos quatro lotes. Realizou-se a análise de agrupamento hierárquico usando distância Euclidiana e Algoritmo de Ward para identificar a formação de grupos entre os tratamentos, utilizou-se o software estatístico XLStat para realizar as análises.

## **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1 Germinação sob diferentes potenciais hídricos e temperaturas supraótimas**

A análise de variância de plântulas normais na primeira contagem do teste de germinação, germinação total, plântulas anormais e sementes mortas do teste de germinação mostraram interação significativa entre os fatores avaliados (Tabela 3). Os coeficientes de variação (CV%) obtidos para plântulas normais na primeira contagem e total foram adequados para esse tipo de experimento, já para plântulas anormais e sementes mortas os valores foram mais altos que os dos testes anteriores, pois se tratavam de dados com valores zero, e que não sofreram transformação (PIMENTEL-GOMES, 2009; SCHIMILDT et al., 2017).

A interação significativa entre as combinações de estresses (térmico e hídrico) e os lotes de sementes para todas as variáveis analisadas, indicaram que os lotes se comportaram de maneira diferente de acordo com a condição de estresse abiótico. Esse comportamento é justificado pela diferença de vigor entre os lotes, observada pelos testes de emergência de plântulas em areia e primeira contagem do teste de germinação, os quais demonstraram que o Lote 1 apresentou menor vigor que os demais, seguido pelo lote 4, e os lotes 2 e 3 com maior vigor (Tabela 1).

Destaca-se que lotes com vigor distintos podem apresentar respostas diversas em relação às condições ambientais a que são submetidos, como pode ser observado no trabalho de Silva et al. (2011) que ao analisarem a influência do estresse hídrico em sementes de cenoura de lotes distintos constataram que houve diferença entre os lotes de sementes, destacando que sementes mais vigorosas são menos afetadas pelo estresse.

**Tabela 3.** Resultados das análises de variância de quatro lotes de sementes de trigo submetidas aos tratamentos com diferentes combinações de temperaturas (T) (20, 24, 28 e 32 °C) e potenciais hídricos ( $\psi_h$ ) (0,000, -0,075, -0,223 e -0,444 Mpa).

<b>Primeira Contagem do Teste de Germinação (%)</b>					
<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>FC</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>
<b>LOTE</b>	3	6494,67	2164,89	67,57	0,00
<b>TRAT</b>	15	180649,28	12043,28	375,88	0,00
<b>LOTE*TRAT</b>	45	6851,27	152,25	4,72	0,00
<b>Erro</b>	192	6151,75	32,04		
<b>Total corrigido</b>	255	2000146,96			
<b>CV (%) =</b>	7,17				
<b>Média geral:</b>	78,99	Número de observações:		256	
<b>Germinação Total (%)</b>					
<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>FC</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>
<b>LOTE</b>	3	5260,07	1753,36	89,86	0,00
<b>TRAT</b>	15	27690,84	1846,06	94,61	0,00
<b>LOTE*TRAT</b>	45	5357,24	119,05	6,10	0,00
<b>Erro</b>	192	3746,25	19,51		
<b>Total corrigido</b>	255				
<b>CV (%) =</b>	4,95				
<b>Média geral:</b>	89,27	Número de observações:		256	
<b>Plântulas Anormais (%)</b>					
<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>FC</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>
<b>LOTE</b>	3	2649,89	883,30	58,60	0,00
<b>TRAT</b>	15	18019,61	1201,31	80,24	0,00
<b>LOTE*TRAT</b>	45	3320,73	73,79	4,30	0,00
<b>Erro</b>	192	2874,50	14,97		
<b>Total corrigido</b>	255				
<b>CV (%) =</b>	48,79				
<b>Média geral:</b>	7,93	Número de observações:		256	
<b>Sementes Mortas (%)</b>					
<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>FC</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>
<b>LOTE</b>	3	674,10	224,70	38,46	0,00
<b>TRAT</b>	15	1459,40	97,29	16,65	0,00
<b>LOTE*TRAT</b>	45	893,58	19,86	3,40	0,00
<b>Erro</b>	192	1121,75	5,84		
<b>Total corrigido</b>	255	4148,84			
<b>CV (%) =</b>	86,3				
<b>Média geral:</b>	2,8	Número de observações:		256	

Significativo em nível de 5% de significância pelo teste F a o valor de  $p < 0,05$ ; TRAT= tratamento; FV= fontes de variação; GL= graus de liberdade; QS= soma dos quadrantes; QM= quadrantes médios; FC=???; p= valor-p; CV= coeficiente de variação.

Em relação a germinação total (Tabela 4), verificou-se que para os tratamentos de temperatura isolados, ou seja, sem estresse hídrico, não houve redução da germinação até a temperatura de 28 °C para todos os lotes. A partir de 32 °C somente os lotes de maior

vigor, lotes 2 e 3, mantiveram a mesma taxa de germinação que a 20 °C, que é a temperatura padrão para o teste de germinação da espécie (BRASIL, 2009).

Já quando se observa o efeito isolado do estresse hídrico, ou seja, somente temperatura de 20 °C verificou-se para os lotes 1, 2 e 3 que não houve diminuição na germinação até -0,223 Mpa, e para o lote 4 até -0,075 Mpa, sendo que o potencial hídrico de -0,444 Mpa foi limitante para todos os lotes.

Entre os tratamentos de estresse combinado não houve redução na germinação na temperatura de 24 e 28 °C no potencial -0,075 Mpa para todos os lotes, e no potencial -0,223 Mpa para os lotes 1, 2 e 3.

A germinação foi reduzida para todos os lotes sob ambos estresses quando submetidos aos extremos ((T) 32 °C) e potenciais hídricos (( $\psi_h$ ) -0,444 Mpa), e sua combinação resultou em efeitos ainda mais prejudiciais. Os efeitos combinados desses dois estresses foram geralmente aditivos, sendo possível afirmar que essa combinação afeta negativamente o processo germinativo das sementes de trigo.

**Tabela 4.** Germinação (%) de sementes de quatro lotes de sementes de trigo submetidas aos tratamentos com diferentes combinações de temperaturas (T) (20, 24, 28 e 32 °C) e potenciais hídricos ( $\psi_h$ ) (0,000, -0,075, -0,223 e -0,444 Mpa).

Tratamentos (T/ $\psi_h$ )	Lotes			
	L1	L2	L3	L4
20 /0,00	96,5 Aa*	99,5 Aa	97,5 Aa	97,0 Aa
24 /0,00	95,5 Aa	99,5 Aa	99,5 Aa	94,5 Aa
28 /0,00	91,0 Ab	98,0 Aa	97,5 Aa	91,5 Ab
32 /0,00	83,8 Bb	97,5 Aa	96,0 Aa	86,0 Bb
20 /-0,075	94,5 Aa	98,5 Aa	96,0 Aa	94,0 Aa
24 /-0,075	92,0 Aa	98,5 Aa	95,0 Aa	95,5 Aa
28 /-0,075	91,5 Ab	98,5 Aa	98,5 Aa	93,5 Ab
32 /-0,075	82,5 Bb	94,5 Ba	92,0 Ba	86,0 Bb
20 /-0,223	89,5 Ab	97,5 Aa	98,0 Aa	89,5 Bb
24 /-0,223	88,0 Ab	96,0 Aa	96,5 Aa	85,0 Bb
28 /-0,223	93,5 Aa	95,5 Aa	98,5 Aa	88,5 Bb
32 /-0,223	91,5 Aa	94,0 Ba	92,5 Ba	76,8 Cb
20 /-0,444	86,5 Ba	87,0 Ca	83,0 Da	78,0 Cb
24 /-0,444	78,5 Bb	92,0 Ba	91,5 Ba	80,5 Cb
28 /-0,444	81,0 Bb	92,5 Ba	88,0 Ca	70,5 Dc
32 /-0,444	42,0 Cc	60,8 Cb	79,0 Da	30,0 Ed

\*Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas na coluna, e minúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

Nos lotes 1 e 4 a partir do potencial hídrico de 0,000 Mpa, e para todos os lotes a partir de -0,075 Mpa verificou-se redução no total de plântulas normais a 32 °C, demonstrando que essa temperatura pode ser limitante para a germinação de trigo.

Esses resultados estão de acordo com os obtidos por Carvalho, Nakagawa (2012) e Guimarães, Oliveira e Vieira (2006) que afirmam que a temperatura afeta a porcentagem, a velocidade e a uniformidade de germinação, sendo que as temperaturas acima da temperatura ótima reduzem o número de sementes que conseguem completar o processo germinativo. O estresse de alta temperatura pode causar danos graves às proteínas, perturbar sua síntese, inativar enzimas principais e danificar as membranas. O estresse térmico também pode ter efeitos importantes no processo de divisão celular (SMERTENKO et al., 1997). Todos esses danos podem limitar seriamente o crescimento da planta e também favorecer o dano oxidativo.

Esse efeito pode ser explicado, pois o processo de germinação das sementes inicialmente, envolve a absorção água e ativação dos processos bioquímicos, que resultam na retomada do crescimento do embrião (ZIMMER, 2012). Por outro lado, temperaturas altas juntamente com a ausência de água disponível para a sementes reduz a atividade do metabolismo e a velocidade da germinação, causando a diminuição de germinação, aumento de plântulas anormais e sementes mortas em todos os lotes avaliados. Stefanello, Viana, Neves (2017), avaliando a resposta fisiológica de sementes de *S. hispanica* e de linhaça ao estresse hídrico, verificaram redução da porcentagem de plântulas normais e da velocidade de germinação com o decréscimo do potencial hídrico da solução.

Desta forma, a disponibilidade de água é um dos fatores essenciais para desencadear a germinação, uma vez que está envolvida em todas as etapas do metabolismo germinativo, tornando-se um fator limitante à iniciação da germinação de sementes, além do estabelecimento de plântulas no campo, implicando em todas as demais etapas do metabolismo, incluindo reativação do ciclo celular e crescimento (CASTRO, HILHORST, 2000).

A diminuição na germinação das sementes com a diminuição do potencial hídrico e aumento da temperatura teve como consequência aumento das plântulas anormais, assim como de sementes mortas (Tabelas 5 e 6). Tal ocorrência permite evidenciar que temperaturas mais altas aliadas ao estresse hídrico, mesmo não tendo efeito marcante no total de sementes mortas, reduzem a eficiência de formação de uma plântula normal.

**Tabela 5.** Plântulas anormais (%) de quatro lotes de sementes de trigo submetidas aos tratamentos com diferentes combinações de temperaturas (T) (20, 24, 28 e 32 °C) e potenciais hídricos ( $\psi_h$ ) (0,000, -0,075, -0,223 e -0,444 Mpa).

Tratamentos (T/ $\psi_h$ )	Lotes			
	L1	L2	L3	L4
20 /0,00	1,5 Da*	0,5 Da	1,5 Ca	1,5 Ea
24 /0,00	1,5 Da	0,5 Da	0,0 Ca	3,5 Ea
28 /0,00	1,5 Da	1,5 Da	1,5 Ca	6,0 Ea
32 /0,00	8,3 Ca	1,0 Db	4,0 Cb	7,0 Ea
20 /-0,075	3,5 Da	0,5 Da	2,5 Ca	5,0 Ea
24 /-0,075	3,0 Da	1,0 Da	4,5 Ca	2,0 Ea
28 /-0,075	3,5 Da	0,5 Da	0,5 Ca	4,5 Ea
32 /-0,075	10,5 Ca	1,5 Db	4,0 Cb	9,0 Da
20 /-0,223	6,0 Da	2,0 Db	2,0 Cb	9,0 Da
24 /-0,223	8,5 Cb	3,5 Dc	2,5 Cc	14,5 Ca
28 /-0,223	2,0 Db	4,5 Db	1,5 Cb	11,0 Da
32 /-0,223	3,5 Db	5,0 Db	5,5 Cb	21,7 Ba
20 /-0,444	11,5 Cb	13,0 Bb	15,0 Ab	20,5 Ba
24 /-0,444	18,0 Ba	7,5 Cb	7,0 Cb	16,5 Ca
28 /-0,444	13,0 Cb	7,0 Cb	9,5 Bb	25,5 Ba
32 /-0,444	46,0 Aa	33,5 Ab	17,0 Ac	47,5 Aa

\*Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

**Tabela 6.** Sementes mortas (%) de quatro lotes de sementes de trigo submetidas aos tratamentos com diferentes combinações de temperaturas (T) (20, 24, 28 e 32 °C) e potenciais hídricos ( $\psi_h$ ) (0,000, -0,075, -0,223 e -0,444 Mpa).

Tratamentos (T/ $\psi_h$ )	Lotes			
	L1	L2	L3	L4
20 /0,00	2,0 Ca*	0,0 Ba	1,0 Aa	1,5 Ca
24 /0,00	3,0 Ca	0,0 Ba	0,5 Aa	2,0 Ca
28 /0,00	7,5 Ba	0,5 Bb	1,5 Ab	2,5 Cb
32 /0,00	8,0 Ba	1,5 Bb	0,0 Ab	7,0 Ba
20 /-0,075	2,0 Ca	1,0 Ba	1,5 Aa	1,0 Ca
24 /-0,075	5,0 Ca	0,5 Bb	0,5 Ab	2,5 Cb
28 /-0,075	5,0 Ca	1,0 Bb	1,0 Ab	2,0 Cb
32 /-0,075	7,0 Ba	4,00 Aa	4,0 Aa	5,0 Ba
20 /-0,223	4,5 Ca	0,5 Bb	0,0 Ab	1,5 Cb
24 /-0,223	3,5 Ca	0,5 Ba	1,0 Aa	0,5 Ca
28 /-0,223	4,5 Ca	0,0 Bb	0,0 Ab	0,5 Cb
32 /-0,223	5,0 Ca	1,0 Ba	2,0 Aa	1,5 Ca
20 /-0,444	2,0 Ca	0,0 Ba	2,0 Aa	1,5 Ca
24 /-0,444	3,5 Ca	0,5 Ba	1,5 Aa	3,0 Ca
28 /-0,444	6,0 Ca	0,5 Bb	2,5 Ab	4,0 Ba
32 /-0,444	12,0 Ab	5,8 Ac	4,0 Ac	22,5 Aa

\*Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Assim, verificou-se que para todas as temperaturas houve aumento da porcentagem de plântulas anormais com a intensificação do estresse hídrico, demonstrando que apesar das sementes germinarem, ou seja, haver a protrusão das raízes primárias a falta de água acarreta danos irreversíveis no desenvolvimento das plântulas. Quando em menores potenciais hídricos, o estresse reduziu crescimento das plântulas, este fator está atribuído à menor velocidade dos processos fisiológicos e bioquímicos ou pela dificuldade de hidrólise e mobilização das reservas da semente (NUNES et al., 2016).

Na temperatura de 32 °C também houve um incremento na porcentagem de plântulas anormais, as quais apresentaram a raiz primária pouco desenvolvida e / ou com anomalias, epicótilo curto e necrosado. Além dos efeitos observados neste trabalho, as altas temperaturas podem levar à dormência térmica ou até mesmo a perda da viabilidade das sementes através do estresse térmico (VIDAVER, HSIAO, 1975).

Na maioria dos casos, o estresse térmico retarda o desenvolvimento do processo de germinação, podendo suspendê-lo em sementes quiescentes ou para as que já haviam iniciado sua germinação resultando assim em uma maior porcentagem de plântulas anormais, assim como verificado na corrente pesquisa (POLLOCK, ROSS, 1972).

Entre os lotes verificou-se que os de menor vigor, 1 e 4, apresentaram a maior porcentagem de plântulas anormais e sementes mortas, respectivamente, evidenciada principalmente nas combinações de maiores estresses. Dessa forma é possível confirmar que os lotes de menor vigor são mais suscetíveis às alterações das condições ambientais.

Observa-se que de maneira semelhante aos resultados de germinação, para a primeira contagem a porcentagem de plântulas normais decresceu com a diminuição do potencial hídrico e com o aumento de temperatura (Tabela 7).

A primeira contagem do teste de germinação é utilizada para avaliar o vigor dos lotes de sementes pela velocidade de germinação, assim pode-se afirmar que não somente a germinação das sementes (Tabela 4) foi afetada pela combinação de estresses, mas também a velocidade de germinação (Tabela 7).

Assim nos tratamentos de temperatura isolados, ou seja, sem estresse hídrico, não houve redução da velocidade de germinação até a temperatura de 28 °C para todos os lotes. Na temperatura de 32 °C somente os lotes 2 e 3, de maior vigor apresentaram valores semelhantes estatisticamente aos de 20 °C, que é a temperatura padrão para o teste de germinação (BRASIL, 2009).

No efeito isolado do estresse hídrico, ou seja, somente temperatura de 20 °C, vale destacar que no potencial hídrico de -0,444 Mpa nenhum dos lotes apresentaram plântulas



normais na primeira contagem do teste de germinação. Já para a combinação de maiores temperaturas com esse potencial hídrico observou-se germinação. Assim, neste caso é possível afirmar que temperaturas maiores podem amenizar o efeito negativo da falta de água, além disso o potencial hídrico aumenta com a maior temperatura, para uma mesma concentração de PEG 6000 (MICHEL; KAUFMANN, 1973).

**Tabela 7.** Primeira contagem do teste de germinação (%) de quatro lotes de sementes de trigo submetidas aos tratamentos com diferentes combinações de temperatura (T) (20, 24, 28 e 32 °C) e potenciais hídricos ( $\psi_h$ ) (0,000, -0,075, -0,223 e -0,444 Mpa).

Tratamentos (T/ $\psi_h$ )	Lotes			
	L1	L2	L3	L4
20 /0,00	92,0 Aa*	99,0 Aa	97,5 Aa	97,0 Aa
24 /0,00	95,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	92,0 Aa
28 /0,00	91,0 Aa	98,0 Aa	98,0 Aa	92,0 Aa
32 /0,00	76,0 Bc	98,0 Aa	94,0 Aa	85,0 Bb
20 /-0,075	88,0 Ab	97,0 Aa	86,0 Bb	72,0 Cc
24 /-0,075	89,0 Aa	98,0 Aa	95,0 Aa	96,0 Aa
28 /-0,075	92,0 Aa	99,0 Aa	99,0 Aa	94,0 Aa
32 /-0,075	80,0 Bb	95,0 Aa	92,0 Aa	86,0 Bb
20 /-0,223	90,0 Ab	98,0 Aa	98,0 Aa	89,5 Bb
24 /-0,223	88,0 Ab	96,0 Aa	97,0 Aa	85,0 Bb
28 /-0,223	94,0 Aa	96,0 Aa	99,0 Aa	89,0 Ba
32 /-0,223	92,0 Aa	94,0 Aa	93,0 Aa	77,0 Cb
20 /-0,444	0,0 Fa	0,0 Ea	0,0 Da	0,0 Fa
24 /-0,444	41,0 Dc	56,0 Cb	62,0 Ca	52,0 Db
28 /-0,444	66,0 Cb	80,0 Ba	84,0 Ba	54,0 Dc
32 /-0,444	24,5 Ec	34,0 Db	61,5 Ca	15,5 Ed

\*Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na coluna, e minúsculas na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Os menores valores observados na primeira contagem provavelmente não estão relacionados somente a uma menor velocidade de hidratação associada a uma menor disponibilidade de água, mas também a uma temperatura mais baixa, a qual torna a absorção de água mais lenta, limitando/atrasando o processo. Essa limitação ocorreu de forma semelhante em todos os lotes, assim não é uma questão de vigor de lote, mas sim relacionado ao processo físico de hidratação, quebra de reservas e crescimento do embrião.

Esse decréscimo no desempenho fisiológico, observado nas sementes de trigo mantidas na menor temperatura, pode ser explicado pelo fato de que durante o tempo que as sementes foram mantidas sob temperaturas mais amenas, e com a diminuição do

potencial osmótico ocorreu principalmente um aumento no tempo correspondente a fase II do processo de embebição (ZIMMER, 2012). Isso ocorreu, pois, as temperaturas mais amenas podem reduzir a velocidade de conversão das reservas em moléculas absorvíveis pelo embrião (YADAV, 2010). Sendo assim a temperatura de 20 °C exerceu grande influência no processo de absorção, pois houve embebição, porém acarretou atrasos no crescimento do embrião quando associada à deficiência hídrica.

Em contrapartida, com o aumento da temperatura houve elevação da energia da água e aumento a pressão de difusão, aumentando a atividade metabólica e diminuindo o potencial interno da semente, possibilitando maior absorção de água, acelerando o processo germinativo (CASTRO; BRADFORD; HILHORST, 2004). Neste sentido, cabe destacar que, embora os valores de velocidade de germinação de sementes de trigo tenham sido similares até a temperatura de 28 °C, ocorreu diminuição na velocidade de germinação avaliada pela primeira contagem nos lotes 1 e 4 a 32 °C, demonstrando que essa temperatura também afetou o comportamento dos lotes de menor vigor.

O desempenho fisiológico de sementes está associado ao poder germinativo sob condições ambientais favoráveis e origem de uma plântula normal, assim como constatou-se neste trabalho que os lotes apresentaram comportamentos diferentes em resposta aos estresses isolados ou combinados. Desta forma lotes de menor vigor expressam desempenho inferior em condições de estresse isolado e comportamento ainda mais limitante quando em condições de estresses abióticos combinados. A capacidade das sementes de germinarem sob condições adversas é definida como vigor. Desta forma, a influência do vigor torna-se importante sobre todos os aspectos do processo germinativo, desde a velocidade de germinação até a alocação de massa seca nas plântulas (SIMONI et al., 2011). Sementes mais vigorosas possuem maior eficiência na retomada de processos metabólicos que resultam na germinação mais rápida e uniforme (MUNIZZI et al., 2010).

Verificou-se tendência similar entre os resultados de primeira contagem e germinação para todos os tratamentos, para as quais se obteve valores significativamente inferiores somente na temperatura de 32 °C. Segundo Ribeiro, Borghetti (2013) em temperaturas mais elevadas, o processo de germinação de sementes pode ser afetado positivamente, sendo que há um limite máximo para cada espécie.

As temperaturas de 20, 24 e 28 °C proporcionaram valores de germinação acima de 85%, até o potencial hídrico de -0,223 Mpa. De uma maneira geral essas temperaturas favoreceram as maiores médias de germinação para todos os lotes.

A partir da avaliação geral dos resultados obtidos verificou-se que o aumento da temperatura de 20 até 28 °C e aumentou a porcentagem de plântulas normais no teste de germinação, tanto na primeira contagem e quanto no resultado final.

Os resultados de outros experimentos de déficit hídrico em diversas culturas corroboram com os obtidos neste trabalho, os quais indicam que o estresse hídrico além de afetar a embebição, a velocidade e a porcentagem de germinação, prejudicam o desenvolvimento germinativo das sementes e vigor de plântulas, causado pela diminuição da expansão celular (BRACCINI et al., 1996; DHANDA; SETHI; BEHL, 2004; SADEGHIAN; YAVARI, 2004; TEXEIRA et al., 2008; GIROTTO et al., 2012; TAIZ, ZEIGER, 2017). A água atua como agente estimulador e controlador, pois, além de promover o amolecimento do tegumento, favorece a penetração do oxigênio, proporcionando o desenvolvimento do embrião e dos tecidos de reserva, estimulando as atividades metabólicas básicas, favorecendo o crescimento do eixo embrionário (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012; GUEDES et al., 2013; MARCOS-FILHO, 2015).

A redução da germinação quando as sementes foram submetidas aos potenciais mais negativos, também pode ser explicada pelo fato de que para germinar, as sementes devem atingir um valor mínimo de umidade, que é muito variável entre as espécies e demora mais para ser atingido quando o potencial hídrico do substrato é baixo (BRADFORD, 1995). Além disso o estresse hídrico atrasa a germinação, pois reduz o fluxo de água para a célula, até o ponto extremo no qual a difusão de água através do simplasto interrompe o processo, implicando na redução da velocidade de germinação e redução na porcentagem de plântulas germinadas (SOUZA; CARDOSO, 2000, PATADE, BHARGAVA, SUPRASANNA, 2011). Dessa forma, potenciais hídricos mais negativos (-0,444 Mpa), especialmente no início da embebição, influenciam a absorção de água pelas sementes inviabilizando a sequência de eventos e ainda, retardam e diminuem a porcentagem e a velocidade de germinação (BANSAL, BHATI, SEM, 1980; GUEDES et al., 2013).

Como evidenciado neste estudo, à medida que o estresse hídrico se intensifica, a velocidade com que as sementes absorvem água do meio diminui. Desta forma a deficiência hídrica geralmente é considerada o fator limitante da germinação de sementes não dormentes, afetando a porcentagem, a velocidade e a uniformidade do processo (MARCOS-FILHO, 2015). A velocidade de germinação é vital para a sobrevivência e desenvolvimento das espécies (SILVA, MEDEIROS FILHO, 2006), assim sementes que

germinam mais rápido, estarão menos expostas a condições adversas, assegurando um melhor estabelecimento da cultura (SECCO et al., 2010).

#### 4.2 Análises bioquímicas nas plântulas normais em condições de estresses abióticos

Os coeficientes de variação (CV%) obtidos variaram de 14,63% até 22,03% (Tabela 8), indicando adequada precisão experimental, uma vez que os valores encontrados ficaram abaixo de 30% (PIMENTEL-GOMES, 2009; SCHIMILDT et al., 2017).

**Tabela 8.** Resumo das análises de variância das características bioquímicas avaliadas nas plântulas normais dos quatros lotes de sementes de trigo submetidas à diferentes combinações de temperaturas (T) (20, 24, 28 e 32°C) e potenciais hídricos ( $\psi_h$ ) (0,000, -0,075, -0,223 e -0,444 Mpa).

<b>Teor de Proteína aérea (mg de proteína. g<sup>-1</sup> MF)</b>					
<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>FC</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>
<b>LOTE</b>	3	6413,00	12,14	12,445	0,00
<b>TRAT</b>	15	54389,00	3,63	21,110	0,00
<b>LOTE*TRAT</b>	45	65006,00	1,44	8,411	0,00
<b>erro</b>	192	32978,00	0,17		
<b>Total corrigido</b>	255	18,79			
<b>CV (%) =</b>	15,72				
<b>Média geral:</b>	26,37	Número de observações:		256	
<b>Teor de Proteína raiz (mg de proteína. g<sup>-1</sup> MF)</b>					
<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>FC</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>
<b>LOTE</b>	3	2,68	0,89	67,96	0,00
<b>TRAT</b>	15	2,76	0,18	13,99	0,00
<b>LOTE*TRAT</b>	45	7,50	0,17	13,67	0,00
<b>erro</b>	192	2,53	0,01		
<b>Total corrigido</b>	255	15,47			
<b>CV (%) =</b>	14,63				
<b>Média geral:</b>	0,78	Número de observações:		256	
<b>Catalase parte aérea (mmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> mg<sup>-1</sup> proteína min<sup>-1</sup>)</b>					
<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>FC</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>
<b>LOTE</b>	3	0,00	0,00	1,85	0,14
<b>TRAT</b>	15	0,16	0,01	20,83	0,00
<b>LOTE*TRAT</b>	45	0,23	0,01	9,84	0,00
<b>erro</b>	192	0,10	0,00		
<b>Total corrigido</b>	255	0,49			
<b>CV (%) =</b>	15,63				
<b>Média geral:</b>	0,14	Número de observações:		256	
<b>Catalase raiz (mmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> mg<sup>-1</sup> proteína min<sup>-1</sup>)</b>					
<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>FC</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>
<b>LOTE</b>	3	0,06	0,02	41,62	0,00
<b>TRAT</b>	15	0,21	0,01	30,98	0,00
<b>LOTE*TRAT</b>	45	0,40	0,01	19,37	0,00
<b>erro</b>	192	0,09	0,00		
<b>Total corrigido</b>	255	0,75			

CV (%) =	26,19	Número de observações:	256
Média geral:	0,08		
<b>Ascorbato Peroxidase aérea (UA.min<sup>-1</sup>.mg MF<sup>-1</sup>)</b>			
<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>
<b>FC</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>		
LOTE	3	395,62	131,87
TRAT	15	3245,08	216,34
LOTE*TRAT	45	1155,08	25,67
erro	192	830,56	4,33
<b>Total corrigido</b>	<b>255</b>	<b>5626,35</b>	
CV (%) =	17,63	Número de observações:	256
Média geral:	11,80		
<b>Ascorbato Peroxidase raiz (UA.min<sup>-1</sup>.mg MF<sup>-1</sup>)</b>			
<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>
<b>FC</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>		
LOTE	3	79,19	26,40
TRAT	15	1153,72	76,92
LOTE*TRAT	45	849,79	18,88
erro	192	799,12	4,16
<b>Total corrigido</b>	<b>255</b>	<b>2881,83</b>	
CV (%) =	22,03	Número de observações:	256
Média geral:	9,26		

Significativo em nível de 5% de significância pelo teste F a o valor de  $p < 0,05$ ; TRAT= tratamento; FV= fontes de variação; GL= graus de liberdade; QS= soma dos quadrantes; QM= quadrantes médios; FC=???; p= valor-p; CV= coeficiente de variação.

Observou-se interação significativa entre as combinações de estresses e lotes, para todas as análises bioquímicas. As médias da interação tanto para os teores de proteínas da parte aérea quanto da radicular estão apresentados na Tabela 9.

**Tabela 9.** Teores de proteína total (mg de proteína. g<sup>-1</sup> MF) da parte aérea e radicular de plântulas de trigo de quatro lotes sob diferentes combinações de temperatura (T) (20, 24, 28 e 32°C) e potenciais hídricos ( $\psi_h$ ) (0,000, -0,075, -0,223 e -0,444 Mpa).

Tratamento (T/ $\psi_h$ )	Parte Aérea				Parte Radicular			
	L1	L2	L3	L4	L1	L2	L3	L4
	<b>Teor de Proteína</b>							
20 /0,00	1,39 Db	2,16 Da	2,34 Ea	2,43 Ba	0,88 Ca	0,64 Cb	0,85 Aa	0,86 Ca
24 /0,00	2,48 Ba	2,53 Da	1,59 Fb	2,18 Ca	1,23 Aa	0,23 Dd	0,65 Bc	1,05 Bb
28 /0,00	3,17 Aa	2,87 Ca	2,14 Eb	2,83 Aa	0,61 Db	0,82 Ba	0,69 Bb	0,58 Db
32 /0,00	2,22 Cb	2,43 Db	2,95 Da	1,98 Cb	0,53 Dc	0,77 Bb	0,75 Bb	0,93 Ca
20 /-0,075	3,13 Aa	2,21 Db	2,71 Da	2,61 Ba	0,76 Ca	0,50 Cb	0,61 Bb	0,85 Ca
24 /-0,075	2,29 Ba	1,47 Eb	2,48 Ea	1,54 Cb	0,67 Da	0,62 Ca	0,63 Ba	0,72 Da
28 /-0,075	1,68 Dc	3,36 Cb	4,74 Aa	2,80 Ab	0,84 Ca	0,56 Cb	0,59 Bb	0,83 Ca
32 /-0,075	2,16 Cb	3,00 Ca	2,25 Eb	2,22 Cb	1,00 Ba	0,79 Ba	0,90 Aa	0,91 Ca
20 /-0,223	2,86 Ab	3,12 Cb	3,80 Ba	3,38 Aa	0,79 Cb	0,76 Bb	0,76 Bb	1,01 Ba
24 /-0,223	2,72 Ba	1,77 Eb	1,72 Fb	2,59 Ba	0,39 Ec	0,36 Dc	0,76 Bb	0,93 Ca
28 /-0,223	2,60 Bc	4,61 Aa	3,25 Cb	2,56 Bc	1,00 Ba	1,00 Aa	0,92 Aa	0,74 Db
32 /-0,223	1,80 Db	3,15 Ca	2,56 Ea	2,59 Ba	0,60 Dc	0,47 Cc	0,92 Ab	1,33 Aa
20 /-0,444	2,92 Aa	3,54 Ca	2,91 Da	3,19 Aa	0,78 Ca	0,39 Db	0,95 Aa	0,90 Ca
24 /-0,444	2,34 Bb	2,92 Ca	1,34 Fc	2,08 Cb	0,55 Dc	0,77 Bb	0,74 Bb	1,19 Aa
28 /-0,444	2,41 Bc	3,97 Ba	3,94 Ba	3,24 Ab	0,25 Ec	0,84 Bb	1,00 Aa	1,08 Ba
32 /-0,444	2,49 Bb	2,58 Db	2,13 Eb	3,30 Aa	0,98 Bc	1,07 Ab	0,92 Ac	1,15 Aa

\*Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na coluna, e minúsculas na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Os teores de proteína não apresentaram um padrão nos valores de acordo com o aumento das temperaturas e/ou diminuição dos potenciais hídricos. Assim para essa variável não foi observado um comportamento dos lotes de sementes semelhante ao verificado nos testes de germinação.

Esperava-se que ocorresse uma possível relação entre esses resultados com os observados na primeira contagem do teste de germinação (Tabela 7). Isso seria relevante, pois durante o processo de germinação as proteínas de reserva são consumidas, sendo utilizadas como fonte de energia para o desenvolvimento da plântula (PONTES et al., 2002). As proteínas de reserva podem suprir os aminoácidos, produzir substâncias de substratos respiráveis ou participar de outros processos (LABOURIAU, 1983; FERREIRA; BORGHETTI, 2004), ou seja, esperava-se que o teor de proteína das plântulas fosse menor nos tratamentos que ocorreram maior porcentagem de germinação na primeira contagem, pelo consumo das proteínas de reserva.

Isto não foi observado nesse trabalho, e um dos motivos é que de acordo com Teixeira et al. (2011) a mobilização de reserva é completamente alterada em potenciais hídricos negativos, pois a baixa disponibilidade de água afeta a translocação de produtos metabolizados no escutelo para o embrião, conseqüentemente mudando a forma como ocorre a germinação. Portanto, as diferenças que ocorreram na degradação das reservas em cada potencial hídrico podem ter causado alterações no desenvolvimento embrionário.

Além de reserva para o embrião, as proteínas têm a função de proteção das estruturas celulares e subcelulares contra danos oxidativos. Assim, como não foi verificado um padrão de resposta de aumento ou diminuição no teor de proteína de acordo com o tratamento e/ou lote utilizado, pode-se afirmar que uma das causas desses resultados é que nas células existe um complexo sistema de proteínas que coopera entre si, sendo que há diversas proteínas envolvidas no processo de proteção aos diferentes estresses bióticos e abióticos.

Embora não tenha sido realizadas análises específicas para determinar qual tipo ou determinada proteína tenha uma função específica na resistência à seca ou estresse térmico, teor de proteínas relacionadas com antioxidantes muda significativamente em ambos os tipos e quantidades durante o processo de estresse. Assim, pode-se verificar que durante os tratamentos de estresse hídrico e térmico, o teor de proteínas foi diferente de quando não se tem o estresse individual ou combinado. Alguns níveis de expressão de proteínas são aumentados, enquanto outras são diminuídas.

Em sementes de *Smellmelon* (*Cucumis melo* var. *dudaim* Naud.) (SOHRABIKERTABAD et al., 2013), meloeiro (*C. melo* L.) (SHARMA et al., 2014; MEDEIROS, 2018), *A. polyneuron* (RODRIGUES et al., 2019), a germinação das sementes decresceu à medida que o potencial hídrico diminuiu, suportando os potenciais de até -0,4 Mpa. Em sementes de *Brassica napus* L., Ávila et al. (2007) encontraram redução significativa na germinação e no número de plântulas normais, quando as sementes foram submetidas a potenciais osmóticos inferiores a -1,0 Mpa, atribuindo esta diminuição à redução da atividade enzimática e, conseqüentemente, do menor desenvolvimento meristemático.

Catão et al., (2014) observaram que a temperatura, durante o processo de embebição, alterou a expressão das proteínas tolerantes ao calor em *Lactuca sativa*, apresentando assim grande variação no balanço de proteínas sintetizadas na tolerância ao estresse. O teor de proteína está relacionado à qualidade fisiológica da semente. Sementes expostas a tensões ambientais podem sofrer deterioração e, portanto, apresentam uma diminuição nos níveis de proteína (HENNING et al., 2010). Da mesma forma, os trabalhos realizados em folhas de *Lathyrus odoratus* demonstraram que algumas proteínas desapareceram e outras não foram expressas no controle do estresse (LI, 2010), corroborando com este trabalho.

De forma diferente ao observado neste trabalho, Cavalcanti et al. (2004) observaram que sob condições de estresse, a síntese de proteínas pode aumentar, tendo em vista à estabilização das membranas celulares, ou ainda como uma forma de sinalização atribuída ao estímulo do estresse. Já Blumenthal et al. (1994) e Xu, Zhan e Huang (2011) observaram que quando o trigo é submetido ao estresse térmico ocorre redução na síntese de proteínas, influenciando a inibição e degradação das mesmas, no entanto algumas proteínas, denominadas de HSPs (proteínas de choque térmico), são induzidas, melhorando muitas vezes o desempenho quando expostas as altas temperaturas. Essas proteínas, juntamente com seus fatores de transcrição de choque térmico (HSFs), estão envolvidas em mecanismos moleculares de tolerância a altas temperaturas.

Observa-se as médias da interação entre as combinações de estresses (térmico e hídrico) e os lotes de sementes para a enzima catalase tanto da parte aérea quanto radicular de plântulas de trigo (Tabela 10).

**Tabela 10.** Atividade da enzima catalase (CAT) ( $\text{mmol H}_2\text{O}_2 \text{ mg}^{-1} \text{ proteína min}^{-1}$ ) de plântulas de trigo (parte aérea e radicular) de quatro lotes de sementes germinados sob diferentes combinações de temperaturas (T) (20, 24, 28 e 32 °C) e potenciais hídricos ( $\psi_h$ ) (0,000, -0,075, -0,223 e -0,444 Mpa).

Tratamento (T/ $\psi_h$ )	Parte Aérea				Parte Radicular			
	L1	L2	L3	L4	L1	L2	L3	L4
<b>Catalase</b>								
<b>20 /0,00</b>	0,12 Da	0,10 Ca	0,12 Ca	0,10 Ba	0,05 Ea	0,07 Da	0,06 Ba	0,07 Aa
<b>24 /0,00</b>	0,06 Fb	0,15 Bb	0,20 Aa	0,17 Ab	0,31 Aa	0,28 Aa	0,07 Bb	0,06 Bb
<b>28 /0,00</b>	0,13 Db	0,14 Bb	0,21 Aa	0,15 Ab	0,06 Eb	0,07 Db	0,11 Aa	0,07 Ab
<b>32 /0,00</b>	0,19 Ba	0,17 Aa	0,11 Cb	0,18 Aa	0,09 Ea	0,05 Ea	0,07 Ba	0,06 Ba
<b>20 /-0,075</b>	0,10 Eb	0,18 Aa	0,09 Db	0,08 Cb	0,06 Eb	0,12 Ca	0,07 Bb	0,05 Bb
<b>24 /-0,075</b>	0,16 Ca	0,19 Aa	0,17 Ba	0,16 Aa	0,08 Ea	0,07 Da	0,06 Ba	0,06 Ba
<b>28 /-0,075</b>	0,22 Aa	0,10 Bc	0,09 Dd	0,17 Ab	0,06 Eb	0,06 Db	0,10 Aa	0,07 Ab
<b>32 /-0,075</b>	0,18 Ba	0,14 Ba	0,17 Ba	0,17 Aa	0,06 Ea	0,05 Ea	0,08 Ba	0,05 Ba
<b>20 /-0,223</b>	0,07 Fb	0,12 Ca	0,07 Db	0,07 Cb	0,03 Ea	0,07 Da	0,06 Ba	0,07 Aa
<b>24 /-0,223</b>	0,15 Cb	0,20 Aa	0,21 Aa	0,13 Bb	0,12 Db	0,15 Ba	0,09 Ac	0,05 Bd
<b>28 /-0,223</b>	0,13 Db	0,19 Cb	0,14 Cb	0,17 Aa	0,06 Ea	0,03 Eb	0,03 Bb	0,09 Aa
<b>32 /-0,223</b>	0,19 Ba	0,18 Cc	0,16 Bb	0,16 Ab	0,15 Ca	0,10 Cb	0,06 Bc	0,04 Bd
<b>20 /-0,444</b>	0,10 Ea	0,11 Ca	0,12 Ca	0,12 Ba	0,06 Eb	0,13 Ba	0,07 Bb	0,05 Bb
<b>24 /-0,444</b>	0,13 Dc	0,13 Bc	0,28 Aa	0,18 Ab	0,10 Da	0,08 Da	0,10 Aa	0,04 Bb
<b>28 /-0,444</b>	0,15 Ca	0,10 Cb	0,12 Cb	0,18 Ba	0,25 Ba	0,06 Db	0,04 Bb	0,06 Bb
<b>32 /-0,444</b>	0,16 Ca	0,15 Ba	0,17 Ba	0,12 Bb	0,07 Eb	0,04 Eb	0,06 Bb	0,10 Aa

\*Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na coluna, e minúsculas na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

De maneira geral, as plântulas de trigo exibiram aumento da atividade CAT quando expostas aos estresses combinados de restrição hídrica e altas temperatura. Com o aumento do estresse, a formação de EROs é intensificada e sua eliminação deve ocorrer de forma constante para evitar o estresse oxidativo. Desta maneira, a ação sincronizada das enzimas responsáveis pela remoção das EROs confere maior tolerância as plantas sob condições de estresse. A CAT é responsável pela dismutação do  $\text{H}_2\text{O}_2$ , atuando sobre duas moléculas desse substrato (SHARMA et al. 2012). A geração celular do  $\text{H}_2\text{O}_2$  ocorre principalmente nos cloroplastos e mitocôndrias, além dos peroxissomos, principal sítio de localização da CAT.

Assim, para esta enzima a temperatura teve maior influência que o potencial hídrico, já que os maiores valores estão nas temperaturas de 28 e 32 °C, indicando que o aumento da temperatura foi responsável pela ativação das enzimas CAT. Resultados diferentes foram observados por Zandalinas et al., (2017), onde os estresses individuais e combinados induziram os mecanismos de desintoxicação EROs, a seca resultou na indução da catalase (CAT), o estresse térmico induziu APX. Isto é, tanto a temperatura



quanto o potencial hídrico tiveram efeitos significativos na indução da CAT, porém as plântulas de trigo foram consideravelmente mais sensíveis ao calor.

A redução na atividade da CAT e o aumento nas atividades das peroxidases indicam que, em plantas mantidas sob condições de estresse, o  $H_2O_2$  gerado é mais consumido em processos oxidativos, como na peroxidação de lipídios, do que eliminado do metabolismo (CAKMAK; HORST, 1991). A relação entre redução na atividade das enzimas antioxidantes e consequente maior peroxidação também foi observada por Panda, Khan (2009) em *Vigna radiata* sob estresse salino.

As enzimas antioxidantes são fortemente reguladas positivamente em resposta ao estresse (MHAMDI, NOCTOR, BAKER, 2012). Apesar dos registros de maior ativação da CAT em condições de estresse (ABOGADALLAH, SERAG, QUICK, 2010; BARAKAT et al. 2013), há também evidências de uma regulação negativa pelo aumento da intensidade do estresse ou a manutenção da atividade sem alteração significativa (MHAMDI, NOCTOR, BAKER, 2012; HUANG et al. 2014), como registrado neste trabalho para os tratamentos 32/-0,444.

Entre os quatro lotes de trigo estudados, foi observado comportamento distinto na atividade da APX (Tabela 11) e CAT (Tabela 10). A atividade da CAT, foi mais evidente na parte aérea nos tratamentos de 32 /0,00, 32 /-0,075, 32 /-0,223 e 32 /-0,444, onde foram observados os maiores valores, em geral, a CAT foi inferior a APX, o que é justificado pela sua menor afinidade pelo  $H_2O_2$ , tendo assim, a APX sido mais eficaz na sua remoção. A capacidade de manutenção, em níveis elevados, da atividade da APX e CAT, sob condições de estresses ambientais, é essencial para a manutenção do equilíbrio entre a formação e a remoção do  $H_2O_2$  do ambiente intracelular (ZHANG, KIRKHAM, 1996, ZHANG et al., 2017).

De maneira geral, os resultados mostram que empotenciais hídricos mais negativos houve significativo aumento na atividade da enzima antioxidante APX. Comparativamente a esta resposta, observa-se um aumento similar dentre todos os tratamentos, onde independentemente do aumento da temperatura, os valores demonstram crescimento com a diminuição do potencial hídrico. Geralmente, como consequência desse estresse oxidativo, os tecidos danificados apresentam aumento na atividade dos seus sistemas antioxidantes, como, por exemplo, a indução das enzimas CAT e APX (KILIC; KAHRAMAN, 2016).

**Tabela 11.** Atividade da enzima ascorbato peroxidase (APX) ( $\text{UA}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg MF}^{-1}$ ) de plântulas de trigo (parte aérea e radicular) de quatro lotes de sementes germinados sob diferentes combinações de temperaturas (T) (20, 24, 28 e 32 °C) e potenciais hídricos ( $\psi_h$ ) (0,000, -0,075, -0,223 e -0,444 Mpa).

Tratamento (T/ $\psi_h$ )	Parte Aérea				Parte Radicular			
	L1	L2	L3	L4	L1	L2	L3	L4
<b>Ascorbato Peroxidase</b>								
<b>20 /0,00</b>	4,45 Db*	3,52 Db	4,20 Db	7,47 Da	8,58 Ba	9,11 Ca	6,68 Ba	9,5 Ba
<b>24 /0,00</b>	9,28 Ba	10,9 Ba	5,78 Db	8,8 Da	5,68 Ca	5,09 Da	6,85 Ba	7,50 Ba
<b>28 /0,00</b>	6,60 Cc	15,4 Ab	14,8 Bb	21,1 Aa	3,82 Cc	14,7 Aa	4,37 Cc	9,3 Bb
<b>32 /0,00</b>	9,49 Ba	9,23 Ba	10,8 Ca	8,64 Da	8,38 Bb	8,38 Cb	12,1 Aa	12,3 Aa
<b>20 /-0,075</b>	4,35 Da	6,43 Ca	5,05 Da	6,13 Da	7,35 Ba	7,32 Ca	6,87 Ba	7,67 Ba
<b>24 /-0,075</b>	11,1 Ba	9,04 Ba	9,60 Ca	12,3 Ca	6,10 Ca	2,41 Da	4,08 Ca	5,15 Ba
<b>28 /-0,075</b>	9,92 Bb	14,0 Aa	14,1 Ba	14,0 Ba	8,01 Bb	12,9 Aa	6,86 Bb	8,38 Bb
<b>32 /-0,075</b>	13,1 Aa	12,2 Aa	9,05 Cb	13,3 Ca	12,2 Aa	9,84 Bb	14,4 Aa	10,6 Ab
<b>20 /-0,223</b>	7,70 Ca	7,21 Ca	8,11 Ca	9,70 Da	9,15 Ba	9,85 Ba	10,6 Aa	11,9 Aa
<b>24 /-0,223</b>	13,0 Ab	9,21 Bc	8,96 Cc	17,2 Ba	6,33 Cb	7,81 Cb	3,82 Cc	11,8 Aa
<b>28 /-0,223</b>	11,0 Bc	16,3 Ab	20,8 Aa	20,1 Aa	13,1 Ab	15,1 Aa	10,9 Ab	11,9 Ab
<b>32 /-0,223</b>	15,8 Aa	14,8 Aa	14,8 Ba	15,6 Ba	9,67 Ba	10,3 Ba	8,51 Ba	10,8 Aa
<b>20 /-0,444</b>	15,1 Ba	12,0 Ab	9,51 Cb	15,1 Ba	12,5 Aa	7,85 Cb	9,65 Ab	8,98 Bb
<b>24 /-0,444</b>	11,9 Bb	17,2 Aa	11,1 Cb	12,6 Cb	6,66 Cb	11,1 Ba	12,1 Aa	10,6 Aa
<b>28 /-0,444</b>	14,0 Ab	14,1 Ab	18,9 Aa	21,5 Aa	9,05 Ba	10,4 Ba	10,8 Aa	11,9 Aa
<b>32 /-0,444</b>	10,4 Bb	13,2 Ab	16,5 Ba	15,8 Ba	12,2 Aa	8,89 Cb	12,50 Aa	12,8 Aa

\*Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na coluna, e minúsculas na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

A sinalização através do acúmulo de  $\text{H}_2\text{O}_2$  está relacionada de forma intrínseca com a atividade das enzimas APX e CAT, sendo que a APX, devido a sua alta afinidade ao  $\text{H}_2\text{O}_2$ , reage a alterações muito pequenas nas concentrações deste, sendo responsável pela regulação fina do sinal, enquanto que a atividade da CAT é induzida em concentrações mais altas de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Estes resultados sugerem que as plântulas apresentaram sinais nítidos de estresse oxidativo, assim como uma forma de remoção de qualquer concentração de  $\text{H}_2\text{O}_2$  acima de um limiar normal pode gerar resposta de ativação destas enzimas (MITTLER, 2002).

Nas condições combinadas de estresse, ao mesmo tempo em que ocorreu aumento na concentração de  $\text{H}_2\text{O}_2$  houve aumento da atividade das enzimas APX e CAT, mostrando que neste período o  $\text{H}_2\text{O}_2$  agiu como um sinalizador da atividade destas enzimas. Assim, respostas bioquímicas são geradas em razão da diminuição da fluidez das membranas, tais como: interferência nas funções das proteínas, redução do suprimento de energia, perda de compartimentalização, liberação acentuada de íons e outros eventos que rompem o metabolismo normal e levam ao desequilíbrio e perda das funções essenciais (AZIZ; LARHER, 1998).

De forma semelhante Lima, Broetto, Brasil (1998) observaram aumento de CAT e outra peroxidases em calos de arroz submetidos a estresse salino, e concluíram que esta enzima poderia ser usada como parâmetro para identificação de estresse fisiológico, bem como o aumento de atividade da enzima pode estar associado à habilidade de certos genótipos em degradar substâncias tóxicas como radicais livres (peróxidos), fenóis e outros liberados em condições de estresse.

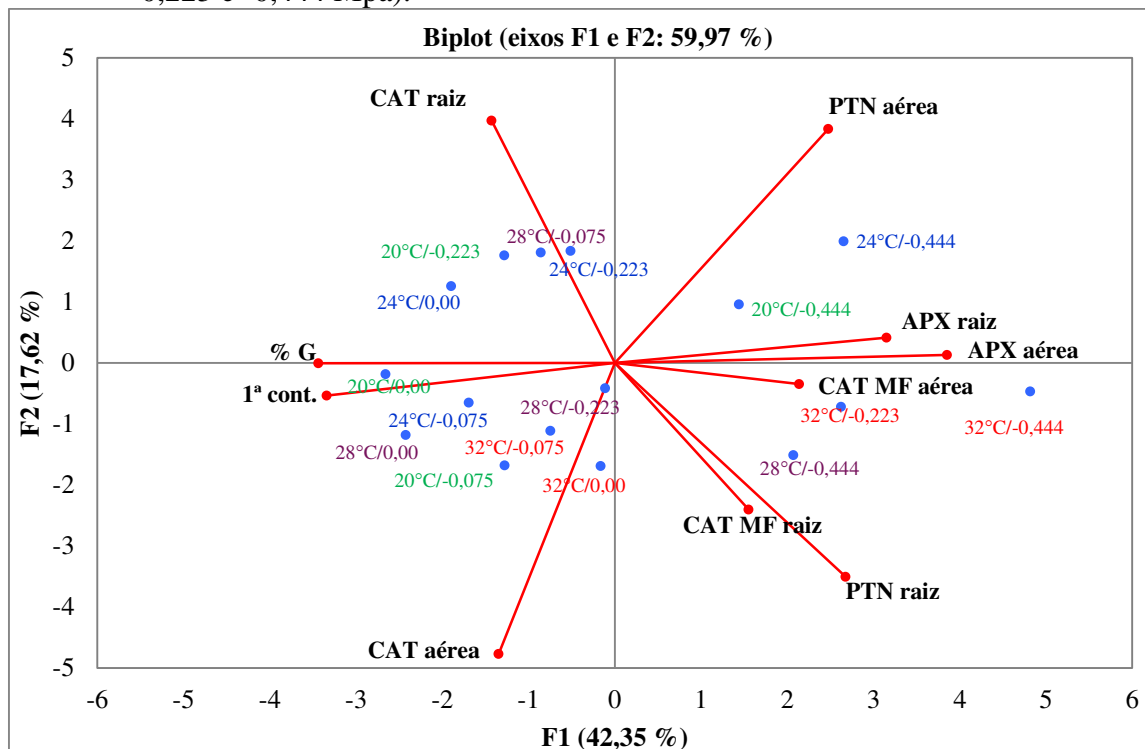
Um dos agravantes dos estresses combinados é o aumento na geração de EROs, que podem ocasionar um estresse oxidativo secundário, quando o sistema de defesa não é eficientemente ativado, pode ocorrer danos às membranas celulares decorrentes da peroxidação lipídica (GIL; TUTEJA, 2010). Como observado no presente trabalho, o estresse combinado, aumentou as espécies reativas de oxigênio, detectado através do aumento do APX e CAT.

A análise multivariada de componente principal (ACP) foi aplicada com as médias dos quatro lotes às variáveis germinação (G%), primeira contagem (1ª cont.), catalase aérea com base na massa fresca (CAT MF aérea), catalase da raiz com base na massa fresca (CAT raiz), ascorbato peroxidase aérea (APX aérea), ascorbato peroxidase raiz (APX raiz), teor de proteína total na parte aérea (PTN aérea) e radicular (PTN raiz) para verificar simultaneamente a influência dessas variáveis sobre o efeito do estresse combinado (Figura 2).

Para a análise da ACP utilizaram-se as variações CAT proteína expressa em  $\text{mmol H}_2\text{O}_2 \text{ mg}^{-1} \text{ proteína min}^{-1}$  (CAT) quando considerado o teor de proteína e em  $\text{mg de proteína. g}^{-1} \text{ MF min}^{-1}$  (CAT MF) quando expressa em massa fresca, considerando-se importante retirar do cálculo da catalase o efeito do teor de proteína para assim verificar somente o efeito da atividade da enzima sob a matéria fresca.

A dispersão dos tratamentos foi obtida com os dois primeiros componentes (F1 e F2) que explicaram 59,97% da variância total existente entre eles. A componente principal F1 e a componente principal F2 contribuíram com 42,35% e 17,62%, respectivamente. A componente F1 foi formada por teor de proteína bruta da raiz (0,65), CAT MF aérea (0,52), CAT MF raiz (0,38), APX aérea (0,94), APX raiz (0,77), germinação (-0,83), primeira contagem (-0,81) e propiciou a separação vertical. A componente F2 foi formada por CAT aérea (-0,75) e CAT raiz (0,62) e separaram horizontalmente os tratamentos no biplot.

**Figura 2.** Biplot da análise de componentes principais dos dezesseis tratamentos com a combinação (T) (20, 24, 28 e 32 °C) e potenciais hídricos ( $\psi_h$ ) (0,00, -0,075, -0,223 e -0,444 Mpa).



CAT aérea = Catalase aérea; CAT raiz = Catalase raiz; PTN aérea = Teor de proteína bruta aérea; PTN raiz = Teor de proteína bruta raiz; CAT MF aérea = Catalase da aérea com base na massa fresca; CAT MF raiz = Catalase da raiz com base na massa fresca APX aérea = Ascorbato peroxidase aérea; APX raiz = Ascorbato peroxidase raiz; %G = Porcentagem de germinação; 1ª cont. = Primeira contagem.

A maioria das combinações com as três menores temperaturas e os três menores potenciais hídricos foram alocadas no lado esquerdo do biplot (F1-). Pode-se observar, portanto, que a influência predominante foi com relação aos potenciais hídricos, onde todos os tratamentos de potenciais hídrico de -0,444 Mpa independentemente da temperatura ficaram em um único grupo alocados no lado direito do biplot (F1+), não apresentando uma tendência de comportamentos nestas condições.

Os tratamentos com a temperatura de 20 °C foram em sua maioria alocados no quadrante inferior esquerdo (F1-), pelas maiores porcentagens de germinação, 1ª contagem. Pode-se verificar que nesta temperatura os tratamentos 20 /0,00 e 20 /-0,075 ainda apresentaram maiores teores de CAT aérea (F2-) e menores teores de CAT raiz, indicando uma indução da CAT aérea como forma de evitar danos oxidativos, entretanto a CAT raiz não foi eficiente na remoção de  $H_2O_2$  para estes tratamentos.

Com relação a temperatura de 24 °C a maioria dos tratamentos foram alocados no (F1-) pelas maiores porcentagens de germinação, 1ª contagem semelhantemente aos

tratamentos de 20 °C, porém os tratamentos 24 /0,00 e 20 /-0,223 apresentaram por sua vez os maiores teores de CAT raiz e menores de CAT aérea.

Para a temperatura de 28 °C os tratamentos 28 /0,00 e 28 /-0,223 foram alocados no quadrante inferior esquerdo (F1- e F2-), pelos maiores valores de germinação e 1ª contagem e menores teores de proteína bruta da raiz, e aérea, CAT MF aérea, CAT MF da raiz, APX aérea e raiz.

Para a temperatura de 32 °C foram observados os maiores teores de proteína aérea e de raiz, CAT MF aérea e da raiz, APX aérea e da raiz, com exceção do tratamento 32 /0,00. As demais combinações nas menores temperaturas e no menor potencial hídrico apresentaram o mesmo comportamento que a 32/0,00, o que nos sugere que o potencial hídrico tem um efeito mais acentuado sobre a resistência das sementes ao estresse, porém se empregada a maior temperatura o dano a semente já se inicia a partir do potencial hídrico de -0,223 Mpa. Para uma definição mais precisa dos grupos formados pelos comportamentos frente ao estresse hídrico e térmico uma análise de agrupamento hierárquico foi aplicada (Figura 3).

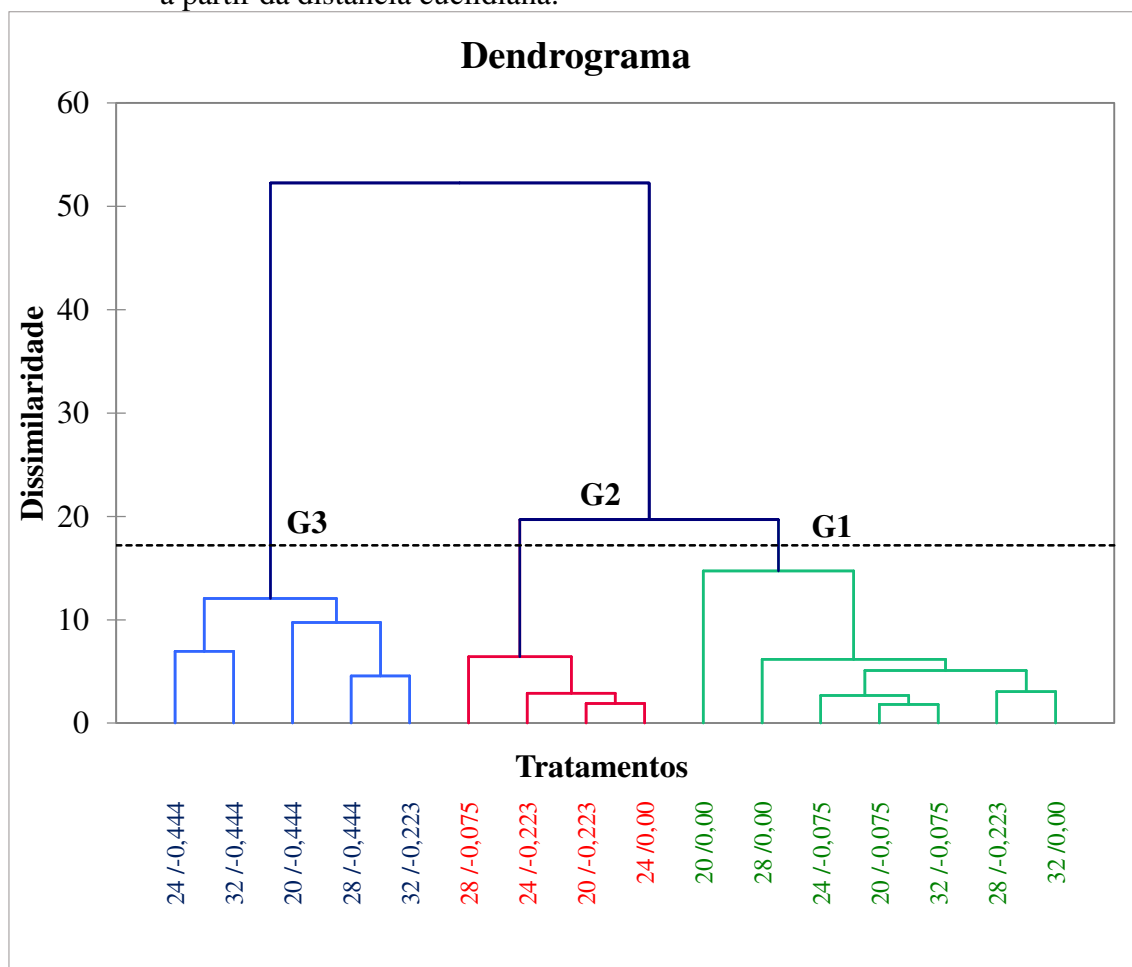
Assim, a partir dos dados das combinações de temperatura e potenciais hídricos (médias de quatro lotes), verificou-se que três grupos foram formados e verificou-se as diferenças entre as variáveis destes grupos.

O primeiro grupo G1, destacou-se pelos maiores valores de porcentagem de germinação e 1ª contagem e menores valores de CAT raiz, teor de proteína bruta aérea, APX aérea e APX raiz e foi constituído por 20 /0,00; 20 /-0,075; 24 /-0,075; 28 /0,00; 28 /-0,223; 32 /0,00 e 32/-0,075.

O G2 foi formado por quatro tratamentos 20 /-0,223; 24 /0,00; 24 /-0,223 e 28 /-0,075, pelos maiores valores de porcentagem de germinação, primeira contagem e CAT raiz e menores valores de teor de proteína bruta raiz e APX aérea. Por fim o G3 formado por 20 /-0,444; 24 /-0,444; 28 /-0,444; 32 /-0,223 e 32 /-0,444, mostrou os maiores valores de teor de proteína bruta aérea e de raiz, APX aérea e da raiz e menores valores de CAT raiz, porcentagem de germinação e primeira contagem.

Portanto, de forma geral verificou-se aumento do teor de proteína tanto para aérea quanto radicular e da atividade da enzima APX em resposta à menor porcentagem de germinação, a qual por sua vez foi resultado do estresse causado pela combinação das maiores temperaturas e menores potenciais hídricos.

**Figura 3.** Dendrograma de agrupamento de classes para os tratamentos com a combinação (T) (20, 24, 28 e 32 °C) e potenciais hídricos ( $\psi_h$ ) (0,00, -0,075, -0,223 e -0,444 Mpa), obtido da análise de agrupamento utilizando o método a partir da distância euclidiana.



Além da restrição hídrica combinada com altas temperaturas, a intensidade e frequência de outros estresses abióticos e bióticos, bem como suas combinações, também podem aumentar no futuro. Estas incluem combinações de estresse térmico com ataque por diferentes insetos ou patógenos, alta salinidade do solo, estresse de nutrientes, inundações e outros estressores que estão previstos para se tornarem mais pronunciados no futuro (CHOUDHURY et al., 2017; NOCTOR, MHAMDI, 2017; ZHANG, SONNEWALD, 2017). Como o aquecimento global está progredindo anualmente, o desenvolvimento de plantas e culturas com maior tolerância aos estresses tanto individuais como combinados, deve ter prioridade na agricultura, especialmente considerando o aumento futuro previsto da população global.

Dessa forma, os resultados encontrados na presente pesquisa enfatizam a crescente necessidade de estudos tanto sobre o efeito de diferentes combinações de estresses abióticos na germinação e desenvolvimento de plantas, quanto dos mecanismos de defesa, pois diferentes combinações de estresse exigem a adaptação das respostas metabólicas e de sinalização únicas, incluindo mecanismos antioxidantes, hormônio e síntese de osmólitos (RIZHSKY et al. 2004, KOUS-SEVITZKY et al. 2008, ATKINSON, LILLEY, URWIN, 2013, IYER, TANG, MAHALINGAM, 2013, PRASCH, SONNEWALD, 2013, RASMUSSEN et al., 2013, PANDEY, RAMEGOWDA, SENTHIL-KUMAR, 2015).

Condições de estresse ambiental, como seca, calor, salinidade, frio ou infecção por patógenos podem têm um impacto devastador no crescimento e na produção das plantas em condições de campo (SUZUKI et al., 2016; CHOJAK-KOŹNIEWSKA, KUŹNIAK, ZIMNY, 2018; HUBER, BAUERLE, 2016; ZHANG, SONNEWALD, 2017; CHOUDHURY et al., 2017; MAO et al., 2017; SEHGAL et al., 2018, 2019; YUAN et al., 2019). Especificamente, combinação de secas e estresses térmicos são consideradas uma das condições mais recorrentes que ocorrem em ambientes naturais afetando diversas culturas (LAWAS et al., 2018a, 2018b, 2019; IBRAHIM et al., 2019; FÁBIÁN et al., 2019; MAHALINGAM, BREGITZER, 2019; TRACHSEL et al., 2019).

Estudos com foco em fatores abióticos de forma isolada não representam as respostas das plantas a uma combinação de diferentes estresses no campo. Desde então, muitos estudos descobriram as respostas das plantas a diferentes combinações de estresse (DING et al., 2018, ELFERJANI, SOOLANAYAKANAHALLY, 2018; ZANDALINAS et al., 2018; JUMRANI, BHATIA, 2019; DIKILITAS, ERAY, ARYADEEP, 2020). Esses estudos demonstraram que, apesar de um certo grau de sobreposição, cada condição de estresse exigia um mecanismo único de resposta, adaptada às necessidades específicas da planta, e que cada combinação de duas ou mais tensões diferentes também pode exigir uma resposta específica.

Além disso, a ocorrência simultânea de diferentes estresses bióticos e abióticos resultaram em um alto grau de complexidade nas respostas da planta (CHATURVEDI et al., 2017; LOUDET, HASEGAWA, 2017), no entanto, a maioria dos mecanismos subjacentes a tolerância das plantas às combinações de estresse ainda são desconhecida e mais estudos são necessários para abordá-los (ZHANG et al., 2018; BALFAGÓN et al., 2019; NIEVES-CORDONES et al., 2019; RIVERO, OLIVER, MITTLER, 2019; ZHOU

et al., 2019), sendo que a ocorrência de dois ou mais estresses diferentes (seja abiótico e/ou biótico) pode representar um desafio para as plantas.

Assim, foi possível observar que a combinação de estresse deve ser tratada como um novo estado de estresse abiótico em plantas, e que irão resultar em diferentes respostas de aclimação. As interações entre os eventos de estresse abiótico temperatura e potenciais hídricos acarretam distúrbios em todo o metabolismo da planta. A compreensão da resposta das plantas a estresse abiótico individuais ou combinados torna-se cada vez mais importante, sendo que as plantas mostram uma ampla gama de respostas à seca e ao estresse térmico, que são principalmente representados por uma variedade de alterações fisiológicas como um meio de evitar danos oxidativos.

De maneira geral o trigo tolera temperaturas até 28 °C e redução dos potenciais hídricos até -0,223 Mpa sem comprometimento da sua germinação, entretanto temperaturas acima da mesma comprometem a germinação, uma vez que ocasiona aumentos de plântulas anormais e sementes mortas.

À medida que o estresse hídrico se intensifica, a velocidade de embebição diminui. A combinação de 32/-0,223 Mpa diminuiu a porcentagem de germinação e aumentou as plântulas anormais e sementes mortas. Sendo que independentemente da temperatura o potencial hídrico de -0,444 é prejudicial para as plantas de trigo.

Principalmente o déficit hídrico promoveu o aumento das enzimas antioxidantes como meio de prevenção aos danos oxidativos. O aumento da atividade enzimática APX minimizou os efeitos do estresse oxidativo, através da remoção de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, quando as plantas foram submetidas à combinação de seca e calor ou a qualquer uma das duas condições de estresse aplicadas individualmente.



## 5 CONCLUSÕES

Lotes de sementes de trigo de maior vigor são mais tolerantes aos estresses hídrico e térmico.

O trigo tolera temperaturas até 28 °C e redução dos potenciais hídricos até -0,223 Mpa combinados sem comprometimento da sua germinação.

A combinação de temperatura de 32 °C e potencial hídrico de -0,223 Mpa diminuiu a porcentagem de germinação e aumentou as plântulas anormais e sementes mortas.

Independentemente da temperatura o potencial hídrico de -0,444 Mpa diminui a porcentagem e a velocidade da germinação da semente de trigo.

Ocorre aumento da atividade da enzima ascorbato peroxidase (APX) quando as plantas são submetidas à combinação de estresse hídrico e temperatura supraótimas ou a qualquer uma das duas condições de estresse aplicadas individualmente, sendo assim acionada como mecanismo de defesa ao estresse oxidativo resultante dos estresses hídrico e térmico.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOGADALLAH, G. M.; SERAG, M. M.; QUICK, P. W. Fine and coarse regulation of reactive oxygen species in the salt tolerant mutants of barnyard grass and their wild-type parents under salt stress. **Physiology Plant**. V. 138, p. 60-73, 2010.

AL-BADAIRI, A. H. T. **Determination of the sensitivity of the growth stages of wheat under limited irrigation and potash fertilizer using water productivity functions**. PhD thesis, University of Baghdad-Faculty of Agriculture, 2013.

AL-SHEBLY.; HAYDER A. A.; AL-EBRAHEMI, FADHIL K. K.; ALI, AMEL A. Effect of water quantity and coverage on seeds germination and their emergence in wheat crop *triticum aestivum L.* **Plant Archives**, v. 20, n. 1, p. 2091-2094, 2020.

ANJUM, S. A.; WANG, L. C.; FAROOQ, M.; HUSSAIN, M.; XUE, L. L.; ZOU, C. M. Brassinolide application improves the drought tolerance in maize through modulation of enzymatic antioxidants and leaf gas exchange. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 197, n. 3, p. 177-185, 2011.

ANTOLÍN, M. C.; SANTESTEBAN, H.; SANTA, MÀRIA.; AGUIRREOLEA, J; SÁNCHEZ-DÍAZ, M. Involvement of abscisic acid and polyamines in berry ripening of *Vitis vinifera* (L.) subjected to water deficit irrigation. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v. 14, n. 2, p. 123-133, 2008.

ATKINSON, N. J.; LILLEY, C. J.; URWIN P. E. Identification of genes involved in the response of Arabidopsis to simultaneous biotic and abiotic stresses. **Plant Physiology**, v. 162, p. 2028–2041, 2013.

ÁVILA, M. R.; BRACCINI A.L.; SCAPIM, C.A.; FAGLIARI, J.R.; SANTOS, J.L. Influência do estresse hídrico simulado com manitol na germinação de sementes e crescimento de plântulas de canola. **Revista brasileira sementes**, v.29, n.1, 2007.

AZIZ, A.; LARHER, F.; Osmotic stress induced changes in lipid composition and peroxidation in leaf discs of *Brassic nappus L.* **Journal of Plant Physiology**, v. 153, n. 5/6, p.754-762, 1998.

BAHIELDIN, A., MAHFOUZ, H.T., EISSA, H.F., SALEH, O.M., RAMADAN, A.M., AHMED, I.A., DYER, W.E., ELITRIBY, H.A., MADKOUR, M.A. Field evaluation of transgenic wheat plants tably expressing the HVA1 gene for drought tolerance. — **Physiology Plant**. v.123, p.421–427, 2005.

BALFAGÓN, D.; SENGUPTA, S.; GÓMEZ-CADENAS, A.; FRITSCHI, F.B.; AZAD, R.K.; MITTLER, R.; ZANDALINAS, S.I. Jasmonic acid is required for plant acclimation to a combination of high light and heat stress. **Physiology Plant**. v.181, p.1668–1682, 2019.

BANSAL, R.P.; BHATI, P.R.; SEM, D.N. Differential specificity in water inhibition of Indian arid zone. **Biologia Plantarum**, Praha, v.22, n.2, p.327-331, 1980.

BARAKAT, N.; LAUDADIO, V.; CAZZATO, E.; TUFARELLI, V. Antioxidant potential and oxidative stress markers in wheat (*Triticum aestivum*) treated with phytohormones under salt-stress condition. **International Journal of Agriculture and Biology**, v.15, n. 5, p.843-849, 2013.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. Physiology of Development and Germination. In: **Seeds**, 2 Ed. Springer Science & Business Media, Boston, MA, p. 1-33, 1994.

BHATTACHARJEE, S. Sites of Generation and Physicochemical Basis of Formation of Reactive Oxygen Species in Plant Cell. In: GUPTA, S. D. **Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Higher Plants**. Publisher: Science Pub. Edenbridge Ltd. British Channel Island. New Hampshire, USA. CRC Press (Taylor and Francis), p.1-30, 2010.

BHATTACHARJEE, S.; DETERDING, L.J.; CHATTERJEE, S.; JIANG, J.; EHRENSHAFT, M.; LARDINOIS, O.; RAMIREZ, D.C.; TOMER, K.B.; MASON, R.P. Site-specific detection and imaging of free radicals in DNA induced by Cu (II) -H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oxidizing system and its repair using ESR, Immuno-spin trapping, confocal microscopy, LC-MS and MS/MS. **Free Radical Biology and Medicine**, v.50, p.1536–1545, 2012.

BLUMENTHAL, C.; WRIGLEY, C.W.; BATEY, I.L.; BARLOW, E.W.R. The heat-shock response relevant to molecular and structural changes in wheat yield and quality. **Australian Journal of Plant Physiology**, v.21, p.901- 909, 1994.

BRACCINI, A.L.; RUIZ, H.A.; BRACCINI, M.C.L.; REIS, M.S. Germinação e vigor de sementes de soja sob estresses hídrico induzidos por soluções de cloreto de sódio, manitol e polietilenoglicol. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 18, n.1, p. 10-16, 1996.

BRADFORD, K.J. Water relations in seed germination. In: Kigel J, Galili G, eds. **Seed Development and Germination**. 2.ed. New York: Plenum Press, p.351-396, 1995.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**. v.72, n.1/2, p. 248-254, 1976.

BRASIL - Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília, 2009.

CAKMAK, I.; HORST, W.J. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*) **Physiologia Plantarum**, v. 83, n. 3, p. 463-468, 1991.

CARVALHO, N.M; NAKAGAWA, J. Importância da semente. In: **Seeds: Science, Technology and Production**. Jaboticabal. Brazilian, p.6-11, 2012.

CASTRO, R. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M. Embebição e reativação do metabolismo. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, p. 149-162, 2004.

CASTRO, R.D.; HILHORST, H.W. Dormência, germinação e ciclo celular no desenvolvimento e embebição de sementes de tomate. **Revista Brasileira de Fisiologia**. Veg., v.12, p.105-36, 2000.

CATÃO, H.C.R.M.; GOMES, L.A.A.; SANTOS, H.O.D.; GUIMARÃES, R.M.; FONSECA, P.H.F.; CAIXETA, F. Aspectos fisiológicos e bioquímicos da germinação de sementes de alface em diferentes temperaturas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.49, n.4, p.316-322, 2014.

CAVALCANTI, F. R.; OLIVEIRA, J.T.A.; MARTINS- MIRANDA, A.S.; VIÉGAS, R.A.; SILVEIRA, J.A.G. Superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities do not

confer protection against oxidative damage in salt- stressed cowpea leaves. **New Phytologist**, v.163, n. 3, p.563-571, 2004.

CHATURVEDI, A.K.; BAHUGUNA, R.N.; SHAH, D.; PAL, M.; JAGADISH, S.V.K. High temperature stress during flowering and grain filling offsets beneficial impact of elevated CO<sub>2</sub> on assimilate partitioning and sink-strength in rice. **Scientific Reports**, v.7, p.8227, 2017.

CHOJAK-KOŹNIEWSKA, J.; KUŹNIAK, E.; ZIMNY, J. The effects of combined abiotic and pathogen stress in plants: insights from salinity and *Pseudomonas syringae* pv *lachrymans* interaction in cucumber. **Frontiers in Plant Science**, v.9, p.1691, 2018.

CHOU DHURY, F.K.; RIVERO, R.M.; BLUMWALD, E.; MITTLER, R. Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. **The Plant Journal**, v.90, n. 5, p.856-867, 2017.

CONSIDINE, M.J.; SANDALIO, L.M.; FOYER, C.H. Unravelling how plants benefit from ROS and NO reactions, while resisting oxidative stress. **Annals of Botany**, v.116, n.4, p.469 – 473, 2015.

DAI, Increasing drought under global warming in observations and models. **Nature Climate Change**, v. 3, n. 1, p. 52-58, 2013.

DHANDA, S.S.; SETHI, G.S.; BEHL, R.K. Indices of Drought Tolerance in Wheat Genotypes at Early Stages of Plant Growth. **Journal of Agronomy and Crop Science**, Berlin, v.190, p.6-12, 2004.

DIETZ, K.J. Efficient high light acclimation involves rapid processes at multiple mechanistic levels. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, n. 9, p. 2401–2414, 2015.

DIKILITAS, M.; ERAY, S.; ARYADEEP R. Modulation of Abiotic Stress Tolerance Through Hydrogen Peroxide. In: **Protective Chemical Agents in the Amelioration of Plant Abiotic Stress**. Publisher: John Wiley & Sons, Ltd, USA, p. 147-173, 2020.

DIKILITAS, M.; KARAKAS, S.; AHMAD, P. Predisposition of crop plants to stress is directly related to their DNA health. In: **Plant Microbiome: Stress Response** (eds. D. Egamberdieva and P. Ahmad), p.233–254. Singapore: Springer, 2018.

DIKILITAS, M.; YUCEL, N.; DERVIS, S. Production of antioxidant and oxidant metabolites in tomato plants infected with *Verticillium dahliae* under saline conditions. In: **Reactive Oxygen Species and Antioxidant Systems in Plants: Role and Regulation Under Abiotic Stress**, Ed. Singapore: Springer, Eds. M.I.R. Khan and N.A. Khan, p. 315–329, 2017.

DINAKAR, C.; DJILIANOV, D.; BARTELS, D. Photosynthesis in desiccation tolerant plants: energy metabolism and antioxidative stress defense. **Plant Science**, v. 182, p. 29-41, 2012.

DING, J.; HUANG, Z.; ZHU, M.; LI, C.; ZHU, X.; GUO, W. Does cyclic water stress damage wheat yield more than a single stress? **PLoS One**. v.13, n. 4: e01955352018, 2018.

ELFERJANI, R.; SOOLANAYAKANAHALLY, R. Canola responses to drought, heat, and combined stress: shared and specific effects on carbon assimilation, seed yield, and oil composition. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 1224, 2018.

ESPOSITO, M.P.; NAKAZATO, R.K.; PEDROSO, A.N.V.; LIMA, M.E.L.; FIGUEIREDO, M.A.; DINIZ, A.P; DOMINGOS, M. Oxidant-antioxidant balance and tolerance against oxidative stress in pioneer and non-pioneer tree species from the remaining Atlantic Forest. **Science of the Total Environment**, v.625, p.382-393, 2018.

FÁBIÁN, A.; SÁFRÁN, E.; SZABÓ-EITEL, G.; BARNABÁS, B.; JÄGER, K. Stigma functionality and fertility are reduced by heat and drought co-stress in wheat. **Front Plant Science**, v.10, p.1–18, 2019.

FALLAHPOUR, F.; AMINGHAFOURI, A.; BEHBAHANI, A. G.; BANNAYAN, M. The environmental impact assessment of wheat and barley production by using life cycle assessment (LCA) methodology. **Environment, Development and Sustainability**, v. 14, n. 6, p. 979-992, 2012.

FAVARETTO, V.F.; MARTINEZA, C.A.; SORIANIA, H.H.; FURRIEL, R.P.M. Differential responses of antioxidant enzymes in pioneer and latesuccessional tropical tree species grown under sun and shade conditions. **Environmental and Experimental Botany**, v.70, p.20–28, 2011.

FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F.; Interpretação de resultados de germinação. In: **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, p. 209-222, 2004.

FERREIRA, D.F. Sisvar: um sistema computacional de análise estatística. **Ciência e Agrotecnologia**. [online]. v.35, n.6, pp.1039-1042, 2011.

FERREIRA, E.G.B.S.; MATOS, V.P.; SALES, A.G.A.; PACHECO, M.V. Influência da temperatura e do substrato na germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de rúcula (*Eruca sativa* Mill.). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.3, n.3, p.209-212, 2008.

FERREIRA, W.N; LACERDA, C.F; COSTA, R.C; MEDEIROS FILHO, S. Effect de estresse hídrico no crescimento de mudas em duas espécies com diferentes abundâncias: a importância da síndrome de resistência ao estresse em floresta tropical sazonalmente seca. **Acta Botanica Brasilica**, v. 29, n. 3, p.375-382, 2015.

FOYER, C.H.; NOCTOR, G. Redox signaling in plants. **Antioxidant & Redox Signal**, v.18, p.2087 – 2090, 2013.

FRANCES, M.D.; WILLIAM, J.H.; WILLIAM, H.V.; CHARLENE, T.; KERRY, M.K.; OKKYUNG, K.C.; SUSAN, B.A. Protein accumulation and composition in wheat grains: effects of mineral nutrients and high temperature. **European Journal of Agronomy**, v.25, p. 96–107, 2006.

GILL, S.S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology Biochemistry**. V.48, p.909, 2010.

GIROTTI, L.; ALVES, J.D.; DEUNER. S.; ALBUQUERQUE, A.C.S.; TOMAZONI. A.P. Tolerância à seca de genótipos de trigo utilizando agentes indutores de estresse no processo de seleção. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 59, n.2, p. 192-199, 2012.

GUEDES, R.S.; ALVES, E.U.; COSTA, E.M.T.; SANTOS-MOURA, S.S.; SILVA, R.S.; CRUZ, F.R.S. Avaliação do potencial fisiológico de sementes de *Amburana cearensis* (Allemão) A.C. Smith. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, n. 4, p. 859-866, 2013.

GUIMARÃES, R.M.; OLIVEIRA, J.A.; VIEIRA, A.R. Aspectos fisiológicos de sementes. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 27, n. 232, p. 40-50, 2006.

HADAS A. Water uptake and germination of leguminous seeds under changing external water potential in osmotic solution. **Experimental of Botany**, v.27, p. 480-489, 1976.

HENNING, F.A.; MERTZ, L.M.; JUNIOR, E.A.J.; MACHADO, R.D.; FISS, G.; ZIMMER, P.D. Composição química e mobilização de reservas em sementes de soja de alto e baixo vigor. **Bragantia**, v.69, n.3, p.727-733, 2010.

HUANG, C.J.; WEI, G.; JIE, Y.; WANG, L.; ZHOU, H.; RAN, C.; HUANG, Z.J.H.; ANJUM, S.A. Effects of concentrations of sodium chloride on photosynthesis, antioxidative enzymes, growth and fiber yield of hybrid ramie. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.76, p.86-93, 2014.

HUBER, A.E.; BAUERLE, T.L. Long-distance plant signalling pathway in response to multiple stressors: the gas in knowledge. **Journal of Experimental Botany**, v.67, n.7, p. 2063–2079, 2016.

IBRAHIM, W.; ZHU, Y.M.; CHEN, Y.; QIU, C.W.; ZHU, S.; WU, F. Genotypic differences in leaf secondary metabolism, plant hormones and yield under alone and combined stress of drought and salinity in cotton genotypes. **Physiologia Plantarum**, v.165, p. 343–355, 2019.

IPCC - Intergovernmental Panel on Climate Change. *Climate change 2014: Mitigation of Climate. Summary for Policymakers and Technical Summary*. Geneva: IPCC, 141 p., 2015. Disponível em [https://www.ipcc.ch/pdf/assessment-report/ar5/wg3/WGIIIAR5\\_SPM\\_TS\\_Volume.pdf](https://www.ipcc.ch/pdf/assessment-report/ar5/wg3/WGIIIAR5_SPM_TS_Volume.pdf). Acesso em: 18 jun. 2019.

IYER, N.J.; TANG, Y.; MAHALINGAM, R. Physiological, biochemical and molecular responses to a combination of drought and ozone in *Medicago truncatula*. **Plant, Cell & Environment**, v.36, p. 706–720, 2013.

JUMRANI, K.; BHATIA, V.S. Interactive effect of temperature and water stress on physiological and biochemical processes in soybean. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v.25, p. 667–681, 2019.

KAPPES, C.; ANDRADE, J.A.C.; HAGA, K.I.; FERREIRA, J.P.; ARF, M.V. Germinação, vigor de sementes e crescimento de plântulas de milho sob condições de déficit hídrico. **Scientia Agraria**, v.11, n.2, 2010.



KARUPPANAPANDIAN, T., MOON, J. C., KIM, C., MANOHARAN, K., & KIM, W. Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. **Australian Journal of Crop Science**, v.5, n.6, p.709, 2011.

KAUR, N.; SHARMA, I.; KIRAT, K.; PATI, P.K. Detection of reactive oxygen species in *Oryza sativa* L.(rice). **Bio-protocol**, n.6, v. 24, p. e2061, 2016.

KILIC, S.; KAHRAMAN, A. The Mitigation Effects of Exogenous Hydrogen Peroxide when Alleviating Seed Germination and Seedling Growth Inhibition on Salinity-Induced Stress in Barley. **Pol. J. Environ. Stud.**, v. 25, n. 3, p.1053–1059, 2016.

KIM, M.D.; KIM, Y.H.; KWON, S.Y.; YUN, D.J.; KWAK, S.S.; E LEE, H.S Enhanced tolerance to methyl viologen-induced oxidative stress and high temperature in transgenic potato plants overexpressing the CuZnSOD, APX and NDPK2 genes. **Physiologia Plantarum**, v.140, n.2, 153-162, 2010.

KOUSSEVITZKY, S.; SUZUKI, N.; HUNTINGTON, S.; ARMIJO, L.; SHA, W.; CORTES, D.; SHULAEV, V.; MITTLER, R. Ascorbate peroxidase 1 plays a key role in the response of *Arabidopsis thaliana* to stress combination **J. Biol. Chem.** v.283, n.49, p.34197-203, 2008.

KUSVURAN, S., ELLIALTIUGLU, S., POLAT, Z. Antioxidative enzyme activity, lipid peroxidation, and proline accumulation in the callus tissues of salt and drought tolerant and sensitive pumpkin genotypes under chilling stress. **Horticulture, Environment, and Biotechnology**, v. 54, n. 4, p. 319-325, 2013.

LABOURIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Secretaria-Geral da Organização dos Estados Americanos, Programa Regional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, 174 p., 1983.

LAWAS, L.M.F.; ERBAN, A.; KOPKA, J.; JAGADISH, S.V.K.; ZUTHER, E.; HINCHA, D.K. Metabolic responses of rice source and sink organs during recovery from combined drought and heat stress in the field. **Gigascience**, v.8, p. 1–15, 2019.

LAWAS, L.M.F.; SHI, W.; YOSHIMOTO, M.; HASEGAWA, T.; HINCHA, D.K.; ZUTHER, E.; JAGADISH, S.V.K. Combined drought and heat stress impact during

flowering and grain filling in contrasting rice cultivars grown under field conditions. **Field Crop Res.**, v.229, p.66–77, 2018a.

LAWAS, L.M.F.; ZUTHER, E.; JAGADISH, S.K.; HINCHA, D.K. Molecular mechanisms of combined heat and drought stress resilience in cereals. **Current Opinion in Plant Biology**, v.45, p. 212–217, 2018b.

LI, C. **Analysis of separation and identification of the response proteins of the leaves of *Lathyrus odoratus* at different stages of water stress.** Master's dissertation, Lanzhou University, 2010. Disponível em:< <http://cdmd.cnki.com.cn/Article/CDMD-10730-2010132069.htm>>.Disponível em:< <http://cdmd.cnki.com.cn/Article/CDMD-10730-2010132069.htm>>. Acesso em 15 mar. 2021.

LIMA, G.P.P.; BROETTO, F.; BRASIL, O.G. Efeito da salinidade sobre o teor de proteínas e atividades da peroxidase e redutase de nitrato em calos de arroz. **Acta Biologica Leopoldensia**, v. 20, p. 357-363, 1998.

LOPES, J.C.; MACEDO, C.M.P. Germinação de sementes de sob influência do teor de substrato e estresse salino. **Revista Brasileira de Sementes**, v.30, n.3, 2008.

LOUDET, O.; HASEGAWA, P.M. Abiotic stress, stress combinations and crop improvement potential. **The Plant Journal**, v.90, p.837–838, 2017.

LUO, Y.; LI, W.M.; WANG, W. Trehalose: protector of antioxidant enzymes or reactive oxygen species scavenger under heat stress? **Environ Exp Bot.**, v.63, p.378–384, 2008.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination—Aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor 1. **Crop Science**, v.2, n. 2, p.176-177, 1962.

MAHALINGAM, R. Consideration of combined stress: a crucial paradigm for improving multiple stress tolerance in plants. In: **Combined Stresses in Plants** (ed. R. Mahalingam), Cham: Springer., p.1–25, 2015.

MAHALINGAM, R., BREGITZER, P. Impact on physiology and malting quality of barley exposed to heat, drought and their combination during different growth stages under controlled environment. **Physiology Plant.**, v. 165, p.277–28, 2019.

MAO, B.; YIN, H.; WANG, Y.; ZHAO, T.H.; TIAN, R.R.; WANG, W.; YE, J.S. Combined effects of O<sub>3</sub> and UV radiation on secondary metabolites and endogenous hormones of soybean leaves. **PLoS One**, v.12, e0183147, 2017.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. ABRATES. Londrina, ed. 2, p.659, 2015.

MARTINEZ, V.; NIEVES-CORDONES, M.; LOPEZ-DELACALLE, M.; RODENAS, R.; MESTRE, T.C.; GARCIA-SANCHEZ, F.; RUBIO, F.; NORTES, P.A.; MITTLER, R.; RIVERO, R.M. Tolerance to stress combination in tomato plants: new insights in the protective role of melatonin. **Molecules**, v.23, n. 3, p. 535, 2018.

MEDEIROS, A.C.B. **Identificação de acessos de meloeiro tolerantes ao déficit hídrico**. 114p. Dissertação (Mestrado em Manejo de Solo e Água/Impactos ambientais pelo uso de solo e da água) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), 2018.

MHAMDI, A, NOCTOR, G, BAKER, A. Plant catalases: peroxisomal redox guardians. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 525, n. 2, p. 181-194, 2012.

MICHEL, B.E.; KAUFMANN, M.R. The Osmotic Potential of Polyethylene Glycol 6000. **Plant Physiology**, v.51, n.5, p. 914–916, 1973.

MICHEL, T.; SCUZE, S. **World Agricultural Supply and Demand Estimates**. Washington: United States Department of Agriculture, 2018.

MIGNOLET- SPRUYT, L.; XU, E.; IDANHEIMO, N.; HOEBERICHTS, F.A.; MUHLENBOCK, P.; BROSCHE, M.; VAN BREUSEGEM, F. E.; KANGASJARVI, J. Spreading the news: subcellular and organellar reactive oxygen species production and signalling. **J Exp Botany**, v.67, n.13, p.3831-3844, 2016.

MITTLER, R. Abiotic stress, the field environment and stress combination. **Trends in Plant Science**, v. 11, n. 1, p. 15-19, 2006.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v.7, n. 9, p.405–410, 2002.

MUNIZZI, A.; BRACCINI, A. L.; RANGEL, M. A. S.; SCAPIM, C. A.; ALBRECHT, L. P. Qualidade de sementes de quatro cultivares de soja, colhidas em dois locais no estado de Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 1, p. 176-185, 2010.

NIEVES-CORDONES, M.; RÓDENAS, R.; LARA, A.; MARTÍNEZ, V.; RUBIO, F. The combination of K<sup>+</sup> deficiency with other environmental stresses: what is the outcome? **Physiologia Plantarum**, v.165, 264–276, 2019.

NOCTOR, G.; MHAMDI, A. Climate Change, CO<sub>2</sub>, and Defense: The Metabolic, Redox, and Signaling Perspectives. **Trends in Plant Science**, v. 22, n.10, p. 857-870, 2017.

NUNES, R.T.C.; NETO, A.C.A.; SOUZA, U.O.; MORAIS, O.M.; Desempenho germinativo de sementes de girassol submetidas ao estresse salino. **Cultura Agrônômica**, Ilha Solteira, v.25, n.1, p.79-92, 2016.

PANDA, S.K.; KHAN, M.H. Crescimento, dano oxidativo e respostas antioxidantes em greengram (*Vigna radiata L.*) sob estresse salino de curto prazo e sua recuperação. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 195, n. 6, p. 442-454, 2009.

PANDEY, P.; RAMEGOWDA, V.; SENTHIL-KUMAR, M. Shared and unique responses of plants to multiple individual stresses and stress combinations: physiological and molecular mechanisms. **Front Plant Science**, v.6, n. 723, 2015.

PATADE, V.Y., BHARGAVA, S., SUPRASANNA, P. Salt and drought tolerance of 4 sugarcane under iso-osmotic salt and water stress: growth, osmolytes accumulation, 5 and antioxidant defense. **Journal of Plant Interactions**, Berlin, v. 6, p. 275-282, 2011.

PEIXOTO, P.H.P.; CAMBRAIA, J.; SANT'ANNA, R.; MOSQUIM, P.R.; MOREIRA, M.A. Aluminum effects on lipid peroxidation and activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, v.11, n.3, p.137-143, 1999.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 15. ed., Piracicaba: Fealq, 2009, 451 p.

POLLOCK, B.M.; ROOS, E.E. Seed and seedling vigor. *Seed Biology, I. Importance, development and germination*, p. 314-387, 1972.

PONTES, C.A.; BORGES, E.E.L.; BORGES, R.C.G.; SOARES, C.P.B. Mobilização de reservas em sementes de *Apuleia leiocarpa* (Vogel) JF Macbr. (garapa) durante a embebição. *Revista Árvore*, v.26, n. 5, p. 593-601, 2002.

PRASCH, C.M.; SONNEWALD, U. Simultaneous application of heat, drought, and virus to *Arabidopsis* plants reveals significant shifts in signaling networks. *Plant Physiology*, v.162, p.1849–1866, 2013.

RAMEGOWDA, V.; SENTHIL-KUMAR, M. The interactive effects of simultaneous biotic and abiotic stresses on plants: mechanistic understanding from drought and pathogen combination. *Journal of Plant Physiology*, v.176, p.47–54, 2015.

RASMUSSEN, S.; BARAH, P.; SUAREZ-RODRIGUEZ, M.C.; BRESSENDORFF, S.; FRIIS, P.; COSTANTINO, P.; BONES, A.M.; NIELSEN, H.B.; MUNDY, J. Transcriptome responses to combinations of stresses in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, v.161, p.1783–1794, 2013.

RIBEIRO, L.C.; BORGHETTI, F. Comparative effects of desiccation, heat shock and high temperatures on seed germination of savanna and forest tree species. *Austral Ecology*, v. 39, n. 3, p. 267-278, 2013.

RIVERO, R.M.; OLIVER, M.J.; MITTLER R. Stress Combination. *Physiologia Plantarum*, v.165, 125–127, 2019.

RIZHSKY, L.; LIANG, H.; SHUMAN, J.; SHULAEV, V.; DAVLETOVA, S.; MITTLER, R. When Defense Pathways Collide. The Response of *Arabidopsis* to a Combination of Drought and Heat Stress. *Plant Physiology*, v.134, n.4, p.1683-1696, 2004.

RODRIGUES, G.A.G.; RIBEIRO, M.I.; LUZ, E.M.Z.; PORTO, E.C.; MATIAS, G.L.; CORSATO, J.M.; FORTES, A.M.T. Drought stress effects on germination and reserve degradation of *Aspidosperma polyneuron* seeds. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v. 14, n. 4, 2019.

RUELLAND, E.; ZACHOWSKI, A. How plants sense temperature. **Environmental and experimental botany**, v. 69, n. 3, p. 225-232, 2010.

SÁ, M. E. **Relações entre qualidade fisiológica, disponibilidade hídrica e desempenho de sementes de soja (*Glycine max (L.) Merril*)**. Piracicaba, ESALQ-USP, 1987. 147p. (Tese Doutorado).

SADEGHIAN, S.Y.; YAVARI, N. Effect of water- deficit stress on germination and early seedling growth in sugar beet. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v.190, n.2, p. 138-144, 2004.

SANTI, A.; VICARI, M.B.; PANDOLFO, C.; DALMAGO, G.A.; MASSIGNAM, A.M.; PASINATO, A. Impacto de cenários futuros de clima no zoneamento agroclimático do trigo na região Sul do Brasil. **Agrometeoros**, v. 25, n. 2, p. 303-311, 2017.

SCHMILDT, E.R.; SILVA, W.; AMBROSIO, T.J.; SCHMILDT, O.; NASCIMENTO, A.L.; FERNANDES, A.A. Coeficiente de variação como medida da precisão em experimentos de alface. **Revista Agro@ mbiente**, v.11, n. 4, p.290-295, 2017.

SECCO, L.B.; QUEIROZ, S.O.; DANTAS, B.F.; SOUZA, Y.A. 2010. Qualidade de sementes de acessos de melão (*Cucumis melo*) em condições de estresse salino. **Revista Verde**, v. 5, 2010. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/39418/1/Barbara.pdf>. Acesso em 17 jun 2021.

SEHGAL, A., SITA, K.; SIDDIQUE, K.H.M.; KUMAR, R.; BHOGIREDDY, S.; VARSHNEY, R.K.; HANUMANTHARAO, B.; NAIR, R.M.; PRASAD, P.V.V.; NAYYAR, H. 2018. Drought or/and heat-stress effects on seed filling in food crops: impacts on functional biochemistry, seed yields, and nutritional quality. **Frontiers in Plant Science**, v.9, p.1705, 2018.

SEHGAL, A.; SITA, K.; BHANDARI, K.; KUMAR, S.; KUMAR, J.; PRASAD, P.V.V.; KADAMBOT, S.K.H.M.; NAYYAR H. Influence of drought and heat stress, applied independently or in combination during seed development, on qualitative and quantitative aspects of seeds of lentil (*Lens culinaris Medikus*) genotypes, differing in drought sensitivity. **Plant, Cell & Environment**, v.42, p.198–211, 2019.

SERKEDJIEVA, J. Antioxidant effects of plant polyphenols: a case study of a polyphenol-rich extract from *Geranium sanguineum* L. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**, v. 13, p. 275-293, 2011.

SHARMA, S.P.; LESKOVAR, D.I.; CROSBY, K.M.; VOLDER, A.; IBRAHIM, A.M.H. Respostas do crescimento radicular, produção e qualidade dos frutos de melões *reticulatus* e *inodorus* (*Cucumis melo* L.) ao déficit de irrigação por gotejamento subterrâneo. **Agricultural water management**, v.136, p.75-85, 2014.

SILVA, M.A.P.; MEDEIROS FILHO, S. Emergência de plântulas de pequi (*Caryocar coriaceum* Wittm). **Revista Ciência Agronômica**, v. 37, n. 3, p. 381-385, 2006.

SILVA, M.C.D.C.; MEDEIROS, A.F.; DIAS, D.C.D.S.; ALVARENGA, E.M.; COELHO, F.S.; BRAUN, H. Efeito do estresse hídrico e térmico na germinação e no vigor de sementes de cenoura. **Idesia (Arica)**, v.29, n. 3, p. 39-44, 2011.

SILVA, R.R.; BENIN, G.; SILVA, G.O.; MARCHIORO, V.S.; ALMEIDA, J.L.; MATEI, G. Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de trigo em diferentes épocas de semeadura, no Paraná. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 11, p. 1439-1447, 2011.

SIMONI, F. D.; COSTA, R. S.; FOGAÇA, C. A.; GEROLINETO, E. Sementes de *Sorghum bicolor* L.-Gramineae, submetidas ao estresse hídrico simulado com PEG (6000). **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.11, n. 1, p.188-192, 2011.

SMERTENKO, A., DRABER, P., VIKLICKY, V. E OPATRNY, Z. Heat stress affects the organization of microtubules and cell division in *Nicotiana tabacum* cells. **Plant Cell Environment**, v. 20, p. 1534–1542, 1997.

SOHRABIKERTABAD, S.; GHANBARI, A.; MOHASSEL, M.; MAHALATI, M. N.; GHEREKHLOO, J. Effect of desiccation and salinity stress on seed germination and initial plant growth of *Cucumis melo*. **Planta Daninha**, v.31, n.4, p.833-841, 2013.

SOUZA, G.M.; CARDOSO, V.J.M. Effects of different environmental stress on seed germination. **Seed Science Technology**, Zürich, v.28, n.3, p.621-630, 2000.

STEFANELLO, R.; VIANA, B.B.; DAS NEVES, L.A. Germinação e vigor de sementes de linhaça sob diferentes condições de luz, temperatura e estresse hídrico. **Semina: Ciências Agrárias**, v.38, n. 3, p.1161-8, 2017.

SUZUKI, N.; BASIL, E.; HAMILTON, J.S.; INUPAKUTIKA, M.A.; MADHURI, A.; ZANDALINAS, S.I.; TRIPATHY, D.; LUO, Y.; DION, E.; FUKUI, G.; KUMAZAKI, A.; NAKANO, R.; RIVERO, R.M.; VERBECK, G.F.; AZAD, R.K.; BLUMWALD, E.; MITTLER, R. ABA Is Required for Plant Acclimation to a Combination of Salt and Heat Stress. **PLoS ONE**, v.11, e0147625, 2016.

SUZUKI, N.; RIVERO, R.M.; SHULAEV, V., BLUMWALD, E.; MITTLER, R. Abiotic and biotic stress combinations. **New Phytologist**, v.203, n. 1, p.32–43, 2014.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I.M.; MURPHY, A. Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal. Porto Alegre: Artmed, 732- 761, 2017.

TEIXEIRA, R. N.; TOLEDO, M. Z.; FERREIRA, G.; CAVARIANI, C.; JASPER, S. P. Germinação e vigor de sementes de crambe sob estresse hídrico. **Irriga**, Botucatu, v. 16, n. 1, p. 42-51, 2011.

TEIXEIRA, R.L.; BRACCINI, A.L.; SPERANDIO, D.; SCAPIM, C.A.; SHUSTER, I.; VIGANÓ, J. Avaliação de cultivares de soja quanto à tolerância ao estresse hídrico em substrato contendo polietileno glicol. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.30, n.2, p. 217-223, 2008.

TRACHSEL, S.; DHLIWAYO, T.; GONZALEZ-PEREZ, L.; MENDOZA-LUGO, J.A.; TRACHSEL, M. Estimation of physiological genomic estimated breeding values (PGEBV) combining full hyperspectral and marker data across environments for grain yield under combined heat and drought stress in tropical maize (*Zea mays* L.). **PLoS One**, v.14, e0212200, 2019.

VAAHTERA, L.; BROSCHE, M.; WRZACZEK, M.; KANGASJARVI, J. Specificity in ROS signaling and transcript signatures. **Antioxidant & Redox Signal**, v.21, p.1422-1441, 2014.



VIDAVER, W.; HSIAO, A.I. Secondary dormancy in light-sensitive lettuce seeds incubated anaerobically or at elevated temperature. **Canadian Journal of Botany**, v.53, n.22, p.2557-2560, 1975.

WANG, Y.; LI, X.; LI, J. Qian, B.; Fuchun, Z.; Gulinuer, T.; Zhicai, W. Salt-induced hydrogen peroxide is involved in modulation of antioxidant enzymes in cotton. **The Crop Journal**, v.4, n.6, p.490–498, 2016.

XU, Y.; ZHAN, C.; HUANG, B. Heat shock proteins in association with heat tolerance in grasses. **International Journal of Proteomics**, v.2011, p.1-11, 2011.

YADAV, S.K. Cold stress tolerance mechanisms in plants. **Agronomy for sustainable development**, v. 30, n. 3, p. 515-527, 2010.

YUAN, Y.; CAIRNS, J.E.; BABU, R.; GOWDA, M.; MAKUMBI, D.; MAGOROKOSHO, C.; ZHANG, A.; LIU, Y.; WANG, N.; HAO, Z.; VICENTE, F.S.; OLSEN, M.S.; PRASANNA, B.M.; LU, Y.; ZHANG, X. Genome-wide association mapping and genomic prediction analyses reveal the genetic architecture of grain yield and flowering time under drought and heat stress conditions in maize. **Frontiers in Plant Science**, v.9, n.1919, 2019.

ZANDALINAS, S. I., MITTLER, R., BALFAGÓN, D., ARBONA, V., GÓMEZ-CADENAS, A. Plant adaptations to the combination of drought and high temperatures. **Physiology Plant**, v. 162, n. 1, p. 2-12, 2017.

ZANDALINAS, S.I.; MITTLER, R.; BALFAGÓN, D.; ARBONA, V.; GÓMEZ-CADENAS, A. Plant adaptations to the combination of drought and high temperatures. **Physiologia Plantarum**, v. 162, n. 1, p. 2-12, 2018.

ZHANG, G.; ZHANG, M.; ZHAO, Z.; REN, Y.; LI, Q.; WANG, W. Wheat TaPUB1 modulates plant drought stress resistance by improving antioxidant capability. **Scientific Reports**, v.7, p.7549, 2017.

ZHANG, H.; SONNEWALD, U. Differences and commonalities of plant responses to single and combined stresses. **The Plant Journal**, v. 90, n. 5, p. 839-855, 2017.

ZHANG, J.; KIRKHAM, M.B. Lipid peroxidation in sorghum and sunflower seedlings as affected by ascorbic acid, benzoic acid, and propyl gallate. **Journal of Plant Physiology**, v.149, n.5, p.489-493, 1996.

ZHANG, Q.; VAN WIJK, R.; SHAHBAZ, M.; ROELS, W.; SCHOOTEN, BV, VERMEER, JEM, ZARZA, X.; GUARDIA, A.; SCUFFI, D.; GARCÍA-MATA, C.; LAHA, D.; WILLIAMS, P.; WILLEMS, L.A.J.; LIGTERINK, W.; HOFFMANN-BENNING, S.; GILLASPY, G.; SCHAAF, G.; HARING, M.A.; LAXALT, A.M.; MUNNIK, T. Arabidopsis Phospholipase C3 is Involved in Lateral Root Initiation and ABA Responses in Seed Germination and Stomatal Closure. **Plant Cell Physiology**, v.59, p.469–486, 2018.

ZHENG, C.; JIANG, D.; LIU, F.; DAI, T.; LIU, W.; JING, Q.; CAO, W. Exogenous nitric oxide improves seed germination in wheat against mitochondrial oxidative damage induced by high salinity. **Environmental and Experimental Botany**, v.67, n.1, p. 222-227, 2009.

ZHOU, R.; KONG, L.; WU, Z.; ROSENQVIST, E.; WANG, Y.; ZHAO, L.; ZHAO, T.; OTTOSEN, C.O. Physiological response of tomatoes at drought, heat and their combination followed by recovery. **Physiology Plant**, v.165, p.144-154, 2019.

ZIMMER, P.D. Fundamentos da qualidade da semente. *In*: PESKE, S. T.; VILLELA, F. A.; MENEGHELLO, G. E. **Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos**. 3ed., rev. e ampl., Pelotas: Ed. Universitária/UFPel, p. 105-160, 2012