

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS –
AGRONOMIA

A aplicação exógena de triptofano melhora a germinação e o vigor de plântulas de soja (*Glycine max* L.) mediante ajuste no estresse oxidativo

Autor: Raphael Barros Queiroz
Orientador(a): Prof.^a Dra. Layara Alexandre Bessa

Rio Verde – GO
Agosto – 2022

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
PROGRAMA DE PÓS- GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS –
AGRONOMIA

A aplicação exógena de triptofano melhora a germinação e o vigor de plântulas de soja (*Glycine max* L.) mediante ajuste no estresse oxidativo

Autor: Raphael Barros Queiroz
Orientador(a): Prof.^a Dra. Layara Alexandre Bessa

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS - AGRONOMIA no Programa de Pós- Graduação em Ciências Agrárias - Agronomia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde – Área de concentração Produção Vegetal Sustentável do Cerrado.

Rio Verde – GO
Agosto - 2022

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

QR217a Queiroz, Raphael Barros
A aplicação exógena de triptofano melhora a germinação e o vigor de plântulas de soja (*Glycine max* L.) mediante ajuste no estresse oxidativo / Raphael Barros Queiroz; orientadora Layara Alexandre Bessa; co-orientadora Roniel Geraldo Avila. -- Rio Verde, 2022.
85 p.

Dissertação (Mestrado em Programa de Pós Graduação em Ciências Agrárias - Agronomia) -- Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, 2022.

1. Soja. 2. Concentração. 3. Exógena. 4. Biomoléculas. 5. Fisiologia de Sementes. I. Bessa, Layara Alexandre, orient. II. Avila, Roniel Geraldo, co-orient. III. Título.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

Identificação da Produção Técnico-Científica (assinale com X)

- Tese
- Dissertação
- Monografia - Especialização
- Artigo - Especialização
- TCC - Graduação
- Artigo Científico
- Capítulo de Livro
- Livro
- Trabalho Apresentado em Evento
- Produção técnica. Qual: _____

Nome Completo do Autor: RAPHAEL BARROS QUEIROZ

Matrícula: 2020202310140076

Título do Trabalho: A aplicação exógena de triptofano melhora a germinação e o vigor de plântulas de soja (*Glycine max*L.) mediante ajuste no estresse oxidativo

Restrições de Acesso ao Documento [Preenchimento obrigatório]

Documento confidencial: Não Sim, justifique: A dissertação prevê o uso de um produto exógeno no tratamento de sementes de soja que estimulam a germinação e vigor das plantas. Tal metodologia prevê a construção de artigo científico e patente sobre o uso da formulação.

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: 10/11/2024

O documento está sujeito a registro de patente? [x] Sim [] Não

O documento pode vir a ser publicado como livro? [] Sim [x] Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O/A referido/a autor/a declara que:

1. O documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
2. Obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
3. Cumpru quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Rio Verde, 7 de novembro de 2022

Nome do Autor

Assinado eletronicamente pelo o Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

Ciente e de acordo:

Nome do(a) orientador(a)

Assinatura eletrônica do(a) orientador(a)

Documento assinado eletronicamente por:

- Raphael Barros Queiroz, 2020202310140076 - Discente, em 07/11/2022 21:24:32.
- Layara Alexandre Bessa, ASSISTENTE EM ADMINISTRACAO, em 07/11/2022 21:18:07.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 07/11/2022. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 441506

Código de Autenticação: ef925a3887



INSTITUTO FEDERAL GOIANO

Campus Rio Verde

Rodovia Sul Goiana, Km 01, Zona Rural, 01, Zona Rural, RIO VERDE / GO, CEP 75901-970

(64) 3624-1000



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

Documentos 94/2022 - SREPG/CMPR/CPG-RV/DPGPI-RV/CMPRV/IFGOIANO

A Aplicação exógena de triptofano melhora a germinação e o vigor fisiológico de plântulas de soja (*Glycine max L.*) mediante ajuste no estresse oxidativo

Autor: Raphael Barros Queiroz

Orientadora: Dra. Layara Alexandre Bessa

TITULAÇÃO: Mestre em Ciências Agrárias-Agronomia - Área de Concentração em Produção Vegetal Sustentável no Cerrado

APROVADA em 09 de setembro de 2022.

Prof^a. Dra. Layara Alexandre Bessa (Presidente)

Dr^a Fábيا Barbosa da Silva (Avaliador interno)

Prof^a. Dra. Luciana Cristina Vitorino (Avaliadora externa)

Documento assinado eletronicamente por:

- Fabia Barbosa da Silva, 2020202341360019 - Discente, em 12/09/2022 09:00:07.
- Luciana Cristina Vitorino, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 09/09/2022 20:17:29.
- Layara Alexandre Bessa, ASSISTENTE EM ADMINISTRACAO, em 09/09/2022 15:08:17.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 09/09/2022. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 423949
Código de Autenticação: c8d9164972



A minha mãe Josirene Barros Martins Carneiro e
Ao meu irmão Isaac Martins Carneiro.

OFEREÇO

A minha avó Maria Barros Martins (*in memoriam*) e
Ao meu avô João Martins dos Santos (*in memoriam*).

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pela vida imposta a mim, pela força para superar os desafios e por me dar sabedoria para conduzir da melhor forma possível esta graduação.

A minha mãe, Josirene Barros Martins Carneiro, por todo carinho, incentivo e inspiração e por acreditar acima de tudo nos meus sonhos, pondo os mesmos sempre em primeiro lugar, mesmo que para tal, fosse necessário abdicar dos seus.

Ao meu, irmão Isaac Martins Carneiro pela amizade, amor e carinho.

Ao Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias - Agronomia, pela oportunidade de qualificação profissional e crescimento pessoal.

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

A minha orientadora a pesquisadora e doutra Layara Alexandre Bessa, por confiar em mim quando nem eu mesmo acreditava que seria possível, além de todos os ensinamentos e contribuições durante todo mestrado.

Ao meu coorientador o pesquisador doutor Roniel Geraldo Ávila por me ensinar, guiar e mostrar que a pesquisa é algo extraordinário.

A minha amiga Lúcia e a minha companheira de laboratório Damiana por me auxiliarem na execução de todas as etapas do meu projeto de pesquisa.

Aos Laboratórios de Metabolismo e Genética da Biodiversidade e de Sementes, pelo espaço cedido, apoio material e de equipamentos para a execução deste trabalho.

A todos os professores do PPGCA Agronomia, pelos conhecimentos passados.

E a todos aqueles que de forma direta ou indiretamente contribuíram para a conclusão deste trabalho.

BIOGRAFIA DO AUTOR

RAPHAEL BARROS QUEIROZ, filho de Josirene Barros Martins Carneiro e Raimundo Queiroz de Sousa, nascido em 15 de maio de 1995, na cidade de Palmas, Estado do Tocantins.

Concluiu os anos iniciais do ensino fundamental e os anos finais do ensino médio no Centro de Ensino Dr. Paulo Ramos, na cidade de Sambaíba, Estado do Maranhão.

Em março de 2013, ingressou no curso de Bacharelado em Agronomia pelo Universidade Estadual de Goiás – Campus Ipameri, graduando-se no ano de 2017.

Em novembro de 2020, iniciou o Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias - Agronomia, no Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, sob a orientação da Professora Doutora Layara Alexandre Bessa, finalizando em agosto de 2022.

ÍNDICE GERAL

	Páginas
ÍNDICE DE FIGURAS	7
ÍNDICE DE IMAGENS	9
LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES	10
RESUMO	11
ABSTRACT	12
INTRODUÇÃO GERAL	13
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
1. Soja e Germinação	15
2. Processos metabólicos da germinação	17
3. Triptofano	19
OBJETIVOS	25
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26
CAPÍTULO I: A APLICAÇÃO EXÓGENA DE TRIPTOFANO MELHORA A GERMINAÇÃO E VIGOR DE PLÂNTULAS DE SOJA (<i>Glycine max</i> L.) MEDIANTE AJUSTE NO ESTRESSE OXIDATIVO.	28
1.1 INTRODUÇÃO	30
1.2 MATERIAL E MÉTODOS	32
1.3 RESULTADO	41
1.4 DISCUSSÃO	53
1.5 CONCLUSÃO	64
1.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Curva de absorção de água da cultivar BÔNUS (8579 RSF IPRO) determinada através da embebição de sementes de soja calculada em horas após a semeadura (HAS).

Figura 2. (%) Porcentagem de germinação de plântulas de soja - *Glycine max* L. tratadas com diferentes concentrações 0, 25, 50, 100 e 200 μM de triptofano submetidas ao teste de ANOVA à ($p < 0,05^{**}$) de significância.

Figura 3. (IVG) Índice de Velocidade de Germinação de sementes de soja - *Glycine max* L. calculados dias após a semeadura, mostrando a evolução temporal por meio das médias de plântulas emergidas, sendo submetidas ao teste de ANOVA ($p < 0,05^{**}$) de significância e ajustadas ao modelo de regressão quadrático.

Figura 4. Quantidade de (AST) açúcares solúveis totais em sementes e plântulas de *Glycine max* L. tratadas com diferentes concentrações 0, 25, 50, 100 e 200 μM de triptofano nas diferentes épocas de coleta, sendo estas, 14 horas após a semeadura (HAS), 5 dias após a semeadura (DAS), 8 dias após a semeadura (DAS) em parte aérea e 8 dias após a semeadura (DAS) nas raízes, onde as médias foram submetidas ao teste de ANOVA à ($p < 0,05^{**}$) de significância e ajustadas ao modelo de regressão quadrático.

Figura 5. Quantidade de (AR) açúcares redutores em sementes e plântulas de *Glycine max* L. tratadas com diferentes concentrações 0, 25, 50, 100 e 200 μM de triptofano nas diferentes épocas de coleta, sendo estas, 14 horas após a semeadura (HAS), 5 dias após a semeadura (DAS), 8 dias após a semeadura (DAS) em parte aérea e 8 dias após a semeadura (DAS) nas raízes, onde as médias foram submetidas ao teste de ANOVA à ($p < 0,05^{**}$) de significância e ajustadas ao modelo de regressão quadrático.

Figura 6. Quantidade de amido em sementes e plântulas de *Glycine max* L. tratadas com diferentes concentrações 0, 25, 50, 100 e 200 μM de triptofano nas diferentes épocas de

coleta, sendo estas, 14 horas após a semeadura (HAS), 5 dias após a semeadura (DAS), 8 dias após a semeadura (DAS) em parte aérea e 8 dias após a semeadura (DAS) nas raízes, onde as médias foram submetidas ao teste de ANOVA à ($p < 0,05^{**}$) de significância e ajustadas ao modelo de regressão quadrático.

Figura 7. Quantidade de sacarose em sementes e plântulas de *Glycine max* L. tratadas com diferentes concentrações 0, 25, 50, 100 e 200 μM de triptofano nas diferentes épocas de coleta, sendo estas, 14 horas após a semeadura (HAS), 5 dias após a semeadura (DAS), 8 dias após a semeadura (DAS) em parte aérea e 8 dias após a semeadura (DAS) nas raízes, onde as médias foram submetidas ao teste de ANOVA à ($p < 0,05^{**}$) de significância e ajustadas ao modelo de regressão quadrático.

Figura 8. Atividade da enzima (SOD) superóxido desmutase em sementes e plântulas de *Glycine max* L. tratadas com diferentes concentrações 0, 25, 50, 100 e 200 μM de triptofano nas diferentes épocas de coleta, sendo estas, 14 horas após a semeadura (HAS), 5 dias após a semeadura (DAS), 8 dias após a semeadura (DAS) em parte aérea e 8 dias após a semeadura (DAS) nas raízes, onde as médias foram submetidas ao teste de ANOVA à ($p < 0,05^{**}$) de significância e ajustadas ao modelo de regressão quadrático.

Figura 9. Atividade da enzima (CAT) catalase em sementes e plântulas de *Glycine max* L. tratadas com diferentes concentrações 0, 25, 50, 100 e 200 μM de triptofano nas diferentes épocas de coleta, sendo estas, 14 horas após a semeadura (HAS), 5 dias após a semeadura (DAS), 8 dias após a semeadura (DAS) em parte aérea e 8 dias após a semeadura (DAS) nas raízes, onde as médias foram submetidas ao teste de ANOVA à ($p < 0,05^{**}$) de significância e ajustadas ao modelo de regressão quadrático.

Figura 10. Quantidade de prolina em sementes e plântulas de *Glycine max* L. tratadas com diferentes concentrações 0, 25, 50, 100 e 200 μM de triptofano nas diferentes épocas de coleta, sendo estas, 14 horas após a semeadura (HAS), 5 dias após a semeadura (DAS), 8 dias após a semeadura (DAS) em parte aérea e 8 dias após a semeadura (DAS) nas raízes, onde as médias foram submetidas ao teste de ANOVA à ($p < 0,05^{**}$) de significância e ajustadas ao modelo de regressão quadrático.

Figura 10. Quantidade de (H_2O_2) peróxido de hidrogênio em sementes e plântulas de *Glycine max* L. tratadas com diferentes concentrações 0, 25, 50, 100 e 200 μM de triptofano nas diferentes épocas de coleta, sendo estas, 14 horas após a semeadura (HAS), 5 dias após a semeadura (DAS), 8 dias após a semeadura (DAS) em parte aérea e 8 dias após a semeadura (DAS) nas raízes, onde as médias foram submetidas ao teste de ANOVA à ($p < 0,05^{**}$) de significância e ajustadas ao modelo de regressão quadrático.

Figura 11. Quantidade de (MDA) malondialdeído em sementes e plântulas de *Glycine max* L. tratadas com diferentes concentrações 0, 25, 50, 100 e 200 μM de triptofano nas diferentes épocas de coleta, sendo estas, 14 horas após a semeadura (HAS), 5 dias após a semeadura (DAS), 8 dias após a semeadura (DAS) em parte aérea e 8 dias após a semeadura (DAS) nas raízes, onde as médias foram submetidas ao teste de ANOVA à ($p < 0,05^{**}$) de significância e ajustadas ao modelo de regressão quadrático.

ÍNDICE DE IMAGENS

Imagem 1. Curva padrão para determinação de Açúcares Solúveis Totais (AST) e Açúcares Redutores (AR) de sementes e plântulas de soja - *Glycine max* L. tratadas com diferentes concentrações 0, 25, 50, 100 e 200 μM de triptofano. Acervo pessoal. 2022.

Imagem 2. Determinação da enzima Dismutase do Superóxido (SOD) em sementes e plântulas de soja - *Glycine max* L. tratadas com diferentes concentrações 0, 25, 50, 100 e 200 μM de triptofano. Acervo pessoal. 2022.

Imagem 3. Determinação da enzima Catalase (CAT) devido à redução de peróxido de hidrogênio ocorre a formação de oxigênio e água, análise realizada em sementes e plântulas de soja - *Glycine max* L. tratadas com diferentes concentrações 0, 25, 50, 100 e 200 μM de triptofano. (A) – alíquota sem a adição de H_2O_2 ; (B) – alíquota com a adição de H_2O_2 , sendo possível observar que, após a análise há formação de “bolhas”. Acervo pessoal. 2022.

Imagem 4. Determinação de Peróxido de Hidrogênio (H_2O_2) em sementes e plântulas de soja - *Glycine max* L. tratadas com diferentes concentrações 0, 25, 50, 100 e 200 μM de triptofano. Acervo pessoal. 2022.

Imagem 5. Determinação de Peroxidação Lipídica – Malondialdeído (MDA) em sementes e plântulas de soja - *Glycine max* L. tratadas com diferentes concentrações 0, 25, 50, 100 e 200 μM de triptofano. Acervo pessoal. 2022.

Imagem 6. Primeira contagem aos 5 dias após a semeadura (DAS) de plântulas de soja - *Glycine max* L. tratadas com diferentes concentrações 0, 25, 50, 100 e 200 μM de triptofano. Acervo pessoal. 2022.

Imagem 7. Segunda contagem aos 8 dias após a semeadura (DAS) de plântulas de soja - *Glycine max* L. tratadas com diferentes concentrações 0, 25, 50, 100 e 200 μM de triptofano. Acervo pessoal. 2022.

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES

Símbolo ou sigla	Significado	Unidade
% Germinação	Porcentagem de germinação	%
EROS	Espécies reativas ao oxigênio	$\mu M.g^{-1}$
ABA	Ácido abscísico	ng mL ⁻¹
IVG	Índice de velocidade de germinação	
CAT	Catalase	$\mu mol H_2O_2 min^{-1} mg^{-1}$
SOD	Desmutase do superóxido	$\mu mol H_2O_2 min^{-1} mg^{-1}$
AR	Açúcares redutores	umol de glicose g ⁻¹ MS
AST	Açúcares solúveis totais	umol de glicose g ⁻¹ MS
AIA	Ácido indol acético	ng mL ⁻¹
RPM	Rotação por minuto	rpm
HAS	Horas após a semeadura	
DAS	Dias após a semeadura	
PVPP	Polyvinylpyrrolidona	mg
NBT	Azul de nitrotetrazólio	mg
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio	mmol H ₂ O ₂ mg ⁻¹ MS
MDA	Malondialdeído	$\eta mol MDA mg^{-1} MS$
TCA	Ácido tricloroacético	mg
PL	Peroxidação lipídica	$\eta mol MDA mg^{-1} MS$
O ₂ ⁻	Ânion superóxido	$\mu M.g^{-1}$
EROs	Espécies reativas ao oxigênio	$\mu M.g^{-1}$

RESUMO

QUEIROZ, RAPHAEL BARROS. Instituto Federal Goiano – Câmpus Rio Verde, agosto de 2022. **A aplicação exógena de triptofano melhora a germinação e vigor de plântulas de soja (*Glycine max* L.) mediante ajuste no estresse oxidativo.** Orientadora: Dr^a. Layara Alexandre Bessa. Coorientadores: Dr. Roniel Geraldo Ávila e Dr^a. Luciana Vitorino.

A soja é a principal cultura cultivada a nível mundial, devido ao seu valor econômico, fazem-se necessários estudos, visando o emprego de tecnologias e tratamento de sementes cada vez mais eficientes e monetariamente mais baratas. Por outro lado, a cultura apresenta uma queda em produtividade quando expostas a estresses, principalmente nos estádios iniciais de estabelecimento da cultura. Contudo, nas últimas décadas, vindo sendo empregado como uma alternativa a utilização de aminoácidos e um deles é o triptofano (5-hidroxitriptofano) sendo responsável por aumentar o potencial germinativo e produtivo das culturas, ativação do sistema antioxidante, proteção do aparato fotossintético, incremento na germinação e promoção de enraizamento são algumas das características já conhecidas do triptofano (Trp). Avaliar o efeito do triptofano na germinação e o vigor fisiológico das plântulas de soja (*Glycine max*). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 5 tratamentos, sendo eles 0, 25, 50, 100 e 200 μM de triptofano. As sementes foram colocadas para germinar durante todo o período nas soluções dos diferentes tratamentos. Após a montagem do experimento, foram realizadas 3 coletas, pré-determinadas, sendo elas: 1^a coleta – 14 horas após a semeadura (HAS), 2^a coleta – 5 dias após a semeadura (DAS) e 3^a coleta – 8 dias após a semeadura (DAS), esta por sua vez, foi separadas parte aérea e de raízes. Para tal foi avaliado, biomoléculas do metabolismo primário, malondialdeído, peróxido de hidrogênio, prolina e enzimas do estresse oxidativo. Este trabalho comprovou que o uso do aminoácido triptofano foi responsável por gerar um estresse oxidativo nas sementes quando colocadas pra germinar nas diferentes concentrações, o que aumentou a germinação e vigor de plântulas de soja. A concentração de 100 μM de triptofano foi a que apresentou melhores resultados para as variáveis analisadas como amido, açúcares redutores, açúcares solúveis totais e sacarose, nas épocas de coleta definidas como 5 dias após a semeadura e 8 dias após a semeadura na parte aérea. Já, a concentração de 200 μM de triptofano apresentou os melhores resultados para as variáveis analisadas como porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação, malondialdeído, peróxido de hidrogênio, catalase, superóxido desmutase e prolina 5 dias após a semeadura e 8 dias após a semeadura na parte aérea e na parte de raízes.

PALAVRAS-CHAVES: soja; concentração; exógena; biomoléculas; fisiologia de sementes.

ABSTRACT

QUEIROZ, RAPHAEL BARROS. Instituto Federal Goiano – Câmpus Rio Verde, August 2022. **Exogenous tryptophan application improves twinning and vigor of soybean seedlings (*Glycine max* L.) by adjusting for oxidative stress.** Advisor: Dr. Layara Alexandre Bessa. Co-advisors: Dr. Roniel Geraldo Ávila and Dr. Luciana Cristina Vitorino.

Soybean is the main crop grown worldwide, due to its economic value, studies are necessary, aiming at the use of increasingly efficient and monetarily cheaper technologies and seed treatment. On the other hand, the crop shows a drop in productivity when exposed to stress, especially in the early stages of crop establishment. However, in the last decades, being used as an alternative to the use of amino acids and one of them is tryptophan (5 hydroxytryptophan) being responsible for increasing the germination and productive potential of the cultures, activation of the antioxidant system, protection of the photosynthetic apparatus, increase in germination and rooting promotion are some of the already known characteristics of tryptophan (Trp). To evaluate the effect of tryptophan on germination and physiological vigor of soybean (*Glycine max*) seedlings. The experimental design used was completely randomized, with 5 treatments, being 0, 25, 50, 100 and 200 μM of tryptophan. The seeds were placed to germinate throughout the period in the solutions of the different treatments. After setting up the experiment, 3 predetermined collections were carried out, namely: 1st collection - 14 hours after sowing (HAS), 2nd collection - 5 days after sowing (DAS) and 3rd collection - 8 days after sowing (DAS), which in turn, was separated from shoots and roots. For this purpose, primary metabolism biomolecules, malondialdehyde, hydrogen peroxide, proline and oxidative stress enzymes were evaluated. This work proved that the use of the amino acid tryptophan was responsible for generating oxidative stress in the seeds when placed to germinate at different concentrations, which increased the germination and vigor of soybean seedlings. The concentration of 100 μM of tryptophan was the one that presented the best results for the analyzed variables such as starch, reducing sugars, total soluble sugars and sucrose, at the collection times defined as 5 days after sowing and 8 days after sowing in the shoot. On the other hand, the concentration of 200 μM of tryptophan presented the best results for the variables analyzed, such as germination percentage, germination speed index, malondialdehyde, hydrogen peroxide, catalase, superoxide dismutase and proline 5 days after sowing and 8 days after sowing. sowing in the aerial part and in the root part.

KEYWORDS: Soy; concentration; exogenous; biomolecules; seed physiology.

INTRODUÇÃO GERAL

Sementes de soja que possuem elevada qualidade fisiológica e um alto vigor aumentam a porcentagem de emergência de plântulas em ambientes cultiváveis, permitindo a formação homogênea e o seu crescimento. Além do mais, plântulas que emergem mais rapidamente acarretam mudas mais fortes, com tendência a desempenho superior em condições de campo (MARCOS-FILHO, 2015; PÊGO et al., 2011; SILVA et al., 2018; SCHEEREN et al., 2010; TAVARES et al., 2013). Por outro lado, lotes de sementes de qualidade fisiológica reduzida e um baixo vigor, tem como principal consequência, a menor resistência das plântulas no campo a condições adversas (PESKE et al., 2012), o que contribui com a redução na produtividade das lavouras.

Diversos estudos vêm sendo desenvolvidos nos últimos anos, afim, de mitigar os efeitos danosos dos estresses, e melhorando seu desenvolvimento quando a planta é submetida a uma condição adversa. Uma das alternativas mais eficazes e que vem sendo muito utilizada é o tratamento de sementes, este tratamento pode ser feito com inseticida, nematicida, fungicida, inoculante ou até mesmo com aminoácido, permitindo que a planta, em ambientes cultiváveis, não tenha sua produtividade reduzida (LUDWIG et al., 2011; BETTONI et al., 2013; HAMMAD e ALI, 2014; WANG et al., 2014; MONDAL et al., 2015).

O triptofano (L- Triptofano) é um aminoácido essencial, sendo um fator mitogênico bem conhecido que modula uma série de atividades fisiológicas em humanos, animais e plantas. É o principal responsável pela biossíntese de auxina (AIA), que é tida quase que exclusivamente a partir do seu precursor principal, o triptofano (BERGMANN, GROSSE e RUPPEL, 1970; KEVIN, 2003; SPAEPEN et al., 2007), já foi descrito em mais de 64 espécies de plantas, e o triptofano pode desempenhar um papel importante na modulação do crescimento, desenvolvimento, morfogênese, além, de ser promotora de mecanismos bioquímicos e moleculares, mediante situações de estresses, principalmente de natureza abiótica (AHAMMED et al., 2019; MURCH et al., 2009; KANG et al., 2007; ZHANG et al., 2013; PELAGIO-FLORES et al., 2016; MUKHERJEE et al., 2016; ERLAND et al., 2017; TIRYAKI et al., 2012).

No entanto, é válido ressaltar que mesmo utilizando o tratamento de sementes, o desenvolvimento da semente envolve vias de sinalização altamente coordenadas e ao mesmo tempo complexas associadas à fase de dessecação, acúmulo e mecanismos de eliminação de espécies reativas de oxigênio (ROS), bem como atividade diferencial de uma variedade de reguladores de crescimento (KANG et al., 2007). A germinação de sementes e o estabelecimento de plântulas envolvem a mobilização de reservas acompanhada com a sinalização de longa distância de biomoléculas dos cotilédones as raízes (MURCH et al., 2009; KANG et al., 2007; ZHANG et al., 2013; PELAGIO-FLORES et al., 2016; MUKHERJEE et al., 2016; ERLAND et al., 2017).

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Soja e Germinação

A soja (*Glycine max*), também conhecida como feijão-soja e feijão-chinês, é uma planta pertence à família Fabaceae, família esta, que compreende também plantas como o feijão, a lentilha e a ervilha (CARRÃO-PANIZZI e SILVA, 2011). É empregada na alimentação humana (sob a forma de óleo de soja, tofu, molho de soja, bebida proteica de soja, proteína de soja, soja em grão etc.) e animal (no preparo de rações) (BARCELOS et al., 2002; CANTELLI et al., 2017). É um grão rico em proteínas, fonte de algumas vitaminas do complexo B, como a riboflavina e a niacina, e também em vitamina C (ácido ascórbico) (CANTELLI et al., 2017).

Devido ao seu teor de óleo e proteína do grão, na segunda década do século XX, a soja começou a despertar o interesse das indústrias mundiais. Diversas tentativas de introdução comercial do cultivo do grão em países como: Rússia, Inglaterra e Alemanha fracassaram, provavelmente, devido às condições climáticas desfavoráveis (GODOY et al, 2016), no Brasil, por ser um país tropical, a soja teve boa adaptabilidade (GODOY et al, 2016; MALAVOLTA, 2006).

Dentre os diversos estados brasileiros, a região Centro-Oeste é conhecida por ser a maior produtora de grãos, ocupando a marca de 54 milhões de toneladas na safra 2020/2021. Destes, 35 milhões de toneladas foram produzidas pelo estado do Mato Grosso, o qual ocupa a primeira posição como o estado mais produtor do país. Porém, esse aumento exacerbado na produção desta oleaginosa, bem como outros alimentos, se dá em decorrência do aumento populacional (CONAB, 2021), além, do uso de plantas cada vez mais adaptadas aos locais cultivo (FAVORETO et al., 2018; FAVORETO et al., 2017).

As plantas possuem além de metabolitos vegetais que são secretados durante todo o seu ciclo de cultivo, a presença de fitormônios que regulam diversos processos que vão desde o estabelecimento da cultura: germinação e vigor, sendo os parâmetros para determinar a qualidade da semente, até o crescimento, desenvolvimento, senescência e morte celular causada por estresse, na sua grande maioria, de origem abiótica (HIRAKURI et al., 2018; FAVORETO et al., 2018; BALBINOT JUNIOR et al., 2017).

As sementes que possuem um alto vigor aumentam a porcentagem de emergência em ambientes cultiváveis, permitindo a formação homogênea de plântulas e o seu crescimento. Além do mais, plântulas que emergem mais rapidamente originam mudas mais fortes, com tendência a desempenho superior em condições de campo (SILVA et al., 2018; MARCOS-FILHO, 2015; PÊGO et al., 2011).

Durante o desenvolvimento das sementes, processo esse que antecede a maturação, todos os tipos de nutrientes são acumulados, incluindo lipídios, proteínas e amido (WANG et al., 2021). Após a maturação, a semente ortodoxa é submetida a um estágio de dessecação, o que caracteriza um elo entre a maturação e a germinação (ANGELOVICI, 2010).

A germinação é determinada como a retomada do crescimento do eixo embrionário levando ao desenvolvimento de uma plântula a partir da semente, que se encontra em estado de latência/dormência e compreende uma sequência ordenada de atividades metabólicas iniciadas com a embebição (NOGUEIRA et al., 2018). Do ponto de vista botânico, este processo se encerra com a protrusão da raiz primária, já do ponto de vista agrônomo (tecnologia de sementes) o mesmo só é findado ao originar uma plântula normal que ao ser submetida a condições de campo, ela consegue crescer e se desenvolver, sem afetar a sua produtividade (MARCOS-FILHO, 2015). Vários fatores ambientais influenciam no processo de germinação, destacando-se a água, temperatura, gás carbônico, oxigênio e luz (SANTOS et al., 2018).

A embebição ou absorção de água na semente, é um processo dirigido pelo gradiente de potencial hídrico (ψ_w) entre a semente e seu ambiente, variando muito de espécie para espécie, além, de envolver eventos associados à transição de uma semente seca quiescente para um estado metabolicamente ativo (BEWLEY et al., 2013). A ativação metabólica promove a diminuição da rigidez do tegumento, intensifica a velocidade respiratória, as trocas gasosas, a biogênese da mitocôndria, reparo de DNA, a tradução e/ou degradação de mRNAs armazenados, a transcrição e tradução de novos mRNAs, síntese e a atividade de enzimas e hormônios, além de contribuir significativamente com a regularidade da digestão, translocação e assimilação das reservas para o embrião (MARCOS-FILHO, 2015).

2. Processos metabólicos da germinação

A degradação da reserva de armazenamento é induzida por giberelina (GA), que é produzido pelo embrião e segregado para o escutelo e a camada de aleurona, onde envolve as ações da enzima α -amilase (AMY), que atua diretamente nos grânulos de amido e produz glucanos ramificados e lineares que são posteriormente hidrolisados em glicose pelas ações combinadas das enzimas dextrinase de desramificação, β -amilase (BAM) e α -glucosidase (AGL). Proteinases, lipases e fitinases também são ativadas na camada de aleurona (PENFIELD *et al.*, 2005; THOMAS e RODRIGUEZ, 1994). A ativação dessas enzimas durante a embebição está associada à redução do teor de amido do endosperma e um aumento dos teores de açúcares solúveis como glicose, frutose e maltose (LIU e HOU, 2018; PALMIANO e JULIANO, 1972). A degradação do amido de sementes é regulada de forma antagônica por ácido abscísico (ABA) e giberelina (GA) de forma que, a expressão de genes que degradam o amido, como *AMY* é intensificado por GA, mas é reprimido por ABA (GUBLER *et al.*, 1995 ; GÓMEZ-CADENAS *et al.*, 1999, 2001). Por sua vez, LIU et al. (2009) observou que o óxido nítrico (NO) regula a transcrição do gene *CYP707A2* o qual é responsável pela codificação da proteína (+) - ácido abscísico 8'-hidroxilase, desempenhando um papel importante no catabolismo de ABA durante o primeiro estágio de embebição e favorecendo o processo de germinação.

VERMA et al. (2015) e ORACZ et al. (2007) propuseram que a quebra da dormência e o processo de germinação, tanto em sementes secas quanto embebida é precedida pela produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) além, da carbonilação de proteínas específicas do embrião, que são responsáveis

pela mobilização de reservas por meio de modificações oxidativas de proteínas armazenadoras, desempenhando um papel importante na remodelação do proteoma e do transcriptoma da semente por oxidação seletiva, fazendo com que essas reservas sejam realocadas para o eixo de crescimento rápido – embrião – promovendo a ruptura do tegumento e o crescimento da radícula (DIAZ-VIVANCOS et al., 2013).

A oxidação de proteínas como: enzimas glicolíticas, ATP-sintase mitocondrial, aldolase redutase, metionina sintase, fatores de tradução e chaperones moleculares incita de forma positiva a germinação, pois processos de oxidação específicos podem ajudar a proteger outros componentes celulares contra os efeitos negativos que as ROS podem causar no metabolismo celular. Além disso, o comprometimento de algumas atividades metabólicas (por exemplo, enzimas glicolíticas) pode levar à ativação da via da pentose fosfato (PPP), proporcionando poder redutor para enzimas antioxidantes na forma de NADPH (JOB et al., 2005 ; BARBA-ESPÍN et al., 2011).

Neste contexto, vale destacar a importância de forma positiva das biomoléculas associadas como espécies reativas de oxigênio (ROS), óxido nítrico, brassinosteróides e sulfeto de hidrogênio, além, importância dos fitormônios auxina, giberelinas, etileno e ácido abscísico em vários mecanismos de crosstalk molecular em plantas (BEILBY et al., 2015). As respostas positivas de sinalização celular em decorrência da associação de moléculas no processo de germinação é amplamente discutido e elucidado em algumas espécies: girassol (*Helianthus annuus*), Arabidopsis (*Arabidopsis thaliana*) pimenta preta (*Piper nigrum*) e tomate (*Lycopersicon esculentum*) (BAZIN et al., 2011; JOB et al., 2005; MÜLLER et al., 2006, 2007).

Um ponto crucial ao longo da evolução que contribuiu com a fixação da vida na Terra, foi o desenvolvimento de um sistema de sinalização complexo que propiciou a percepção e interação do organismo com o ambiente (RAMAKRISHNA et al., 2012). Essa sinalização pode ocorrer em curtas ou longas distâncias por intermédio do sistema neurobiológico, constituído por sinais elétricos, hidráulicos e de moléculas sinalizadoras, propiciando o acoplamento das respostas do organismo (PELAGIO-FLORES et al., 2011, 2016). Em animais, atualmente está bem estabelecida o papel das moléculas sinalizadoras tais como acetilcolina, catecolaminas, histaminas, triptofano, serotonina, dopamina, melatonina, GABA (*ácido γ -aminobutírico*) e glutamato, conhecidas como neurotransmissores metabólicos as quais desempenham funções primordiais na detecção, locomoção, visão, processamento de informação e desenvolvimento (RAMAKRISHNA et al., 2012). Em plantas, há muito tem sido notado pelos cientistas que cada um desses

compostos está presente, no entanto, pouco se sabe suas funções fisiológicas principalmente em relação ao triptofano, tendo em vista que este aminoácido, é precursor de diversas outras moléculas (ERLAND et al., 2017; BRENNER et al., 2006).

3. Triptofano

O triptofano (Trp) é o principal precursor das vias de biossíntese de AIA e é sintetizado através de uma rota, inicialmente, comum a três aminoácidos: triptofano, fenilalanina e tirosina. BERGMANN, GROSSE e RUPPEL, (1970), ao estudarem a dinâmica da serotonina em sementes de *Juglans regia*, os autores verificaram que triptofano é o precursor da auxina, serotonina e melatonina, uma vez que a biossíntese de auxina e serotonina em cotilédones isolados em meio de cultura é aumentada pelo fornecimento de triptofano exógeno.

MUKHERJEE (2018) cita a importância do aminoácido triptofano, tendo em vista que o mesmo ao ser degradado é responsável por produzir auxina e este fitormônio tem um papel fundamental para o alongamento celular. Levando em consideração a auxina em associação com giberelina, ácido jasmônico, ácido salicílico e ABA, estas moléculas afetam positivamente o funcionamento da proteína PIN e esta, por sua vez, é responsável por regular a protrusão de radícula (MUKHERJEE, 2018; WAN et al., 2018). Por outro lado, a associação entre auxina e ácido jasmônico é responsável por modular a arquitetura das raízes, além, de promover tolerância de plantas a estresses abióticos, causados pela deficiência hídrica ou bióticos, causados por fungos ou insetos (WAN et al., 2018).

Paralelamente, SHERWIN (1970), verificou em hipocótilo de pepino a presença da enzima descarboxilase do triptofano, responsável pela conversão de triptofano em triptamina, na presença de piridoxal-5'-fosfato em um meio com pH 7,0. Subsequentemente, foi verificado que a triptamina é hidroxilada a auxina pela ação da enzima constitutiva, triptamina-5-hidroxilase. Assim sendo, a via biosintética do triptofano torna-se elucidada em plantas (GROSSE; KARISCH; SCHRÖDER, 1983; KANG et al., 2015).

Para tanto, atualmente duas vias são propostas em plantas (Figura 1) (FAN et al., 2018).

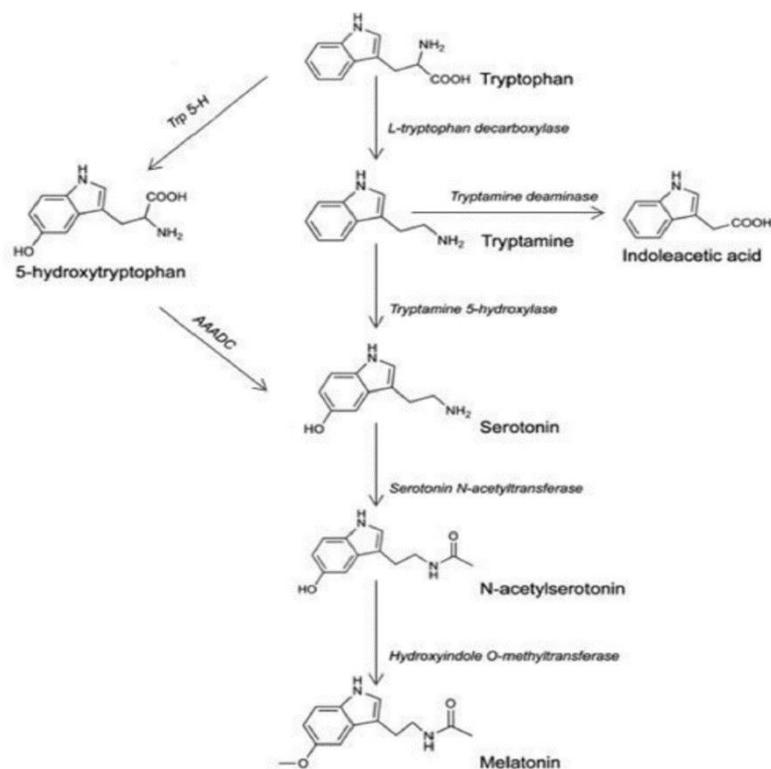


Figura1. Biossíntese de auxina, serotonina e melatonina a partir do triptofano regulada pelas enzimas triptofano descarboxilase, aromática L-aminoácido descarboxilase (AADC), triptamina 5 hidroxilase (TRP 5H), triptamina deaminase, serotonina-N-acetil transferase e hidroxindol O-metil transferase.

Fonte: FAN et al., 2018.

A partir da elucidação de sua rota biossintética e verificada sua analogia com o hormônio vegetal, auxina, diversos estudos emergiram buscando avaliar o papel do triptofano no desenvolvimento vegetal. Em 2007, KANG et al., (2007a) realizaram a caracterização da triptamina 5-hidroxilase em plantas de arroz, e verificaram que a maior atividade da enzima é observada em raízes. Além disso, foi verificado que a enzima tem a atividade aumentada na presença de triptamina e reduzida na presença de altas concentrações de triptofano. Posteriormente, KANG et al., (2007b) caracterizaram a enzima descarboxilase do triptofano em planta de arroz e verificaram que a enzima exibe um alto K_m na presença de triptofano, indicando uma alta especificidade da enzima pelo seu substrato, triptofano. Subsequentemente, KANG et al., (2009), ao realizarem a superexpressão da descarboxilase do triptofano em planta de arroz e posterior indução de senescência nas plantas, puderam observar que os níveis de triptofano aumentaram nas folhas senescentes e isso corroborou para um atraso na senescência dessas folhas. Esses dados reafirmam os resultados encontrados por HUANG e KAO, (1992).

Em 2010, ABDEL-MONEM et al., (2010) realizaram o primeiro estudo verificando a capacidade do triptofano em amenizar os efeitos metabólicos promovido

pelo estresse salino. Nesse estudo, os autores cultivaram em campo, girassóis em três diferentes concentrações de sal (NaCl) no solo e trataram as plantas via foliar com diferentes concentrações de triptofano e serotonina. A aplicação de triptofano resultou em aumentos significativos no crescimento da planta, produção de sementes e rendimento de óleo. Além disso, foi verificado um aumento nos níveis de AIA, pigmentos fotossintéticos, carboidratos totais e conteúdo proteico. É válido ressaltar ainda, que um dos efeitos provocados pelo estresse salino é a indisponibilidade de água para o vegetal, uma vez que o sal presente no solo reduz o potencial osmótico do mesmo. Assim sendo, plantas com um sistema radicular eficiente na captura de água exibem superior desempenho em solos salinos.

CABRINI et al., (2019) constataram que triptofano aplicado de maneira exógena está diretamente relacionado a germinação, crescimento, indução do sistema antioxidante enzimático e biossíntese de moléculas osmorreguladoras em plantas de milho (*Zea mays* L.) quando associada ao fungo *Torulaspora globosa*. RODRIGUES et al., (2016) citam que plantas de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) quando suplementadas com triptofano, são capazes de promover a biossíntese de ácido 3-indol acético por meio de genes presentes nas bactérias da espécie *Gluconacetobacter diazotrophicus*.

Os aminoácidos atuam como biorreguladores auxiliando no desempenho de diversos aspectos, eles são responsáveis por tornarem as plantas mais tolerantes aos fatores de estresse e, conseqüentemente, estas podem se desenvolver de forma vigorosa em condições de cultivo adversas. Sua ação é relatada na sinalização afim de aumentar a eficiência do sistema antioxidante, aumentando a expressão de genes que são produzidos no momento de estresse, bem como na regulação de osmólitos (SRIVASTAVA et al., 2016).

Por te atuação direta na estruturação do crescimento das plantas, os biorreguladores são capazes de manter o vigor vegetativo, pois, agem sob a floração, dentre outros aspectos (TAN et al., 2012; SZAFRANSKA et al., 2012, 2013). Quando aplicados em níveis adequados, estes, são responsáveis por mitigar os efeitos danosos causados pelo estresse, além, de potencializar o desempenho produtivo das plantas (VLOT et al., 2009; RIVAS-SAN VICENTE et al., 2011). MILIC et al. (2018), relatam melhoras relacionadas ao tamanho dos frutos, rendimento e desenvolvimento e plantas de mirtilo, quando submetidas a aplicação de triptofano. Resultados semelhantes foram encontrados por REHMAN et al. (2018), que obteve uma melhoria na qualidade de

maçãs, no seu peso, tamanho e rendimento, com aplicação de diferentes biorreguladores, sendo um deles o triptofano.

ZHANG et al. (2014), revelam que plantas com níveis ideais de triptofano tem um melhor desempenho mediante situações adversas causadas por estresses bióticos e abióticos. (AHAMMED, *et al.*, 2019). Deste modo, o triptofano é capaz de percorrer mais facilmente os compartimentos intracelulares, e agir sobre espécies reativas de oxigênio (EROs), além, de ser uma molécula biorreguladora natural que está presente em quase todas as espécies vegetais já estudadas (ERLAND *et al.*, 2019; WANG *et al.*, 2017; ARNAO; HERNANDEZ-RUIZ, 2019; ZHANG *et al.*, 2014). TAN et al. (2013) nos afirma que altos níveis de triptofano produzida pelas mitocôndrias e cloroplastos são responsáveis por estas organelas celulares contra possíveis estresse oxidativo levando em consideração sua direta interação com radicais livres, além, de preservar as funções fisiológicas das plantas, não afetando o seu crescimento e nem seu desenvolvimento.

Vários estudos citam o triptofano como uma molécula promotora de crescimento e de enraizamento primário e secundário, sendo um fator determinante para a prevenção de possíveis estresses (CHEN et al., 2009; HERNÁNDEZ-RUIZ et al., 2004; SARROU et al., 2014; ZHANG et al., 2014; ERLAND et al., 2019, CHEN et al., 2020), além, de atuar na regulação da germinação de sementes, melhorando significativamente o percentual de germinação, promovendo um maior desenvolvimento radicular e peso fresco final (HERNADEZ-RUIZ et al., 2010; WEI et al., 2014; XIAO et al., 2019).

Em trabalho desenvolvido por XIAO et al. (2019), os autores relatam melhoras na germinação de sementes de algodão, submetidas a diferentes doses de triptofano exógeno, sendo este, capaz de impulsionar o desempenho e o crescimento/desenvolvimento inicial de sementes de algodão, já CHEN et al. (2020) citam que este mesmo biorregulador foi responsável por atenuar os efeitos adversos do estresse salino em sementes de algodão. O pré tratamento de sementes com diferentes concentrações de triptofano aumentou o conteúdo de H₂O₂ e MDA já que causou um estresse oxidativo na semente, sendo responsável também por elevar os níveis de açúcares, proteínas e prolina conforme teve aumento nas concentrações de triptofano (CHEN et al., 2020).

Estudos recentes demonstram que o tratamento exógeno com triptofano desempenha um papel de suma importância na defesa das plantas contra alguns estresses, sendo estes: déficit hídrico, salinidade, estresses químicos, e estresse por altas temperaturas, que são responsáveis pela produção elevada de espécies reativas de oxigênio (EROs) (WANG et al., 2017; AHAMMED, *et al.*, 2019; XIAO et al., 2019,

CHEN et al., 2020), essa molécula tem ação crucial, pois, além de sinalizadora, atua na captura direta de radicais livres, protegendo outras estruturas contra danos oxidativos e aumentando a eficiência da cadeia de transporte mitocondrial (TAN et al., 2010; WANG et al., 2017; AHAMMED, et al., 2019), tendo em vista que apresenta uma relação sinérgica com outros compostos antioxidantes como a glutatona, ácido ascórbico, e regulação de atividade de enzimas antioxidantes, como a superóxido desmutase (SOD), peroxidase (POD) catalase (CAT), glutatona peroxidase (GSH- PX), glutatona redutase (GSSG-R) (GITTO et al., 2001; RODRIQUEZ et al., 2004; FISCHER et al., 2013; XIAO et al., 2019; ARNAO et al., 2019).

Em conformidade com essa afirmação, AHAMMED et al. (2019) citam que a atividade das enzimas SOD e APX, cresceu cerca de 90% e 20%, respectivamente, quando houve a aplicação de triptofano em combinação com alta temperatura, comparado as plantas controles (AHAMMED et al., 2019).

WEI et al. (2014) em trabalhos desenvolvidos com a cultura da soja relata que o triptofano promoveu um aumento dos genes envolvidos na divisão celular, fotossíntese, metabolismo de carboidratos, biossíntese de ácidos graxos e metabolismo de ascorbato, bem como, na defesa antioxidante, no aparato fotossintético, em processo de atraso de senescência foliar, em indução de genes de divisão celular, dentre outros aspectos (GRAHAM, 2005; WANG et al., 2012; SZAFRAŃSKA et al., 2013).

Embora exista na literatura estudos recentes a respeito da associação entre moléculas, principalmente do triptofano-auxina, auxina-melatonina, auxina-giberelina, auxina-ácido jasmônico, em algumas espécies, os mesmos, por sua vez, não fazem inferência a estudos *in situ* em plantas de forma integrada, levando em consideração todo o seu ciclo de crescimento e desenvolvimento, quando submetidos a cultivo em campo ou laboratórios, já que são ambientes distintos, dificultando o completo entendimento do papel da triptofano e se o mesmo está diretamente relacionado a melhorias em processos fisiológicos de plantas. Para exemplo ressalta-se que até hoje não se sabe o triptofano é um mensageiro direto modulando positivamente o metabolismo primário, secundário, ou ambos, qual o seu principal papel quando a planta é submetida estresse, se este aminoácido pode ser sintetizado por uma rota alternativa ou se o mesmo pode ser responsável pelo “start” e desencadear diversos papéis fisiológicos, já que esta molécula é muito estudada, elucidada e de maneira geral desempenha um papel fundamental em animais, porém, pouco se sabe da sua importância quando relacionada à plantas de forma unitária e não em associação com outras moléculas ou até mesmo com microrganismos.

A fim de elucidar o papel triptofano durante a germinação, esta pesquisa buscou entender sua função em processos fisiológicos relacionados a germinação e vigor de sementes, bem como, no crescimento das plântulas de soja mediante estresse oxidativo.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Avaliar o efeito do triptofano na germinação e o vigor fisiológico das plântulas de soja (*Glycine max*). Para tal foram avaliados, biomoléculas do metabolismo primário, malondialdeído, peróxido de hidrogênio, prolina e enzimas do estresse oxidativo.

Objetivos específicos

Determinar se o triptofano aumentou a germinação e vigor de plântulas de soja quando colocadas pra germinar nas diferentes concentrações do aminoácido e qual concentração obteve melhores resultados;

Determinar a concentração de triptofano a ser aplicada de forma exógena em sementes para os estudos relacionados à qualidade fisiológica;

Determinar como o triptofano age sobre o sistema antioxidante enzimático durante a germinação de sementes e germinação de plântulas de soja.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERGMANN, L.; GROSSE, W.; RUPPEL, H. G. The formation of serotonin in *Juglans regia* L. **Planta**, v. 94, n. 1, p. 47-59, 1970.

BETTONI, M.M.; FABBRIN, E.G.S.; OLINIK, J.R.; MÓGOR, Á. F. Efeito da aplicação foliar de hidrolisado proteico sob a produtividade de cultivares de brócolis. **Revista Agro ambiente On-line**, v.7, n.2, p.179-183, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.18227/1982-8470ragro.v7i2.943>.

ERLAND, Lauren Alexandra Elizabeth; SAXENA, Praveen K. Beyond a neurotransmitter: the role of serotonin in plants. **Neurotransmitter**, v. 4, 2017.

HAMMAD, S.A. R.; ALI, O.A.M. Physiological and biochemical studies on drought tolerance of wheat plants by application of amino acids and yeast extract. **Annals of Agricultural Science**.v.59, n.1, p.133-145, 2014.DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aoas.2014.06.018>

HILDEBRANDT, T. M.; NESI, A. N.; ARAÚJO, W. L.; BRAUN, H. P. Amino acid catabolism in plants. **Molecular Plant**.v.8, p.1563-1579, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molp.2015.09.005>.

KANG, S. et al. Characterization of tryptamine 5-hydroxylase and serotonin synthesis in rice plants. **Plant cell reports**, v. 26, n. 11, p. 2009-2015, 2007a.

KANG, Sei et al. Characterization of rice tryptophan decarboxylases and their direct involvement in serotonin biosynthesis in transgenic rice. **Planta**, v. 227, n. 1, p. 263-272, 2007b.

KEVIN, V.J. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers; **Plant and Soil** v.255, p.571–586, 2003.

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Londrina: ABRATES, 2015. 660 p.

MUKHERJEE, Soumya et al. Salt stress-induced seedling growth inhibition coincides with differential distribution of serotonin and melatonin in sunflower seedling roots and cotyledons. **Physiologia plantarum**, v. 152, n. 4, p. 714-728, 2018.

MURCH, Susan J.; SAXENA, Praveen K. Role of indoleamines in regulation of morphogenesis in in vitro cultures of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.). In: XXVI International Horticultural Congress: **The Future for Medicinal and Aromatic Plants 629**. 2009. p. 425-432.

PÊGO, R.G; NUNES, U.R; MASSAD, M.D. Qualidade fisiológica de sementes e desempenho de plantas de rúcula no campo. **Ciência Rural**, v.41, n.8, p.1341-1346, 2011.

PELAGIO-FLORES, Ramón; RUIZ-HERRERA, León Francisco; LÓPEZ-BUCIO, José. Serotonin modulates Arabidopsis root growth via changes in reactive oxygen species and jasmonic acid–ethylene signaling. **Physiologia plantarum**, v. 158, n. 1, p. 92-105, 2016.

PESKE, S.T.; VILLELA, F. A.; MENEGHELLO, G. E. **Sementes: Fundamentos Científicos e Tecnológicos**. 2º ed. Pelotas, UFPel. 2012.573 p.

SCHEEREN, B.R.; PESKE, S.T.; SCHUCH, L.O.B.; BARROS, A.C.S.A. Qualidade fisiológica e produtividade de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**. v.32, n.3, p.035-041, 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbs/v32n3/v32n3a04.pdf>>. Acesso: 22 de setembro de 2022.

SILVA, E. C.; VIÇOSI, K. A.; OLIVEIRA, L. A. B.; GALVÃO, C. S. ESTRESSE SALINO NA GERMINAÇÃO E VIGOR DE SEMENTES DE REPOLHO. **Scientia Agraria Paranaensis** - Parana. Marechal Cândido Rondon, v. 17, n. 3, jul./set., p. 374-377, ISSN: 1983-1471. 2018.

SPAEPEN, S.; VANDERLEYDEN, J.; REMANS, R. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. **FEMS Microbiology Reviews**, v.31, p.425–448, 2007.

TAVARES, L.C.; RUFINO, C.A.; BRUNES, A.P.; TUNES, L.M.; BARROS, A.C.S.A.; PESKE, S.T. Desempenho de sementes de soja sob deficiência hídrica: rendimento e qualidade fisiológica da geração F1. **Ciência Rural**.v.43, n.8, p.1357-1363, 2013. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v43n8/a22213cr2012-0950.pdf>>. Acesso: 22 de setembro de 2022.

WANG, J.; LIU, Z.; WANG, Y.; CHENG, W.; MOU, H. Production of a water soluble fertilizer containing amino acids by solid-state fermentation of soybean meal and evaluation of its efficacy on the rapeseed growth. **Journal of Biotechnology**, v.187, p.34-42, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2014.07.015>.

CAPÍTULO I: A APLICAÇÃO EXÓGENA DE TRIPTOFANO MELHORA A GERMINAÇÃO E VIGOR DE PLÂNTULAS DE SOJA (*Glycine max* L.) MEDIANTE AJUSTE NO ESTRESSE OXIDATIVO.

RESUMO: A soja é tida como a principal cultura a nível mundial e é utilizada no consumo humano e animal, tanto in natura, como através dos seus derivados. Devido ao consumo da mesma aumentar ano a ano e seu valor econômico tanto de produção quanto de venda ser alto, são necessários estudos mais específicos, principalmente, visando o emprego de tecnologias e tratamento de sementes de forma mais eficiente e monetariamente mais barata. Por outro lado, plantas de soja ao serem submetidas a estresses, as mesmas apresentam uma diminuição em biomassa total, além, de uma redução danosa em produtividade, principalmente nos estádios fenológicos iniciais que são caracterizados pelo estabelecimento da cultura. Contudo, nas últimas décadas, diversas alternativas a fim de mitigar os efeitos causados pelo estresse vem sendo empregado, uma delas já existentes no mercado de aplicação é a utilização de aminoácidos, sendo um destes o triptofano (5-hidroxitriptofano), responsável por aumentar o potencial germinativo e produtivo das culturas, ativação do sistema antioxidante, proteção do aparato fotossintético, incremento na germinação e promoção de enraizamento são algumas das características já conhecidas do triptofano (Trp). Por tal motivo, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o efeito do triptofano na germinação e o vigor fisiológico das plântulas de soja (*Glycine max*). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 5 tratamentos, sendo eles 0, 25, 50, 100 e 200 μM de triptofano. As sementes foram colocadas para germinar durante todo o período nas soluções dos diferentes tratamentos. Após a montagem do experimento, foram realizadas 3 coletas, pré-determinadas, sendo elas: 1ª coleta – 14 horas após a semeadura (HAS), 2ª coleta – 5 dias após a semeadura (DAS) e 3ª coleta – 8 dias após a semeadura (DAS), esta por sua vez, foi separada em parte aérea e de raízes. Para tal foi avaliado, biomoléculas do metabolismo primário, malondialdeído, peróxido de hidrogênio, prolina e enzimas do estresse oxidativo. Este trabalho comprovou que o uso do aminoácido triptofano foi responsável por gerar um estresse oxidativo nas sementes quando colocadas para germinar nas diferentes concentrações, o que aumentou a germinação e vigor de plântulas de soja. A concentração de 100 μM de triptofano foi a que apresentou melhores resultados para as variáveis analisadas como amido, açúcares redutores, açúcares solúveis totais e sacarose, nas épocas de coleta definidas como 5 dias após a semeadura e 8 dias após a semeadura na parte aérea. Já, a concentração de 200 μM de triptofano apresentou os melhores resultados para as variáveis analisadas como porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação, malondialdeído, peróxido de hidrogênio, catalase, superóxido desmutase e prolina 5 dias após a semeadura e 8 dias após a semeadura na parte aérea e na parte de raízes.

PALAVRAS-CHAVES: potencial germinativo; aminoácido; fisiologia; sistema antioxidante; exógena; biomoléculas.

CHAPTER I: EXOGENOUS APPLICATION OF TRYPTOPHAN IMPROVES GERMINATION AND VIGOR OF SOYBEAN SEEDLINGS (*Glycine max* L.) BY ADJUSTING THE OXIDATIVE STRESS.

ABSTRACT: Soybean is considered the main crop worldwide and is used for human and animal consumption, both in natura and through its results. Increase the year of production and the economic value of production to its production employment, mainly, more efficient and monetarily cheaper production. On the other hand, reduction plants in growth, the same reduction plants in total biomass, in addition to a reduction of damage in productivity, mainly in the initial phen stages that are characterized by the establishment of the culture. In the last decades, several alternatives in order to increase the risk of employment, one of them already existing in the job market is the use of amino acids, increasing the germination and productive potential of the cultures, attentive to the antioxidant system, protection of photosynthetic a, increase of germination and germination promotion are some of the already known characteristics of tryptofa (Trp). Portal presents a study aimed at evaluating the effect of tryptophan on germination and the reason for the vigor of soybean plants (*Glycine max*). The experimental design used was completely randomized, with 5 treatments, being 0, 25, 50, 100 and 200 μM of tryptophan. The seeds were placed to germinate throughout the period in the solutions of the different treatments. After setting up the experiment, 3 predetermined collections were carried out, namely: 1st collection - 14 hours after sowing (HAS), 2nd collection - 5 days after sowing (DAS) and 3rd collection - 8 days after sowing (DAS), which in turn, was separated from shoots and roots. For this purpose, primary metabolism biomolecules, malondialdehyde, hydrogen peroxide, proline and oxidative stress enzymes were evaluated. This work proved that the use of the amino acid tryptophan was responsible for generating oxidative stress in the seeds when placed to germinate at different concentrations, which increased the germination and vigor of soybean seedlings. The concentration of 100 μM of tryptophan was the one that presented the best results for the analyzed variables such as starch, reducing sugars, total soluble sugars and sucrose, at the collection times defined as 5 days after sowing and 8 days after sowing in the shoot. On the other hand, the concentration of 200 μM of tryptophan presented the best results for the variables analyzed, such as germination percentage, germination speed index, malondialdehyde, hydrogen peroxide, catalase, superoxide dismutase and proline 5 days after sowing and 8 days after sowing. sowing in the aerial part and in the root part.

KEYWORDS: germinal potential; amino acid; physiology; antioxidant system; exogenous; biomolecules.

1.1 INTRODUÇÃO

A soja é tida como a principal cultura anual e é cultivada em todo Brasil e mundo. Por tal motivo possui forte expressão socioeconômica, principalmente no Brasil, o que gera um aumento na demanda por mão de obra qualificada, e conseqüentemente o desenvolvimento da região de cultivo. A região centro-oeste do Brasil é responsável por produzir cerca de 80 milhões de toneladas, destas, 22 milhões são produzidas somente no estado do Goiás, demonstrando o crescimento ano após ano da cultura e a representatividade da mesma e da região frente a economia (CONAB, 2022; SILVA et al., 2018).

Por conta deste aumento gradual ano a ano dessa cultura de grande interesse comercial, a busca por desenvolvimento de novas tecnologias, sejam elas relacionadas ao melhoramento genético, ao tratamento de semente ou a aplicação de produtos, tem sido um desafio para os pesquisadores, levando em consideração que a utilização de sementes viáveis e vigorosas fazem com que as plantas tenham um incremento, principalmente, relacionados a produtividade, mesmo que estas plantas, tenham passado por situações de estresse a campo, afim de mitigar os efeitos danosos destes estresses, durante o estabelecimento das culturas (MARCOS-FILHO, 2015; PÊGO et al., 2011).

Uma tecnologia que vem tomando cada vez mais espaço e está por sua vez, vem sendo desenvolvida e estudada à nível mundial é a aplicação de aminoácidos em plantas e em sementes, afim de melhorar a qualidade fisiológica das plantas frente adversidades dos ambientes de cultivo (LUDWIG et al., 2011; BETTONI et al., 2013; HAMMAD e ALI, 2014; WANG et al., 2014; MONDAL et al., 2015).

Os aminoácidos são ácidos orgânicos cujas moléculas possuem um ou mais grupamento amina, sendo as principais constituintes de proteínas, além, de serem precursores de várias substâncias que regulam o metabolismo vegetal. A sua aplicação nas diversas culturas não tem como objetivo suprir a necessidade de aminoácidos para a realização de síntese proteica, mas sim de ser o responsável pelo “star” na ativação do metabolismo fisiológico das plantas, tendo uma importante ação antiestressante (DA SILVA et al. 2017). Alguns aminoácidos por meio do seu catabolismo produzem compostos de cadeia carbonada para o ciclo de Krebs, sendo importante também em processo de respiração e produção de energia na planta na forma de ATP (adenosina trifosfato) (HILDEBRANDT et al., 2015). Outros são precursores de hormônios vegetais em plantas, como é o caso do triptofano que ao ser degradado é responsável por produzir ácido indol acético (AIA) (HILDEBRANDT et al., 2015; TAIZ e ZEIGER, 2017).

Devido a isso, especula-se que a aplicação de aminoácidos em tratamento de sementes pode promover o desempenho das plantas em campo, principalmente em sementes de baixa qualidade fisiológica ou em plantas que podem ter sofrido algum tipo de estresse.

1.2 MATERIAL E MÉTODOS

PRÉ TESTES E CURVA PADRÃO DA CULTIVAR

Caracterização de sementes

Inicialmente as sementes foram caracterizadas quanto ao grau de umidade, a caracterização de sementes será determinada pelo método da estufa a 105° C, podendo variar entre $\pm 3^\circ$ C por 24h com quatro subamostras de 200 g sementes, para cada repetição (BRASIL, 2009).

Teste de emergência

A semeadura foi realizada em caixa de areia quatro sub amostras de 50 sementes do lote, distribuídas em profundidade de 3,0 cm, espaçamento de 0,5 cm, em sulcos com 1,0 metro de comprimento. O solo foi umedecido até aproximadamente 60% da capacidade de retenção de água. Foram feitas irrigações durante todo o ciclo de cultivo, três vezes ao dia por um sistema de irrigação por aspersão previamente programado. No décimo terceiro dia após a semeadura e estabilização das plantas, foi contado o número de plântulas emergidas e os resultados foram expressos em percentagem.

Condutividade elétrica (CE)

Foram utilizadas quatro subamostras fisicamente puras de 50 sementes, as mesmas foram pesadas em balança de precisão de 0,0001g e colocadas para embeber em copos de plástico (capacidade de 200 mL) contendo 75 mL de água deionizada, mantidas em uma bancada limpa, durante 24 horas, à temperatura de 25° C (HAMPTON e TEKRONY, 1995; VIEIRA e KRZYZANOWSKI, 1999). Decorrido o período de embebição, as sementes foram levemente agitadas para uniformização dos lixiviados e procedeu-se à leitura da condutividade elétrica da solução. Para medir a condutividade eléctrica adotou-se o método de massa, com sementes escolhidas ao acaso, conforme sugerido por Loeffler et al. (1988). As leituras da condutividade eléctrica foram realizadas em condutivímetro Digimed DM-31 e os valores médios obtidos para cada lote expressos em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$ de semente.

Curva padrão de embebição da cultivar BÔNUS

Para determinar os períodos de cada coleta, foi realizada uma curva padrão de embebição de sementes, onde, a primeira coleta foi realizada às 14 horas após a semeadura (HAS), tendo em vista que percorrido esse tempo de embebição, o mesmo corresponde a fase 1, que caracteriza o final do processo de rápida absorção de água e o início da ativação metabólica, conforme mostra a Figura 1. Para obtenção dos valores médios da curva padrão, foram utilizadas 8 repetições de 25 sementes cada, dispostas em caixa gerbox contendo papel mata-borrão umedecidos com 2,5 vezes a massa do papel seco e estes, por sua vez, foram pesadas à cada 1 hora em balança de precisão de 0,0001g, afim de ter o máximo de variação até que o peso da semente embebida ficasse estável (CASTRO e HILHORST, 2004; MC DONALD et al., 1988 com adaptações).

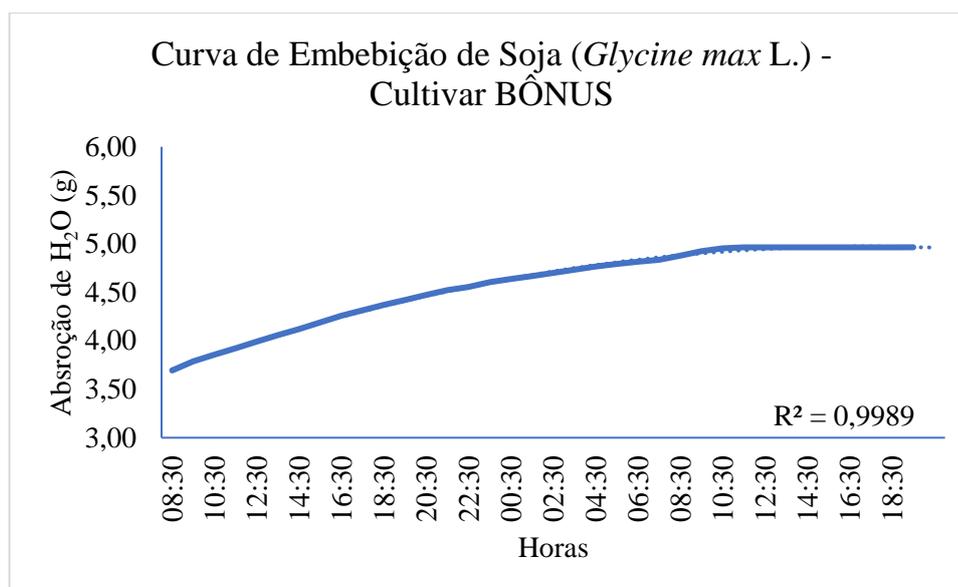


Figura 1. Curva de absorção de água da cultivar BÔNUS (8579 RSF IPRO) determinada através da embebição de sementes de soja calculada em horas após a semeadura (HAS).

Material vegetal, condições de cultivo e delineamento experimental

O experimento foi conduzido no Laboratório de Metabolismo e Genética da Biodiversidade em parceria com o Laboratório de Sementes do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, com as coordenadas geográficas 17° 48' 15,9'' S – 50° 54' 19,5'' W.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 5 tratamentos, sendo eles 0, 25, 50, 100 e 200 μ M de triptofano. As sementes foram colocadas para germinar durante todo o período nas soluções dos diferentes tratamentos. Cada tratamento tinha 8 repetições sendo cada repetição constituído de 25 sementes, totalizando 200 sementes em cada tratamento, onde, cada semente foi considerada uma unidade experimental.

Foram utilizadas sementes de soja da cultivar BÔNUS, com tecnologia IPRO - 8579 RSF, que é adaptada a região do cerrado e confere resistência as quatro principais lagartas que atacam a cultura da soja. As sementes foram adquiridas através de uma doação da Fazenda Mono Azudo, que tem propriedade situada no município de Rio Verde-GO e demanda de campo de produção de sementes. As mesmas vieram sem nenhum tratamento de semente, seja ele com fungicida, inseticida ou ambos. Foi realizado um pré-teste no lote de sementes para identificar a sua viabilidade. As sementes foram desinfestadas para a remoção de epifíticos, para este fim, foram realizadas três sucessivas lavagens em água corrente seguidas de agitação em água e detergente neutro (Tween) por

5 minutos. Em seguida, as sementes ficaram imersas em etanol a 70% por 1 minuto, em seguida em hipoclorito de sódio (2,5% de cloro ativo) por 1 min e 30 segundos e depois novamente em etanol a 70% por 30 segundos. Posteriormente foi realizado três lavagens em água destilada autoclavada.

Os procedimentos básicos exigidos para a obtenção de amostras, métodos de avaliação, interpretação e indicação de resultados de análise de lotes de sementes para a produção e o comércio seguiu-se a metodologia proposta pelo livro de Regra de Análises de Sementes (BRASIL, 2009). O substrato que foi utilizado para o teste de germinação é papel do tipo “germitest” e utilizou-se as soluções delimitadas em cada tratamento para umedecimento dos mesmos, na proporção de 2,5 vezes a massa do papel seco, que é o usualmente utilizado na cultura da soja, a uma temperatura de 27° C. Para ser feita a semeadura no papel tipo “germitest”, os mesmos foram organizados em rolos com duas folhas na base e uma sobre as sementes. Imediatamente após a aplicação de cada tratamento foi efetuada a semeadura das sementes com o auxílio de uma régua própria para tal finalidade. Em seguida todos os tratamentos ficaram acondicionados em sacos plásticos, identificados e colocados em germinador do tipo BOD, com controle de fotoperíodo 12h-12 h à temperatura de 25° C \pm 1° C e umidade relativa entre 90% e 95%. Após a montagem do experimento, foram realizadas 3 coletas, pré-determinadas, sendo elas: 1ª coleta – 14 horas após a semeadura (HAS), 2ª coleta – 5 dias após a semeadura (DAS) e 3ª coleta – 8 dias após a semeadura (DAS), esta por sua vez, foi separadas parte aérea e de raízes.

Avaliação de germinação e vigor de plântula

As contagens efetuadas foram feitas todos os dias, realizadas do 1° ao 8° após a semeadura, de acordo com BRASIL (2009). Germinação: consistindo no total de sementes germinadas em cada tratamento no quinto dia após a semeadura, considerando sementes germinadas aquelas que protudiram a radícula. Germinação total: avaliada no oitavo dias após a semeadura, considerando-se germinadas as sementes que formaram plântulas normais segundo BRASIL (2009), sendo os resultados expressos em percentagem média com base no número de plântulas normais. Percentagem de plântulas normais forte: contando-se as plântulas que apresentavam desenvolvimento normal do hipocótilo e radícula, sendo os resultados expressos em percentagem média. Índice de velocidade de germinação: calculado de acordo com MAGUIRE (1962), sendo, IVG =

$E1/N1 + E2/N2 + \dots + En/Nn$. Em que: E1, E2 e En - número de plântulas normais computadas na primeira, segunda e última contagem. N1, N2 e Nn - número de dias após a implantação do teste.

Extração e quantificação de açúcares totais, redutores, amido e o aminoácido prolina

O material fresco foi separado por épocas de coleta, os mesmos foram congelados em nitrogênio líquido, moído, embalado, etiquetado e armazenado em ultrafreezer -80°C para posteriores análises. Utilizou-se 200 mg do material vegetal, previamente processado, em solução MCW (metanol; clorofórmio; água), a mistura foi deixada em contato por 24 horas e, em seguida, os extratos foram centrifugados a 1300 rpm durante 30 minutos, sendo o sobrenadante coletado. Para extração do amido, o pellet da extração anterior foi ressuspendido com ácido perclórico à 30% (RABÊLO et al., 2019). Após 24 horas, a mistura foi centrifugada a 1300 rpm por 30 min, sendo o sobrenadante coletado. As alíquotas foram utilizadas para analisar a concentração dos açúcares solúveis totais (AST) e amido foi utilizado o método de antrona (YEMM & WILLIS, 1954) e os açúcares redutores (AR) pelo método do ácido dinitrosalicílico (MILLER, 1959). O conteúdo de sacarose foi estimado pela diferença entre a concentração de AST e dos AR. A curva padrão para a determinação espectrofotométrica dos carboidratos foi preparada com D-glicose e pode ser vista conforme a (Imagem 1).



Imagem 1. Curva padrão para determinação de Açúcares Solúveis Totais (AST) e Açúcares Redutores (AR) de sementes e plântulas de soja - *Glycine max* L. tratadas com diferentes concentrações 0, 25, 50, 100 e 200 μM de triptofano. Acervo pessoal. 2022.

A quantificação da concentração de prolina foi realizada com base na metodologia proposta por BATES et al. (1973). Para tal, foram macerados 100 mg de material vegetal em ácido sulfosalicílico 3%. Os extratos obtidos foram homogeneizados à temperatura ambiente durante 60 minutos e, posteriormente, filtrados com papel de filtro. As alíquotas obtidas após a filtração reagiram com solução composta por 2 mL de ninhidrina ácida e 2 mL de ácido acético glacial em tubo de ensaio, durante 1 hora, a 100°C. A concentração de prolina foi determinada de acordo com a absorvância das amostras a 520 nm e expressas em $\mu\text{mol prolina mg}^{-1} \text{MF}$ com base em curva-padrão preparada com concentrações já conhecidas, variando entre 0, 10, 20, 30, 40 e 50 μmol de prolina.

Extração e atividade das enzimas antioxidantes

Para a determinação da atividade das enzimas do sistema antioxidante, utilizou-se o material armazenado em ultrafreezer a -80°C separado por época de coleta. A extração das enzimas foi realizada a partir da maceração de 200 mg do material vegetal em nitrogênio líquido com 50% de PVPP e procedendo-se com o protocolo de extração proposto por BIEMELT et al. (1998). O extrato enzimático foi utilizado para avaliação da atividade da catalase (CAT) e dismutase do superóxido (SOD).

A atividade da enzima dismutase do superóxido (SOD) seguiu a metodologia de GIANNOPOLITIS e RIES (1977) com algumas adaptações, em que é avaliada a capacidade da enzima em inibir a fotorredução do azul de nitrotetrazólio (NBT). As leituras foram realizadas em ELISA à 560 nm. Para realizar a análise, foi pipetado nos três primeiros poços da placa 10 μL de água (branco) e nos demais poços alíquotas de 10 μL das amostras em triplicata. Foram adicionados 190 μL de um mix do tampão de incubação em cada poço da placa utilizando a multicanal de soluções para uma reação: Fosfato de Potássio 100 mM, pH 7.8 que corresponde a 100 μL do volume da solução; Metionina 70 mM que corresponde a 40 μL do volume da solução; EDTA 10 μM que corresponde a 3 μL do volume da solução; Água que corresponde a 31 μL do volume da solução; NBT 1 mM que corresponde a 15 μL do volume da solução e Riboflavina 0,2 mM que corresponde a 2 μL do volume da solução. É importante destacar que o NBT e a Riboflavina devem ser adicionados ao mix momentos antes de pipetar o mesmo nos poços da placa, pois estes, podem oxidar muito rapidamente, além, de ser de suma importância proteger o mix da luz durante todo o processo. Feito isso, realizar a leitura e

em seguida, iluminar a placa com as amostras durante 7 min e realizar novamente as leituras das amostras à 560 nm, observar a formação de formaza devido a redução do NBT pela luz. A atividade da SOD foi determinada em $U\ mg^{-1}\ MF$, em que 1U corresponde à quantidade de enzima necessária para inibir em 50% a fotoredução do NBT, tal fotoredução pode ser observado na (Imagem 2).

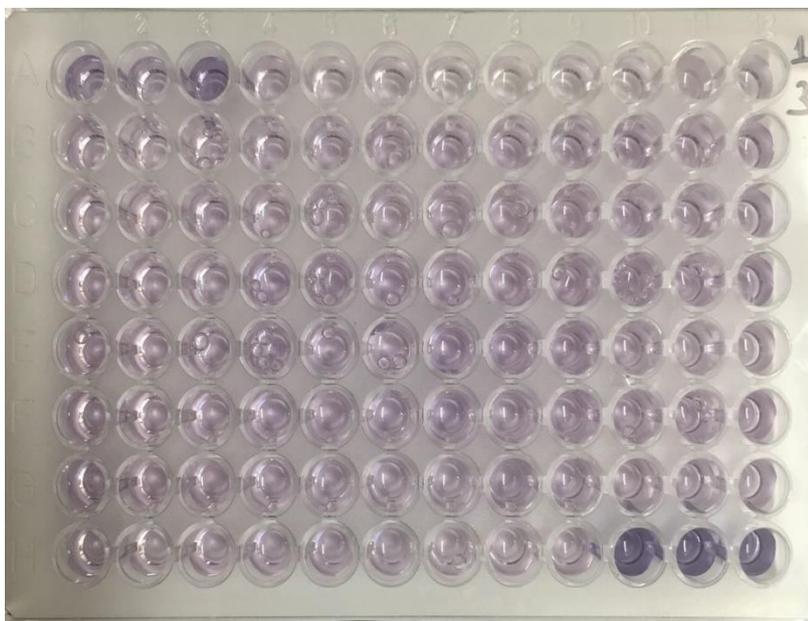


Imagem 2. Determinação da enzima Dismutase do Superóxido (SOD) em sementes e plântulas de soja - *Glycine max* L. tratadas com diferentes concentrações 0, 25, 50, 100 e 200 μM de triptofano. Acervo pessoal. 2022.

A atividade da CAT foi avaliada conforme a metodologia proposta por HAVIR e MCHALE (1987) com adaptações, com base no consumo de H_2O_2 a cada 15 segundos, por 3 minutos, a 240 nm em espectrofotômetro. O coeficiente de extinção molar utilizado foi $36\ mM^{-1}\ cm^{-1}$. Foram pipetados 9 μL de água (branco), em triplicata, na placa, e estes, constituem o branco, nos demais poços da placa foram pipetados 9 μL de amostra junto com o mix. brancos. Foram adicionados 162 μL de um mix do tampão para uma reação, constituído de: Fosfato de Potássio 200 mM, pH 7.0 que corresponde a 90 μL do volume da solução e Água que corresponde a 72 μL do volume da solução, incubar o seguinte tampão de extração no banho-maria a 30° C e, em seguida, pipetar na placa. Para leitura, adicionar 9 μL Peróxido de Hidrogênio 250 mM na solução, o que totalizará 180 μL no volume final. A atividade da CAT foi quantificada em $\mu mol\ H_2O_2\ min^{-1}\ mg^{-1}\ MF$ e pôde ser observada conforme a (Imagem 3).

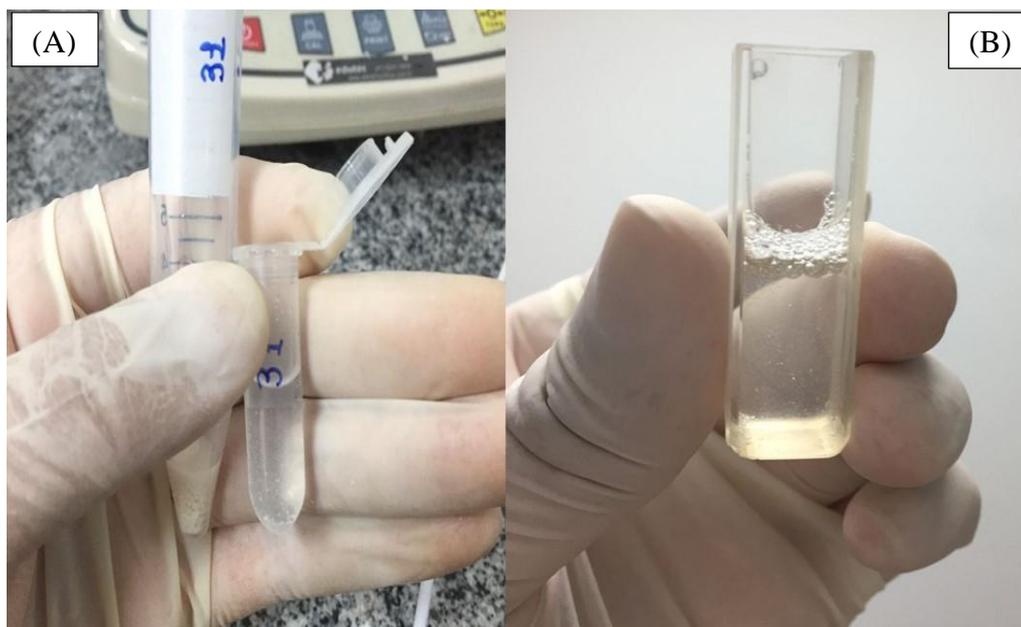


Imagem 3. Determinação da enzima Catalase (CAT), análise realizada em sementes e plântulas de soja - *Glycine max* L. tratadas com diferentes concentrações 0, 25, 50, 100 e 200 μ M de triptofano. (A) – alíquota sem a adição de H_2O_2 ; (B) – alíquota com a adição de H_2O_2 , sendo possível observar que, após a análise há formação de “bolhas”. Acervo pessoal. 2022.

Extração e quantificação do teor de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e malondialdeído (MDA)

A extração de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e peroxidação lipídica – malondialdeído aconteceu da seguinte forma: utilizou-se 200 mg do material vegetal que já estava armazenado, o mesmo foi macerado em nitrogênio líquido com 50% de PVPP, posterior a isso, a amostra foi homogeneizada em 1500 μ l de ácido tricloroacético (TCA) 0,1% (m/v), levadas a centrifuga com 12.000 g por 15min a 4° C, em seguida, foi coletada o sobrenadante, dispostos em eppendorf devidamente identificados e utilizado para posteriores quantificações. A concentração de H_2O_2 foi obtida por leitura a 390nm em espectrofotometria de acordo com VELIKOVA et al. (2000) e sua determinação pode ser vista conforme a (Imagem 4). Já para concentração de MDA, foi determinada utilizando-se a metodologia proposta por BUEGE e AUST (1978), de acordo com a (Imagem 5), onde, as leituras são realizadas em espectrofotômetro a 535 e a 600 nm.

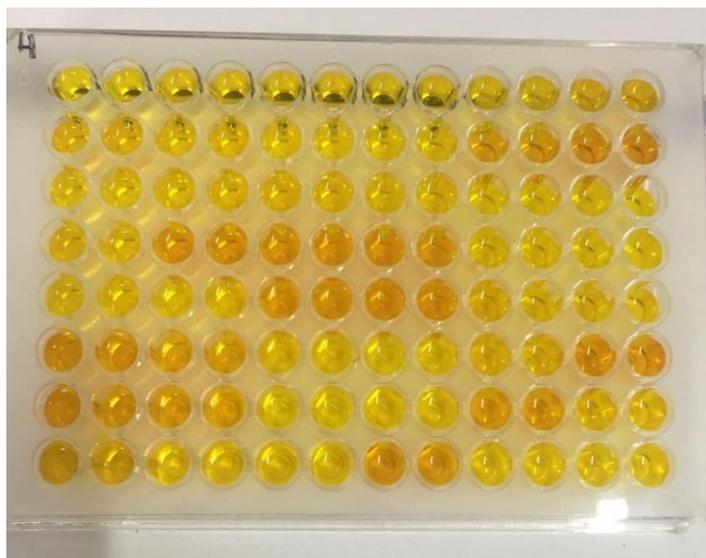


Imagem 4. Determinação de Peróxido de Hidrogênio (H_2O_2) em sementes e plântulas de soja - *Glycine max* L. tratadas com diferentes concentrações 0, 25, 50, 100 e 200 μ M de triptofano. Acervo pessoal. 2022.

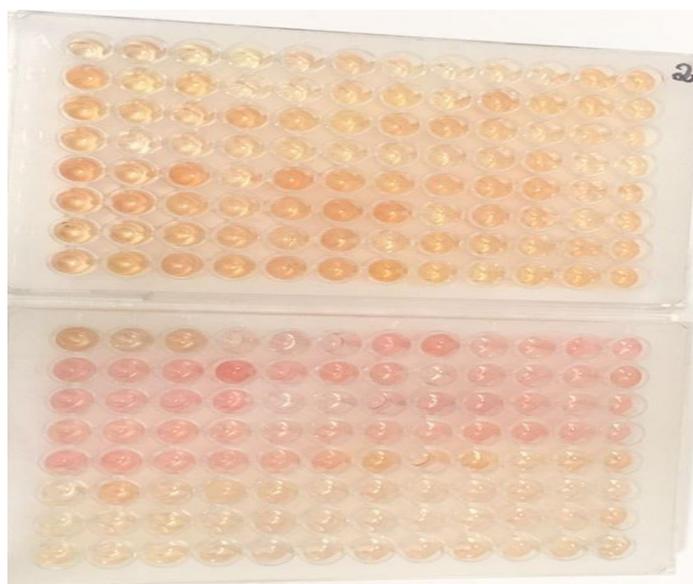


Imagem 5. Determinação de Peroxidação Lipídica – Malondialdeído (MDA) em sementes e plântulas de soja - *Glycine max* L. tratadas com diferentes concentrações 0, 25, 50, 100 e 200 μ M de triptofano. Acervo pessoal. 2022.

Análises estatísticas

Após obtenção dos dados, aplicaram-se testes estatísticos para adequação, ou não, dos resultados a análise de variância (ANOVA). Por ser um trabalho que foram utilizadas diferentes concentrações, o ajuste de regressão quadrática neste caso, é o melhor indicativo para testar todo e qualquer contraste entre as médias observadas nos diferentes tratamentos, em todas as épocas de coleta, para todas as variáveis analisadas e aquelas que obtivessem os melhores resultados de R^2 seriam expostas por meio de figuras.

Todas as análises estatísticas, foram conduzidas em ambiente SISVAR versão 5.6 (FERREIRA, 2014).

1.3 RESULTADO

Porcentagem de germinação - (%) Germinação

A maior porcentagem de germinação pôde ser observada nas concentrações de 50, 100 e 200 μM tratadas com triptofano exógeno, que correspondem a 83, 81 e 84%, quando comparadas à controle, que foi de 37%. Já se tratando da quantidade de plântulas anormais e mortas, conforme houve um aumento nas concentrações de triptofano, houve uma redução em tais variáveis, demonstrando que o triptofano modulou positivamente a porcentagem de germinação de um lote de semente que não era viável para plantio comercial e tais resultados podem ser observados conforme a (Figura 2).

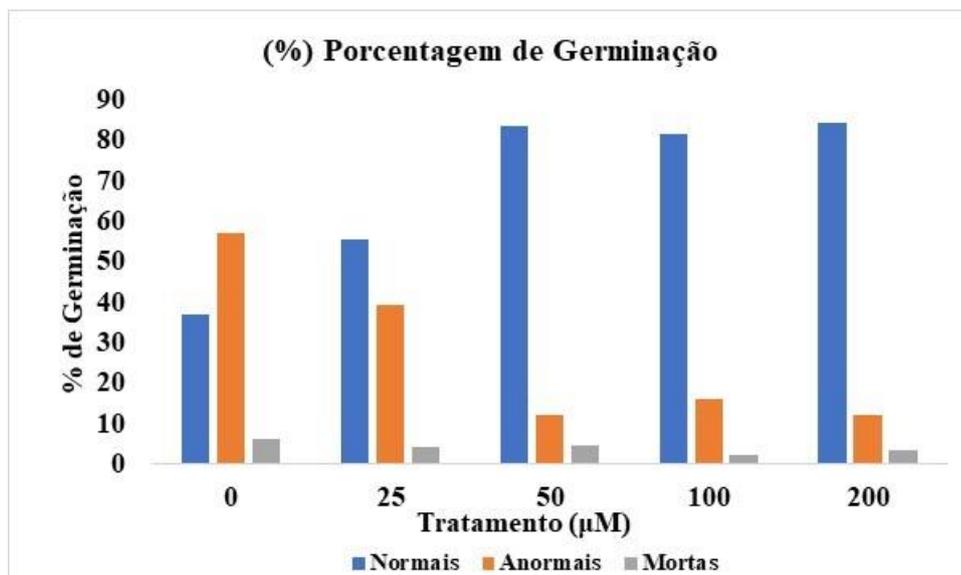


Figura 2. (%) Porcentagem de germinação de plântulas de soja - *Glycine max* L. tratadas com diferentes concentrações 0, 25, 50, 100 e 200 µM de triptofano submetidas ao teste de ANOVA à ($p < 0,05^{**}$) de significância.



Imagem 6. Primeira contagem aos 5 dias após a semeadura (DAS) de plântulas de soja - *Glycine max* L. tratadas com diferentes concentrações 0, 25, 50, 100 e 200 µM de triptofano. Acervo pessoal. 2022.



Imagem 7. Segunda contagem aos 8 dias após a semeadura (DAS) de plântulas de soja - *Glycine max* L. tratadas com diferentes concentrações 0, 25, 50, 100 e 200 μ M de triptofano. Acervo pessoal. 2022.

Índice de Velocidade de Germinação – IVG

O IVG está atrelado à porcentagem de germinação, aumentando a partir do segundo dia de germinação conforme mostra a Figura 3. Na primeira contagem, que é tida como a germinação fisiológica, 5 dias após a semeadura (DAS), cerca de 47 sementes já haviam germinado, indicando que o triptofano aumentou a velocidade de germinação e conseqüentemente o vigor de plântulas de soja.

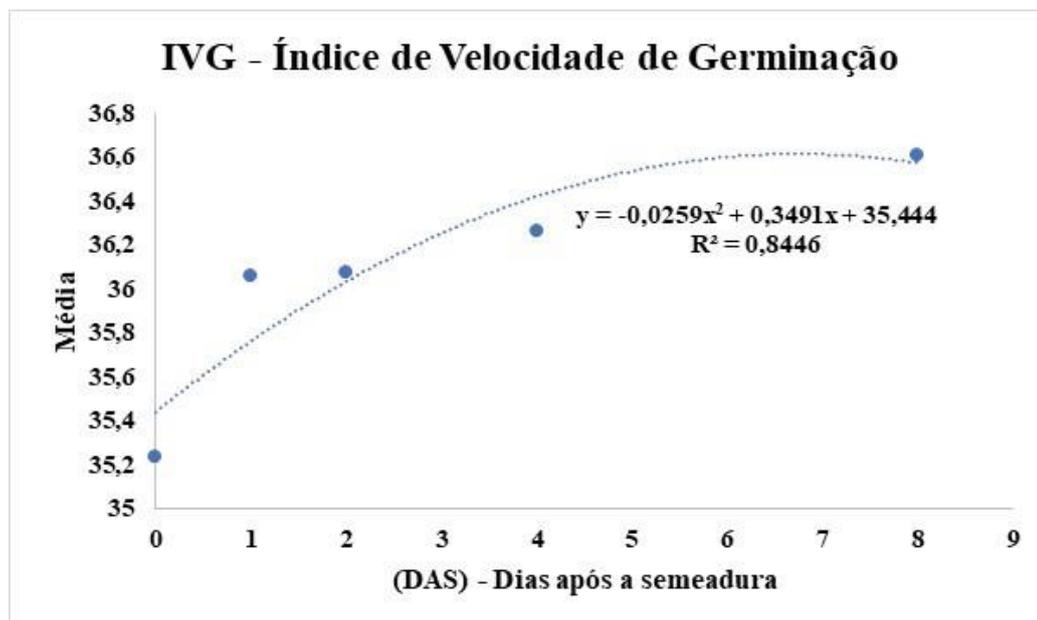


Figura 3. (IVG) Índice de Velocidade de Germinação de sementes de soja - *Glycine max* L. calculados dias após a semeadura, mostrando a evolução temporal por meio das médias de plântulas emergidas, sendo submetidas ao teste de ANOVA à ($p < 0,05^{**}$) de significância e ajustadas ao modelo de regressão quadrático.

Teores de açúcares solúveis, redutores e amido

Verificou-se que houve um decréscimo para os teores de AST (Açúcares Solúveis Totais) na primeira coleta (Figura 4), que ocorreu 14 HAS, o que corresponde a cerca de 15,10 μg de glicose no tratamento de 100 μM de triptofano, quando comparado ao tratamento controle, sem a aplicação de triptofano, que é de 21,47 μg de glicose. Este mesmo comportamento pôde ser observado na 3ª coleta (Figura 4), ocorrida 8 DAS (Dias Após a Semeadura) nas raízes, onde o tratamento de 200 μM foi o que apresentou menor valor, correspondente à 5,20 μg de glicose, quando comparado aos demais tratamentos, 25, 50 e 100 μM , respectivamente, inclusive, até mesmo quando comparado ao tratamento controle, onde não há aplicação de triptofano. Já para a 2ª coleta e 3ª coleta (Figura 4) em parte aérea, conforme foram aumentando as concentrações de triptofano, aumentou-se também os teores de AST, cerca de 28,42 μg de glicose em plântulas tratadas com 25 μM

de triptofano, quando relacionado a plântulas tratadas com 100 μM de triptofano, que obtiveram uma concentração de 44,70 μg de glicose na MF (Matéria Fresca).

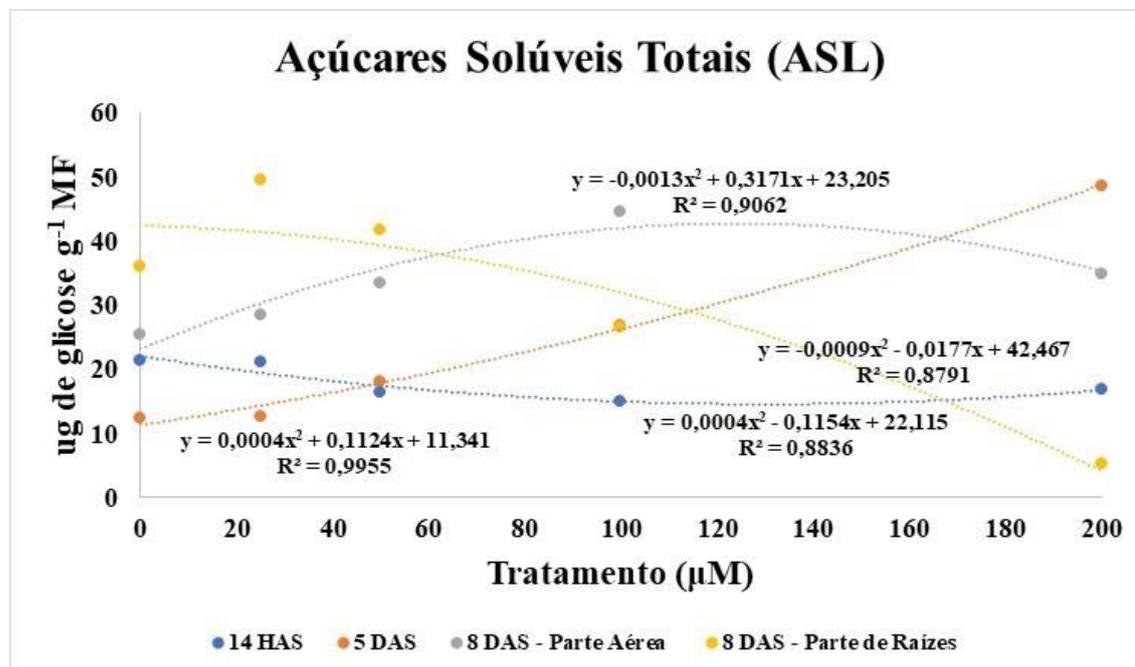


Figura 4. Quantidade de (AST) açúcares solúveis totais em sementes e plântulas de *Glycine max* L. tratadas com diferentes concentrações 0, 25, 50, 100 e 200 μM de triptofano nas diferentes épocas de coleta, sendo estas, 14 horas após a semeadura (HAS), 5 dias após a semeadura (DAS), 8 dias após a semeadura (DAS) em parte aérea e 8 dias após a semeadura (DAS) nas raízes, onde as médias foram submetidas ao teste de ANOVA à ($p < 0,05^{**}$) de significância e ajustadas ao modelo de regressão quadrático.

Assim como para os AST (Açúcares Solúveis Totais), os AR (Açúcares Redutores) tiveram um resultado pelo teste de média similar. Onde, na 1ª coleta e na 3ª coleta da parte de raízes, ocorreu uma diminuição nos teores de AR, a menor quantidade pôde ser observada no tratamento com 200 μM de triptofano para ambas as épocas de coleta. Porém, na 2ª coleta e na 3ª coleta em parte aérea, ao aumentarem as concentrações de triptofano, aumentou-se também os teores de AR, o maior valor pode ser observado no tratamento com 100 μM de triptofano, conforme mostra a Figura 5.

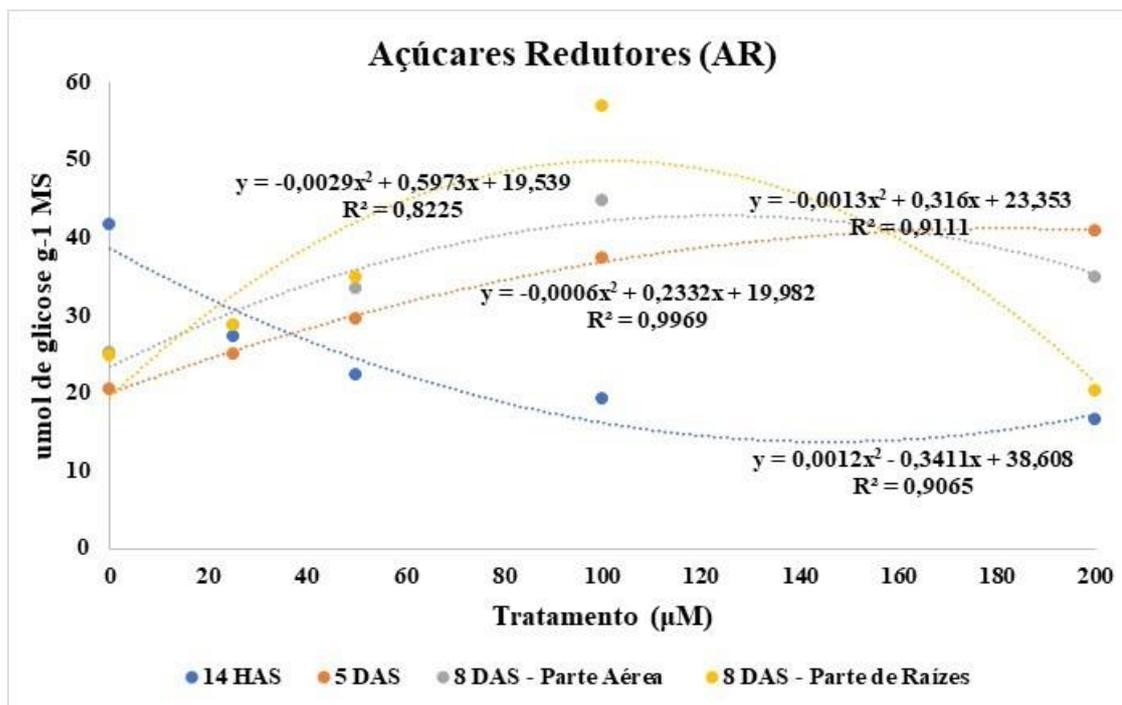


Figura 5. Quantidade de (AR) açúcares redutores em sementes e plântulas de *Glycine max* L. tratadas com diferentes concentrações 0, 25, 50, 100 e 200 μM de triptofano nas diferentes épocas de coleta, sendo estas, 14 horas após a semeadura (HAS), 5 dias após a semeadura (DAS), 8 dias após a semeadura (DAS) em parte aérea e 8 dias após a semeadura (DAS) nas raízes, onde as médias foram submetidas ao teste de ANOVA à ($p < 0,05^{**}$) de significância e ajustadas ao modelo de regressão quadrático.

Após a embebição, a quantidade de amido sofre um aumento significativo, atingindo aproximadamente o dobro do valor inicial, cerca de 320,20 μg de glicose na concentração de 100 μM , quando comparada ao tratamento controle, que tem uma quantidade de amido de cerca de 51,57 μg de glicose na MF (Matéria Fresca), tal afirmativa pode ser observada na Figura 6. Há uma variação na quantidade de amido durante as épocas de coleta, mas, ao final do período estudado, onde há a formação de plântula, caracterizado pela terceira coleta em parte aérea e raízes, a mesma atinge valores semelhante ao inicial, onde ainda é semente, compreendido pelo período de 14 horas após a semeadura (HAS).

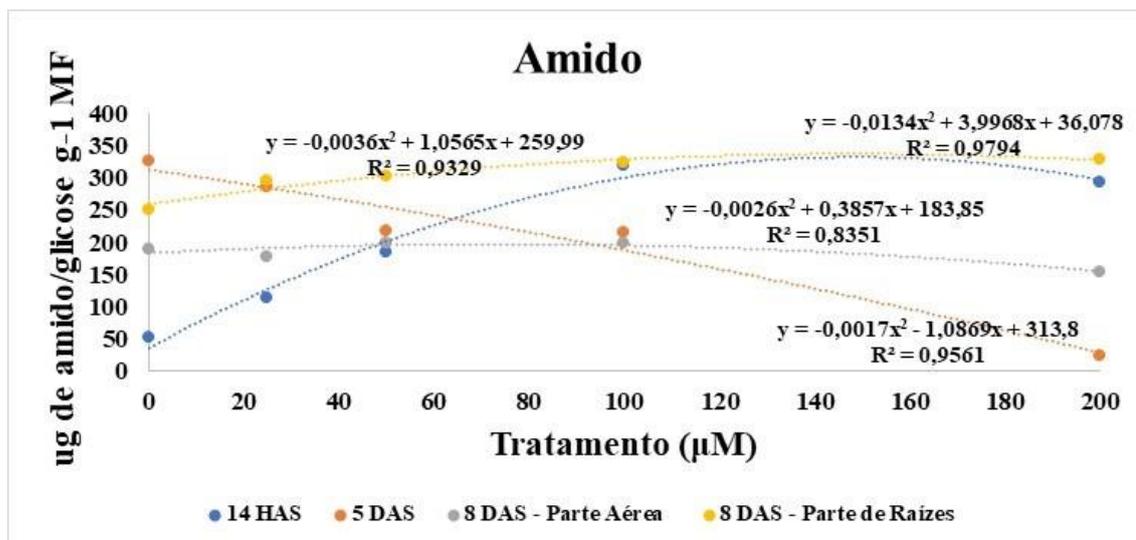


Figura 6. Quantidade de amido em sementes e plântulas de *Glycine max* L. tratadas com diferentes concentrações 0, 25, 50, 100 e 200 µM de triptofano nas diferentes épocas de coleta, sendo estas, 14 horas após a semeadura (HAS), 5 dias após a semeadura (DAS), 8 dias após a semeadura (DAS) em parte aérea e 8 dias após a semeadura (DAS) nas raízes, onde as médias foram submetidas ao teste de ANOVA à ($p < 0,05^{**}$) de significância e ajustadas ao modelo de regressão quadrático.

A quantidade de sacarose aumentou, conforme foi-se aumentando as concentrações de triptofano. A concentração de 100 µM de foi a que apresentou melhores médias (80,05; 18,51; 24,24) µg de glicose na MF (Matéria Fresca) para as épocas de coletas compreendidas como 14 horas após a semeadura (HAS), 8 dias após a semeadura (DAS) em parte aérea e 8 dias após a semeadura (DAS) em raízes – Figuras 7. Já a concentração de 25 µM, foi a que apresentou resultados inferiores as demais concentrações para esta variável analisada, independente da época de coleta.

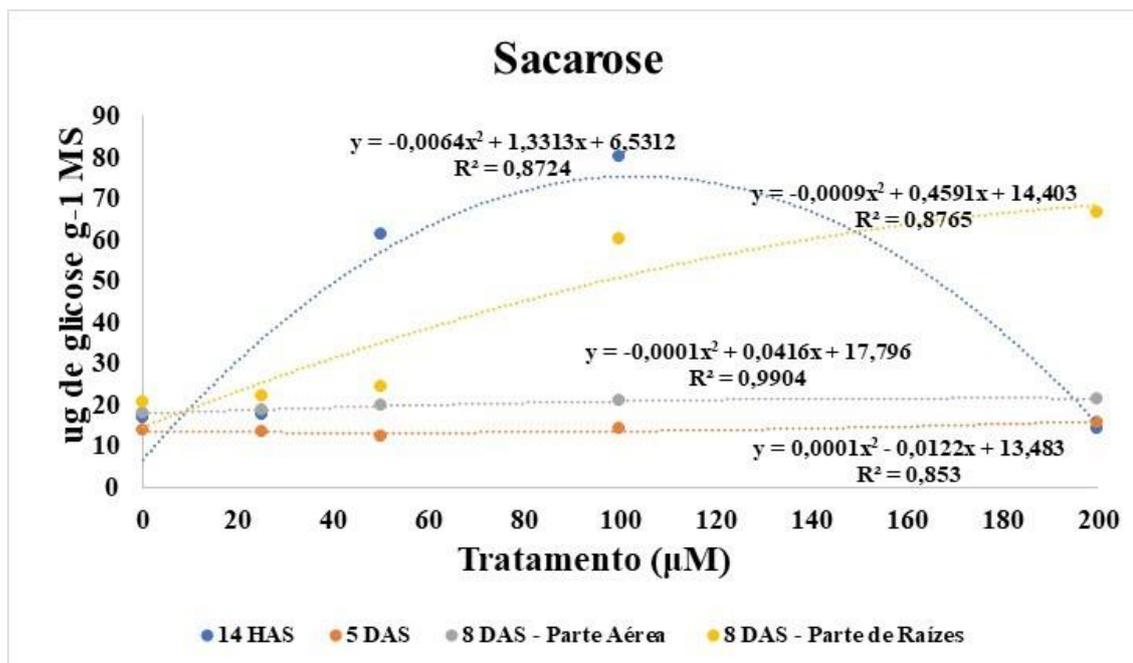


Figura 7. Quantidade de sacarose em sementes e plântulas de *Glycine max* L. tratadas com diferentes concentrações 0, 25, 50, 100 e 200 μM de triptofano nas diferentes épocas de coleta, sendo estas, 14 horas após a semeadura (HAS), 5 dias após a semeadura (DAS), 8 dias após a semeadura (DAS) em parte aérea e 8 dias após a semeadura (DAS) nas raízes, onde as médias foram submetidas ao teste de ANOVA à ($p < 0,05^{**}$) de significância e ajustadas ao modelo de regressão quadrático.

Atividade das enzimas antioxidante e prolina

O uso de triptofano melhorou substancialmente as atividades de antioxidantes enzimáticos e não enzimático. As atividades da SOD foram aumentadas nas concentrações de 100 e 200 μM para as épocas de coleta compreendidas como: 14 horas após a semeadura (HAS), 5 dias após a semeadura (DAS) e 8 dias após a semeadura (DAS) em parte aérea, com as seguintes médias: 13,64; 13,93; 15,01 na concentração de 100 μM e 44,22; 71,05; 72,11 na concentração de 200 μM , respectivamente, evidenciadas nas Figuras 8, quando comparada as demais concentrações, e também quando comparado ao tratamento controle. Já para os 8 dias após a semeadura (DAS) em parte de raízes, a ação da enzima foi diminuída conforme houve aumento nas concentrações de triptofano (25, 50, 100 e 200 μM), quando comparadas ao tratamento controle, sem adição de triptofano.

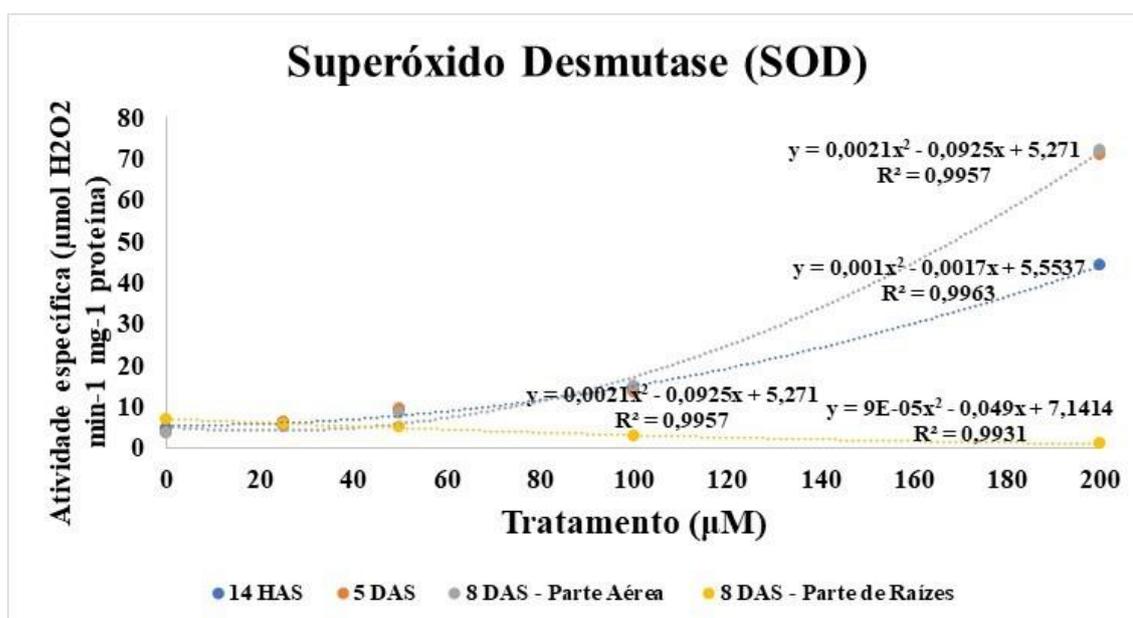


Figura 8. Atividade da enzima (SOD) superóxido desmutase em sementes e plântulas de *Glycine max* L. tratadas com diferentes concentrações 0, 25, 50, 100 e 200 μM de triptofano nas diferentes épocas de coleta, sendo estas, 14 horas após a semeadura (HAS), 5 dias após a semeadura (DAS), 8 dias após a semeadura (DAS) em parte aérea e 8 dias após a semeadura (DAS) nas raízes, onde as médias foram submetidas ao teste de ANOVA à ($p < 0,05^{**}$) de significância e ajustadas ao modelo de regressão quadrático.

A Catalase (CAT) para 1ª coleta que corresponde a 14 horas após a semeadura (HAS) e 3ª coleta em parte de raízes (Figura 9), que é tida como 8 dias após a semeadura, teve valores médios de 137,46 e 156,15 $\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ MF}$ (matéria fresca) em concentrações acima de 100 μM , quando comparada aos demais tratamentos. Já, nas coletas 5 dias após a semeadura (DAS) e 8 dias após a semeadura (DAS) – Figuras 9, em doses acima de 50 μM de triptofano, a ação da enzima foi reduzida, em alguns casos a cerca de 61% do seu valor quando comparado ao tratamento sem a aplicação de triptofano.

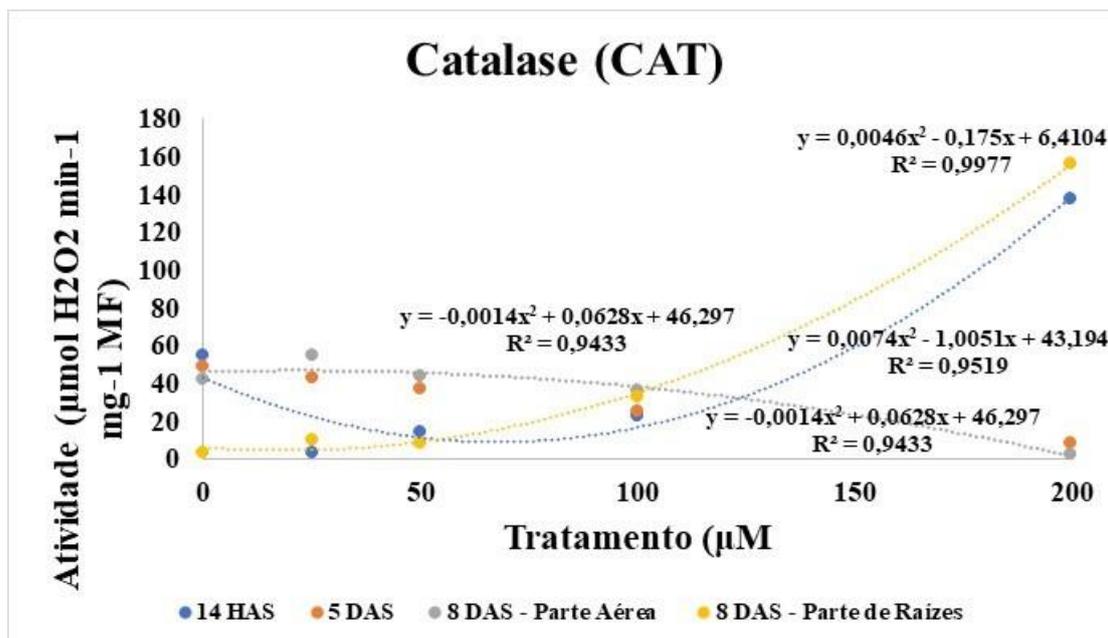


Figura 9. Atividade da enzima (CAT) catalase em sementes e plântulas de *Glycine max* L. tratadas com diferentes concentrações 0, 25, 50, 100 e 200 μM de triptofano nas diferentes épocas de coleta, sendo estas, 14 horas após a semeadura (HAS), 5 dias após a semeadura (DAS), 8 dias após a semeadura (DAS) em parte aérea e 8 dias após a semeadura (DAS) nas raízes, onde as médias foram submetidas ao teste de ANOVA à ($p < 0,05^{**}$) de significância e ajustadas ao modelo de regressão quadrático.

Os valores médios referentes a quantidade de prolina por miligrama de matéria fresca podem ser vistos segundo a Figura 10, onde, os mesmos valores foram ajustados para o modelo de regressão quadrático no qual demonstra aumento da quantidade de prolina conforme houve um aumento nas concentrações de triptofano. Os maiores valores encontrados foram de 235,46; 134,65; 135,63; 69,04 μg prolina mg^{-1} MF para as épocas de coleta compreendidas como 14 horas após a semeadura (HAS), 5 dias após a semeadura (DAS), 8 dias após a semeadura (DAS) em parte aérea e 8 dias após a semeadura (DAS) nas raízes, respectivamente, tratadas com 200 μM de triptofano.

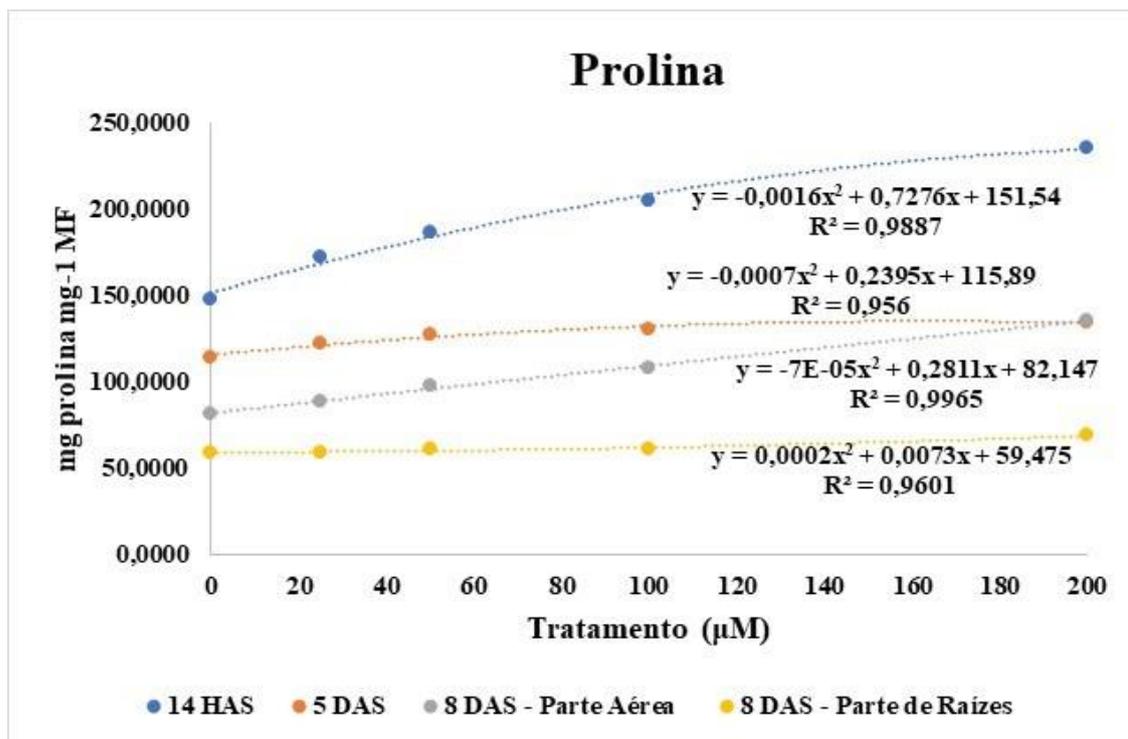


Figura 10. Quantidade de prolina em sementes e plântulas de *Glycine max* L. tratadas com diferentes concentrações 0, 25, 50, 100 e 200 µM de triptofano nas diferentes épocas de coleta, sendo estas, 14 horas após a semeadura (HAS), 5 dias após a semeadura (DAS), 8 dias após a semeadura (DAS) em parte aérea e 8 dias após a semeadura (DAS) nas raízes, onde as médias foram submetidas ao teste de ANOVA à ($p < 0,05^{**}$) de significância e ajustadas ao modelo de regressão quadrático.

Teor de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e malondialdeído (MDA)

Os teores de H₂O₂ podem ser vistos na Figura 10, onde foi ajustado ao modelo de regressão quadrático demonstrando aumento das concentrações conforme ocorreram elevações dos valores de triptofano as 14 horas após a semeadura (HAS) com média de 9,76 µmol no tratamento suplementado com 200 µM de triptofano, bem como houveram aumento aos 5 dias após a semeadura (DAS) e 8 dias após a semeadura (DAS) em parte aérea, com seus respectivos valores 9,70 e 9,76 µmol. Aos 8 dias após a semeadura (DAS) em parte de raízes, a partir da dose de 25 µM de triptofano, a quantidade de peróxido na matéria fresca sofre uma redução, sendo o tratamento suplementado com 200 µM o que obteve menor valor médio, expresso por 4,93 µmol quando comparado ao tratamento controle, onde não há adição de triptofano, com valor de 10,23 µmol de peróxido na matéria fresca.

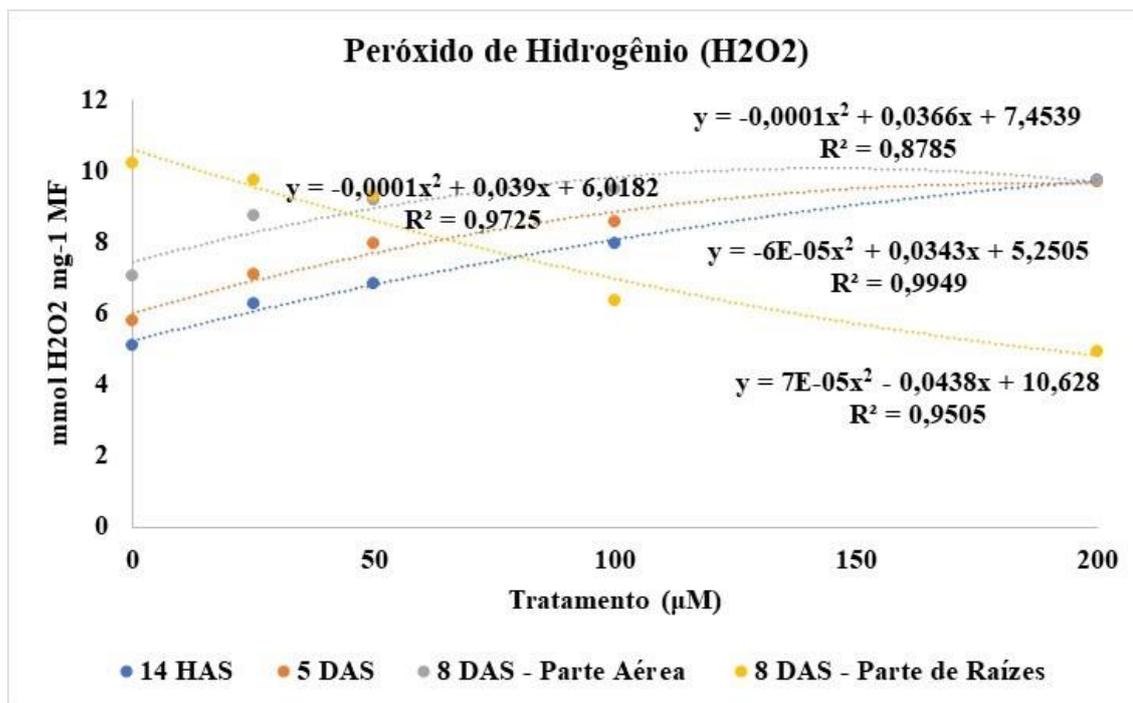


Figura 10. Quantidade de (H₂O₂) peróxido de hidrogênio em sementes e plântulas de *Glycine max* L. tratadas com diferentes concentrações 0, 25, 50, 100 e 200 µM de triptofano nas diferentes épocas de coleta, sendo estas, 14 horas após a semeadura (HAS), 5 dias após a semeadura (DAS), 8 dias após a semeadura (DAS) em parte aérea e 8 dias após a semeadura (DAS) nas raízes, onde as médias foram submetidas ao teste de ANOVA à ($p < 0,05^{**}$) de significância e ajustadas ao modelo de regressão quadrático.

Para malonaldeído, o mesmo ajustou-se ao modelo quadrático e apresentou aumento com a elevação da concentração de triptofano, a partir de 25 µM, sendo que a dose com 200 µM foi a que apresentou melhores resultados para esta variável, independente da época de coleta (Figura 11).

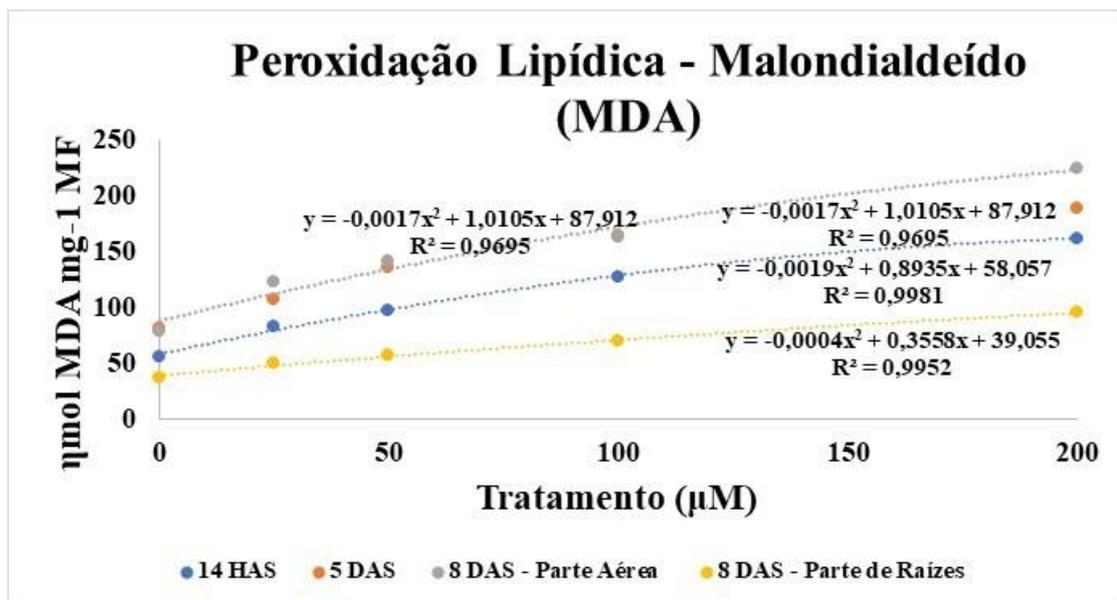


Figura 11. Quantidade de (MDA) malondialdeído em sementes e plântulas de *Glycine max* L. tratadas com diferentes concentrações 0, 25, 50, 100 e 200 µM de triptofano nas diferentes épocas de coleta, sendo estas, 14 horas após a semeadura (HAS), 5 dias após a semeadura (DAS), 8 dias após a semeadura (DAS) em parte aérea e 8 dias após a semeadura (DAS) nas raízes, onde as médias foram submetidas ao teste de ANOVA à ($p < 0,05^{**}$) de significância e ajustadas ao modelo de regressão quadrático.

1.4 DISCUSSÃO

O triptofano nas concentrações de 25, 50, 100 e 200 µM proporcionou as sementes de soja um aumento na porcentagem de germinação quando comparadas ao tratamento controle, sem adição de triptofano. Isto mostra que o lote da cultivar BÔNUS estava com

baixa porcentagem de germinação, tendo em vista que a mesma é calculada com base na quantidade de plântulas normais ao final da última contagem.

A cultivar BÔNUS possui diversas características como: alta produtividade, estabilidade, além de ter um excelente desenvolvimento inicial, e tem um perfil genético de destaque por ser resistente à fatores bióticos, principalmente relacionado as principais pragas e doenças da cultura (STEINER et al, 2020). Por outro lado, alguns fatores podem ter contribuído para a diminuição da porcentagem de germinação: um deles relacionado ao gene AT3G12580(HSP70-4) – TAIR que é um importante componente celular da mitocôndria, clorofila, cloroplasto, complexo de Golgi e outros, presentes em diversas culturas, e o outro, relacionados a níveis de estresse quando submetidas a condições de cultivo à campo.

CABRAL (2019, 76p), cita que a cultivar BÔNUS, quando submetida a estresses abióticos possui um nível moderadamente suscetível a estresse salino e um nível considerado suscetível ao estresse hídrico. STEINER et al, 2020 e CABRAL 2019, 77p em trabalhos com a cultura da soja citam que a diminuição da germinação da semente BONUS, está relacionada à fatores genéticos ou a estresses abióticos sofridos, que por sua vez interferiram negativamente quando a semente foi reidratada e estava pronta para iniciar o processo de germinação.

Porém, a soja, assim como a maioria das plantas de metabolismo C₃ apresentam grande sensibilidade aos diversos tipos de estresses (REDDY *et al.*, 1991; SINGH *et al.*, 2007; LOKA; OOSTERHUIS, 2010), onde, tais fatores podem alterar afetar sua fisiologia, bioquímica e até mesmo sua morfologia. Mesmo com diferentes respostas fisiológicas e metabólicas para sobreviver ao estresse, as plantas quando tratadas de forma exógena com composto ou a combinações de compostos, são altamente responsivas a estes tratamentos, auxiliando nos processos de desenvolvimento. O aminoácido triptofano pode aumentar a tolerância de plantas quando submetidas ao estresse, além, de promover o próprio estresse oxidativo em sementes. Promotor de crescimento, a biomolécula está relacionada em inúmeras respostas metabólicas em plantas, em condições favoráveis ou não (ERLAND et al., 2019). O pré-tratamento ou a aplicação através da irrigação com triptofano (Trp) não só promove a germinação, mas também melhora significativamente o crescimento e desenvolvimento de raízes e o acúmulo de nutrientes (ZHANG et al., 2017).

No processo de germinação das sementes, que caracteriza o ponto inicial, a fase I ou fase de absorção rápida de água BEWLEY e BLACK (1985), é tida como a mais

sensível e crítica para o ciclo de vida das plantas, pois estresses sofridos antes, durante ou após a semeadura restringem o adequado estabelecimento das culturas PAREEK et al. (2017), limitando a ação de algumas enzimas, aminoácidos e proteínas, importantes no fase I, além, de inviabilizar a utilização das reservas energéticas da semente (PAREEK et al., 2017; MENEGALE et al., 2015).

Esta característica é muito comum, porque após a reidratação da semente, ocorre uma rápida entrada de água, para posteriormente, iniciar os processos metabólicos que são de suma importância para que ocorra o processo de germinação (MENEGALE et al., 2015). Tendo em vista que a semente, depende da sua reserva energética, pois, ainda não possui os pigmentos fotossintéticos para absorver luz e manter todo o “corpo celular” e está manutenção, por outro lado, só é iniciada quando há formação dos primeiros pares foliares (MARCOS FILHO et al., 1987).

Posterior ao processo de absorção rápida de água e ativação metabólica, inicia-se a germinação, porém, existe um indicativo que está diretamente atrelado a germinação, o vigor. O vigor é avaliado por diversos testes, sendo eles: condutividade elétrica, teste tetrazólio, teste de envelhecimento acelerado, teste frio, primeira contagem, índice de velocidade de germinação, teste em caixa de areia e o de raio x, todos estes capazes de mensurar a relação com alterações na fluidez, bem como, na integridade e permeabilidade do sistema de membranas celulares das sementes (ABU-ROMMAN et al. 2010, HUSSAIN & REIGOSA 2011; MARCOS FILHO et al., 1987; MARCOS FILHO, 2005), De fato, aqui verificamos que sementes de soja quando tratadas com triptofano, aumentaram a porcentagem de germinação e vigor, um indicativo deste dado é o Índice de Velocidade de Germinação (IVG).

No presente estudo foi demonstrado que o Trp proporcionou um incremento no número de plântulas normais ao final das avaliações, bem como no vigor. WEITBRECH et al. (2011) citam que a biomolécula ao ser fornecida de maneira exógena, foi responsável por desencadear um estresse oxidativo nas sementes, aumentando o crescimento e desenvolvimento de plantas algodão, tanto em condições de estresse térmico, como em condições normais. Já, LIANG et al (2018) demonstram que doses de 50 μmol de triptofano foi responsável por uma redução na severidade dos danos causados pelo estresse, mitigando os efeitos do estresse auxiliando em um maior crescimento radicular e acúmulo de biomassa.

EPSTEIN e BLOOM (2005) em trabalho desenvolvido com tamareira (*Phoenix dactylifera*) citam que o IVG está diretamente relacionado a porcentagem (%) de

germinação e ao vigor das plantas, pois, esta variável é um método quantitativo de avaliação de plântulas normais diárias, além de permitir ter uma estimativa ao final da sua avaliação (EL-FEKY e ABO-HAMAD, 2014). Já, ABU-ROMMAN et al. 2010 citam que sementes de *Triticum* (*Triticum durum*) quando não armazenadas de maneira ideal, deterioradas ou quando expostas a estresses, há uma perda na integridade do sistema de membrana, reduzindo a seletividade de solutos, aumentando o tempo de germinação e diminuindo a quantidade de plantas normais e conseqüentemente o vigor, podendo causar até intoxicação ou morte, mesmo que as plantas possuam uma boa reserva energética para ser utilizada durante o processo de estabelecimento da cultura (ABU-ROMMAN et al. 2010, HUSSAIN & REIGOSA 2011; PESKE et al., 2012).

Para CHEN et al. (2021), estes mecanismos de mitigação estão relacionados a regulação pelo triptofano na expressão dos genes para biossíntese do ABA e GA, na via de transdução de sinal da planta, induzindo o desenvolvimento da raiz do embrião e germinação de sementes, reduzindo a dormência (SARROPOULOU et al., 2012), além, de incrementar o ganho de comprimento e diâmetro de raiz (ZHANG et al., 2013; ZENG et al., 2018).

A maioria das espécies da família Fabaceae são capazes de acumular certos compostos de reserva em suas sementes, a soja por sua vez, possui uma grande quantidade de amido e lipídeos, que ao serem degradados, são capazes de modular uma cascata de sinalização metabólica na semente (BUCKERIDGE & DIETRICH, 1990). O amido na fase I, ou inicial, tende a ser mais abundante, tendo em vista que a semente ainda não foi hidratada o suficiente para que ocorra a ativação metabólica e degradação do mesmo, já na fase II, o amido tende a diminuir e ser disponibilizado para as plantas através de outros compostos, ou, em alguns casos, ser realocado em outras partes da planta, tendo em vista que o mesmo possui função protetora. Corroborando com os dados deste trabalho, BUCKERIDGE & DIETRICH (1990) nos mostra que o polissacarídeo de reserva mais abundante, o amido, possui a vantagem de ser formado por glucose que é prontamente utilizado como fonte de energia (BUCKERIDGE & REID, 1996; BUCKERIDGE et al., 2000). Uma vantagem ao ser comparada ao acúmulo de monossacarídeos, é que estes polissacarídeos não podem sofrer glicosilação inespecífica de elementos celulares. Outra vantagem é a relativa inatividade osmótica dos polímeros, pois, o amido é insolúvel e é altamente compactado em organelas celulares específicas, os amiloplastos, permitindo uma entrada de água na semente de forma controlada através da parede celular (BUCKERIDGE et al., 2000), além, de servir como substrato para a respiração, bem

como, limitar o ataque de alguns insetos (BUCKERIDGE et al., 2000; ROLLAND et al., 2002).

Existem também outras formas de armazenamento de carboidratos que são através dos polissacarídeos de reserva de parede celular de sementes, como o galactomanano, o galactano e o xiloglucano (BUCKERIDGE et al., 1992; BUCKERIDGE & REID, 1996).

MOLLE (2007) cita que em plantas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.), a degradação do xiloglucano de reserva é iniciada simultaneamente com a fotossíntese nos eófilos, que são os primeiros pares de folhas que emergem da abertura dos cotilédones. Este mesmo caso pode ser associado a plantas de soja, tendo em vista que o mesmo autor, relacionou a quantidade de amido e xiloglucano sintetizado pelas plântulas em um trabalho desenvolvido com outros autores neste mesmo ano, mostrando a importância do amido nos estádios iniciais de desenvolvimento e corroborando com os dados relacionados a amido-glicose analisados neste trabalho. TARZE et al, (2007) afirmam que as plântulas de soja em desenvolvimento possuem duas fontes de carbono simultaneamente: a reserva dos cotilédones e a fotossíntese. Um sendo sintetizado durante a noite e disponibilizando carbono para os tecidos em crescimento e o outro controlado pelo ritmo circadiano associado à disponibilidade de luz (AMARAL, 2005; WINTER & HUBER, 2000).

OLIVEIRA et al., (2010) inteira que os carboidratos de reserva são hidrolisados a glicose pelas amilases e glucosidase. A glicose, portanto, pode ser utilizada como forma de energia ou então, ser transportada para o eixo embrionário sob forma de outra molécula, neste caso, a sacarose (GUIMARÃES et al, 1998; HUARTE e BENECH-ARNOLD, 2010; OLIVEIRA et al., 2010). Daí se explica o fato de que a quantidade de amido na primeira época de coleta era muito maior quando relacionado a quantidade de sacarose, evidenciando que o amido, por ser pouco móvel ou imóvel, ao ser degradado, há um redirecionamento de molécula para o eixo embrionário e para as outras estruturas quando formadas. Por outro lado, após a formação do eixo embrionário, a quantidade de sacarose nas outras épocas de coleta está sempre em alta, porque ela tem um papel importante no corpo celular, levando em consideração a sua mobilidade.

A sacarose, atua como uma transportadora de carbono ao longo da plântula e planta. WINTER & HUBER (2000) em estudos com jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) mostra que a própria disponibilidade de sacarose nos tecidos funciona como um

sinalizador de processos bioquímicos, uma vez que, além de fonte de energia, advinda da quebra de carboidratos (SANTOS et al., 2004), a própria sacarose pode atuar como um regulador direto ou indireto da expressão gênica e de fitormônios (WINTER & HUBER, 2000).

Por conta da via biosintética do triptofano, a primeira e principal molécula sintetizada é o ácido indol acético (AIA) (MURCH et al., 2002). Desta forma, a aplicação de triptofano sugere que esta molécula proporciona um aumento nos níveis de amido, açúcares, proteínas, enzimas, além, de incremento de biomassa de parte aérea e radicular, o qual proporciona um aumento de raízes primárias e secundárias, bem como um aumento em seu diâmetro (WEI et al., 2014; XIAO et al., 2019, AHAMAD et al., 2019). De forma similar, SARROU et al. (2021) e CHEN et al. (2021), relatam que doses intermediárias de melatonina, que é sintetizada através da via do triptofano, aumentaram principalmente a quantidade de açúcares redutores, prolina, enzimas, malondialdeído e peróxido de hidrogênio em sementes, bem como, promoveram um aumento no comprimento de parte aérea e de raiz, além, da biomassa e produtividade total dos frutos de romã submetidas a deficiência hídrica. Este fato corrobora com os resultados apresentados neste trabalho.

A síntese de sacarose em *H. courbaril* parece ser exercido pela auxina, em razão de altos picos de atividade das hidrolases que são responsáveis pela mobilização deste dissacarídeo, que ocorrem em conjunto com os maiores teores de auxina endógena (SANTOS & BUCKERIDGE, 2004).

Os açúcares, sejam eles totais ou redutores, são responsáveis por desencadear uma série de processos metabólicos que tem como função principal o crescimento e desenvolvimento das plantas (DANTAS et al., 2008; PONTES et al., 2002). Neste trabalho, os níveis de açúcares sofreram alterações durante as épocas de coleta, mas em sua grande maioria, os mesmos níveis permaneceram crescentes após a aplicação de triptofano, mostrando que o aminoácido modulou positivamente a quantidade de açúcares.

Esse resultado é semelhante aos obtidos por DANTAS et al. (2008), KARUNAGARAN e RAO (1991), PONTES et al. (2002) e SEIFFERT (2002) em que os teores de Açúcares Solúveis Totais (AST) diminuem gradativamente até o final da embebição e aumentam após o início da ativação metabólica de sementes de baráúna (*Schinopsis brasiliensis*), kulthi bean (*Macrotyloma uniflorum*), aricirana (*Apuleia leiocarpa* (Vogel)) e de almecega-vermelha (*Protium widgrenii*), respectivamente.

DANTAS et al. (2008) citam que os Açúcares Redutores (AR), tem um comportamento similar aos Açúcares Solúveis Totais (AST), onde, na fase I ocorre uma queda na quantidade de AR, mas, ao ser iniciada a fase II, que é caracterizada pela ativação metabólica, esta quantidade é aumentada rapidamente. Esta elevação, quando comparado aos AST ($29,64 \mu\text{mol.g}^{-1}$) pode ser de até 10x mais para AR ($296,4 \mu\text{mol.g}^{-1}$) para feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) MKONDA et al., (2017.), pertencente a mesma família que a da soja (*Glycine max* L.).

Os Açúcares Redutores (AR) têm um papel fundamental, pois, é a partir destes que irão ser distribuídos e realocados os produtos oriundos da síntese da reserva da semente ou da própria fotossíntese. MOLLE (2007), diz que no processo de germinação, há órgãos que atuam como fonte, neste caso, a reserva energética da semente, ou seja, o cotilédone, e outros como dreno, princípios foliares e raízes primária e secundárias. Pois estes, por sua vez, não são fotossintetizantes ou são incapazes de produzir fotossintatos em quantidade suficiente para sustentar o próprio crescimento, ou necessidade de armazenamento (TAIZ e ZEIGER, 2017), este mesmo processo pode acontecer durante toda a “vida” da planta e os açúcares desempenham um papel fundamental nesta manutenção celular.

MAIA et al. (2016), mostra que o aumento de açúcares e das atividades enzimáticas em plântulas de feijão-de-corda (*Vigna unguiculata*), possibilitou menores danos na função celular pelo sistema de limpeza de proteção interna, bem como, promoveu uma redistribuição de reservas para parte aérea e de raízes, para que, ao ser formado o aparato fotossintético, a planta consiga manter a síntese metabólica. Este sistema é catalisado por enzimas, que recupera as plantas de espécies reativas de oxigênio, mantendo o seu balanço celular, e em conjunto com a atividade osmorregulatória desses açúcares, permite uma maior tolerância a fatores de estresse (ASHRAF et al., 2011; ANJUM et al., 2011).

DANTAS et al. (2008), cita que os teores de amido em sementes quiescentes de catingueira é baixo, sendo de $4,31 \text{ mg.g}^{-1}$, indicando, portanto, que está não seja o principal carboidrato de reserva desta espécie. Já, em estudos com sementes de garapeira (*Apuleia leiocarpa*) ficou evidenciado que houve um incremento nos teores de amido nos cotilédones durante o período de embebição das sementes (PONTES et al., 2002) mostrando que o processo de reidratação da semente é de suma importância (YARI et al., 2012), porque é através desta entrada de água que irão ser reestabelecidos os processos metabólicos e hidrolise de algumas moléculas por parte das enzimas.

Através dos processos de hidrólise, mediados por enzimas como α -amilase, o amido é degradado, e sendo disponibilizado como fonte de energia suficiente para a germinação e desenvolvimento das sementes (YUE et al., 2019; CHEN et al., 2021). Levando em consideração que o amido disponibiliza energia para a germinação das sementes e é a principal fonte de armazenamento de carboidratos para o crescimento das mesmas, o triptofano pode estar ligado ao processo de hidrólise do amido, no qual por meio do seu tratamento, há o aumento da quantidade relativa de enzimas, principalmente α -amilase, sendo responsável por promover assim, uma maior disponibilidade de amido para o meio (ZHANG et al., 2017; CHEN et al., 2021). Em estudo com melatonina, que é uma molécula sintetizada através do triptofano, ZHANG et al. (2012) observaram que o tratamento em sementes de pepino proporcionou um maior fortalecimento radicular, durante estresse hídrico, devido a uma melhora no diâmetro da raiz. CHEN et al. (2021), por sua vez, demonstraram que o pré-tratamento de sementes com melatonina estressadas por sal, foram capazes de regular positivamente a disponibilidade de amido, resultando em melhorias nos processos germinação e desenvolvimento das mesmas.

Outros processos fisiológicos regulam o crescimento e desenvolvimento das plantas, alguns deles relacionados a sínteses de algumas macromoléculas como carboidratos, lipídios e proteínas, bem como na produção de alguns fitormônios essenciais para o “corpo da planta”, além, da absorção de água (BLEISS; EHWALD, 1993), que interfere positivamente na promoção de expansão celular. Estes mesmos autores citam que o triptofano é responsável pelo crescimento das raízes, sejam elas primárias ou secundárias, através da indução de auxina, o qual afeta a absorção de água e causa extensão irreversível da parede celular das plantas (BLEISS; EHWALD, 1993), ligado a capacidade de modulação e adaptação por meio da aplicação de triptofano, aumentando a eficiência da entrada de água, mesmo em condições estressantes (AHMAD *et al.*, 2019).

Em sementes, quando o processo de germinação se inicia, além da importância de algumas enzimas hidrolíticas, a formação de espécies reativas ao oxigênio são importantes na degradação de componentes de tecido de reserva, além, de promover o afrouxamento nas membras lipídicas, processo este, conhecido como peroxidação lipídica, que ao final do processo, por meio de facilitadores, serão redirecionadas as regiões de crescimento, ou seja, para o embrião (BONOME et al., 2011; CARVALHO e NAKAGAWA, 2000).

Os lipídios são os principais constituintes do material de reservas de diversas espécies, tais como: soja (*Glycine max* L.) (BITTENCOURT e GUDA, 2021), leiteiro (*Euphorbia heterophylla* L.) (SUDA e GIORGINI, 2000) e araticum mirim (*Annona emarginata*) (CORSATO, 2010), sendo armazenados na forma de triglicerídeos. Através do processo de gliconeogênese os lipídios são hidrolisados resultando na formação de glicerol e ácidos graxos livres.

Segundo WANG et al. (2012) e HU et al. (2021) os autores fazem inferência que as sementes ao serem tratadas são responsáveis pelo aumento de forma gradual da síntese de algumas biomoléculas do metabolismo primário e secundário, além, da regulação de fitormônios, sendo o ácido abscísico (ABA) antagonizado ao ser feita essa reidratação da semente e regulando genes específicos ocasionando uma redução no seu conteúdo em plantas quando estressadas (LI et al., 2015). Segundo o mesmo autor, o tratamento com o triptofano eleva a concentração de giberelina (GA) na camada de aleurona, sendo esta responsável por iniciar o processo de germinação, tendo em vista que as espécies reativas ao oxigênio (ROS), bem como a síntese de algumas enzimas, são responsáveis por degradarem o amido e fornecer a plântula.

BONOME et al., (2011), citam que o aumento nos níveis de EROs como o oxigênio singlete e o peróxido de hidrogênio foram responsáveis por promover a peroxidação de lipídeos, porém, estas mesmas EROs, sinalizaram para originar uma cascata de eventos bioquímicos, que em sementes, tem um papel importante quando relacionado aos processos de germinação (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000).

UCHIDA et al. (2002) mostraram que plantas de arroz quando tratadas com H₂O₂ em baixas concentrações, apresentaram uma maior resistência ao estresse salino, demonstrando que este composto promove um aumento da tolerância a estresses abióticos, mesmo em plantas que já tenham sofrido algum tipo de estresse anteriormente.

A aplicação de H₂O₂ exógeno em sementes de arroz SASAKI et al. (2005) e milho AZEVEDO NETO et al. (2005) promoveu um aumento na quantidade de H₂O₂, isto fez com que ocorresse uma maior taxa de germinação em um intervalo de tempo reduzido, aumento no peso fresco das plântulas, comprimento das raízes e da parte aérea, massa seca total, além de um aumento dos transcritos de enzimas do sistema antioxidante (SASAKI et al., 2005), demonstrando que a ação desta molécula, está diretamente relacionada eficiência de realocação da reserva da semente AZEVEDO NETO et al. (2005), pois, o em algumas situações atua como um mensageiro secundário, regulada por diversos estímulos, principalmente através de NADPH-oxidases e peroxidases, por

ser uma molécula pequena e relativamente móvel, pode transportar informações entre os diferentes compartimentos celulares, modulando atividades de sinalização de outros componentes e fazendo com que ocorra cascatas de reações, com diferentes resultados biológicos, abrangendo até mesmo os que conduzem à sua própria síntese, iniciando também processos de tolerância cruzada (PETROV; BREUSEGEM, 2012; AZEVEDO NETO et al., 2005; GONG et al., 2001; PRASAD et al., 1994).

Durante este processo de germinação, os níveis de malondialdeído (MDA) é tido como um dos índices mais importante para refletir a taxa e a intensidade da peroxidação lipídica nos tecidos vegetais (HU et al., 2016). O tratamento com triptofano promoveu um estresse oxidativo, ocasionando um maior acúmulo de superóxido, conseqüentemente, ocasionou um aumento em peroxidação lipídica de membrana celular, assim, promovendo um aumento nas taxas de MDA, em plântulas de soja, isso fez com que as plantas crescessem mais rapidamente. O aminoácido triptofano tem a capacidade antioxidante, sendo responsável por neutralizar as EROs, mantendo o equilíbrio e limpando seu excesso no sistema (JAHAN et al., 2021a; 2021b).

Em estudos recentes, a mesma resposta foi relatada por diversos autores, em diversas culturas, sendo elas submetidas aos diferentes tipos de estresse ou até mesmo seu tratamento quando estas plantas estão sob condições ideais de campo (WANG et al., 2017; AHAMMED et al., 2019; XIAO et al., 2019, CHEN et al., 2020 JAHAN et al., 2021a; 2021b), demonstrando que a aplicação de triptofano, é responsável por desencadear um estresse oxidativo em sementes, aumentando os níveis de MDA, peroxidação, por outro lado, plantas quando tratadas com triptofano, este tratamento não somente alivia os efeitos danosos do estresse XIAO et al. (2019), como proporciona uma melhora nos mecanismos fisiológicos e bioquímicos da planta para sua sobrevivência e desenvolvimento AHAMMED et al. (2019), por meio principalmente da ação de algumas enzimas que são responsáveis por manter o equilíbrio das EROs no meio celular (JAHAN et al., 2021a; 2021b).

O tratamento de sementes de forma exógena, principalmente de aminoácidos, tem se mostrado eficiente, pois, além de alterar a síntese de alguns compostos, a morfologia da plântula e planta, altera também a fisiologia do vegetal de maneira geral, principalmente de maneira benéfica, atuando positivamente em respostas a fatores abióticos, pois aumenta a catálise enzimática. Neste trabalho, o aumento na atividade das enzimas superóxido desmutase (SOD) e catalase (CAT), além, do aumento nos níveis de prolina que é um fator não enzimático, mostra quão importante é manter a atividade

osmorregulatória do meio celular, para que ocorra de maneira mais eficiente os processos fisiológicos.

Em plantas de guandu (*Cajanus cajan*), a atividade osmorregulatória constitui um dos mecanismos fisiológicos mais eficientes para a manutenção da turgescência celular (MARIJUAN E BOSCH, 2013), esse mecanismo é estabelecido mediante acúmulo, no vacúolo ou no citosol, de solutos compatíveis (prolina, glicina, betaína, tretalose, sacarose, poliaminas, manitol, pinitol, entre outros), sendo responsáveis pela manutenção do equilíbrio hídrico e a preservação da integridade de proteínas, enzimas e membranas celulares (ASHRAF et al. 2011; AMRI e MOHAMMADI, 2012; MARIJUAN e BOSCH, 2013).

Segundo os autores CVIKROVÁ et al., (2013) FILIPPOU et al. (2013) e FILIPPOU et al. (2014) em sementes de tabaco (*Nicotiana tabacum*), maria mole (*Medicago truncatula*) e espanta-lobos (*Ailanthus altissima*), respectivamente, o acúmulo de prolina ocorre pela síntese “de novo” ou pela inibição do processo de oxidação da prolina.

Este acúmulo de solutos compatíveis não é nocivo ao metabolismo celular e, por aumentar a pressão osmótica no interior das células, a absorção de água e pressão de turgor celular é mantida, permitindo assim, a continuidade dos processos fisiológicos, o crescimento do embrião, a formação de plântula e de plantas saudáveis (CVIKROVÁ et al., 2013; FILIPPOU et al. 2014; MARIJUAN & BOSCH, 2013).

Para sua própria proteção contra efeitos tóxicos mediados pela abundância de EROs nas plantas, as células e suas organelas, como cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos empregam um sistema de defesa antioxidante (DUAN et al., 2008; DAVAR et al., 2013).

GILL & TUTEJA, 2010 citam que a superóxido dismutase (SOD) é uma das enzimas antioxidantes intracelulares mais eficazes, sendo a primeira na linha de defesa contra efeitos tóxicos em níveis elevados das espécies reativas de oxigênio, principalmente contra o aumento de ânion superóxido (O_2^-) (ASHRAF et al., 2011; RESENDE, SALGADO e CHAVES, 2003). No entanto, após ocorrer a dismutação de O_2^- em H_2O pela SOD, faz-se necessário a ação complementar de enzimas como CAT e APX, promovendo a detoxificação, as quais irão manter o balanço de H_2O_2 no meio celular, uma vez que esse subproduto em grandes quantidades também é tóxico (BAILLY, 2004; CAVALCANTI, 2012; GILL & TUTEJA, 2010; PRASAD et al, 1994, SHARMA et al., 2011). Sendo assim, o aumento da ação destas enzimas, estão

diretamente relacionados ao aumento de peróxido de hidrogênio e malondialdeído, que no processo de germinação, desempenham um papel fundamental nas sementes.

1.5 CONCLUSÃO

Este trabalho comprovou que o uso do aminoácido triptofano foi responsável por gerar um estresse oxidativo nas sementes quando colocadas pra germinar nas diferentes concentrações, o que aumentou a germinação e vigor de plântulas de soja. A concentração de 100 μM de triptofano foi a que apresentou melhores resultados para as variáveis analisadas como amido, açúcares redutores, açúcares solúveis totais e sacarose, nas épocas de coleta definidas como 5 dias após a semeadura e 8 dias após a semeadura na parte aérea. Já, a concentração de 200 μM de triptofano apresentou os melhores resultados para as variáveis analisadas como porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação, malondialdeído, peróxido de hidrogênio, catalase, superóxido desmutase e prolina 5 dias após a semeadura e 8 dias após a semeadura na parte aérea e na parte de raízes. Porém, fazem-se necessários estudos mais abrangentes em relação ao tratamento de sementes com o uso do triptofano relacionando o seu crescimento e desenvolvimento

em casa de vegetação e à campo, tendo em vista que todo o trabalho foi realizado em laboratório com fotoperíodo, temperatura e umidade controlada.

1.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-MONEM, A. A. et al. The role of tryptophan and prozac (5-hydroxy tryptophan) on the growth, some biochemical aspects and yield of two sunflower cultivars grown in saline soil. **International Journal of Academic Research**, v. 2, n. 4, 2010.

ABU-ROMMAN, S., SHATNAWI, M. & SHIBLI, R. 2010. Allelopathic Effects of spurge (*Euphorbia hierosolymitana*) on wheat (*Triticum durum*). **American Eurasia Journal of Agricultural & Environmental Sciences** 7(3):98-302.

AHAMMED, G.J. et al. Endogenous melatonin deficiency aggravates high temperature-induced oxidative stress in *Solanum lycopersicum* L. **Environmental and Experimental Botany**, v. 161, p. 303-311, 2019.

AHMAD, S. et al. Exogenous melatonin confers drought stress by promoting plant growth, photosynthetic capacity and antioxidant defense system of maize seedlings. **Peer Journals**, v. 7, p. e7793, 2019.

AMARAL, L. M. V. 2005. Metabolismo de carboidratos estruturais e de reserva em cotilédones de *Hymenaea courbaril* L. (JATOBÁ). Tese de doutorado, Universidade de São Paulo 123p.

AMIN, M.; AHMAD, R.; ALI, A.; ASLAM, M.; LEE, D. J. Silicon fertilization improves the maize (*Zea mays* L.) performance under limited moisture supply. **Cereal Research Communications**, v. 44, n. 1, p. 172-185, 2016.

AMRI, E.; MOHAMMADI, M.J. Effects of timing of drought stress on pomegranate seedlings (*Punicagranatum* L. cv «Atabaki») to exogenous spermidine and putrescine polyamines. **African Journal of Microbiology Research**, v.6, p.5294-5300, 2012.

ANJUM SA, WANG LC, FAROOQ M, KHAN I, XUE LL (2011b). Methyl jasmonate-induced alteration in lipid peroxidation, antioxidative defense system and yield in soybean under drought. **J. Agron. Crop Sci.**, doi:10.1111/j.1439-037X.2010.00468.x.

ANTONIOU, C. et al. Melatonin systemically ameliorates drought stress-induced damage in *Medicago sativa* plants by modulating nitro-oxidative homeostasis and proline metabolism. **Journal of Pineal Research**, v. 62, n. 4, p. e12401, 2017.

ARNAO, M.B.; HERNANDEZ-RUIZ, J. Melatonin and its relationship to plant hormones. **Annals of Botany**, v. 121, n. 2, p. 195-207, 2017.

ARNAO, M.B.; HERNANDEZ-RUIZ, J. Melatonin and reactive oxygen and nitrogen species: a model for the plant redox network. **Melatonin Research**, v. 2, n. 3, p. 152-168, 2019.

ARNAO, M.B.; HERNÁNDEZ-RUIZ, J. Melatonin as a regulatory hub of plant hormone levels and action in stress situations. **Plant Biology**, v. 23, p. 7-19, 2021.

ARNAO, M.B.; HERNÁNDEZ-RUIZ, J. Protective effect of melatonin against chlorophyll degradation during the senescence of barley leaves. **Journal of Pineal Research**, v. 46, n. 1, p. 58-63, 2009.

ASADA, K. Production and scavenging of active oxygen in chloroplasts. **Molecular Biology of Free Radical Scavenging Systems**, p.173-192, 1992.

ASHRAF, M. A. et al. Alleviation of waterlogging stress in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) by exogenous application of potassium in soil and as a foliar spray. **Crop Pasture Science**, Victoria, v. 62, n. 1, p. 25-38, Mar. 2011.

ASHRAF, M.; AKRAM, N.A.; ALQURAINY, F.; FOOLAD, M.R. Drought tolerance: roles of organic osmolytes, growth regulators, and mineral nutrients. **Advances in Agronomy**, v.111, p.249-296, 2011. DOI: 10.1016/B978-0-12-387689-8.00002-3.

AZEVEDO NETO, A. D. et al. Hydrogen peroxide pre-treatment induces salt-stress acclimation in maize plants. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 162, p.1114-1122, Oct. 2005.

BAILLY, C. 2004/05/01. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. V, 14. DOI - 10.1079/SSR2004159. Seed Science Research.

BAKHAT, H. F.; BIBI, N.; ZIA, Z.; ABBAS, S.; HAMMAD, H. M.; FAHAD, S.; ASHRAF, M. R.; SHAH, H. M.; RABBANI, F.; SAEED, S. Silicon mitigates biotic stresses in crop plants: A review. **Crop Protection**, v. 104, p. 21-34, 2018.

BEWLEY, J.D., BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. New York: Plenum Press, 1994. 445p.

BEWLEY, J.D., BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. New York: Plenum Press, 1985. 367p.

BHATNAGAR-MATHUR, P.; VADEZ, V.; SHARMA, K.K. Transgenic approaches for abiotic stress tolerance in plants: retrospect and prospects. **Plant Cell Reports**, v. 27, n. 3, p. 411-424, 2008.

BIBI, A.C.; OOSTERHUIS, D.M.; GONIAS, E.D. Photosynthesis, quantum yield of photosystem II and membrane leakage as affected by high temperatures in cotton genotypes. **Journal of Cotton Science**, v.12, p. 150-159, 2008.

BITTENCOURT, M. J.; M. P. C. Germinação de Soja (*Glycine max*) com Aplicação de Fitorregulador. v. 6 n. 2 (2021): Revista Agroveterinária, Negócios e Tecnologias. 2021.

BLEISS, W.; EHWALD, R. Transient changes in length and growth of wheat coleoptile segments following treatments with osmotica and auxin. **Plant Physiology**, v. 88, n. 4, p. 541-548, 1993.

BONOME, L.T.S., MOREIRA, S.A.F., OLIVEIRA, L.E.M. E SOTERO, A.J. (2011) Metabolism of carbohydrates during the development of sedes of the brazilian rubber tree [*Hevea brasiliensis* (Willd. Ex Adr. De Juss) Muell.-Arg.]. **Acta Physiology Plant** 33, 211-219.

BOR, M.; ÖZDEMİR, F.; TURKAN, I. The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritima* L. **Journal of Plant Sciences**, v. 164, p. 77–84, 2003.

BOWDEN, K.; BROWN, BARBARA G.; BATTY, JEAN E. 5-Hydroxytryptamine: its occurrence in cowhage. **Nature**, v. 174, n. 4437, p. 925, 1954.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009.

BRENNER, Eric D. et al. Plant neurobiology: an integrated view of plant signaling. **Trends in plant science**, v. 11, n. 8, p. 413-419, 2006.

BUCKERIDGE, M. S. & DIETRICH S. M. C. 1990. Galactomannan from Brazilian legume seeds. **Revista Brasileira de Botânica**, 13: 109–112.

BUCKERIDGE, M. S. & REID, J. S. G. 1996. Major cell wall storage polyssacharides in legume seeds: structure, catabolism and biological functions. **Cienc. Cult.**, 48: 153-162.

BUCKERIDGE, M. S., AIDAR, M. P. M., SANTOS, H. P., TINÉ, M. A. S. 2004. Acúmulo de reserva. In: Ferreira, A. G. & Borghetti, F. orgs. Germinação: do básico ao aplicado. Artmed, Porto Alegre. 31-50.

BUCKERIDGE, M. S., ROCHA, D. C., REID, J. S. G. & DIETRICH, S. M. C. 1992. Xyloglucan structure and post-germinative metabolism in seeds of *Copaifera langsdorffii* from savana and forest populations. **Physiologia Plantarum**, 86:145-151.

BUCKERIDGE, M. S., TINÉ, M. A. S., SANTOS, H. P., LIMA, D. U. 2000. Polissacarídeos de reserva de parede celular em sementes: estrutura, metabolismo e aspectos ecológicos. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, 12: 137-162.

BURKE, J.J. Variation among species in the temperature dependence of the reappearance of variable fluorescence following illumination. **Plant Physiology**, v. 93, n. 2, p. 652-656, 1990.

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.

BURKE, J.J.; VELTEN, J.; OLIVER, M.J. In vitro analysis of cotton pollen germination. **Agronomy Journal**, v.96, n.2, p.359-368, 2004.

BYEON, Y.; BACK, K. Melatonin synthesis in rice seedlings in vivo is enhanced at high temperatures and under dark conditions due to increased serotonin N-acetyltransferase and N-acetylserotonin methyltransferase activities. **Journal of Pineal Research**, v.56, n.2, p.189-195, 2014.

CABRAL, R. C. Identificação de cultivares de soja para tolerância aos estresses abióticos/Rogério do Carmo Cabral. – Cassilândia, MS: UEMS, 2019. 76f

CABRAL, R. C.; MAEKAWA, S. C. E.; PAULINO, M. A. R.; MOLINA, L. S.; ABES, S. S.; STEINER, F. **Plant Abiotic Stress Tolerance** [recurso eletrônico] / Organizador Fábio Steiner. – Nova Xavantina, MT: Pantanal, 2020. 149p. Doi: 10.46420/9786588319024cap1.

CABRINI, P. G.; SALA, F. C.; MAGRI, M. M. R. *Torulaspota globosa*: levedura rizosférica promotora de crescimento de alface para produção de mudas e em campo. **Research • Hortic. Bras.** 37 (3) • Jul-Sep 2019 • <https://doi.org/10.1590/S0102-053620190303>

CAIRNS, J. E.; SONDER, K.; ZAIDI, P. H., VERHULST, P. N.; MAHUKU, G.; BABU, R.; NAIR, S. K.; DAS, B.; GOVAERTS, B.; VINAYAN, M. T.; RASHID, Z.; NOOR, J. J.; DEVI, P.; VICENTE, F. S.; PRASANNA, B. M. Maize production in a changing climate: impacts, adaptation, and mitigation strategies. **Advances in Agronomy**, v. 114, p. 1-65, 2012.

CAO, L.; JIN, X. J.; ZHANG, Y.X. Melatonin confers drought stress tolerance in soybean (*Glycine max* L.) by modulating photosynthesis, osmolytes, and reactive oxygen metabolism. **Photosynthetica**, v.57, n.3, p.812-819, 2019.

CAPELIN, Diogo. **Caracterização eletrofisiológica em girassol: cinética, rotas de propagação, trocas gasosas e fluorescência da clorofila**. 2016. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

CARVALHO, J.A.; PINHO, E.V.R.V.P; OLIVEIRA, J.A; GUIMARÃES, R.M; BONOME, L.T. Testes rápidos para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Citromelo swingle*. **Revista Brasileira de Sementes**, v.24, n.1, p 263-270, 2002.

CARVALHO, N.M. E NAKAGAWA, J. (2000) *Sementes: ciência, tecnologia e produção*.

CARVALHO, W.P.; CARVALHO, G.J.; NETO, D.O.A.; TEIXEIRA, L.G.V. Alelopatia de extratos de adubos verdes sobre a germinação e crescimento inicial de alface. **Bioscience Journal**, v. 30, n.1, p.1-11, 2014.

CAVALCANTE, DALITA GOMES SILVA MORAIS. Biomarcadores genéticos e bioquímicos para avaliar os efeitos do biodiesel, por meio de bioensaios in vivo e in vitro. 2012.

CHANDOK, Meena R.; SOPORY, Sudhir K. 5-Hydroxytryptamine affects turnover of polyphosphoinositides in maize and stimulates nitrate reductase in the absence of light. **FEBS letters**, v. 356, n. 1, p. 39-42, 1994.

CHEN, L.I. *et al.* Exogenous melatonin promotes seed germination and osmotic regulation under salt stress in cotton (*Gossypium hirsutum L.*). **Plos One**, v.15, n.1, p.e0228241, 2020.

CHEN, Q. *et al.* Exogenously applied melatonin stimulates root growth and raises endogenous indoleacetic acid in roots of etiolated seedlings of Brassica juncea. **Journal Plant Physiology**, v. 166, p. 324–328, 2009.

CHIAVEGATO, E.J.; SALVATIERRA, D.K.; GOTTARDO, L.C.B. **Agrometeorologia**

CHINNUSAMY, V. *et al.* Small RNAs: big role in abiotic stress tolerance of plants. *In: Advances in molecular breeding toward drought and salt tolerant Crops*. Dordrecht: Springer, 2007. p. 223-260.

CHRISTMANN, ALEXANDER; GRILL, ERWIN; HUANG, JIN. Hydraulic signals in long-distance signaling. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 16, n. 3, p. 293-300, 2013.

CLARKE, A. Jo; MANN, P. J. G. The oxidation of tryptamine to 3-indolylacetaldehyde by plant amine oxidase. **Biochemical Journal**, v. 65, n. 4, p. 763, 1957.

CLÉMENT, M. *et al.* The cytosolic/nuclear HSC70 and HSP90 molecular chaperones are important for stomatal closure and modulate abscisic acid-dependent physiological responses in Arabidopsis. **Plant Physiology**, v. 156, n. 3, p. 1481-1492, 2011.

CONAB. **Acompanhamento safra brasileira de grãos – Safra 2018/2019**. Brasília, 2022. v. 6, p.11-26.

CONATY, W.C. *et al.* Determining the optimum plant temperature of cotton physiology and yield to improve plant-based irrigation scheduling. **Crop Science**, v.52, n.4, p.1828-1836, 2012.

CONATY, W.C. *et al.* The relationship between cotton canopy temperature and yield, fibre quality and water-use efficiency. **Field Crops Research**, v. 183, p. 329- 341, 2015.

CORSATO, J.M. **Tolerância à dessecação e armazenamento de sementes de Araticumde- terra-fria (*Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer**. 2010. 101f. Dissertação (Mestrado). Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

CRAFTS-BRANDNER, S. J.; SALVUCCI, M. E. Rubisco activase constrains the photosynthetic potential of leaves at high temperature and CO₂. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 97, n. 24, p. 13430-13435, 2000.

CSABA, G.; PÁL, Katalin. Effects of insulin, triiodothyronine, and serotonin on plant seed development. **Protoplasma**, v. 110, n. 1, p. 20-22, 1982.

CUI, G. *et al.* Beneficial effects of melatonin in overcoming drought stress in wheat seedlings. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 118, p. 138-149, 2017.

CVIKROVÁ, M.; GEMPERLOVÁ, L.; MARTINCOVÁ, O.; VANKOVÁ, R. Effect of drought and combined drought and heat stress on polyamine metabolism in prolineover producing tobacco plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.73, p.7-15, 2013. DOI: 10.1016/j.plaphy.2013.08.005.

DANELUZZI, Gabriel Silva. **Sinalização elétrica de longa distância pós-irrigação em plantas de girassol sob déficit hídrico**. 2016. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

DANTAS, B. F.; SOARES, F. S. J.; LÚCIO, A. A.; ARAGÃO, C. A. ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS DURANTE A EMBEBIÇÃO DE SEMENTES DE BARAÚNA (*Schinopsis brasiliensis* Engl.). **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 30, n° 2, p.214-219, 2008.

DE MAIO, A. Heat shock proteins: facts, thoughts, and dreams. **Shock**, v.11, n.1, p.1-12, 1999.

DEEBA, F. *et al.* Physiological and proteomic responses of cotton (*Gossypium herbaceum* L.) to drought stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 53, p. 6-18, 2012.

ECHER, F. R. **O algodoeiro e os estresses abióticos**: temperatura, luz, água e nutrientes. Embrapa Agropecuária Oeste-Outras publicações científicas (ALICE), 2014.

EL-BASSIOUNY, H. M. S.; ABDEL-MONEM, A. A. Role of Tryptophan or Prozac (5-hydroxytryptamine) on some Osmolytes and Antioxidant defense system of Sunflower cultivars grown in Saline soil. **International Journal of ChemTech Research**. under publication, 2016.

EL-FEKY, S. S.; ABO-HAMAD, S. A. Effect of exogenous application of brassinolide on growth and metabolic activity of wheat seedlings under normal and salt stress conditions. **Annual Research & Review in Biology**, v. 4, n. 24, p. 3687-3698, 2014.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. **Mineral nutrition of plants: principles and perspectives**. Sunderland: Sinauer Associates, 400 p., 2005.

ERLAND, L. A.; SAXENA, P. K.; MURCH, S. J. Melatonin in plant signalling and behaviour. **Functional Plant Biology**, v. 45, n. 2, p. 58-69, 2019.

ERLAND, L.A. *et al.* A new balancing act: the many roles of melatonin and serotonin in plant growth and development. **Plant Signal Behav**, v. 10, p. 11, 2015.

ERLAND, Lauren Alexandra Elizabeth; SAXENA, Praveen K. Beyond a neurotransmitter: the role of serotonin in plants. **Neurotransmitter**, v. 4, 2017.

ERSPAMER, Vittorio; ASERO, Biagio. Identification of enteramine, the specific hormone of the enterochromaffin cell system, as 5-hydroxytryptamine. **Nature**, v. 169, n. 4306, p. 800, 1952.

FÁBIO REIS DALLE MOLLE. **Atividade de enzimas do catabolismo de sacarose em plântulas de *Hymenaea courbaril* L. (Hayne) Lee & Lang. durante a mobilização do xiloglucano de reserva. 2007. 57p. Dissertação (Mestrado em BIODIVERSIDADE VEGETAL E MEIO AMBIENTE) - Secretaria de Infraestrutura e Meio Ambiente, São Paulo. 2007.**

FELLOWS, LINDA E.; BELL, ERNEST ARTHUR. 5-Hydroxy-L-tryptophan, 5-hydroxytryptamine and L-tryptophan-5-hydroxylase in *Griffonia simplicifolia*. **Phytochemistry**, v. 9, n. 11, p. 2389-2396, 1970.

FILIPPOU, P.; ANTONIOU, C.; FOTOPOULOS, V. The nitric oxide donor sodium nitroprusside regulates polyamine and proline metabolism in leaves of *Medicago truncatula* plants. **Free Radical Biology and Medicine**, v.56, p.172-183, 2013. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2012.09.037.

FILIPPOU, P.; BOUCHAGIER, P.; SKOTTI, E.; FOTOPOULOS, V. Proline and reactive oxygen/nitrogen species metabolism is involved in the tolerant response of the invasive plant species *Ailanthus altissima* to drought and salinity. **Environmental and Experimental Botany**, v.97, p.1-10, 2014. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2013.09.010.

FINKELSTEIN, R. R.; GAMPALA, S. S.; ROCK, C. D. Abscisic acid signaling in seeds and seedlings. **The Plant Cell**, v.14, n.(suppl 1), p.S15-S45, 2002.

FISCHER, T.W. *et al.* Melatonin enhances antioxidative enzyme gene expression (CAT, GPx, SOD), prevents their UVR-induced depletion and protects against the formation of DNA damage (8-hydroxy-2'-deoxyguanosine) in ex vivo human skin. **Journal of Pineal Research**, v. 54, p. 303–312, 2013.

FROMM, JÖRG; FEI, HOUMAN. Electrical signaling and gas exchange in maize plants of drying soil. **Plant Science**, v. 132, n. 2, p. 203-213, 1998.

GALANO, A.; TAN, D.X.; REITER, R.J. On the free radical scavenging activities of melatonin's metabolites, AFMK and AMK. **Journal of Pineal Research**, v. 54, p. 245–257, 2013

GALLÉ, Alexander *et al.* Environmental stimuli and physiological responses: the current view on electrical signalling. **Environmental and Experimental Botany**, v. 114, p. 15-21, 2014.

GATINEAU, Frederick *et al.* Quantitative variations of indolyl compounds including IAA, IAA-aspartate and serotonin in walnut microcuttings during root induction. **Biologia plantarum**, v. 39, n. 1, p. 131-137, 1997.

GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Superoxide Dismutases II. Purification and quantitative relationship with water-soluble protein in

GILL, S. S. *et al.* Amelioration of cadmium stress in crop plants by nutrients management: morphological, physiological and biochemical aspects. **Plant Stress**, v.5, n.1, p.1-23, 2011.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Polyamines and abiotic stress tolerance in plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 452, n. 12, p. 909-940, 2013.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 12, p. 909-930, 2010.

GIRIDHAR, A. Ramakrishna P.; RAVISHANKAR, G. A. Indoleamines and calcium channels influence morphogenesis in in vitro cultures of *Mimosa pudica* L. **Plant signaling & behavior**, v. 4, n. 12, p. 1136-1141, 2009.

GITTO, E. *et al.* Individual and synergistic antioxidative actions of melatonin: studies with vitamin E, vitamin C, glutathione and desferrioxamine (desferoxamine) in rat liver homogenates. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 53, p. 1393– 401, 2001.

GONG, M. et al. Heat-shock-induced cross adaptation to heat, chilling, drought and salt stress in maize seedlings and involvement of H₂O₂. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 158, n. 9, p. 1125-1130, Sept. 2001.

GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A.; YAHIA, E. M. Chlorophylls: Chemistry and Biological Functions. **Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry and Human Health**, v. 1, n. 2, p. 269-284, 2017.

GORDIN, C.R.B.; MARQUES, R.F.; MASSETO, T.E.; SOUZA, L.C.F. de. Estresse salino na germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de niger (*Guizotia abyssinica*) com o sistema solo-planta. **Journal of Agronomic Sciences**, v. 4, n. especial, p. 435- 454, 2015.

GÖSSLOVÁ, M.; SVOBODOVÁ, H.; LIPAVSKÁ, H.; ALBRECHTOVÁ, J.; VREUGDENHIL, D. Comparing carbohydrate status during norway spruce seed development and somatic embryo formation. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, v.37, p.24-28, 2001.

GRAHAM, M. Y. The diphenylether herbicide lactofen induces cell death and expression of defense-related genes in soybean. **Plant Physiology**, v. 130, p. 1784-1794, 2005.

GRAMS, Thorsten EE et al. Distinct roles of electric and hydraulic signals on the reaction of leaf gas exchange upon re-irrigation in *Zea mays* L. **Plant, Cell & Environment**, v. 30, n. 1, p. 79-84, 2007.

GROBE, Wolfgang. Function of serotonin in seeds of walnuts. *Phytochemistry*, v. 21, n. 4, p. 819-822, 1982.

GUIMARÃES, T.G.; FONTES, P.C.R.; PEREIRA, P.R.G.; ALVAREZ V., V.H. & MONNERAT, P.H. Determinação dos teores de nitrogênio na seiva do tomateiro por meio de microeletrodo portátil. **Horticultura Brasileira**, Brasília, 16(2):144-150, 1998.

HAHN, A. *et al.* Crosstalk between Hsp90 and Hsp70 chaperones and heat stress transcription factors in tomato. **The Plant Cell**, v. 23, n. 2, p. 741-755, 2011.

HALL, A.E. **Heat stress and its impact (online)**. Riverside: Department Botany and plant science, University of California, 2004.

HASANUZZAMAN, M. *et al.* Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of heat stress tolerance in plants. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 5, p. 9643-9684, 2013.

HASANUZZAMAN, M. *et al.* Plant response and tolerance to abiotic oxidative stress: antioxidant defense is a key factor. *In: Crop stress and its management: Perspectives and strategies*. Dordrecht: Springer, 2012. p.261-315.

HASSANPOUR, H. *et al.* Effects of penconazole and water deficit stress on physiological and antioxidative responses in pennyroyal (*Mentha pulegium* L.). **Acta Physiol Plant**, v. 34, p. 1537–1549, 2012.

HATFIELD, J. L.; BURKE, J. J. Energy exchange and leaf temperature behavior of three plant species. **Environmental and Experimental Botany**, v. 31, n. 3, p. 295-302, 1991.

HAUVERMALE, A. L. *et al.* Loss of *Arabidopsis thaliana* seed dormancy is associated with increased accumulation of the GID1 GA hormone receptors. **Plant and Cell Physiology**, v. 56, n. 9, p. 1773-1785, 2015.

HEJNÁK, V. *et al.* Growth and photosynthesis of Upland and Pima cotton: response to drought and heat stress. **Plant, Soil and Environment**, v. 61, n. 11, p. 507-514, 2015.

HERNÁNDEZ, I. G. *et al.* Melatonin in *Arabidopsis thaliana* acts as plant growth regulator at low concentrations and preserves seed viability at high concentrations. **Plant physiology and Biochemistry**, v. 94, p. 191-196, 2015.

HU, W. *et al.* Drought limits pollen tube growth rate by altering carbohydrate metabolism in cotton (*Gossypium hirsutum*) pistils. **Plant Science**, v. 286, p. 108-117, 2019.

HU, W. *et al.* Exogenous melatonin improves cotton (*Gossypium hirsutum* L.) pollen fertility under drought by regulating carbohydrate metabolism in male tissues. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 151, p. 579-588, 2020.

HU, W. *et al.* Oosterhuis. Effects of potassium deficiency on antioxidant metabolism related to leaf senescence in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). **Field Crops Research**, v. 191, n. 2016, p. 139-149, 2016.

HUANG, Yuanman; KAO, Ching Huei. Calcium in the regulation of corn leaf senescence by light. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, v. 33, n. 2, p. 161-165, 1992.

HUARTE, H.R. E BENECH-ARNOLD, R.L. (2010) Hormonal nature of seed responses to fluctuating temperatures in *Cynara cardunculus* (L.). *Seed Science Research* 20, 39-45.

HUBER, Annika E.; BAUERLE, Taryn L. Long-distance plant signaling pathways in response to multiple stressors: the gap in knowledge. **Journal of experimental botany**, v. 67, n. 7, p. 2063-2079, 2016.

HUSSAIN, M.I. & REIGOSA, M. J. 2011. Allelochemical stress inhibits growth, leaf water relations, PSII photochemistry, nonphotochemical fluorescence quenching, and heatenergy dissipation in three C3 perennial species. *Journal of Experimental Botany*62(13):453-454.

JAHAN, M. S. *et al.* Melatonin pretreatment confers heat tolerance and repression of heat-induced senescence in tomato through the modulation of ABA-and GA-mediated pathways. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 381, 2021.

JANAS, K.; POSMYK, M. Melatonin, an underestimated natural substance with great potential for agricultural application. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 35, p. 3285–3292, 2013.

JANSKÁ, A. *et al.* Cold stress and acclimation–what is important for metabolic adjustment?. **Plant Biology**, v. 12, n. 3, p. 395-405, 2010.

KAKANI, V. G. *et al.* Differences in in vitro pollen germination and pollen tube growth of cotton cultivars in response to high temperature. **Annals of Botany**, v. 96, n. 1, p. 59-67, 2005.

KANG, K. *et al.* A produção aumentada de melatonina por superexpressão ectópica da serotonina N-acetiltransferase humana desempenha um papel na resistência ao frio em mudas de arroz transgênico. **Journal of Pineal Research**, v. 49, n. 2, p. 176-182, 2010.

KANG, K. *et al.* Molecular cloning of a plant N-acetylserotonin methyltransferase and its expression characteristics in rice. **Journal of Pineal Research**, v. 50, n. 3, p. 304-309, 2011.

KANG, Kiyoon et al. Senescence-induced serotonin biosynthesis and its role in delaying senescence in rice leaves. **Plant physiology**, v. 150, n. 3, p. 1380-1393, 2009.

KANG, S. et al. Characterization of tryptamine 5-hydroxylase and serotonin synthesis in rice plants. **Plant cell reports**, v. 26, n. 11, p. 2009-2015, 2007a.

KANG, Sei et al. Characterization of rice tryptophan decarboxylases and their direct involvement in serotonin biosynthesis in transgenic rice. **Planta**, v. 227, n. 1, p. 263-272, 2007b.

KARUNAGARAN, D.; RAO, R. Mode and control of starch mobilization during germination of seeds of horse gram. **Plant Science**, Limerick, v.73, n.2, p.155-159, 1991.

KEVIN, V.J. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers; **Plant and Soil** v.255, p.571–586, 2003.

KHATTAK, W. A. *et al.* Foliar melatonin stimulates cotton boll distribution characteristics by modifying leaf sugar metabolism and antioxidant activities during drought conditions. **Physiologia Plantarum**, v. 174, n. 1, p. e13526, 2022.

KOSELKI, Mateusz *et al.* Light-and dark-induced action potentials in *Physcomitrella patens*. **Plant signaling & behavior**, v. 3, n. 1, p. 13-18, 2008.

KOSHIBA, T.; MATSUYAMA, H. An in vitro system of indole-3-acetic acid formation from tryptophan in maize (*Zea mays*) coleoptile extracts. **Plant Physiology**, v. 102, n. 4, p. 1319-1324, 1993

KRASENSKY, J.; JONAK, C. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 4, p. 1593-1608, 2012.

KUMARATHUNGE, D. P. *et al.* Acclimation and adaptation components of the temperature dependence of plant photosynthesis at the global scale. **New Phytologist**, v. 222, n. 2, p. 768-784, 2019.

KUREK, I. *et al.* Enhanced thermostability of Arabidopsis Rubisco activase improves photosynthesis and growth rates under moderate heat stress. **The Plant Cell**, v. 19, n. 10, p. 3230-3241, 2007.

LAW, D.R.; LAW, S.J.; CRAFTS-BRANDNER, M.E. Salvucci Heat stress induces the synthesis of a new form of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase activase in cotton leaves. **Planta**, v. 214, 2001.

LEMBECK, Fred; SKOFITSCH, Gerhard. Distribution of serotonin in *Juglans regia* seeds during ontogenetic development and germination. **Zeitschrift für Pflanzenphysiologie**, v. 114, n. 4, p. 349-353, 1984.

LI, C. *et al.* Hypoxia tolerance and adaptation of anaerobic respiration to hypoxia stress in two *Malus* species. **Scientia Horticulturae**, v.124, p. 274–279, 2009.

LI, C. *et al.* Melatonin mediates the regulation of ABA metabolism, free-radical scavenging, and stomatal behaviour in two *Malus* species under drought stress. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, n. 3, p. 669-680, 2015.

LI, H. *et al.* Exogenous melatonin confers salt stress tolerance to watermelon by improving photosynthesis and redox homeostasis. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 295, 2017.

LIANG, D. *et al.* Exogenous melatonin promotes biomass accumulation and photosynthesis of kiwifruit seedlings under drought stress. **Scientia Horticulturae**, v. 246, p. 34-43, 2019.

LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ Ct method. **Methods**, v. 25, n. 4, p. 402-408, Dec. 2001.

LOBELL, D. B.; FIELD, C. B. Global scale climate–crop yield relationships and the impacts of recent warming. **Environmental Research Letters**, v. 2, n. 1, p. 014002, 2007.

LOKA, D. A.; OOSTERHUIS, D. M. Effect of high night temperatures on cotton respiration, ATP levels and carbohydrate content. **Environmental and Experimental Botany**, v. 68, p. 258–263, 2010.

LUNEVSKY, V. Z. et al. Excitation of Characeae cell membranes as a result of activation of calcium and chloride channels. **The Journal of Membrane Biology**, v. 72, n. 1-2, p. 43-58, 1983.

MA, X. *et al.* Interactive effects of melatonin and cytokinin on alleviating drought-induced leaf senescence in creeping bentgrass (*Agrostis stolonifera*). **Environmental and Experimental Botany**, v. 145, p. 1-11, 2018.

MA, X.; ZHANG, J.; HUANG, B. A mitigação da citocina da senescência da folha induzida pelo sal na grama perene envolvendo a ativação de sistemas antioxidantes e equilíbrio iônico. **Botânica Ambiental e Experimental**, v. 125, p. 1-11, 2016.

MACEDO, Francynês da Conceição Oliveira. **Electrical signaling, gas exchange and turgor pressure in ABA-deficient tomato (cv. Micro-Tom) under drought**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

MAFFEI, Massimo; BOSSI, Simone. Electrophysiology and plant responses to biotic stress. In: **Plant Electrophysiology**. Springer, Berlin, Heidelberg, 2006. p. 461-481.

MAGUIRE, J. D. Speeds of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Cropping Science**, v. 2, p. 176-7, 1962.

MAHAN, J. R. *et al.* Irrigation scheduling using biologically-based optimal temperature and continuous monitoring of canopy temperature. **Acta Horticulturae**, v. 537, n. 1, p. 375- 381, 2000.

MAIA, J.M.; FERREIRASILVA, S.L.; VOIGT, E.L.; MACÊDO, C.E.C. de; PONTE, L .F.A.; SILVEIRA, J.A.G. Atividade de enzimas antioxidantes e inibição do crescimento radicular de feijão caupi sob diferentes níveis de salinidade. **Acta Botanica Brasilica**, v.26, p.342-349, 2012.

MANCHESTER, Lucien C. et al. Melatonin: an ancient molecule that makes oxygen metabolically tolerable. **Journal of pineal research**, v. 59, n. 4, p. 403-419, 2015.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495p.

MARCOS FILHO, J.; CICERO, S.M.; SILVA, W.R. **Avaliação da qualidade das sementes**. Piracicaba: FEALQ, 1987. 230p.

MARIJUAN, M.P.; BOSCH, S.M. Ecophysiology of invasive plants: osmotic adjustment and antioxidants. **Trends in Plant Science**, v.18, p.660-666, 2013. DOI: 10.1016/j.tplants.2013.08.006.

MATURANA, Humberto R. Biology of cognition. Biological Computer Laboratory (BCL) Research Report BCL 9.0. University of Illinois, Urbana, 1970.

MAYER, A.M. & POLJAKOFF-MAYBER, A. 1975. The germination of seeds. Exeter, Pergamon Press. **Plant Signaling & Behavior**, v. 5, n. 1, p. 26-33, 2010.

MENEGALE, M. L. C.; CASTRO, G. S. A.; MANCUSO, M. A. C. Silício: interação MENG, J. F. *et al.* The ameliorative effects of exogenous melatonin on grape cutinGs under waterdeficient stress: antioxidant metabolites, leaf anatomy, and chloroplast morphology. **Journal of Pineal Research**, v. 57, p. 200-212, 2014.

MILIĆ, B. *et al.* Bioregulators can improve fruit size, yield and plant growth of northern highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). **Scientia Horticulturae**, v. 235, p. 214-220, 2018.

MILLER, G. A. D. *et al.* Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. **Plant, Cell & Environment**, v. 33, n. 4, p. 453-467, 2010.

MILLER, G.; SHULAEV, V.; MITTLER, R. Reactive oxygen signaling and abiotic stress. **Physiologia Plantarum**, v. 133, n. 3, p. 481-489, 2008.

MINORSKY, P. V.; SPANSWICK, R. M. Electrophysiological evidence for a role for calcium in temperature sensing by roots of cucumber seedlings. **Plant, Cell & Environment**, v. 12, n. 2, p. 137-143, 1989.

MKONDA, M. Y.; HE, X. Yields of the Major Food Crops: Implications to Food Security and Policy in Tanzania's Semi-Arid Agro-Ecological Zone. **Sustainability**, v. 9, n. 8, p. 1490, 2017.

MUKHERJEE, Soumya *et al.* Salt stress-induced seedling growth inhibition coincides with differential distribution of serotonin and melatonin in sunflower seedling roots and cotyledons. **Physiologia plantarum**, v. 152, n. 4, p. 714-728, 2014.

MURCH, S. J.; CAMPBELL, S. S.; SAXENA, P. K. The role of serotonin and melatonin in plant morphogenesis: regulation of auxin-induced root organogenesis in in vitro-cultured explants of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.). **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 37, n. 6, p. 786-793, 2001.

MURCH, S. J.; SAXENA, P. K. Melatonin: a potential regulator of plant growth and development? **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 38, n. 6, p. 531-536, 2002.

MURCH, Susan J.; SAXENA, Praveen K. Role of indoleamines in regulation of morphogenesis in in vitro cultures of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.). In: XXVI International Horticultural Congress: **The Future for Medicinal and Aromatic**

Plants **629**. 2002. p. 425-432. Neurotransmissores VV Roshchinaem vida vegetal Editores de Ciência (2001).

MURCH, Susan J.; SAXENA, Praveen K. Role of indoleamines in regulation of morphogenesis in in vitro cultures of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.). In: XXVI International Horticultural Congress: **The Future for Medicinal and Aromatic Plants** **629**. 2002. p. 425-432.

NAKAGAWA, J. Teste de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA-NETO, J.B. (eds.) **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999.

OHAMA, N. *et al.* Transcriptional regulatory network of plant heat stress response. **Trends in Plant Science**, v. 22, n. 1, p. 53-65, 2017.

OLIVEIRA, M.C., FERREIRA, G., GUIMARÃES, V.F. E DIAS, G.B. (2010) Germinação de sementes de atemóia (*Annona cherimola* Mill. x *A.squamosa* L.) cv 'Gefner' submetidas a tratamentos com ácido giberélico (GA3) e ethephon. **Revista Brasileira de Fruticultura**.32, 2, 544-554.

OSANAI, Y. *et al.* Plant-soil interactions and nutrient availability determine the impact of elevated CO₂ and temperature on cotton productivity. **Plant and Soil**, v. 410, n. 1-2, p. 87-102, 2017.

PAREEK, S.; SAGAR, N. A.; SHARMA, S.; KUMAR, V.; AGARWAL, T.; PASALA, R. K. *et al.* Can plant bio-regulators minimize crop productivity losses caused by drought, heat and salinity stress? An integrated review. **Journal of Applied Botany and Food Quality**, v. 89, 2016.

PELAGIO-FLORES, Ramón *et al.* Serotonin, a tryptophan-derived signal conserved in plants and animals, regulates root system architecture probably acting as a natural auxin inhibitor in *Arabidopsis thaliana*. **Plant and Cell Physiology**, v. 52, n. 3, p. 490-508, 2011.

PELAGIO-FLORES, Ramón; RUIZ-HERRERA, León Francisco; LÓPEZ-BUCIO, José. Serotonin modulates *Arabidopsis* root growth via changes in reactive oxygen species and jasmonic acid–ethylene signaling. **Physiologia plantarum**, v. 158, n. 1, p. 92-105, 2016.

PERDUS, D. O. *et al.* The roles of calcium in light-regulated gravitropism. **Dissertation Abstracts International. B, Sciences and Engineering**, v. 51, n. 1, 1990.

PESKE, S.T.; VILLELA, F.A.; MENEGHELLO, G.E. **Sementes: Fundamentos Científicos e Tecnológicos**. 3.ed. Pelotas: Editora Universitária/UFPel, 2012. 573p.

PETROV, V. D.; BREUSEGEM, F. van. Hydrogen peroxide: a central hub for information flow in plant cells. **AoB Plants**, Oxford, v. 2012, p. 1-13, 2012.

PICKARD, Barbara G. Action potentials in higher plants. **The Botanical Review**, v. 39, n. 2, p. 172-201, 1973.

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

POWELL, R. D. Effect of temperature on boll set and development of *Gossypium hirsutum*. **Cotton Growing Review**, v. 46, p. 29–36, 1969.

PRASAD, T. K. et al. Evidence for chilling-induced oxidative stress in maize seedlings and a regulatory role for hydrogen peroxide. **Plant Cell**, Rockville, v.6, p. 65-74, Jan. 1994.

RAMAKERS, C. *et al.* Assumption-free analysis of quantitative real-time polymerase chain reaction (PCR) data. **Neuroscience Letters**, v. 339, n. 1, p. 62-66, mar. 2003.

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.

REDDY, K. R.; HODGES, H. F.; REDDY, V. R. Temperature effects on cotton fruit retention. **Agronomy Journal**, v. 84, n. 1, p. 26-30, 1992.

REDDY, Prashant P.; VELOSO, Manuela M. Learned Behaviors of Multiple Autonomous Agents in Smart Grid Markets. In: **AAAI**. 2011.

REDDY, V. R.; BAKER, D. N.; HODGES, H. F. Temperature effects on cotton canopy growth, photosynthesis, and respiration. **Agronomy Journal**, v. 83, n. 4, p. 699-704, 1991.

REGULA, Ivan; KOLEVSKA-PLETIKAPIĆ, Branka; KRSNIK-RASOL, Marijana. Presence of Serotonin in *Juglans Ailanthifolia* var. *Ailanthifolia* Carr, and its Physiological Effects on Plants. *Acta Botanica Croatica*, v. 48, n. 1, p. 57-62, 1989.

REHMAN, M. U. *et al.* Effect of some plant bioregulators on fruit yield and quality characteristics of apple cv. Red Delicious. *International Journal of Minor Fruits, Medicinal and Aromatic Plants*, v. 4, n. 1, p. 33-39, 2018.

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* 28:123-130. 2003.

RIVAS-SAN VICENTE, M.; PLASENCIA, J. Salicylic acid beyond defence: its role in plant growth and development. **Journal of Experimental Botany**, v. 62, n. 10, p. 3321-3338, 2011.

RODRIGUES, ELISETE P. SOARES, CLEITON DE PAULA; GALVÃO, PATRÍCIA G.; IMADA, EDDIE L.; SIMÕES-ARAÚJO, JEAN L.; ROUWS, LUC F. M.; OLIVEIRA, ANDRÉ L. M. DE; VIDAL, MÁRCIA S.; BALDANI, JOSÉ I. Identification of Genes Involved in Indole-3-Acetic Acid Biosynthesis by *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5 Strain Using Transposon Mutagenesis. *Frontiers in Microbiology (Online)*, v. 7, p. 1572, 2016.

RODRIQUEZ, C. *et al.* Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. **Journal of Pineal Research**, v. 36, p. 1-9, 2004.

RODZIEWICZ, P. *et al.* Influence of abiotic stresses on plant proteome and metabolome changes. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 36, n. 1, p. 1-19, 2014.

ROLLAND, F., MOORE, B. & SHEEN, J. 2002. Sugar sensing and signalling in plants. **The Plant Cell** (suplemento):185-205.

ROSHCHINA, Victoriya V. Regulation of chloroplast reactions by secondary metabolites acetylcholine and biogenic amines. **Acta Botanica Croatica**, v. 49, n. 1, p. 29-35, 1990.

SABLE, A. *et al.* Inhibition of Heat Shock proteins HSP90 and HSP70 induce oxidative stress, suppressing cotton fiber development. **Scientific Eports**, v. 8, n. 1, p. 3620, 2018.

SAIFULLAH, A. *et al.* Screening of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) genotypes for heat tolerance. **Pakistan Journal of Botany**, v. 47, n. 6, p. 2085-2091, 2015.

SANTOS, H.G. *et al.* **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 5. ed. Revista e Ampliada. Brasília: EMBRAPA, 2018.

SARROU, E.; THERIOS, I.; DIMASSI-THERIOU, K. Melatonin and other factors that promote rooting and sprouting of shoot cuttings in *Punica granatum* cv. Wonderful. Turkish. **Journal of Botany**, v. 38, p. 293–301, 2014.

SASAKI, K. *et al.* Thyme (*Thymus vulgaris* L.) leaves and its constituents increase the activities of xenobiotic-metabolizing enzymes in mouse liver. **Journal of Medicinal Food**, New York, v. 8, p. 184-189, July 2005.

SEIFFERT, M. Alguns aspectos fisiológicos e bioquímicos **da germinação de sementes e anatomia foliar de *Protium widgrenii* Engler**. 2002. 81p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal)- Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2002.

SHARMA, Arun K. *et al.* Investigations on the nature of the phytochrome-induced transmitter for the regulation of nitrate reductase in etiolated leaves of maize. **Journal of experimental botany**, v. 45, n. 4, p. 485-490, 1994.

SHARMA, D.K.; DUBEY, A.K.; SRIVASTAV, M.; SINGH, A.K.; SAIRAM, R.K.; PANDEY, R.N.; DAHUJA, A.; KAUR, C. Effect of putrescine and paclobutrazol on growth, physiochemical parameters, and nutrient acquisition of salt sensitive citrus rootstock Karna khatta (*Citrus karna* Raf.) under NaCl stress. **Journal of Plant Growth Regulation**, v.30, p.301-311, 2011. DOI: 10.1007/s00344-011-9192-1.

SHERWIN, JOHN E. A tryptophan decarboxylase from cucumber seedlings. **Plant and cell physiology**, v. 11, n. 6, p. 865-872, 1970.

SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Gene networks involved in drought stress response and tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, n. 2, p. 221-227, 2007.

SINGH, R. P. *et al.* Influence of high temperature and breeding for heat tolerance in cotton: a review. **Advances in Agronomy**, v. 93, p. 313-385, 2007.

SNIDER, J. L. *et al.* Heat stress-induced limitations to reproductive success in *Gossypium hirsutum*. **Physiologia Plantarum**, v. 137, n. 2, p. 125-138, 2009.

SONG, Y. *et al.* Target of Rapamycin (TOR) regulates the expression of lncRNAs in response to abiotic stresses in cotton. **Frontiers in Genetics**, v. 9, p. 690, 2019.

SPAEPEN, S.; VANDERLEYDEN, J.; REMANS, R. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. **FEMS Microbiology Reviews**, v.31, p.425–448, 2007.

SRIVASTAVA, A. K. *et al.* Plant bioregulators for sustainable agriculture: integrating redox signaling as a possible unifying mechanism. *In: Advances in agronomy*. Academic Press, 2016. p. 237-278.

STAHLBERG, Rainer; COSGROVE, Daniel J. Induction and ionic basis of slow wave potentials in seedlings of *Pisum sativum* L. **Planta**, v. 200, n. 4, p. 416-425, 1996.

STANKOVIĆ, Bratislav *et al.* Action potentials and variation potentials in sunflower: an analysis of their relationships and distinguishing characteristics. **Physiologia Plantarum**, v. 103, n. 1, p. 51-58, 1998.

STEWART, J.M.C.D. (eds). **Cotton physiology**. Memphis, USA: The Cotton Foundation, 1986. p. 261–300.

SUDA, C.N.K. E GIORGINI, J.F. (2000) Seed reserve composition and mobilization during germination and initial seedling development of *Euphorbia heterophylla*. **Brazilian Journal of Plant Physiology** 12, 226-244.

SZAFRANSKA, K.; GLINSKA, S.; JANAS, K. M. Ameliorative effect of melatonin on meristematic cells of chilled and re-warmed *Vigna radiata* roots. **Biologia Plantarum**, v. 57, p. 91–96, 2013.

SZAFRANSKA, K.; GLINSKA, S.; JANAS, K. M. Changes in the nature of phenolic deposits after re-warming as a result of melatonin pre-sowing treatment of *Vigna radiata* seeds. **Journal of Plant Physiology**, v. 169, p. 34– 40, 2012.

TAN, D. X. *et al.* One molecule, many derivatives: a never-ending interaction of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species? **Journal of Pineal Research**, v. 42, n. 1, p. 28-42, 2007.

TAN, D.X. *et al.* Functional roles of melatonin in plants and perspectives in nutritional and agricultural science. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, p. 577–597, 2012.

TAN, D.X. *et al.* Mitochondria and chloroplasts as the original sites of melatonin synthesis: a hypothesis related to melatonin's primary function and evolution in eukaryotes. **Journal of Pineal Research**, v. 54, p. 127–138, 2013.

TAN, D.-X. *et al.* The changing biological roles of melatonin during evolution: from an antioxidant to signals of darkness, sexual selection and fitness. **Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society**, v. 8, p. 607–623, 2010.

TAVARES, L.C. *et al.* Desempenho de sementes de soja sob deficiência hídrica: rendimento e qualidade fisiológica da geração F1. **Ciência Rural**, v. 43, n. 8, p. 1357-1363, 2013.

TIRYAKI, I.; KELES, H. Reversal of the inhibitory effect of light and high temperature on germination of *Phacelia tanacetifolia* seeds by melatonin. **Journal of Pineal Research**, v. 52, n. 3, p. 332-339, 2012.

TREBACZ, Kazimierz; DZIUBINSKA, Halina; KROL, Elzbieta. Electrical signals in long-distance communication in plants. In: **Communication in plants**. Springer, Berlin, Heidelberg, 2006. p. 277-290.

TREMBLAU, L.; TREMBLAY, F. M. Carbohydrate requirements for the development of black spruce (*Picea marina* (Mill.) B.S.P) and red spruce (*P. rubens* Sarg) somat, embryos. **Plant cell, tissue and Organ Culture**, v.27, p.95-103, 1991.

TREMBLAY, A. Y., TAM, C. M., GUIVER, M. D., & DAL-CIN, M. M. (1991). *Studies on hydrophilic polysulfone ultrafiltration membranes*. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, 69(6), 1348–1351. doi:10.1002/cjce.5450690616

UCHIDA, A. *et al.* Effects of hydrogen peroxide and nitric oxide on both salt and heat stress tolerance in rice. **Plant Science**, Clare, v. 163, p. 515-523, Sept.2002.

UDENFRIEND, Sidney; LOVENBERG, Walter; SJOERDSMA, Albert. Physiologically active amines in common fruits and vegetables. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 85, n. 2, p. 487-490, 1959.

UNTERGASSER, A. *et al.* Primer3Plus, an enhanced web interface to Primer3. **Nucleic Acids Research**, v. 35, p. 71-74, jul. 2007.

USDA-FAS. **Production, supply and distribution online**. Washington: USDA-FAS, 2019. Disponível em: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/app/index.html#/app/advQuery> . Acesso em: set. 2022).

VALLIYODAN, B.; NGUYEN, H. T. Understanding regulatory networks and engineering for enhanced drought tolerance in plants. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 9, n. 2, p. 189-195, 2006.

VELIKOVA, V.; YORDANOV, I.; EDREVA, A. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. **Plant Science**, v. 151, n. 1, p. 59-66, 2000.

VIALLI, Maffo; ERSPAMER, Vittorio. Ricerche sul secreto delle cellule enterocromaffini. **Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie**, v. 27, n. 1, p. 81-99, 1937.

VITALINI, S. *et al.* Melatonin, melatonin isomers and stilbenes in Italian traditional grape products and their antiradical capacity. **Journal of Pineal Research**, v. 54, p. 322–333, 2013.

VLOT, A.C.; DEMPSEY, D.M.A.; KLESSIG, D.F. Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease. *Ann. Rev. Phytopathology*, v. 47, p. 177-206, 2009.

WAALKES, T. Phillip *et al.* Serotonin, norepinephrine, and related compounds in bananas. **Science**, v. 127, n. 3299, p. 648-650, 1958.

WAN, *et al.* Involvement of reactive oxygen species and auxin in serotonin-induced inhibition of primary root elongation. **Journal of plant physiology**, v. 229, p. 89-99, 2018.

WANG, L. *et al.* Plant mitochondria synthesize melatonin and enhance the tolerance of plants to drought stress. **Journal of Pineal Research**, v. 63, n. 3, p. e12429, 2017.

WANG, P. *et al.* Delayed senescence of apple leaves by exogenous melatonin treatment: toward regulating the ascorbate–glutathione cycle. **Journal of Pineal Research**, v. 53, n. 1, p. 11-20, 2012.

WANG, P. *et al.* Long-term exogenous application of melatonin delays drought-induced leaf senescence in apple. **Journal of Pineal Research**, v. 54, n. 3, p. 292-302, 2013.

WANG, Q. *et al.* Small RNA-mediated responses to low- and high-temperature stresses in cotton. **Scientific Reports**, v. 6, p. 1-14, 2016.

WANG, Y.; REITER, R. J.; CHAN, Z. Phytomelatonin: a universal abiotic stress regulator. **Journal of Experimental Botany**, v. 69, n. 5, p. 963-974, 2017.

WEAVER, GM; JACKSON, HO Diferenças genéticas na abscisão foliar e a atividade de reguladores de crescimento natural em pêssogo. **Canadian Journal of Botany**, v. 41, n. 10, p. 1405-1418, 1963.

WEEDA, S. *et al.* Arabidopsis transcriptome analysis reveals key roles of melatonin in plant defense systems. **PLoS one**, v. 9, n. 3, p. e93462, 2014.

WEI, W. *et al.* Melatonin enhances plant growth and abiotic stress tolerance in soybean plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, n. 3, p. 695-707, 2014.

WEI, W. *et al.* Melatonin enhances plant growth and abiotic stress tolerance in soybean plants. **Jornar of Experimental Botany**, v. 66, p. 695-707, 2015

WEITBRECHT, K.; MÜLLER, K.; LEUBNER-METZGER, G. First off the mark: early seed germination. **Journal of Experimental Botany**, v. 62, n. 10, p. 3289-3309, 2011.

WENDEL, J. F.; BRUBAKER, C. L.; SEELANAN, T. The origin and evolution of *Gossypium*. In: **Physiology of cotton**. Dordrecht: Springer, 2010. p. 1-18.

WEST, G. B. Tryptamines in edible fruits. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 10, n. 1, p. 589-590, 1958.

WILKINS, Robert W. From Snake Root to Serotonin. **Journal of the American Geriatrics Society**, v. 6, n. 2, p. 81-86, 1958.

WINTER, H., HUBER, S.C. 2000. Regulation of sucrose metabolism in higher plants: localization and regulation of activity of key. *Plant and Sciences*, 19: 31-67. 49

WISE, R. R. *et al.* Electron transport is the functional limitation of photosynthesis in field-grown Pima cotton plants at high temperature. **Plant, Cell & Environment**, v. 27, n. 6, p. 717-724, 2004.

WOOLLEY, D. W. Probable evolutionary relationship of serotonin and indoleacetic acid and some practical consequences therefrom. **Nature**, v. 180, n. 4587, p. 630-633, 1957.

XIAO, S. *et al.* Exogenous melatonin accelerates seed germination in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). **PloS One**, v. 14, n. 6, p. e0216575, 2019.

XU, W. *et al.* Melatonin enhances thermotolerance by promoting cellular protein protection in tomato plants. **Journal of Pineal Research**, v. 61, n. 4, p. 457- 469, 2016.

YANG, J. *et al.* Abscisic acid and cytokinins in the root exudates and leaves and their relationship to senescence and remobilization of carbon reserves in rice subjected to water stress during grain filling. **Planta**, v. 215, n. 4, p. 645-652, 2002.

YANG, L. *et al.* Melatonin promotes Arabidopsis primary root growth in an IAA-dependent manner. **Journal of Experimental Botany**, v. 72, n. 15, p. 5599-5611, 2021.

YARI, L., SHEIDAIE, S., SADEGHI, H. E KHAZAEI, F. (2012) Evaluation of temperature and seed priming duration on seed germination behavior of rice (*Oriza sativa* L.). *International Journal of Agriculture: Research and Review* 2, 1, 7-11.

YE, J. *et al.* Seed pre-soaking with melatonin improves wheat yield by delaying leaf senescence and promoting root development. **Agronomy**, v. 10, n. 1, p. 84, 2020.

YU, J. *et al.* CottonGen: a genomics, genetics and breeding database for cotton research. **Nucleic Acids Research**, v. 42, D1229-1236, 2014.

YUE, C. *et al.* Expression patterns of alpha-amylase and beta-amylase genes provide insights into the molecular mechanisms underlying the responses of tea plants (*Camellia sinensis*) to stress and postharvest processing treatments. **Planta**, v. 250, n. 1, p. 281-298, 2019.

ZHANG, J. *et al.* Melatonin suppression of heat-induced leaf senescence involves changes in abscisic acid and cytokinin biosynthesis and signaling pathways in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). **Environmental and Experimental Botany**, v. 138, p. 36-45, 2017.

ZHANG, L. *et al.* Production of transgenic *Nicotiana sylvestris* plants expressing melatonin synthetase genes and their effect on UV-B-induced DNA damage. **In Vitro Cellular and Developmental BiologyPlant**, v. 48, p. 275–282, 2012.

ZHANG, N. *et al.* Roles of melatonin in abiotic stress resistance in plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, n. 3, p. 647-656, 2015.

ZHANG, N. *et al.* The RNA-seq approach to discriminate gene expression profiles in response to melatonin on cucumber lateral root formation. **Journal of Pineal Research**, v. 56, p. 39–50, 2014.

ZHANG, N.A. *et al.* Melatonin promotes water-stress tolerance, lateral root formation, and seed germination in cucumber (*Cucumis sativus* L.). **Journal of Pineal Research**, v. 54, n. 1, p. 15-23, 2013.

ZHANG, T. *et al.* Sequencing of allotetraploid cotton (*Gossypium hirsutum* L. acc. TM-1) provides a resource for fiber improvement. **Nature Biotechnology**, v. 33, p. 531–537, 2015. doi: 10.1038/nbt.3207

ZHAO, C. *et al.* Temperature increase reduces global yields of major crops in four independent estimates. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 114, n. 35, p. 9326-9331, 2017.

ZHAO, D. *et al.* Physiological causes of cotton fruit abscission under conditions of high temperature and enhanced ultraviolet-B radiation. **Physiologia Plantarum**, v. 124, n. 2, p. 189-199, 2005.

ZHAO, H. *et al.* Unveiling the mechanism of melatonin impacts on maize seedling growth: sugar metabolism as a case. **Journal of Pineal Research**, v. 59, n. 2, p. 255-266, 2015.

ZOU, J. N. *et al.* Effects of melatonin on photosynthesis and soybean seed growth during grain filling under drought stress. **Photosynthetica**, v. 57, n. 2, p. 512-520, 2019.

ZWACK, P. J.; RASHOTTE, A. M. Cytokinin inhibition of leaf senescence. **Plant Signaling & Behavior**, v. 8, n. 7, p. e24737, 2013.