

NATALLY FERREIRA LIMA

**RESPOSTAS ANTIOXIDANTES DE POPULAÇÕES DE TRIGO SOB ESTRESSE
POR SECA - UMA PERSPECTIVA ENZIMÁTICA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Maicon Nardino

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2024**

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade Federal de Viçosa - Campus Viçosa

T

L732r
2024

Lima, Natally Ferreira, 2000-

Respostas antioxidantes de populações de trigo sob estresse por seca : uma perspectiva enzimática / Natally Ferreira Lima. – Viçosa, MG, 2024.

1 dissertação eletrônica (33 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Maicon Nardino.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Agronomia, 2024.

Referências bibliográficas: f. 29-33.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2024.405>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. *Triticum aestivum*. 2. Trigo - Melhoramento genético. 3. Déficit hídrico. 4. Antioxidantes. I. Nardino, Maicon, 1988-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Agronomia. Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento. III. Título.

CDD 22. ed. 633.112

Bibliotecário(a) responsável: Bruna Silva CRB-6/2552

NATALLY FERREIRA LIMA

**RESPOSTAS ANTIOXIDANTES DO TRIGO SOB ESTRESSE POR SECA - UMA
PERSPECTIVA ENZIMÁTICA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 19 de julho de 2024.

Assentimento:

Documento assinado digitalmente
 **NATALLY FERREIRA LIMA**
Data: 31/07/2024 07:24:19-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Natally Ferreira Lima
Autora

Documento assinado digitalmente
 **MAICON NARDINO**
Data: 29/07/2024 19:51:42-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Maicon Nardino
Orientador

*Á minha família, Maria de Lourdes, Osvaldo e
Natália. Á pequena Tally insegura, mas
sonhadora, nós chegamos aqui, desejo sua
felicidade acima de qualquer coisa!*

AGRADECIMENTOS

A Deus.

À Nossa Senhora.

Aos meus pais e irmã, pelo incentivo e amor, só consigo ir mais longe porque meu coração fica com vocês.

À minha avó paterna Maria Dalva (*in memoriam*), infelizmente não nos veremos em casa, mas existe um lar em que nos encontraremos um dia.

Ao padre Paulo Vicente Nobre (*in memoriam*) e a todos os sacerdotes que fizeram e fazem parte da minha vida religiosa, pelo acolhimento espiritual e simpatia.

Às novas e velhas amizades, que são família quando se está tão longe de casa.

Aos amigos do terço, pela companhia na caminhada de fé e alegria que me transmitem.

Aos colegas do Programa Trigo, pelo apoio e momentos agradáveis.

Ao professor Maicon Nardino, pelo acolhimento e orientação.

Aos colegas dos demais laboratórios, que me ajudaram a realizar essa pesquisa, em especial, à amiga Milene Figueiredo.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realizar a pós-graduação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Aos trabalhadores das classes menos favorecidas, que pagam pela maior parcela dos impostos, que seus filhos também possam se beneficiar do ensino público e de qualidade assim como eu.

*“Às pessoas que olham para as estrelas e desejam...
Às estrelas que ouvem e aos sonhos que são atendidos.*
(Sarah J. Maas)

RESUMO

LIMA, Natally Ferreira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2024. **Respostas antioxidantes de populações de trigo sob estresse por seca - Uma perspectiva enzimática.** Orientador: Maicon Nardino.

No Brasil, o consumo de trigo ultrapassa 10 milhões de t ano⁻¹ e, devido a demanda crescente, a produção interna do grão é insuficiente para abastecer o mercado, resultando na importação de volumes significativos do grão. Para contornar este cenário, é imprescindível o desenvolvimento de cultivares de trigo tolerantes a seca e bem adaptadas a regiões onde o período de escassez de chuvas é prolongado (cerrado brasileiro, por exemplo). Buscando explorar um dos mecanismos desenvolvidos pelas plantas que lhes permitem sobreviver em condições de seca, este estudo avaliou a atividade das enzimas antioxidantes, superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase (POX) em resposta à diferentes níveis de disponibilidade de água, em populações do programa de melhoramento de trigo da Universidade Federal de Viçosa - UFV, a fim de caracterizá-las como uma possível alternativa de tolerância ao estresse. Os níveis de déficit hídrico foram iniciados durante o estágio de emborrachamento até o final da antese, período que durou cerca de vinte dias, e após mais dez dias de reidratação amostras de folhas e raízes foram coletadas para quantificação da atividade enzimática. Os resultados mostraram que houve diferença significativa dos efeitos de genótipo, podendo ser associada à tolerância à seca e indicando que o genótipo 5 (TBIO Astro x ORS Madre Pérola) obteve, em geral, as melhores médias de atividade enzimática nas amostras foliares. As correlações altas e positivas entre as variáveis de folha, sugerem um comportamento conjunto das enzimas na mitigação do estresse oxidativo.

Palavras-chave: *Triticum aestivum* L.; Déficit hídrico; Enzimas antioxidantes.

ABSTRACT

LIMA, Natally Ferreira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2024. **Antioxidant responses of wheat populations under drought stress – An enzymatic perspective.**
Adviser: Maicon Nardino.

In Brazil, wheat consumption exceeds 10 million tons per year. Due to the growing demand, domestic production is insufficient to meet the market's needs, resulting in the importation of significant volumes of wheat. To address this situation, it is essential to develop drought-tolerant wheat cultivars that are well adapted to regions where the period of drought is prolonged, such as the Brazilian Cerrado. To explore one of the mechanisms developed by plants that allow them to survive under drought conditions, this study evaluated the activity of antioxidant enzymes—superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and peroxidase (POX)—in response to different levels of water availability in populations from the wheat breeding program at the Federal University of Viçosa (UFV). The aim was to characterize them as a possible alternative for stress tolerance. The water deficit levels were initiated during the booting stage and continued until the end of anthesis, a period that lasted about twenty days. After an additional ten days of rehydration, leaf and root samples were collected for enzyme activity quantification. The results showed significant differences in genotype effects, which could be associated with drought tolerance, indicating that genotype 5 (TBIO Astro x ORS Madre Pérola) generally had the highest average enzyme activity in leaf samples. The high and positive correlations between the leaf variables suggest a joint behavior of the enzymes in mitigating oxidative stress.

Keywords: *Triticum aestivum* L.; Water deficit; Antioxidant enzymes.

SUMÁRIO

RESUMO	6
ABSTRACT	7
1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	10
2.1 Trigo	10
2.2 Estresse oxidativo e atividade enzimática	11
2.3 Superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1)	11
2.4 Catalase (CAT – EC 1.11.1.6)	12
2.5 Peroxidase (POX – EC 1.11.1.7)	12
3 MATERIAL E MÉTODOS	12
3.1 Instalação do experimento	13
3.2 Controle do estresse e irrigação	14
3.3 Extração e quantificação de proteínas	15
3.4 Análise da atividade de superóxido dismutase (SOD) por espectrofotometria	16
3.5 Análise da atividade de catalase (CAT) por espectrofotometria	17
3.6 Análise da atividade de peroxidase (POX) por espectrofotometria.....	17
3.7 Análises estatísticas	18
4 RESULTADOS	19
4.1 Análise de variância.....	19
4.2 Análises enzimáticas.....	20
4.2.1 Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD).....	20
4.2.2 Atividade da enzima catalase (CAT).....	21
4.2.3 Atividade da enzima peroxidase (POX)	23
4.3 Correlações	24
5 DISCUSSÃO	25
6 CONCLUSÃO	28
REFERÊNCIAS	29

1 INTRODUÇÃO

O trigo surgiu no crescente fértil e é uma das culturas agrícolas mais antigas do mundo. Atualmente, é considerado um dos três cereais mais consumidos do planeta e, na safra 2024/25 no Brasil, estima-se que sejam plantados 3,3 milhões de ha e colhidos 9,5 milhões de toneladas, com uma produtividade média de 2.937 kg ha⁻¹ (CONAB, 2024).

O melhoramento genético contribui para o avanço de produtividade de trigo, ainda que persista a preocupação com a autossuficiência do país. Em setembro de 2023, o Brasil importou 409,4 mil toneladas em grãos para suprir a demanda interna, figurando como o 10º país que mais importa trigo no mundo, empatado com o Japão, somando cerca de 5,6 milhões de toneladas entre agosto de 23 e julho de 24 (CONAB, 2024).

Buscando contribuir para o processo de autossuficiência, estudos como o de Chagas et al. (2022) elencam vantagens para inclusão de trigo no cerrado como clima, relevo e condições de solo favoráveis. Neste sentido, a principal chance de expansão da produção de trigo na região do Brasil Central reside no cultivo de sequeiro, sobretudo após a colheita da safra de soja, utilizando o sistema de plantio direto e evitando o problema do trigo irrigado que compete por espaço com culturas mais lucrativas, como feijão, milho semente, café e hortaliças (Júnior et al., 2021).

O cultivo do trigo em sequeiro, entretanto, apresenta algumas limitações como a deficiência hídrica no decorrer do ciclo da cultura, sendo identificada como o principal fator de estresse abiótico, com impacto direto na produção de culturas em todo o mundo, principalmente em regiões tropicais. A seca pode afetar o trigo em todos os estádios da cultura, resultando, por exemplo, em níveis elevados de esterilidade do pólen, de acordo com Saini, Sedgley e Aspinall (1984).

A baixa disponibilidade de água nas regiões de cultivo do Cerrado, apesar de naturais do bioma, tem perspectivas alarmantes devido às mudanças climáticas. Eventos climáticos e meteorológicos extremos estão tornando milhões de pessoas vulneráveis à insegurança alimentar aguda e reduzindo a segurança hídrica (IPCC, 2022). Essa realidade fará com que as plantas sejam expostas a uma variedade de estresses ambientais, podendo ocorrer simultaneamente, gerando graves consequências (Mittler; Blumwald, 2010).

A fim de mitigar tais consequências, os programas de melhoramento têm buscado indivíduos que apresentem desempenho satisfatório. Considerando que dentro de uma cultura, há uma notável diversidade na capacidade de adaptação à seca em plantas cultivadas (Basu et al., 2016) o sistema de defesa antioxidante, que inclui enzimas antioxidantes como superóxido

dismutase (SOD), peroxidase (POD) e catalase (CAT) (Meng et al. 2022), é um dos mecanismos explorados na busca por genótipos adaptados.

Apesar de que, as características de tolerância ao estresse no trigo são, em sua maioria, poligênicas e, portanto, complexas de entender nos níveis molecular e fisiológico (Kulkarni et al., 2017). Autores como Kumar et al. (2023), destacam que ao controlar o acúmulo de espécies reativas de oxigênio, a resposta do sistema antioxidante está relacionada com a tolerância ao estresse oxidativo.

Diante disso, este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade das enzimas peroxidase, catalase e superóxido dismutase, relacionar os padrões de atividades enzimáticas na parte aérea e raízes das plantas de trigo, em cada um dos níveis de estresse e verificar, através dos resultados, a existência de genótipos adaptados às condições de déficit hídrico.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Trigo

O trigo (*Triticum aestivum* L.), também conhecido como trigo pão, é uma espécie anual, predominantemente autógama, alohexaplóide, composta por 21 pares de cromossomos organizados em três subgenomas, A, B e D, genoma AABBDD, $2n = 6x = 42$ (Sears, 1952).

Conforme indicado no relatório do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) em maio de 2024 referente os dados da safra 2024/25, a produção de trigo em todo o mundo para a safra atual é de 798,2 milhões de toneladas, representando um aumento de 1,3% em relação à safra interior. (CONAB, 2024).

Segundo relatório da CONAB (2023), o Brasil ocupa a 14ª posição no ranking de maiores produtores de trigo no mundo, com previsão estimada de 10,3 milhões de toneladas de trigo na safra 2023/24.

Apesar dos avanços na produção e a produtividade do trigo, a cultura é desafiada por secas recorrentes associadas às alterações climáticas a nível mundial (Bapela, 2022). Daryanto et al. (2016), concluíram que quando a disponibilidade de água é reduzida em cerca de 40%, a uma queda de 21% na produtividade do trigo. Vários fatores justificam essa queda, entre eles, o desequilíbrio na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), que apesar de estarem envolvidas no metabolismo celular, sua superprodução sob condições de estresse, causa danos foto-oxidativos a várias entidades celulares, como proteínas e carboidratos (Raja et al., 2017).

Atributos como a tolerância a seca são difíceis de quantificar nas plantas. Ainda assim a identificação e seleção de indivíduos tolerantes consiste em uma estratégia crucial para

aumentar a produção do trigo. Assim, uma vez investigadas, as reações dos genótipos de trigo em déficit de hídrico podem levar ao desenvolvimento de genótipos tolerantes à seca (Sewore et al., 2023).

2.2 Estresse oxidativo e atividade enzimática

A exposição das plantas aos estresses ambientais faz com que estas estejam sujeitas a sofrer com o estresse oxidativo. Naturalmente os processos metabólicos aeróbicos das plantas produzem EROs em várias estruturas celulares como cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos (Barbosa et al., 2023).

Entre os tipos conhecidos de EROs, temos o ânion radical superóxido O_2^- , sendo o mais comum e podendo causar efeitos diretos e indiretos por meio da formação de outras espécies reativas. O peróxido de hidrogênio também é um agente oxidante facilmente difundido através das membranas e participa da formação do radical hidroxila, que por sua vez é considerado um dos mais reativos (Orabi e Abou-hussein, 2019).

Apesar das EROs induzirem danos irreversíveis ao DNA e a morte celular, também desempenham um papel fundamental como moléculas sinalizadoras que controlam o crescimento saudável das plantas e suas respostas ao estresse (Huang et al., 2019). As respostas à seca incluem ajustes morfológicos e fisiológicos (Lamaoui et al., 2018), tratando-se da regulação das EROs, esta, é predominantemente gerenciada por mecanismos de defesa que englobam antioxidantes tanto enzimáticos quanto não enzimáticos.

No sistema enzimático, o superóxido dismutase (SOD) desempenha um papel crucial na conversão da hidroxila em peróxido de hidrogênio, processo catalisado por enzimas como a peroxidase (POX) e a catalase (CAT) (Mansoor et al., 2022).

Compreender as atividades do sistema de defesa antioxidante enzimático diante dos níveis de EROs, são essenciais para a dinâmica da tolerância das plantas durante estresses, a exemplo da seca (Barbosa et al., 2023).

Entretanto, embora existam investigações acerca dos mecanismos de tolerância à seca em diferentes culturas de cereais, incluindo o trigo, estudos sobre estresse oxidativo e resposta antioxidante são limitados (Havrlentová, 2021).

2.3 Superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1)

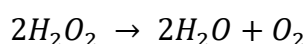
Superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) é uma enzima de oxidoredutase, presente em seres tanto anaeróbicos facultativos como obrigatórios e aeróbicos (Scandalios, 1990; Rice-Evans et al., 1991).

Jiang et al. (2019) concluíram em seu trabalho, que SOD está entre as primeiras enzimas a participar na eliminação de espécies reativas de oxigênio, estando muito envolvido na resposta das plantas ao estresse. Da mesma forma Basu et al. (2010), ao analisar genótipos de arroz induzidos à seca por polietileno glicol (PEG) demonstraram aumento na atividade de SOD induzido pelo estresse. Tais resultados tem destacado a relação desse mecanismo de defesa com o melhor desempenho das plantas expostas a deficiência hídrica.

2.4 Catalase (CAT – EC 1.11.1.6)

Presentes na maior parte dos organismos aeróbicos, as catalases (E.C. 1.11.1.6) são enzimas que auxiliam a célula na regulação de espécies reativas de oxigênio (Tonello, 2011). Agindo na catálise da conversão de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em água e oxigênio (Switala; Loewen, 2002), em plantas, encontra-se localizada nos principais sítios de produção de H_2O_2 , como citosol, cloroplasto e mitocôndria (Del Río et al., 2003).

Estudos como os de Chakraborty e Pradhan (2012) e Wang et al., (2019), afirmam a influência da atividade da CAT como um mecanismo de remoção do H_2O_2 em situações de estresse oxidativo. A reação catalisada pela catalase pode ser descrita com a seguinte equação:



2.5 Peroxidase (POX – EC 1.11.1.7)

A seca pode provocar a inibição ou estímulo de enzimas envolvidas nos processos metabólicos, como a peroxidase (EC 1.11.1.7). A peroxidase é uma das enzimas responsáveis por mudanças fisiológicas em plantas submetidas a estresses (Gaspar et al., 1985). Presente em diversas estruturas celulares, como paredes e membranas, ribossomos e núcleo (Frick, 1976).

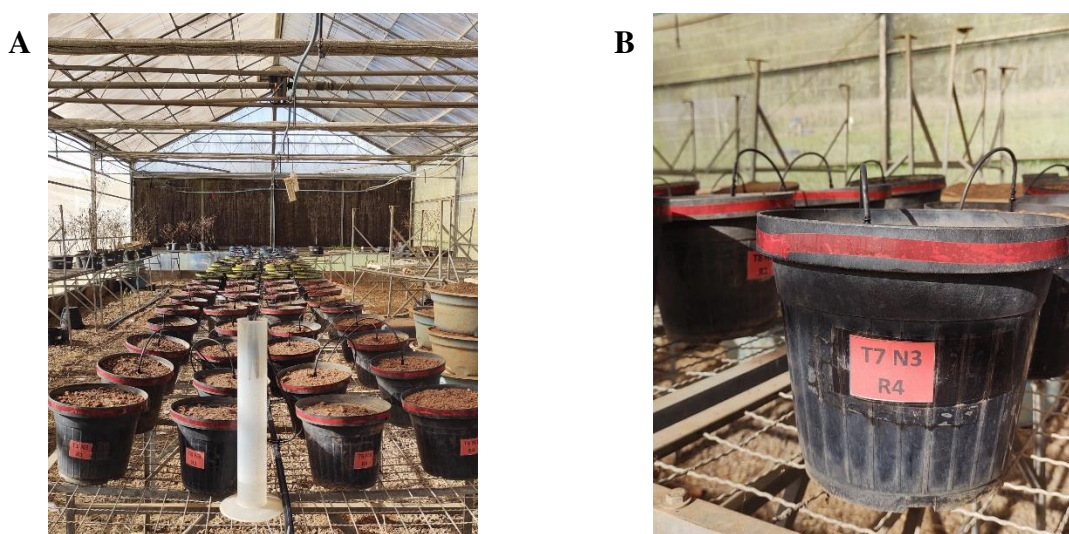
Entre os trabalhos relacionados com a atividade dessa enzima, destacam-se sua atividade no sistema de defesa antioxidante, prevenindo a ocorrência de danos ou até mesmo a morte das células (Magalhães, 2015; Quiriban, 2020).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Instalação do experimento

O experimento foi instalado e conduzido em casa de vegetação (Figura 1) no ano de 2023, nas dependências do Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão Professor Diogo Alves de Mello (20°45'14" S; 42°52'55" O; 648 m de altitude), do Departamento de Agronomia (DAA) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, Minas Gerais.

Figura 1. Instalação dos vasos em casa de vegetação. A – Vasos dispostos nas bancadas; B – Marcação vermelha nos vasos indicando nível crítico de estresse.



Fonte: Elaborada pela autora

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial, 9×3 , com quatro repetições, sendo nove os níveis do fator genótipo, com sete populações oriundas de cruzamentos realizados no programa de melhoramento de trigo da UFV e duas testemunhas e três níveis do fator níveis de disponibilidade de água.

Os genótipos utilizados neste trabalho foram populações que estão na geração F_3 , provenientes de um dialelo parcial realizado em 2021, com avanço de geração em 2022 (F_1 - F_2 /verão) e (F_2 - F_3 /outono-inverno). As testemunhas foram classificadas em tolerante (BRS 404) e suscetível (TBIO Calibre), esta classificação é de acordo com os obtentores das cultivares, Embrapa Trigo e Biotrigo Genética (Quadro 1).

Quadro 1 - Genótipos selecionados para o experimento e cultivares controle.

Genótipos	Populações F_3
1	TBIO Aton $\times$ ORS Madre Pérola
2	TBIO Aton $\times$ ORS Destak

3	TBIO Duque × ORS Madre Pérola
4	TBIO Duque × ORS Destak
5	TBIO Astro × ORS Madre Pérola
6	TBIO Astro × ORS Destak
7	TBIO Toruk × ORS Madre Pérola
Testemunhas	
8	TBIO Calibre
9	BRS 404

Fonte: Elaborada pela autora

Cinco sementes de cada genótipo foram semeadas em um vaso plástico de 7L cheio com 6 kg de solo coletado no vale da agronomia UFV, areia e substrato, nas proporções de 2:1:1. Amostras do conteúdo dos vasos foram retiradas antes do plantio para a análise química e física e curva de retenção de água (CRA).

Os dados da análise física do solo para a curva de retenção de água no solo (CRA, kpa) foram: -10kpa = 0,178kg kg⁻¹; -30kpa = 0,159kg kg⁻¹; -50kpa = 0,148kg kg⁻¹; -100kpa = 0,135kg kg⁻¹; -300kpa = 0,114kg kg⁻¹; -1500kpa = 0,081kg kg⁻¹.

Os vasos foram colocados em casa de vegetação para promover a germinação das sementes e foram regados diariamente com a mesma quantidade de água até o surgimento da primeira folha. Nesta fase, foi realizado um processo de desbaste deixando duas plantas em cada vaso. Os genótipos receberam adubação adequada conforme as exigências da cultura e foram irrigadas igualmente até o estágio de emborrachamento, onde o início do estresse por déficit hídrico começou.

3.2 Controle do estresse e irrigação

Como tratamento controle, os vasos foram irrigados até atingirem a capacidade total do vaso e foram mantidos bem regados até ao final da experiência. Para avaliar o impacto do estresse por déficit hídrico nos genótipos avaliados, foram impostos diferentes níveis de disponibilidade de água, adaptados do trabalho de AL et al., (2024). Para tal, foi necessário suspender a rega, pesar os vasos, e os irrigar novamente para atingir a capacidade de vaso desejada de 60% e 50% para os níveis de estresse intermediário e severo, respectivamente. Este ciclo foi mantido durante vinte dias. Posterior a isso, as plantas receberam reidratação, com regas normais durante dez dias, sendo coletadas uma planta de cada vaso para as avaliações subsequentes.

Os níveis de estresse foram: Nível 1 = controle, nível 2 = -1,5 Mpa e nível 3 = -3,0 Mpa (Quadro 2).

Quadro 2 - Níveis de estresse.

Nível de estresse		Irrigação
1	Controle	Capacidade total
2	-1,5 Mpa	60% da capacidade
3	-3,0 Mpa	50% da capacidade

Fonte: Elaborada pela autora.

3.3 Extração e quantificação de proteínas

As análises bioquímicas foram realizadas em amostras derivadas das folhas e raízes de plantas estressadas/recuperadas e controle, o material fresco foi ultracongelado em nitrogênio líquido e armazenado a -80 °C até as análises.

A obtenção do extrato foliar para determinar a atividade das enzimas POX, CAT e SOD, foi realizada através de uma adaptação da proposta de Peixoto, et. al., (1999), onde 0,3 g de fragmentos de folhas e raízes foram macerados com nitrogênio (N_2) líquido em almofariz até a obtenção de um pó fino. O pó obtido foi homogeneizado em 2 mL de tampão fosfato de potássio 0,1 M (pH 6,8) contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) 0,1 mM, fluoreto de fenilmetilsulfônico (PMSF) 1 mM, diluído em 1 mL de etanol, e polivinilpolipirrolidona (PVPP) 1% (m/v). O conteúdo homogeneizado foi centrifugado a $15.000 \times g$ por 15 min a 4°C e o sobrenadante foi usado como extrato para as determinações enzimáticas em espectrofotômetro (Multiskan GO, Thermo Scientific).

Para calcular as atividades enzimáticas utilizou-se a relação de Beer-Lambert:

$$\Delta A = \Delta C \cdot \epsilon \cdot L$$

Em que:

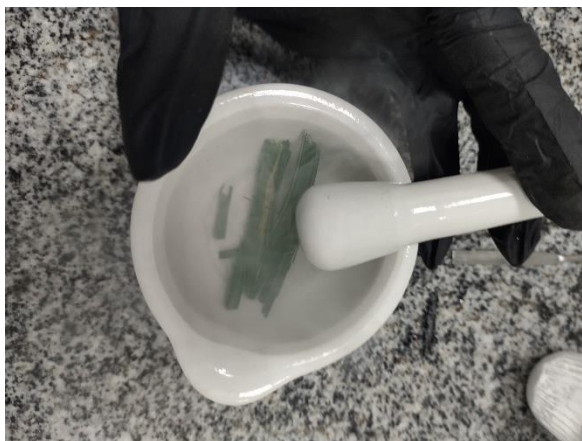
ΔA = variação de absorbância no tempo

ΔC = concentração da enzima

ϵ : coeficiente de extinção molar

L: caminho óptico

Figura 2 - Maceração das amostras ultracongeladas no nitrogênio líquido (N_2)



Fonte: Própria da autora.

A quantificação de proteínas solúveis totais seguiu o protocolo modificado de Bradford (1976). A amostra para a determinação foi preparada coletando-se 20 μL do extrato enzimático e 200 μL do reagente corante de proteína (Bradford reagente Sigma, B6916). A leitura de absorbância foi feita em espectrofotômetro (Multiskan GO, Thermo Scientific) a 595 nm. A curva padrão foi feita com onze concentrações de albumina de soro bovino (BSA): 0, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 e 500 μL , diluídas em 1000, 950, 900, 850, 800, 750, 700, 650, 600, 550 e 500 μL , respectivamente. A placa foi agitada durante 10 min e incubada à temperatura ambiente por 15 min. O resultado foi expresso em mg de proteína g^{-1} de matéria fresca.

Figura 3 - Quantificação de proteínas totais em espectrofotômetro



Fonte: Própria da autora.

3.4 Análise da atividade de superóxido dismutase (SOD) por espectrofotometria

Por fim, a atividade da SOD foi determinada pela adição de 50 μL da preparação enzimática bruta em 1 mL de mistura de reação constituída de tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,8), metionina 19,5 mM, azul de nitro-tetrazólio (NBT) 75 μM , EDTA 0,1 mM e riboflavina 10 μM (Del Longo et al., 1993). A reação ocorreu em temperatura ambiente sob iluminação de uma lâmpada de 10 W. Após 5 min de exposição à luz, a iluminação foi interrompida e a formazana azul, produzida pela fotoredução do NBT, foi medida em espectrofotômetro (Multiskan GO, Thermo Scientific) utilizando-se a absorbância de 560 nm (Giannopolitis e Ries, 1977). As amostras controle, também tiveram suas absorbâncias medidas a 560 nm utilizando-se mistura de reação mantida no escuro por 5 min. Os valores obtidos foram subtraídos das leituras das amostras dos tratamentos que receberam iluminação. Uma unidade da SOD foi definida como a quantidade de enzima necessária para inibir a fotoredução do NBT em 50% (Beauchamp e Fridovich, 1971), a qual foi expressa em U SOD $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína.

3.5 Análise da atividade de catalase (CAT) por espectrofotometria

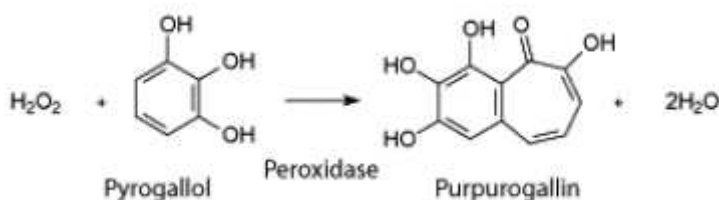
A atividade da catalase (CAT, EC 1.11.1.6) foi determinada adicionando a preparação enzimática diluída, a uma solução contendo H_2O_2 e tampão fosfato de potássio e medindo a diminuição da absorbância baseado no estudo de Havir e McHale (1987). Foi adicionado 200 μL de tampão fosfato de potássio 75 mM (pH 7,0), 10 μL de extrato enzimático diluído e de 90 μL de H_2O_2 41,66 mM. A atividade foi determinada pelo consumo de H_2O_2 , lida em espectrofotômetro (Multiskan GO, Thermo Scientific), a 240 nm, em intervalos de 15 segundos durante 5 min, a 30°C. O coeficiente de extinção molar de 36 $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ (Anderson et al., 1995) foi usado para determinar a atividade da CAT, a qual foi expressa em $\text{mmol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína.

3.6 Análise da atividade de peroxidase (POX) por espectrofotometria

A atividade da peroxidase (POX, EC 1.11.1.7) foi determinada adicionando 10 μL da preparação enzimática bruta, diluída em uma solução contendo 185 μL tampão fosfato de potássio (pH 6,8) contendo H_2O_2 20 mM. Após incubação da solução a 25°C durante 3 minutos, foi adicionado 5 μL pirogalol e a leitura foi feita durante 5 minutos, em intervalos de 15 segundos. A absorbância foi lida em espectrofotômetro (Multiskan GO, Thermo Scientific) a 420 nm, com base no trabalho de Kar e Mishra (1976). O coeficiente de extinção molar de 2,47

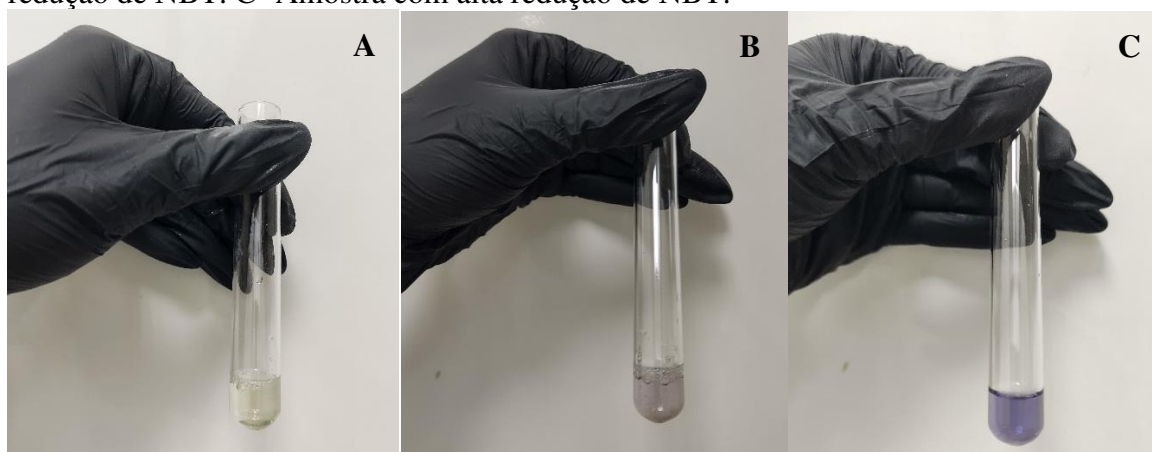
$\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$ (Chance e Maehley, 1955) foi usado para calcular a atividade da POX, a qual foi expressa em μmol de purpurogalina $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína.

Figura 4 - Reação de transformação do pirogallol em purpurogalina na presença de peróxido de hidrogênio e peroxidase.



Fonte: Schmidt, T. F. 2008.

Figura 5 - Amostras após fotoredução do NBT. A- Branco da reação. B- Amostra com baixa redução de NBT. C- Amostra com alta redução de NBT.



Fonte: Própria da autora.

3.7 Análises estatísticas

Para todas as variáveis, foi realizada análise de variância, onde os efeitos dos genótipos (g_i), nível (n_j) e interação tratamento $\times$ nível (gn_{ij}) foram considerados como fixos, como segue:

$$Y_{ijk} = \mu + g_i + n_j + gn_{ij} + e_{ijk}$$

Onde:

Y_{ijk} : observação do i -ésimo genótipo no j -ésimo nível na k -ésima repetição;

μ : média geral;

g_i : efeito fixo da i-ésimo genótipo;

n_j : efeito fixo do j-ésimo nível;

gn_{ij} : efeito fixo da interação entre o i-ésimo genótipo e o j-ésimo nível;

e_{ijk} : erro aleatório experimental médio associado à observação Y_{ijk} .

Uma vez constatada significância dos efeitos pelo teste F, para discriminar as médias entre os genótipos e interações G×N, foi aplicado o teste de agrupamento de média proposto por Scott e Knott (1974), a 5% de probabilidade. Por fim, procedeu-se a análise de correlação, pela metodologia de Pearson. As análises estatísticas e preparo das figuras foram feitos utilizando o software GENES (Cruz, 2016) e RStudio (R Core Team, 2023).

4 RESULTADOS

4.1 Análise de variância

Os resultados da análise de variância (ANOVA) indicaram que houve efeito significativo do efeito de genótipo a 1% de probabilidade pelo teste F, para as atividades de todas as enzimas. Além disso, apesar do efeito de nível não apresentar significância, houve significância para o efeito de interação genótipo × nível a 1% de probabilidade pelo teste F para todas as enzimas (G×N), exceto para CATF (Tabela 1).

Tabela 1 – Resultados da análise de variância de nove genótipos de trigo em três níveis de irrigação para oito variáveis.

FV	GL	F _{cal}							
		PTF	PTR	SODF	SODR	CATF	CATR	POXF	POXR
Gen (G)	8	3,84**	2,92**	25,66**	27,48**	3,98**	3,91**	14,96**	2,93**
Nível (N)	2	19,12**	16,04**	0,72 ^{ns}	0,93 ^{ns}	0,44 ^{ns}	2,22 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,18 ^{ns}
G×N	16	3,10**	2,99	10,61**	10,40**	1,18 ^{ns}	6,76**	6,19**	2,23**
Resíduo	81			-	-	-	-	-	-
Total	107	-	-	-	-	-	-	-	-
H ² (%)		73,98	65,78	96,10	96,36	74,85	74,53	93,32	65,99

Fonte: Elaborada pela autora. FV: Fontes de variação; GL: graus de liberdade; F_{cal}: F calculado; PTF: proteínas totais na folha; PTR: proteínas totais na raiz. SODF: superóxido dismutase para folha; SODR: superóxido dismutase para raiz; CATF: catalase para folha; CATR: catalase para raiz; POXF: peroxidase para folha; POXR: peroxidase para raiz; H² (%): coeficiente de determinação; **: Significativo pelo teste F a 1% de probabilidade; ^{ns}: não significativo pelo teste F a 5% de probabilidade.

Os valores observados do coeficiente de determinação genotípica, variaram de 65,78% (PTR) à 96,10% (SODR) indicando de que estes caracteres possuem maior parte de sua variabilidade explicada pelo efeito de genótipo. Esses resultados sugerem que as populações têm potencial para obtenção de genótipos tolerantes à seca.

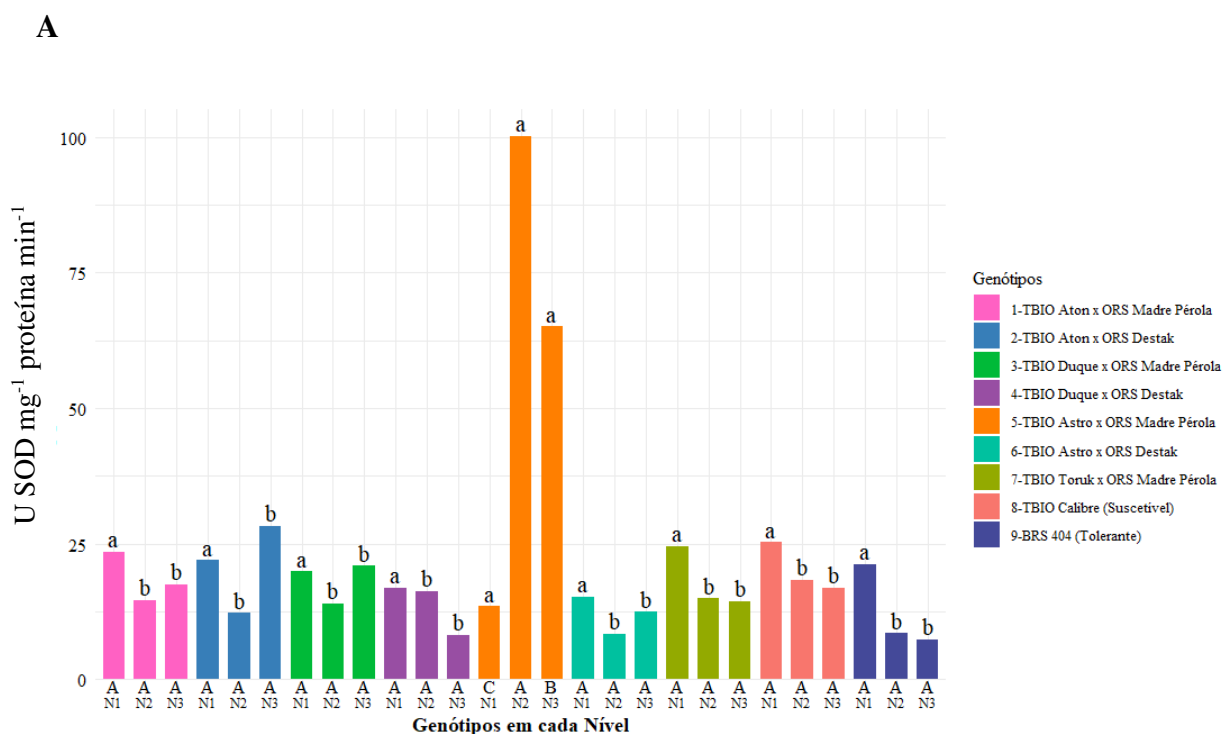
A ANOVA para proteínas totais em folham e raízes apresentou significância. Indicando que os genótipos possuem expressão diferencial dos genes e que houve influência dos níveis de disponibilidade de água no total de proteínas, observado na interação GxN significativa a 1% de probabilidade.

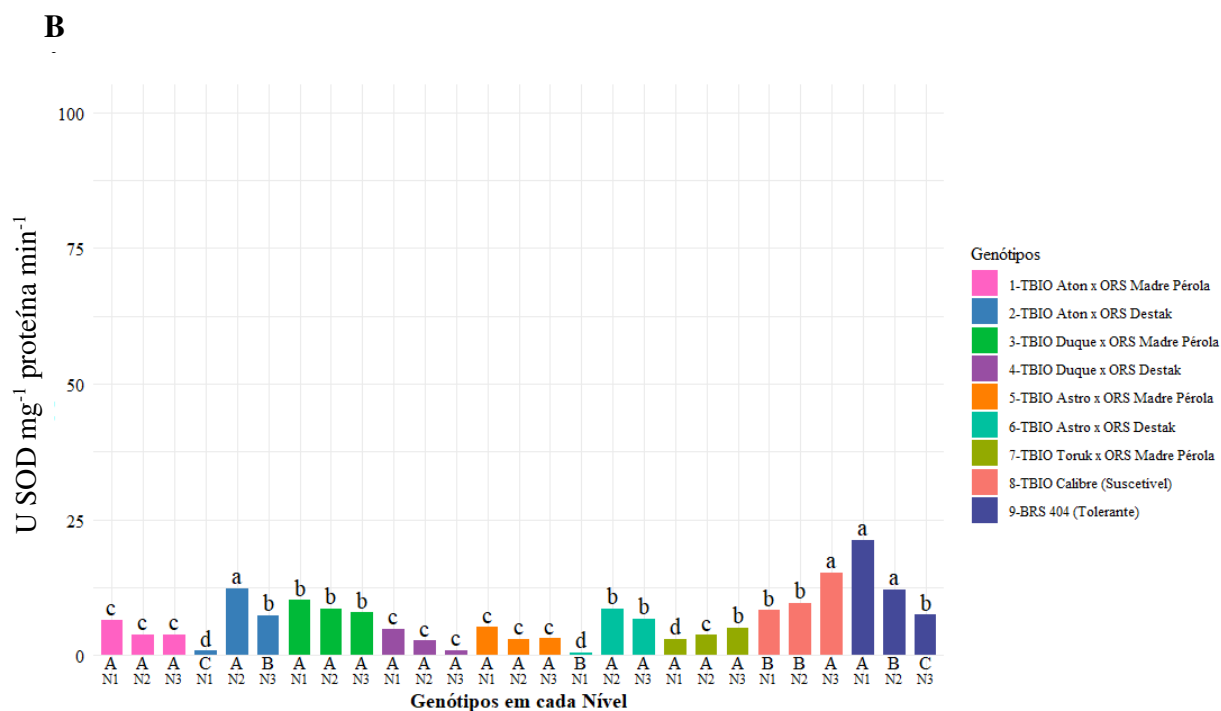
4.2 Análises enzimáticas

4.2.1 Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD)

No que se refere a SOD, foi possível observar que o genótipo 5 (TBIO Astro × ORS Madre Pérola) apresentou a maior atividade de SOD, indicando que esse genótipo possui a maior resposta, para essa enzima, entre todos os genótipos avaliados (Figura 7).

Figura 7 - Resultados da atividade enzimática da superóxido dismutase expressa em U SOD mg^{-1} proteína min^{-1} , A - em folhas (SODF) e B - raízes (SODR) dos genótipos avaliados.





Fonte: Elaborada pela autora. Letras minúsculas distintas indicam diferença significativa pelo teste de Skott e Knott (5%) entre os genótipos do mesmo nível e letras distintas maiúsculas entre os níveis.

Todos os genótipos, com exceção da 5 (TBIO Astro x ORS Madre Pérola), apresentaram atividade de SODF igual estatisticamente as cultivares controle, já para a atividade da SODR, as populações apresentaram médias inferiores às plantas controle.

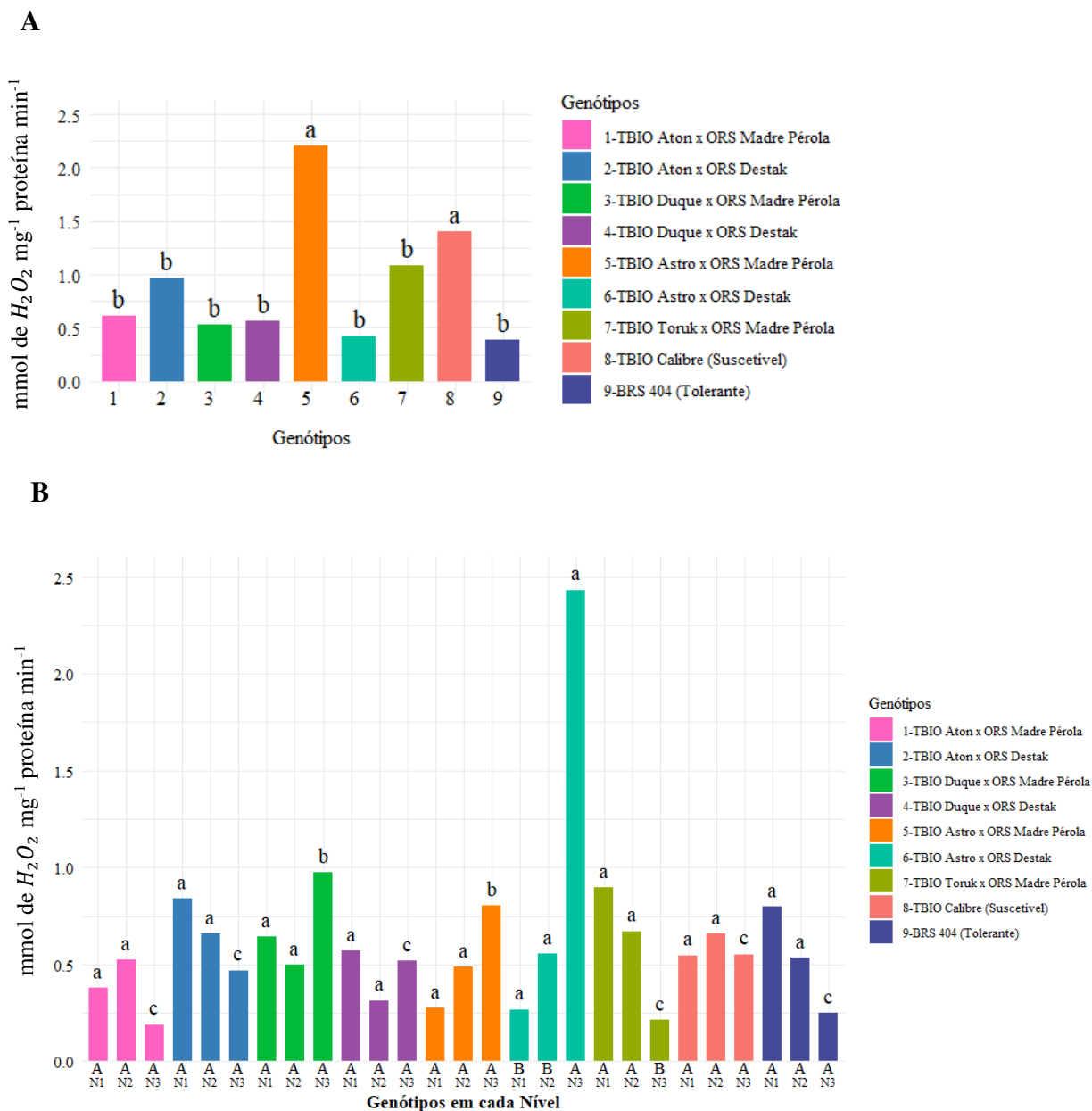
As testemunhas, suscetível (8; TBIO Calibre) e tolerante (9; BRS 404) demonstraram atividades similares de SODF, mas para SODR tiveram comportamento oposto, onde a testemunha suscetível (8; TBIO Calibre) teve menos atividade da enzima antes do estresse e maior no nível mais crítico, ao passo que a testemunha tolerante (9; BRS 404) obteve médias elevadas no nível 1 (controle) e queda significativa quando submetidas ao nível 3 (-3,0 Mpa).

Os demais genótipos, com valores mais baixos de SODF, indicaram uma menor capacidade antioxidante medida pela atividade da enzima SOD nas folhas, mas, elevadas em comparação as amostras de raiz.

4.2.2 Atividade da enzima catalase (CAT)

De acordo com o teste de Skott e Knott (5%), as médias de CATF apresentaram diferença significativa. Nota-se também, que todos os tratamentos apresentaram uma variação semelhante, com exceção do genótipo 5 (TBIO Astro x ORS Madre Pérola) e da testemunha suscetível (8; BRS 404), destacando-se com atividade elevada de catalase, como observado na figura 6.

Figura 6 - Resultados da atividade enzimática da catalase expressa em mmol de H_2O_2 mg^{-1} proteína min^{-1} , A - em folhas (CATF) e B - raízes (CATR) dos genótipos avaliados.



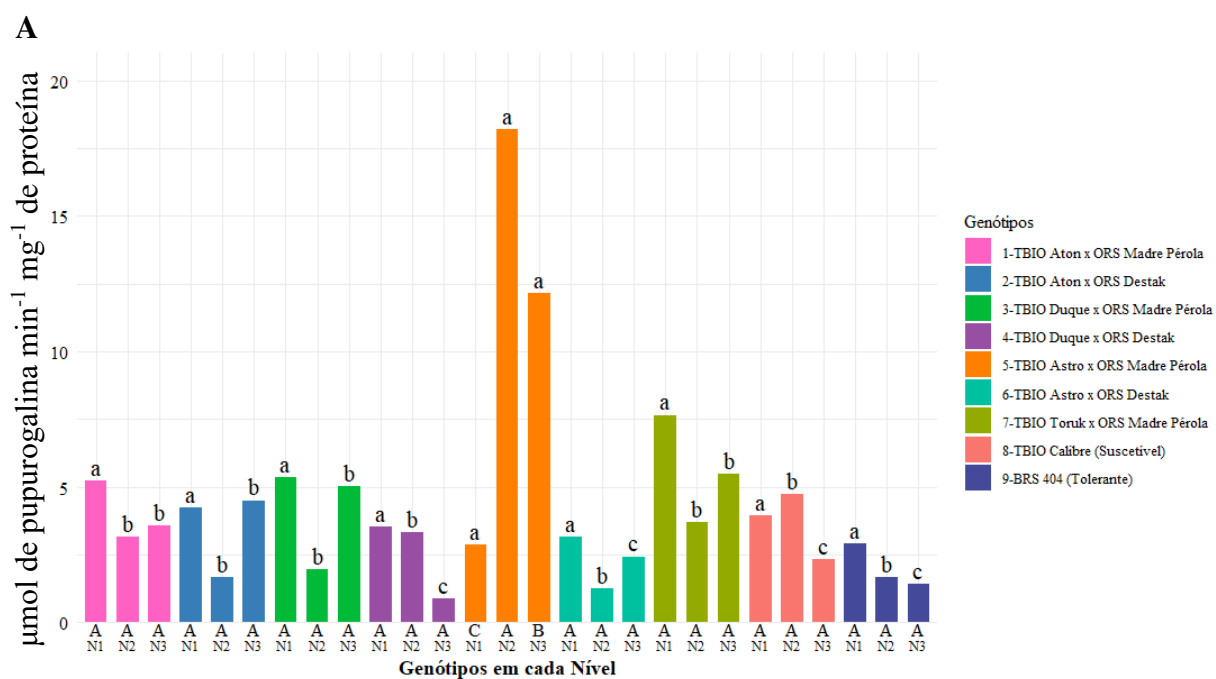
Fonte: Elaborada pela autora. Letras minúsculas distintas indicam diferença significativa pelo teste de Skott e Knott (5%) entre os genótipos do mesmo nível e letras distintas maiúsculas entre os níveis.

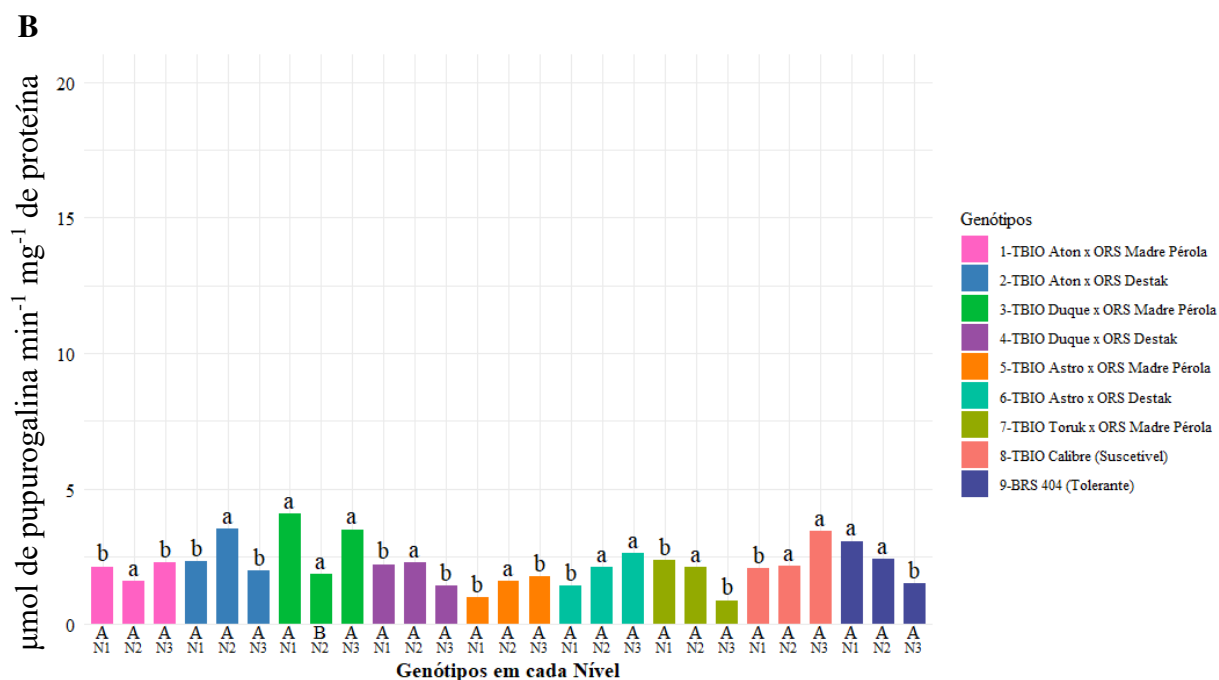
O genótipo 6 (TBIO Astro $\times$ ORS Destak), apresentou a maior atividade da catalase em amostras de raízes, diferindo de todas, com exceção dos genótipos 2 (TBIO Aton $\times$ ORS Destak) e 3 (TBIO Duque $\times$ ORS Madre Pérola), com concentrações superiores as testemunhas.

4.2.3 Atividade da enzima peroxidase (POX)

Quanto à POXF, a ANOVA indicou diferença significativa tanto para efeito de genótipo quanto para a interação (G×N). O genótipo 5 (TBIO Astro × ORS Madre Pérola) apresentou média estatisticamente maior que os demais. Já para POXR, o mesmo, apresentou a menor média, porém, estatisticamente igual a todos os outros, incluindo testemunhas, exceto o genótipo 3 (TBIO Duque × ORS Madre Pérola) que obteve média superior para o nível 3 (-3,0 Mpa) (Figura 5).

Figura 5 - Resultados da atividade enzimática da peroxidase expressa em μmol de pupurogalina $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína, A - em folhas (POXF) e B - raízes (POXR) dos genótipos avaliados.





Fonte: Elaborada pela autora. Letras minúsculas distintas indicam diferença significativa pelo teste de Skott e Knott (5%) entre os genótipos do mesmo nível e letras distintas maiúsculas entre os níveis.

Para POXF as médias dos genótipos de 1 (TBIO Aton x ORS Madre Pérola) a 4 (TBIO Duque x ORS Destak) foram iguais a testemunha suscetível a seca (8; TBIO Calibre), a qual teve atividade enzimática, tanto para POXF quanto POXR, maior que a testemunha tolerante (9; BRS 404) que obteve média similar ao genótipo 6 (TBIO Astro x ORS Destak).

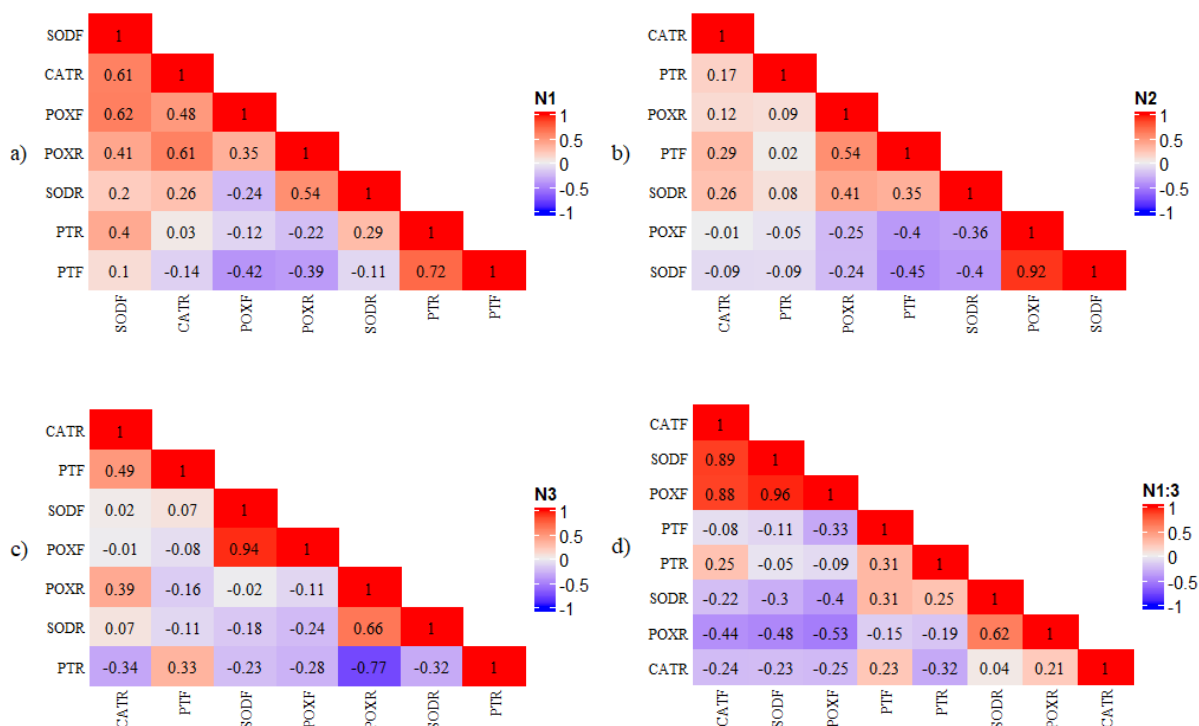
O genótipo 5 (TBIO Astro x ORS Madre Pérola), apresentou interação com os níveis de disponibilidade de água, sendo o segundo nível (-1,5 Mpa) aquele que com média mais elevada seguido pelo terceiro nível (-3,0 Mpa). Esta, também foi superior aos demais genótipos em relação à média, sugerindo uma resposta positiva por parte do genótipo, no que diz respeito a atividade da enzima POX parte aérea das plantas.

As testemunhas tiveram comportamento igual em ambos os níveis para POXF. Para o nível 3 (-3,0 Mpa), a testemunha suscetível (8; TBIO Calibre) demonstrou médias superiores a testemunha tolerante (9; BRS 404) e o inverso em relação ao nível 1 (controle), para a atividade de POXR.

4.3 Correlações

As médias ajustadas foram usadas para estimar as correlações entre variáveis com interações GxN significativas, considerando a atividade de todas as enzimas avaliadas nos genótipos, em relação aos níveis de disponibilidade de água (Figura 8).

Figura 8 – Resultados para a análise de correlação linear de Pearson entre atividade enzimática de folha, raiz e proteínas totais. As correlações -0,77 e acima de 0.70 foram significativas a 5% de probabilidade.



Fonte: Elaborada pela autora. a) Correlação entre as variáveis no nível 1 (controle), b) Correlação entre as variáveis no nível 2 (-1,5 Mpa), c) Correlação entre as variáveis no nível 3 (-3,0 Mpa).

No nível 1 (controle), (Figura 8.a), não houve correlações significativas a 5% pelo teste t. Quando submetidas ao nível 2 (-1,5 Mpa), (Figura 8.b), as enzimas POXF e SODF apresentaram correlação alta e positiva (0,92). A mesma associação das variáveis considerando o nível 3 (-3,0 Mpa), (Figura 8.c), e entre todos os níveis (Figura 8.d), havendo correlação alta e positiva (0,90) entre as enzimas POXF e SODF. Já a enzima CATF se correlacionou positivamente com POXF e SODF.

5 DISCUSSÃO

Os coeficientes de determinação genotípicos (H^2) elevados (acima de 60%), observados na Tabela 1, indicam baixa dispersão dos dados e que a maior parte da variação é devida aos genótipos. Como afirmado por CRUZ et al. (2012) esses valores explicam satisfatoriamente o comportamento destas, em função dos níveis.

A tolerância a seca é entendida como um mecanismo complexo, que envolve vários genes, proteínas, fito hormônios e metabólitos, regulando processos fisiológicos e bioquímicos (Karaliija et al., 2022). A perturbação do metabolismo celular causado pela seca conduziu os genótipos ao estresse oxidativo, por conseguinte observou-se respostas por parte das enzimas avaliadas.

A atividade da enzima peroxidase nas folhas (POXF) no nível 1 (controle), foi similar para todos os genótipos sugerindo que o sistema antioxidante não mostrou diferenças significativas, sendo o genótipo 5 (TBIO Astro x ORS Madre Pérola) aquele que obteve maior incremento em sua atividade, obtendo médias superiores a testemunha tolerante em todos os níveis de estresse.

Zhang e Kirkham (1994) e Huseynova (2012) propõem que o acréscimo na atividade POX está relacionado com a formação de grandes quantidades de H_2O_2 durante o estresse hídrico, ou seja, o aumento de H_2O_2 no sistema induz a atividade POX. Sugerindo que o decréscimo na atividade de POXF e POXR observado nos genótipos, comparada a CATF e CATR, se deve a uma menor concentração de H_2O_2 , devido à maior atividade CAT tanto na parte aérea quanto nas raízes das plantas.

A CAT é uma enzima importante utilizada para eliminar o H_2O_2 . Diferentemente, do que foi observado por Wang et. al, (2019), avaliando a atividade do sistema de defesa antioxidante de arroz (*Oryza sativa* L.), com o prolongamento do nível de seca, a atividade da CATF não diferiu com relação aos níveis (Fig. 6b), entretanto, as médias sugerem atividade enzimática elevada no genótipo 5 (TBIO Astro x ORS Madre Pérola) e testemunha suscetível (8; TBIO Calibre).

As variações na atividade enzimática em função dos níveis de disponibilidade de água, foram diferentes para cada enzima e genótipo, indicando que a resposta imediata a uma diminuição da irrigação, não pode ser associada à tolerância à seca. Entre as três enzimas avaliadas, a CATF respondeu igualmente diante dos níveis de disponibilidade de água. Neste sentido, pode ser considerada como a que tem a resposta mais estável no estágio de desenvolvimento em que as amostras foram coletadas. Por outro lado, os genótipos 3 (TBIO Duque x ORS Madre Pérola), 5 (TBIO Astro x ORS Madre Pérola) e 6 (TBIO Astro x ORS Destak) para CATR apresentaram resposta diferente, na magnitude do aumento da atividade quanto a baixa disponibilidade de água. Dessa forma, poderiam ser utilizadas como indicadores de tolerância ao estresse, complementando o seu estudo com outros parâmetros do estado oxidativo, como a concentração de H_2O_2 e MDA.

A catalase, portanto, desempenhou um papel importante na tolerância do que as demais enzimas sob estresse prolongado, por ter a capacidade de responder desde o início e elevar sua atividade de acordo com a gravidade do estresse (Chakraborty e Pradhan, 2012). Como observado no trabalho de Rossato et al, (2017).

Constituindo a primeira linha de defesa contra EROs acumulados pelo estresse abiótico, SOD, é capaz catalisar a dismutação de $O_2^{\cdot -}$ para H_2O_2 e O_2 (Saibi e Brini, 2018). O H_2O_2 gerado pela SOD é eliminado pela catalase, peroxidase e outras enzimas (KIM et al., 2014). As médias elevadas de SODF nos genótipos 2 (TBIO Aton x ORS Destak), 3 (TBIO Duque x ORS Madre Pérola) e 5 (TBIO Astro x ORS Madre Pérola), sugerem maior tolerância ao estresse abiótico, como afirmado por BERWAL e RAM (2018), que em seu trabalho ressaltam que o aumento significativo nas atividades totais de SOD nas folhas foram relatadas em muitas espécies de plantas.

As médias elevadas U SOD podem ser resultado de altos níveis constitutivos ou induzidos de antioxidantes em uma célula vegetal conferindo resistência a um determinado estresse (Liu et al., 2011). Apesar do tipo e quantidade de isoformas de SODF expressas no genótipo 5 (TBIO Astro x ORS Madre Pérola) não tenham sido medidas, o nível constitutivo da enzima poderia explicar, em parte, as diferenças encontradas entre os genótipos na magnitude e dinâmica da atividade da SOD, como sugerido por Quiriban (2020).

As concentrações de SODR nos genótipos 2 (TBIO Aton x ORS Destak) e 6 (TBIO Astro x ORS Destak), tiveram incremento significativo quando as plantas foram estressadas. Resultados contrários aos observados no trabalho de Rossato et al, (2017).

Já a baixa atividade de SODR nos genótipos, pode se dar pela maior afinidade de POXR e CATR, pelo peróxido de hidrogênio (Barbosa et al., 2014). Fazendo com que, estas, atuassem de maneira mais eficiente na eliminação de EROs.

Na testemunha suscetível (8; TBIO Calibre) o comportamento de SODR foi crescente, indicando que à medida que a cultivar foi submetida a seca em níveis mais severos a resposta antioxidante foi proporcional a ela. O oposto, foi observado na cultivar tolerante. Isto pode indicar que os mecanismos de defesa antioxidante das testemunhas atuam em momentos diferentes quando submetidos ao estresse.

Em um retrospecto geral, a atividade para ambas as enzimas da testemunha suscetível, em relação a testemunha tolerante, obteve médias superiores, isso pode ocorrer devido as tecnologias investidas na produção de novas cultivares. Visto que, a cultivar tolerante foi lançada no ano de 2014 enquanto a cultivar suscetível foi lançada no ano de 2022, tendo assim, o incremento em seu desenvolvimento, de ferramentas atuais utilizadas no melhoramento.

As correlações altas e positivas entre as variáveis de folha, sugerem um comportamento conjunto das enzimas na mitigação do estresse oxidativo. Ao passo que não houve correlações entre a atividade das mesmas enzimas avaliadas nas raízes das plantas, nem destas, com as avaliadas nas folhas.

6 CONCLUSÃO

Os resultados mostraram que a resposta dos genótipos à redução da disponibilidade de água foi significativa, podendo estar associada à característica de tolerância à seca.

Dentre os genótipos avaliados o 5 (TBIO Astro x ORS Madre Pérola) obteve, em geral, as melhores médias nas amostras foliares. A atividade enzimática das raízes foi inferior à da parte aérea, a não ser pela POXR onde a média do genótipo 6 (TBIO Astro x ORS Destak) se destacou entre os demais.

As correlações altas e positivas entre as variáveis de folha, sugerem um comportamento conjunto das enzimas na mitigação do estresse oxidativo. E que, apesar de terem ocorrido correlações entre atividade enzimática de folhas e raízes, nesse estudo elas não foram significativas.

REFERÊNCIAS

- AL, F. O. *et al.* Effect of Water Deficit Stress on Reproductive Stage of Durum Wheat Near Isogenic Lines Carrying the NAM-B1 Gene. **The Open agriculture journal**, v. 18, n. 1, 5 jun. 2024. Disponível em: <<https://openagriculturejournal.com/VOLUME/18/ELOCATOR/e18743315314060/FULLTEXT/#con0>>. Acesso em: 20 jul 2024.
- ANDERSON, D; PRASAD, K; STEWART, R. 1995. Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedlings. **Plant Physiology** 109, 1247-57.
- AR6 Climate Change 2022: Impacts, Adaptation and Vulnerability — IPCC.** Disponível em: <<https://www.ipcc.ch/report/sixth-assessment-report-working-group-ii/>>. Acesso em: 1 nov. 2023.
- BAPELA, T. *et al.* Genetic Improvement of Wheat for Drought Tolerance: Progress, Challenges and Opportunities. **Plants**, v. 11, n. 10, p. 1331–1331, 18 maio 2022.
- BARBOSA, M.T. *et al.* Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, v.44, n.3, p.453-460, 2014.
- BARBOSA, M. R.; SOUZA, L. M. DE; NARCIMENTO, K. R. P. ROS E O ESTRESSE OXIDATIVO POR SECA EM PLANTAS. **Multidisciplinary Sciences Reports**, v. 3, n. 3, 6 jul. 2023.
- BASU, S. *et al.* Differential antioxidative responses of indica rice cultivars to drought stress. **Plant Growth Regulation**, v. 60, n. 1, p. 51–59, 1 nov. 2010.
- BASU, S. *et al.* Plant adaptation to drought stress. **F1000Research**, v. 5, p. 1554–1554, 30 jun. 2016.
- BEAUCHAMP, C; FRIDOVICH, I. 1971. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Analytical Biochemistry** 44, 276-87.
- BERWAL, M.; RAM, Chet. Superoxide dismutase: a stable biochemical marker for abiotic stress tolerance in higher plants. **Abiotic and Biotic Stress in Plants**, p. 1-10, 2018.
- 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**, New York, v.722, p.248-254, 1976.
- CHAGAS, J. H. *et al.* Densidade de semeadura e nitrogênio no trigo BRS 404 em sistema sequeiro em Planaltina - DF / Seeding density and nitrogen in wheat BRS 404 in a rainfed system in Planaltina – DF. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 5, n. 1, p. 1439–1444, 30 mar. 2022.
- CHAGAS, J. H. *et al.* **Tecnologia de produção de trigo sequeiro no Cerrado do Brasil Central**. Embrapa Trigo ed. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2021. p. 103

CHAKRABORTY, U.; PRADHAN, B. Oxidative stress in five wheat varieties (*Triticum aestivum* L.) exposed to water stress and study of their antioxidant enzyme defense system, water stress responsive metabolites and H₂O₂ accumulation. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 24, n. 2, p. 117–130, 1 jun. 2012.

CHANCE, B; MAEHLEY, A. C. 1955. Assay of catalases and peroxidases. **Methods Enzymology** 2, 764-75.

Conab - Histórico mensal trigo. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuário-e-extrativista/analises-do-mercado/historico-mensal-de-trigo>>. Acesso em: 30 out. 2023.

Conab - Histórico mensal trigo. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuário-e-extrativista/analises-do-mercado/historico-mensal-de-trigo>>. Acesso em: 10 jul. 2024.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 2012. v.1. 480p.

CRUZ, C. D. Programa Genes - Ampliado e integrado aos aplicativos R, Matlab e Selegen. *Acta Scientiarum. Agronomy*, v. 38, n. 4, p. 547–552, 1 dez. 2016.

DARYANTO, S.; WANG, L.; JACINTHE, P. A. Global synthesis of drought effects on maize and wheat production. **PloS one**, v. 11, n. 5, p. e0156362, 2016.

DEL LONGO, O. T. *et al.* 1993. Antioxidant defences under hyperoxygenic and hyperosmotic conditions in leaves of two lines of maize with differential sensitivity to drought. **Plant & Cell Physiol** 34, 1023-28.

DEL RÍO, L. A. *et al.* **Plant Peroxisomes, Reactive Oxygen Metabolism and Nitric Oxide**. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/229935661_Plant_Peroxisomes_Reactive_Oxygen_Metabolism_and_Nitric_Oxide>. Acesso em: 7 nov. 2023.

FRIC, F. Oxidative enzymes. In: HEITEFUSS, R.; WILLIAMS, P.H. (Ed.). *Physiological plant pathology*. New York: Springer-Verlag, 1976. p.617-631.

GASPAR, T. *et al.* A two-step control of basic and acidic peroxidases and its significance for growth and development. **Physiologia Plantarum**, v. 64, n. 3, p. 418–423, 1 jul. 1985.

GIANNOPOLITIS, C. N; RIES, S. K. (1977). Superoxide Dismutases: I. Occurrence in Higher Plants. **Plant Physiology**, 59(2), 309–314. doi:10.1104/pp.59.2.309

HAVIR, E.A; McHALE, N.A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. *Plant Physiology*, 84:450-455, 1987.

HAVRLENTOVÁ, M. *et al.* Drought Stress in Cereals – A Review. **Agriculture (Pol'nohospodárstvo)**, v. 67, n. 2, p. 47–60, jul. 2021.

HUANG, H. *et al.* Mechanisms of ROS Regulation of Plant Development and Stress Responses. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, 25 jun. 2019.

HUSEYNOVA, I. M. (2012). Photosynthetic characteristics and enzymatic antioxidant capacity of leaves from wheat cultivars exposed to drought. **Biochimica et Biophysica Acta**, 1817(8), 1516-1523.

JIANG, W. *et al.* Genome-wide identification and transcriptional expression analysis of superoxide dismutase (SOD) family in wheat (*Triticum aestivum*). **PeerJ**, v. 7, p. e8062–e8062, 19 nov. 2019.

JÚNIOR, W. Q. R.; ALBRECHT, J. C.; SILVA, M. S. E. Viabilidade do cultivo do trigo no cerrado do Brasil central. In: **Pesquisa, desenvolvimento e inovação para o Cerrado**. [s.l.] EMBRAPA CERRADOS, 2007.

KARALIJA, E. *et al.* Chickpeas' Tolerance of Drought and Heat: Current Knowledge and Next Steps. **Agronomy**, v. 12, n. 10, p. 2248–2248, 20 set. 2022.

KAR, M. & MISHRA, D. Catalase, peroxidase, and polyphenol oxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology*, 57:315- 319, 1976.

KIM, B. M.; RHEE, J. S.; JEONG, C. B.; SEO, J. S.; PARK, G. S.; LEE, Y. M.; LEE, J. S. Heavy metals induce oxidative stress and trigger oxidative stress-mediated heat shock protein (hsp) modulation in the intertidal copepod *Tigriopus japonicus*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 166, p. 65-74, 2014.

KULKARNI, M. *et al.* Drought Response in Wheat: Key Genes and Regulatory Mechanisms Controlling Root System Architecture and Transpiration Efficiency. **Frontiers in chemistry**, v. 5, 5 dez. 2017.

KUMAR, D. *et al.* Titanium dioxide nanoparticles potentially regulate the mechanism(s) for photosynthetic attributes, genotoxicity, antioxidants defense machinery, and phytochelatin synthesis in relation to hexavalent chromium toxicity in *Helianthus annuus* L. **Journal of hazardous materials**, v. 454, p. 131418–131418, 1 jul. 2023.

LAMAQUI, M. *et al.* Heat and Drought Stresses in Crops and Approaches for Their Mitigation. **Frontiers in Chemistry**, v. 6, 19 fev. 2018.

LIU, C. *et al.* Effect of drought on pigments, osmotic adjustment and antioxidant enzymes in six woody plant species in karst habitats of southwestern China. **Environmental and experimental botany**, v. 71, n. 2, p. 174–183, 1 jun. 2011.

MAGALHÃES, G. C. Análise da atividade de algumas enzimas antioxidantes em plantas de soja (*Glycine max* L. Merr.) sob níveis de manganês, em função da micorriza arbuscular. 15 out. 2015.

MANSOOR, S. *et al.* Reactive Oxygen Species in Plants: From Source to Sink. **Frontiers in plant science**, v. 11, n. 2, p. 225–225, 25 jan. 2022.

MENG, A.; WEN, D.; ZHANG, C. Maize Seed Germination Under Low-Temperature Stress Impacts Seedling Growth Under Normal Temperature by Modulating Photosynthesis and Antioxidant Metabolism. **Frontiers in plant science**, v. 13, 3 mar. 2022.

MITTLER, R.; BLUMWALD, E. Genetic Engineering for Modern Agriculture: Challenges and perspectives. **Annual Review of Plant Biology**, v. 61, n. 1, p. 443–462, 2 jun. 2010.

ORABI, S. A.; ABOU-HUSSEIN, S. D. Antioxidant defense mechanisms enhance oxidative stress tolerance in plants. A review. **Current Science International**, v. 08, n. 3, p. 565-576, 2019.

PEIXOTO P.H.P *et al.* **Aluminum effects on lipid peroxidation and on the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum**. 1999. Disponível em: <<https://www.semanticscholar.org/paper/Aluminum-effects-on-lipid-peroxidation-and-on-the-P.H.P.-Cambráia/d64d82f7bfe69796a15024820e4f35e173285a3e>>. Acesso em: 7 nov. 2023.

Posit team (2023). RStudio: Integrated Development Environment for R. Posit Software, PBC, Boston, MA. URL <http://www.posit.co/>.

QUIRIBAN, A. E. Actividad enzimática antioxidante y contenido de prolina en la tolerancia al estrés hídrico en trigo (*Triticum aestivum* L.). **Unlpam.edu.ar**, 2020.

RAJA, V. *et al.* Abiotic stress: Interplay between ROS, hormones and MAPKs. **Environmental and experimental botany**, v. 137, p. 142–157, 1 maio 2017.

RICE-EVANS, C. A.; DIPLOCK, A. T.; SYMONS, M. C. R. **Techniques in free radical research**. Amsterdam: Elsevier Science Publishers BV, 1991. 291 p. (Advances in Free Radical Research, v. 22).

ROSSATTO T. *et al.* Gene expression and activity of antioxidant enzymes in rice plants, cv. BRS AG, under saline stress. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 23, n. 4, p. 865-875, 2017.

SAIBI, W.; BRINI, F. **Superoxide dismutase (SOD) and abiotic stress tolerance in plants: An overview**. 2018. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/322551748_Superoxide_dismutase_SOD_and_abiotic_stress_tolerance_in_plants_An_overview>. Acesso em: 8 jul. 2024.

SAINI, H. S.; SEDGLEY, M.; ASPINALL, D. Development Anatomy in Wheat of Male Sterility Induced by Heat Stress, Water Deficit or Absciscic Acid. **Functional Plant Biology**, v. 11, n. 4, p. 243–243, 1 jan. 1984.

SCANDALIOS, J. G. (1990). Response of Plant Antioxidant Defense Genes to Environmental Stress. **Advances in Genetics**, 1–41. doi:10.1016/s0065-2660(08)60522-2

SCHMIDT, T. F. **Estudo da interação da peroxidase de raiz forte em interfaces nanoestruturadas**. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) - Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008. doi:10.11606/D.88.2008.tde-11092008-145510. Acesso em: 10 jul 2024.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, v.30, p.507-512, 1974.

SEARS, E.R. Homoeologous chromosomes in *Triticum aestivum*. **Genetics**, 37: 624 p. 1952.

SEWORE B.M; ABE, A; NIGUSSIE, M. (2023) Evaluation of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes for drought tolerance using morpho-physiological traits under drought-stressed and well-watered conditions. **PLoS ONE** 18(5): e0283347. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0283347>

SWITALA, J.; LOEWEN, P. C. Diversity of properties among catalases. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 401, n. 2, p. 145–154, 1 maio 2002.

TONELLO, L. S. Estresse oxidativo em trigo causado por diferentes disponibilidades de fósforo em solução hidropônica. **Ufrgs.br**, 2011.

WANG, X. *et al.* Differential activity of the antioxidant defense system and alterations in the accumulation of osmolyte and reactive oxygen species under drought stress and recovery in rice (*Oryza sativa* L.) tillering. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, 12 jun. 2019.

ZHANG, J; KIRKHAM, M. B. (1994). Drought-Stress-Induced changes in activities of Superoxide Dismutase, Catalase, and Peroxidase in wheat species. **Plant and Cell Physiology**, 35, 785-791.