

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA- UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**TOLERÂNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO EM SOJA:
RESPOSTAS BIOQUÍMICAS, FISIOLÓGICAS E
FENOTÍPICAS**

**Antonio Pizolato Neto
Engenheiro Agrônomo**

2019

T
E
S
E

/

P
I
Z
O
L
A
T
O

N
E
T
O

A.

2
0
1
9

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**TOLERÂNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO EM SOJA:
RESPOSTAS BIOQUÍMICAS, FISIOLÓGICAS E
FENOTÍPICAS**

Discente: Antonio Pizolato Neto

Orientadora: Profa. Dra. Sandra Helena Unêda-Trevisoli

Coorientadora: Profa. Dra. Priscila Lupino Gratão

Coorientador: Prof. Dr. Antonio Orlando Di Mauro

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas).

2019

P695t Pizolato Neto, Antonio
Tolerância ao déficit hídrico em soja: Respostas bioquímicas, fisiológicas e fenotípicas / Antonio Pizolato Neto. -- Jaboticabal, 2019
98 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientadora: Sandra Helena Unêda-Trevisoli
Coorientadora: Priscila Lupino Gratão

1. Estresse vegetal. 2. Soja. 3. Plantas melhoramento genético. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

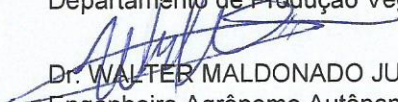
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

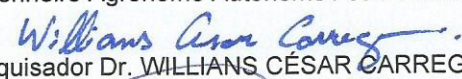
TÍTULO DA TESE: TOLERÂNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO EM SOJA: RESPOSTAS BIOQUÍMICAS, FISIOLÓGICAS E FENOTÍPICAS

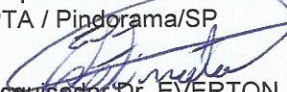
AUTOR: ANTONIO PIZOLATO NETO
ORIENTADORA: SANDRA HELENA UNÉDA TREVISOLI
COORIENTADORA: PRISCILA LUPINO GRATÃO
COORIENTADOR: ANTONIO ORLANDO DI MAURO

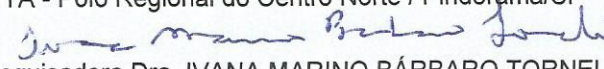
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AGRONOMIA (GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS), pela Comissão Examinadora:


Profa. Dra. SANDRA HELENA UNÉDA TREVISOLI
Departamento de Produção Vegetal (Fitotecnia) / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Dr. WALTER MALDONADO JUNIOR
Engenheiro Agrônomo Autônomo / Jaboticabal/SP


Pesquisador Dr. WILLIANS CÉSAR CARREGA
APTA / Pindorama/SP


Pesquisador Dr. EVERTON LUIS FINOTO
APTA - Polo Regional do Centro Norte / Pindorama/SP


Pesquisadora Dra. IVANA MARINO BÁRBARO TORNELI
Pólo Regional Alta Mogiana-APTA / Colina/SP

Jaboticabal, 17 de dezembro de 2019

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

ANTONIO PIZOLATO NETO – nascido em 16 de março de 1990, em Uberaba, MG, é Engenheiro Agrônomo formado pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Triângulo Mineiro (IFTM), em maio de 2013. Foi bolsista de iniciação científica voluntário no período de 2008 a 2009 e no CNPq de 2010 a 2013. Em março de 2016 concluiu o Curso de Mestrado em Agronomia, na área de concentração em Produção Vegetal, na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus Jaboticabal. Durante o período de realização do curso de mestrado, foi bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico –CNPq. Em março de 2016 iniciou o Curso de Doutorado em Agronomia, na área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus Jaboticabal. Durante o período de realização do curso de doutorado, foi bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq. Realizou parte de seu Doutorado na University of Missouri, em Columbia, Estados Unidos, em 2018, com Bolsa do Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior – PDSE, pela Capes.

“Viver é sempre dizer aos outros que eles são importantes. Que nós os amamos, porque um dia eles se vão, e ficamos com a nítida impressão de que não os amamos o suficiente.”

(Chico Xavier)

Dedico,

Aos meus pais, Valdeci (*in memoriam*) e Regina e toda a minha família pelo amor, carinho e dedicação, que me ajudaram a fazer as melhores escolhas e mostraram os valores essenciais da vida.

As minhas irmãs Bruna e Renata, pelo carinho e apoio que me deram.

Aos meus sobrinhos João Vítor, Maria Eduarda, Guilherme e Gustavo pelas brincadeiras e os sorrisos.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, primeiramente, por ter certeza que ele esteve presente em todos os momentos, me dando força, me iluminando nas decisões difíceis.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Câmpus de Jaboticabal e ao Programa de Genética e Melhoramento de Plantas pela oportunidade e aprendizado.

A Profa. Dra. Sandra Helena Unêda-Trevisoli, ao Prof. Dr. Antonio Orlando Di Mauro, Profa. Dra. Priscila Lupino Gratão e ao Prof. Dr. Henry T. Nguyen, pelas orientações, ensinamentos e a dedicação para meu desenvolvimento profissional.

Aos amigos Alice Pereira Silva, Alyce Carla Rodrigues Moitinho, Amanda Leticia da Silveira, Ana Rosália Calixto da Silva Chaves, Branca Rochidali José, Bruno Henrique Pedroso Val, Caroline Lucas, Daniela Konrad, Elise de Matos Pereira, Fabiana Mota da Silva, Lúgia Oliveira Amaral, Lucas Berger Munaro, Neriane Hijano, Rita De Cássia Alves, Alice Pereira Silva, Samira Furtado, Samuel Sargent, Sophia Mangussi Franchi Dutra, Wallace de Sousa Leite, Wellington Antonio de Souza, Willians César Carrega, Natália Sarmanho Monteiro Lima, Roberta Mendes dos Santos, pelo carinho e amizade.

Em especial a amiga Ayza Eugênio Viana Camargos, por sempre estar ao meu lado nas horas alegres e difíceis, sua amizade me fortalece.

Aos demais professores e funcionários, pelo apoio técnico.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos (Processo: 141938/2017-0).

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

A todas as pessoas que contribuíram de alguma forma durante esta etapa.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	iii
ABSTRACT	iv
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	2
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	2
3.1. A soja	2
3.2. Déficit hídrico.....	4
3.3. Estresse oxidativo	6
3.4. Sistema de defesa.....	7
REFERÊNCIAS.....	10
CAPÍTULO 2 – TROCAS GASOSAS EM PLANTAS DE SOJA SOB DÉFICIT HÍDRICO EM DIFERENTES ESTÁDIOS FENOLÓGICOS.....	16
1. INTRODUÇÃO.....	18
2. MATERIAL E MÉTODOS	19
2.1 Área experimental	19
2.2 Dados climáticos	20
2.3 Delineamento experimental.....	20
2.4 Trocas gasosas.....	21
2.5 Eficiência fotoquímica do FSII (Fv Fm)	21
2.6 Aferição indireta dos teores de clorofila (SPAD)	22
2.7 Caracteres agronômicos	22
2.8 Análises estatísticas.....	22
3. RESULTADOS	23
3.1 Dados climáticos	23

3.2	Trocas gasosas.....	24
3.3	Eficiência fotoquímica do FSII (Fv Fm)	36
3.4	Aferição indireta dos teores de clorofila (SPAD)	38
3.5	Caracteres agronômicos	40
4.	DISCUSSÃO.....	41
5.	CONCLUSÕES.....	45
	REFERÊNCIAS.....	46
	CAPÍTULO 3 – CARACTERES FISIOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS E AGRONÔMICOS EM PLANTAS DE SOJA SOB DÉFICIT HÍDRICO EM DIFERENTES ESTÁDIOS FENOLÓGICOS	51
1.	INTRODUÇÃO.....	53
2.	MATERIAL E MÉTODOS	55
2.1	Área experimental	55
2.2	Delineamento experimental.....	56
2.3	Análises bioquímicas.....	56
2.3.1	Prolina (PRO)	56
2.3.2	Ácido malondialdeído (MDA)	57
2.3.3	Peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂)	57
2.3.4	Extração e análise das enzimas antioxidantes	57
2.4	Caracteres agronômicos	58
2.5	Análises estatísticas.....	59
3.	RESULTADOS	59
4.	DISCUSSÃO.....	73
5.	CONCLUSÕES.....	77
	REFERÊNCIAS.....	78
	CAPITULO 4 - CONSIDERAÇÕES FINAIS	86

TOLERÂNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO EM SOJA: RESPOSTAS BIOQUÍMICAS, FISIOLÓGICAS E FENOTÍPICAS

RESUMO – Eventos de seca têm aumentado nas últimas décadas e previsões indicam que extremos climáticos tenderão a provocar secas mais frequentes e prolongadas. Assim, as perdas em todo agronegócio geram valores bastante expressivos. Com isso, é de grande importância estudar a complexidade das respostas que as plantas têm à resistência ou suscetibilidade a seca, pois isso depende principalmente do seu genótipo e do estágio fenológico de desenvolvimento. A capacidade de adaptação das plantas é determinada pelo acúmulo de alelos favoráveis e o quanto esses são expressos à produtividade nas condições de seca. O presente trabalho objetivou verificar os efeitos do déficit hídrico sobre o desenvolvimento de plantas de soja, mediante o estudo de variáveis fisiológicas-bioquímicas-fenotípicas. Foram utilizados três genótipos (M 7908 RR, MG/BR 48 e PI416937) submetidos a duas reposições de água nos vasos (100% e 50% da ETc), realizada através de drenos coletores de água por percolação, com cinco repetições. Foram avaliadas as seguintes características: temperaturas do ar ambiente, temperatura da folha, concentração intercelular de CO₂, condutância estomática, taxa assimilação líquida de CO₂, transpiração, eficiência fotoquímica do FSII, aferição indireta dos teores de clorofila, teor de prolina livre, peroxidação de lipídeos, atividade da superóxido dismutase, atividade da ascorbato peroxidase, atividade da catalase, número total de vagens e o peso total de grãos. As trocas gasosas, a eficiência fotoquímica e os caracteres agrônômicos das cultivares MG/BR 48, PI 416937 e M 7908 RR são alteradas pelo déficit hídrico, principalmente no estágio fenológico R5. O genótipo M 7908 RR é suscetível ao déficit hídrico pelo maior decréscimo dos fatores fisiológicos analisados, reduzindo drasticamente o metabolismo fotossintético que interfere diretamente na produtividade. O genótipo PI 416937 tem mecanismos que induzem a tolerância ao estresse hídrico. Os genótipos respondem diferentemente à atividade enzimática sob diferentes condições estressantes e reduzem os níveis de peroxidação lipídica. A prolina é um atenuante indicador de estresse hídrico em soja. O genótipo PI 416937 apresenta uma menor redução na sua produção entre os genótipos avaliados.

Palavras-chave: fotossíntese, estresse oxidativo, peroxidação lipídica, osmoprotetores, *Glycine max* L.

DROUGHT TOLERANCE IN SOYBEAN: BIOCHEMICAL, PHYSIOLOGICAL AND PHENOTYPIC RESPONSES

ABSTRACT – Drought events have increased in recent decades and forecasts indicate that weather extremes will tend to cause more frequent and prolonged droughts. Thus, losses in all agribusiness generate very significant values. Thus, it is of great importance to study the complexity of the responses that plants have to drought resistance or susceptibility, which depend mainly on their genotype and on the growth stage of development. The adaptability of plants determined by the accumulation of favorable alleles and how much they expressed to productivity under drought conditions. The present work aimed to verify the effects of water deficit on the development of soybean plants, through the study of physiological-biochemical-phenotypic variables. where three genotypes (M 7908 RR, MG/BR 48 and PI416937) were submitted to two levels of water replacement in soil (50% and 100% ETC) performed by percolating water collecting drains, with five repetitions. The following characteristics were evaluated: ambient air temperatures, leaf temperature, intercellular CO₂ concentration of leaves, stomatal conductance, net CO₂ assimilation rate, the perspiration, photochemical efficiency of photosystem FSII, indirect measurement of leaf chlorophyll, free proline, lipid peroxidation, activity of superoxide dismutase, activity of ascorbate peroxidase, activity of catalase, the total number of pods and total grain weight. Gas exchange, photochemical efficiency and agronomic characters of cultivars MG/BR 48, PI 416937 and M 7908 RR are altered by water deficit, mainly at the R5 growth stages. The genotype M 7908 RR showed a higher tendency to stress due to water deficit due to the greater decrease of the physiological factors analyzed, drastically reducing the photosynthetic metabolism that directly interferes with the productivity. The PI 416937 has mechanisms that induce tolerance to water stress. The genotypes respond differently to enzyme activity under different stressful conditions and decreased lipid peroxidation levels. Proline is a mitigating indicator in soybean genotypes subjected to water deficit. The PI 416937 showed a lowest decrease in yield in among genotype.

Keywords: photosynthesis, oxidative stress, lipid peroxidation, osmoprotectors, *Glycine max* L.

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

A soja representa, ao nível mundial, o papel de principal oleaginosa cultivada. Tal fato se justifica pela importância do produto tanto para o consumo animal, através do farelo da soja, quanto para a produção de óleo. No Brasil, a partir dos anos 1970 a produção da soja passou a ter grande relevância para o agronegócio, verificada pelo aumento das áreas cultivadas e, principalmente, pelo incremento da produtividade, pela utilização de novas tecnologias e pelo cultivo de genótipos melhorados (Bacaxixi et al., 2011).

A soja em grãos foi em 2018 o principal produto exportado pelo Brasil, com 33,19 bilhões de dólares em receitas (MDIC, 2018). No ano agrícola 2018/2019, a produção mundial de soja, segundo o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, foi de 367,07 milhões de toneladas. Os Estados Unidos é o maior produtor mundial do grão, onde sua produção foi de 123,66 milhões de toneladas, seguido do Brasil com 114,84 milhões de toneladas (USDA, 2018).

Esse cenário de produção elevado pode ser influenciado pelas condições ambientais externas, as quais podem ocasionar condições de estresses. A seca que é considerada um estresse abiótico, tem ocasionado perdas expressivas e atualmente tem sido o principal desafio para a produção de grãos (Abreu, 2017).

Eventos de seca têm aumentado nas últimas décadas, provavelmente associadas às mudanças climáticas decorrentes do aquecimento do planeta (Stokstad, 2004). Previsões indicam que extremos climáticos tenderão a aumentar incluindo secas mais frequentes e prolongadas (Schiermeier, 2006). Se consideradas as perdas em todo agronegócio, os valores são bastante expressivos.

Nos anos agrícolas 2013/2014, 2014/2015 e 2018/2019 o Brasil, passou por forte problema na sua produção, devido à seca que ocorreu, afetando principalmente os estados de maior produção desse grão (CONAB, 2018).

A complexidade das respostas que as plantas têm à tolerância ou suscetibilidade a seca depende principalmente do seu genótipo e do estágio fenológico de desenvolvimento em que esta se encontra (Recchia, 2011).

Deste modo, torna-se de grande importância que os programas de melhoramento realizem a caracterização de genótipos que respondem sob condições adversas, de modo a caracterizar genótipos que expressem genes individualmente, ou em conjunto, que possam conferir tolerância à seca (Oya et al., 2004).

Em razão das modificações que ocorrem nas plantas sob estresse é de grande importância o estudo da fisiologia do metabolismo vegetal, para o melhor entendimento de como o estresse ocorre e quais suas consequências, uma vez que cada espécie ou genótipo pode responder de forma distinta. O conhecimento de diferentes caracteres contribui com a seleção de genótipos mais tolerantes em programas de melhoramento genético da soja.

2. OBJETIVOS

Os objetivos deste estudo consistiram em verificar:

- (I) O efeito do estresse hídrico nas trocas gasosas;
- (II) Teor de clorofila por método não destrutivo;
- (III) O acúmulo do osmólito compatível prolina;
- (IV) A peroxidação lipídica pelo conteúdo de malondialdeído e peróxido de hidrogênio;
- (V) A atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase, ascorbato peroxidase e catalase;
- (VI) O efeito do estresse hídrico na produção de grãos de soja.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. A soja

Segundo Sousa et al. (2000), a soja começou a ser cultivada no Brasil provavelmente em 1882. Sediyaama (2009) destaca que o primeiro registro da produção da soja ocorreu no Estado da Bahia, porém não teve uma boa adaptação ao clima e, em 1891, novas tentativas foram realizadas no Estado de São de Paulo,

no município de Campinas, no atual Instituto Agrônômico de Campinas, onde a planta apresentou melhor desenvolvimento.

A soja é uma planta herbácea, com mecanismo de fixação de carbono do tipo C3, incluída na classe Dicotyledoneae, classe Rosidae, ordem Fabales, família Fabaceae, subfamília das Faboideae, gênero *Glycine* L., espécie max.

Apresenta ciclo anual e grande capacidade adaptativa a diversos ecossistemas, o que propiciou a disseminação do seu cultivo nos diferentes ambientes agrícolas do mundo. A faixa de temperatura ótima do solo para germinação de sementes de soja está entre 20°C a 30°C sendo, 25°C considerada como ideal para uma rápida e uniforme emergência das plântulas (EMBRAPA, 2000; Borém, 2005; Silva, 2013).

Para o crescimento e desenvolvimento, a cultura tem como exigência a faixa de temperatura ótima entre 20°C e 30°C, sendo considerada como ideal a temperatura de 30°C. O crescimento vegetativo da soja é baixo ou nulo em temperaturas abaixo de 10°C, e acima de 40°C ocorrem efeitos adversos no metabolismo, reduzindo o crescimento da planta, sendo agravado em condições de déficit hídrico (Fontana et al., 2001; Farias et al., 2007).

Cerca de 90% do peso da planta de soja é constituído por água ao qual atua em praticamente todos os processos fisiológicos e bioquímicos da planta sendo responsável por diversas reações, cuja exigência se intensifica principalmente em dois períodos: germinação-emergência e na floração-enchimento de grãos. Durante a germinação, tanto o excesso quanto a falta de água são prejudiciais, pois, para uma boa germinação, a semente necessita absorver 50% do seu peso em água e para isso, o solo não deve conter acima de 85% nem abaixo de 50% da sua capacidade de retenção de água (Farias et al., 2007; Silva, 2013).

A soja necessita de cerca de 450 a 800 mm de água durante seu ciclo para obter seu rendimento máximo de produção (EMBRAPA, 2010). A necessidade de água aumenta durante o desenvolvimento da cultura, atingindo o máximo no período de florescimento/enchimento de grãos. Neste período, a planta necessita de 7 a 8 mm dia⁻¹, decrescendo logo após essa etapa do ciclo (Farias et al., 2007). Berlato e Bergamashi (1978) obtiveram um consumo médio diário de 5,8 mm, que variou de 2,2

mm no subperíodo plantio-emergência, até o valor máximo de 7,4 mm no subperíodo que compreende do florescimento ao máximo desenvolvimento de vagens.

3.2. Déficit hídrico

A definição de estresse consiste em qualquer fator ambiental que retira energia dos organismos, restringe o crescimento e a reprodução, ou perturba o equilíbrio de um sistema, mobilizando seus recursos/reservas e aumentando seus gastos energéticos (Levitt, 1980).

A água atua praticamente em todos os processos de uma planta, desempenhando um papel importante na manutenção e distribuição de calor, além de características funcionais de preenchimento, meio de transporte, solvente para reações celulares e processos, entre outros (Campbell, 1991; EMBRAPA, 2008).

Segundo Taiz e Zeiger (2013), a produtividade de plantas, limitada pela água, é dependente da quantidade disponível deste recurso e da eficiência do seu uso pelo organismo. O déficit hídrico pode ser definido como todo o conteúdo de água de um tecido ou célula que está abaixo do conteúdo de água mais alto exibido no estado maior de hidratação (Taiz e Zeiger, 2013). A resposta das plantas frente à falta de água é considerada uma síndrome, ou seja, um grupo de respostas simultâneas (Lawlor, 2002; Mittler, 2006).

Pode ocorrer uma série de respostas causada pela seca nas plantas, podendo ser estas de ordem fisiológica, bioquímica, morfológica e molecular (Wang et al., 2006), por alterações em seu metabolismo, crescimento e desenvolvimento (Bartels e Sunkars, 2005). Quando a regulação por meios dessas respostas é inadequada, e o metabolismo não se ajusta para a manutenção das funções, podem ocorrer danos e eventual morte (Lawlor, 2002).

A planta pode ser capaz de reparar os danos causados pelo estresse por meio de um gasto ativo de energia metabólica, produzindo uma resposta física ou química (mudança no metabolismo). Desta forma, o estresse ocorrerá quando os processos de reparo gastam energia metabólica da planta (o catabolismo fica maior do que o anabolismo), ocorrendo um desvio significativo das condições ótimas para a vida. Do

ponto de vista agrônômico, o estresse é definido como uma perturbação causada pelo ambiente de produção, que resulta numa redução da produtividade (Larcher, 2000).

As respostas das plantas ao déficit hídrico mudam dependendo da espécie e do genótipo, do comprimento e intensidade de perda de água, idade e estágio de desenvolvimento, do órgão e do tipo de compartimento celular (Bartels e Sunkar, 2005; Zhu et al., 2005; Rampino et al., 2006; Battaglia et al., 2007). Tais respostas ocorrem dentro de poucos segundos, minutos ou horas, dependendo se a ocorrência do déficit é rápida ou gradual (Santos e Carlesso, 1998).

Existem mecanismos para retardar a desidratação e evitar a diminuição da perda de água, tais como os causados pelo fechamento estomático, desenvolvimento de tricomas, redução da área foliar e senescência de folhas velhas para diminuir a transpiração, além de mudanças no tamanho, orientação e enrolamento das folhas para minimizar a superfície exposta à luz, etc. Além destes, existem os que podem maximizar a absorção de água (aumento do crescimento radicular e profundidade do mesmo) e os que envolvem o ajustamento osmótico e eficiência na remoção de espécies reativas de oxigênio, formadas como uma consequência do metabolismo conturbado (Larcher, 2000; Isoda e Wang, 2002; Barnabás et al., 2008; Taiz e Zeiger, 2013).

Outro ajuste ao déficit hídrico é o acúmulo de prolina nas células. O acúmulo deste aminoácido é resultado do aumento do fluxo de glutamato, que é metabolizado pela Pirrolina-5-Carboxilato Sintetase (P5CS), enzima que regula a taxa de biossíntese de prolina; bem como de um decréscimo de metabolismo desse aminoácido. A enzima P5CS, responsável pela transformação de Pirrolina-5-Carboxilato (P5C) em prolina, tem sua expressão regulada por mudanças no potencial osmótico no citoplasma. Um decréscimo no potencial osmótico da célula leva a um aumento na síntese de P5C e, conseqüentemente, a um aumento na síntese de prolina (Hare e Cress, 1997).

A redução de área foliar é uma das respostas à ocorrência da deficiência hídrica, onde plantas que foram submetidas à falta de água no período de desenvolvimento vegetativo diminuem a área foliar para que conseqüentemente diminua a transpiração e também a perda de água. As folhas que são capazes de realizar o ajuste osmótico podem claramente manter o turgor sob potenciais hídricos

mais baixos do que as folhas sem tal capacidade. A manutenção do turgor possibilita a continuação do alongamento celular e facilita condutâncias estomáticas mais altas sob potenciais hídricos mais baixos, sugerindo que o ajuste osmótico é uma aclimatação que aumenta a tolerância das plantas à desidratação (Hare e Cress, 1997; Taiz e Zeiger, 2013).

3.3. Estresse oxidativo

O estresse oxidativo é devido a existência de um desequilíbrio entre compostos oxidantes e antioxidantes, em favor da geração excessiva de radicais livres ou a baixa velocidade de remoção desses. Tal fato leva à oxidação de biomoléculas com consequente perda de suas funções biológicas e/ou desequilíbrio homeostático, cujo o sintoma em plantas é o dano oxidativo potencial contra células e tecidos (Halliwell e Whiteman, 2004).

As espécies reativas de oxigênio (ERO) em condições ambientais naturais protegem as plantas, porém, sob condições de estresse são produzidas em grande quantidade, tornando-se tóxicas e capazes de causar efeitos deletérios através de reações de oxidação (Strid et al., 1994; Bandyopadhyay e Banerjee, 1999; Brown et al., 2013).

A oxidação pode ocorrer em vários componentes celulares e com isso levar à destruição oxidativa de células, que induzem os danos celulares através da degradação de proteínas, inativação de enzimas, alterações em genes e interferem em rotas metabólicas importantes (Azevedo Neto et al., 2015).

As ERO resultam da excitação eletrônica do O_2 para formar oxigênio singleto (O_2^1) ou da transferência de um, dois ou três elétrons para o O_2 para formar, respectivamente o radical superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) ou radical hidroxil (OH^\cdot) (Saha et al., 2015).

Assim os níveis endógenos de ERO, possibilitam a sua utilização como moléculas sinalizadoras no crescimento, desenvolvimento e respostas a estresses (Ryter e Tyrrel, 1998; Mittler et al., 2004).

Nas plantas, cada compartimento celular contém enzimas que limitam o acúmulo de ERO, mas que sob algum tipo de estresse, tais enzimas podem não atuar

eficientemente, a ponto de causar danos às estruturas celulares e subcelulares (Moller e Sweetlove, 2010). Isto ocorre devido a um desequilíbrio entre formação e neutralização das ERO pelos sistemas enzimáticos, conduzindo aos distúrbios metabólicos, que vão desde danos ao material genético e proteínas, até peroxidação de lipídeos de membranas evidenciada pela produção de malondialdeído (subproduto ligado à peroxidação de lipídeos), comumente usado como uma medida de tolerância a estresses impostos as plantas (Yasar et al., 2008).

O estresse ocasiona o limite das atividades metabólicas, e isso está relacionado ao estabelecimento de tolerância e desintoxicação (Elstner e Osswald, 1994). Se o estresse é contínuo por um período, pode haver mudanças no metabolismo, na regulação e sintomas morfológicos, indicando mudanças no limite das vias anabólicas e catabólicas, ocorrendo a acumulação de substâncias tóxicas ou levar à deficiência de substâncias essenciais, à injúria ou morte do organismo. Um organismo adaptado, no entanto, pode prevenir os danos causados pelo estresse que é removido ou diminuído a níveis que permitam o seu crescimento e desenvolvimento até completar o ciclo de vida ou se regenerar na presença deste estresse. Este tipo de adaptação é denominado “capacidade de adaptação” (Levitt, 1980).

De modo geral, o grau de resistência está relacionado de acordo com o organismo. Sendo que o estresse pode ser evitado, no qual a planta é capaz de excluir o estresse, parcialmente ou completamente, com a formação de uma barreira física, química ou metabólica. O outro tipo é a tolerância ao estresse, que está relacionado em gerar a resistência a este, podendo prevenir, diminuir ou reparar os estresses, mas sem excluí-los (Levitt, 1980; Roy, 2012).

3.4. Sistema de defesa

O processo de desintoxicação celular é uma ação combinada dos sistemas enzimáticos e não enzimáticos, sendo ambos de grande importância para eliminar e/ou desintoxicar as ERO, evitando danos oxidativos celulares prejudiciais aos organismos vivos submetidos a variadas condições de estresse (Scandalios, 1993; Marquez-Garcia et al., 2011; Azevedo, 2012; Gallego et al., 2012).

Em condições estressantes, ocorre alteração do metabolismo de aminoácidos, sendo a síntese de proteínas diminuída e a proteólise aumentada (Sodek, 2004). O aumento do aminoácido prolina sob o estresse dá-se através do aumento de sua síntese e redução da oxidação (Hare et al., 1998). Várias funções são propostas para este acúmulo, como ajuste osmótico, reserva de carbono e nitrogênio utilizada para o restabelecimento após estresse, desintoxicação do excesso de amônia, estabilizador de proteínas e membranas e eliminadores de ERO (Kavi-Kishor et al., 2005). A prolina por possuir um anel pirrolidina, que apresenta baixa capacidade em ceder elétrons, acredita-se que essa possa sequestrar o O_2 livre (Kavi-Kishor et al., 2005). Além disso, o acúmulo do aminoácido prolina é um indicador fisiológico-bioquímico do estresse hídrico (Shao et al., 2006) e o aumento de sua concentração pode ser correlacionado com uma elevada tolerância à seca (Molinari et al., 2007).

O sistema de defesa enzimático é formado por enzimas capazes de remover, neutralizar ou limpar as ERO do interior das células de organismos vivos (Scandalios, 1993). Dentre as principais enzimas antioxidantes podemos destacar a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX). Em plantas superiores, algas e cianobactérias, a superóxido dismutase, ascorbato peroxidase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, catalase e guaiacol peroxidase podem individualmente ou cooperativamente remover o O_2 reativo das espécies (Eltner e Osswald, 1994).

A superóxido dismutase (SOD - EC 1.15.1.1), é uma metaloproteína que catalisa a formação de H_2O_2 a partir do radical superóxido ($O_2^{\cdot -}$), sendo responsável por controlar a concentração de $O_2^{\cdot -}$ e H_2O_2 , substratos da reação de Haber-Weiss, desempenhando um papel central no mecanismo de defesa ao prevenir o radical $OH\cdot$ (Bowler et al., 1992). Esta enzima é considerada a primeira linha de defesa contra as ERO nas células (Scandalios, 2005). A catalase (CAT – EC 1.11.1.6) é uma enzima tetramérica Ferro porfirina que catalisa a conversão de H_2O_2 em água e O_2 liberado durante a transformação do glicolato a glioxalato durante a fotorrespiração (Igamberdiev e Lea, 2002) ou durante a β -oxidação de ácidos graxos (Holtman et al., 1994). A CAT possui baixa afinidade pelo H_2O_2 requerendo a ligação de duas dessas moléculas para que a reação ocorra. Sendo assim, a CAT provavelmente apresenta função na remoção do excesso de ERO durante a condição de estresse (Gratão et al.,

2005), além de proteger a SOD da inativação por altos níveis de H_2O_2 (Fridovich, 1986). A ascorbato peroxidase (APX – EC 1.11.1.11) é uma heme peroxidase encontrada nos cloroplastos, citosol, mitocôndrias e peroxissomos (Asada, 1999). Assim como a CAT, a APX converte o H_2O_2 em água e O_2 , contudo, apresentam afinidades diferentes por essa ERO. A APX apresenta uma afinidade pelo H_2O_2 na ordem de micromolar, enquanto a CAT milimolar. Assim, a APX é responsável pela fina regulação da resposta as ERO (Mittler, 2004), sendo importante na proteção contra o dano oxidativo em compartimentos subcelulares onde a CAT não consegue atuar (Asada, 1999).

REFERÊNCIAS

Abreu VM, Von Pinho EVDR, Santos HO, Carvalho MR, Naves GMDF, Von Pinho RG (2017) Indirect selection for drought tolerance in maize through agronomic and seeds traits. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo** 16(2):287-296.

Asada K (1999) The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of reactive oxygens and dissipation of excess photons. **Annual Review of Plant Biology**, 50(1): 601-639.

Azevedo Neto AD, da Silva EC, Chakraborty U, Chakraborty B (2015) Physiology and biochemistry of salt stress tolerance in plants. **Abiotic stresses in crop plants** 81-101.

Azevedo RA (2012) Publications in the field of agrarian sciences in the anais da academia brasileira de ciências: what next? **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 84(1):1 – 3.

Bacaxixi P, RODRIGUES L, BRASIL E, BUENO C, RICARDO H, EIPHANIO P, BOSQUÊ G (2011) A soja e seu desenvolvimento no melhoramento genético. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia** Ano X:(20).

Bandyopadhyay U, Das D, Banerjee RK (1999) Reactive oxygen species: oxidative damage and pathogenesis. **Current Science-Bangalore** 77:658-666.

Barnabás B, Jäger K, Fehér A (2008) The effect of drought and heat stress on reproductive processes in cereals. **Plant, cell & environment** 31(1):11-38.

Bartels D, Sunkar R (2005) Drought and salt tolerance in plants. **Critical reviews in plant sciences** 24(1):23-58.

Battaglia M, Solórzano RM, Hernández M, Cuéllar-Ortiz S, García-Gómez B, Márquez J, Covarrubias AA (2007) Proline-rich cell wall proteins accumulate in growing regions and phloem tissue in response to water deficit in common bean seedlings. **Planta** 225(5):1121-1133.

Berlato M, Bergamaschi H (1978) Consumo de água da soja: I. Evapotranspiração estacional em condições de ótima disponibilidade de água no solo. In SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DA SOJA, Londrina, **Anais...1**, 53-58.

Borém A, Miranda GV (2005) **Melhoramento de Plantas**. 4. ed. Viçosa: UFV, p. 525.

Bowler C, Van Montagu M, Inzé D (1992) Superoxide dismutase and stress tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, 43(1):83-116.

Brown JD, Day AM, Taylor SR, Tomalin LE, Morgan BA, Veal EA (2013) A peroxiredoxin promotes H₂O₂ signaling and oxidative stress resistance by oxidizing a thioredoxin family protein. **Cell reports** 5(5):1425-1435.

Campbell MK (1991) **Biochemistry**. Fort Worth, USA: Harcourt Brace Jovanovich College Publishers, 622 p.

CONAB. **Perspectivas para a agropecuária, safra 2018/2019**. Brasília: Conab, 2019. Disponível em <<https://www.conab.gov.br/images/arquivos/outros/Perspectivas-para-a-agropecuaria-2018-19.pdf>>. Acesso em: 29 Dez. 2019.

Elstner EF, Osswald W (1994) Mechanisms of oxygen activation during plant stress. In: CRAWFORD, R.M.M.; HENDRY, G.A.F.; GOODMAN, B.A. (Ed.). **Oxygen and environmental stress in plants**. Edinburgh: Royal Society of Edinburgh, p.131-154. (Biological Sciences)

EMBRAPA. **Cultivares de Soja: Regiões Sul e Central do Brasil 2010/2011**. 2010. Disponível em: <<http://snt.sede.embrapa.br/publico/usuarios/produtos/180-Anexo2.pdf>>. Acesso em: 25 set. 2019

EMBRAPA. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (2000) **Recomendações técnicas para a cultura da soja na região central do Brasil 2000/01**. Londrina: Embrapa Soja, 245p.

EMBRAPA. **Tecnologias de Produções de Soja - Região Central do Brasil 2008 (2008)** Londrina: Embrapa Soja: Embrapa Cerrados: Embrapa Agropecuária Oeste, 208 p. (Embrapa Soja, Sistema de Produções, 12).

Farias JRB, Nepomuceno AL, Neumaier N (2007) Circular **Técnica 48: Ecofisiologia da Soja**. Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br/download/cirtec/cirtec48.pdf>>. Acesso em: 26 maio. 2019.

Fridovich I (1986) Superoxide dismutase. **Advances in Enzymology and related areas of Molecular Biology**, 58:61-76.

Gallego SM, Pena LB, Barcia RA, Azpilicueta CE, Iannone MF, Rosales EP, Zawoznik MS, Groppa MD, Benavides MP (2012) Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: insight into regulatory mechanisms. **Environmental and Experimental Botany**, 83:33–46.

Gratão PL, Polle A, Lea PJ, Azevedo RA (2005) Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. **Functional Plant Biology**, 32:481–494.

Halliwell B, Whiteman M (2004) Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean?. **British journal of pharmacology**, 142(2):231-255.

Hare PD, Cress WA (1997) Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. **Plant growth regulation**, 21(2):79-102.

Hare PD, Cress WA, Van Staden J (1998) Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. **Plant, Cell & Environment**, 21(6):535–553.

Holtman WL, Heistek JC, Mattern KA, Bakhuizen R, Douma AC (1994) β -Oxidation of fatty acids is linked to the glyoxylate cycle in the aleurone but not in the embryo of germinating barley. **Plant Science**, 99(1):43-53.

Igamberdiev A U, Lea PJ (2002) The role of peroxisomes in the integration of metabolism and evolutionary diversity of photosynthetic organism, **Phytochemistry**, 60(7):651-674.

Isoda A, Wang P (2002) Leaf temperature and transpiration of field grown cotton and soybean under arid and humid conditions. **Plant Production Science** 5(3):224-228.

Kavi-Kishor PB, Sangam S, Amrutha RN, Sri Laxmi P, Naidu KR, Rao KRS, Sreenath R, Reddy KJ, Theriappan P, Sreenivasulu N (2005) Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. **Current Science**, 88(3):424-438.

Larcher, W (2000) *Ecofisiologia vegetal*. Tradução de C.H.B.A. Prado. São Carlos: RiMa Artes e Textos. 531 p.

Lawlor DW (2002) Limitation to photosynthesis in water-stressed leaves: stomata vs. metabolism and the role of ATP. **Annals of botany** 89(7):871-885.

Levitt J (1980) **Responses of plants to environmental stresses**. New York: Academic Press, 497 p.

Márquez-García B, Horemans N, Cuypers A, Guisez Y, Córdoba F (2011) Antioxidants in *Erica andevalensis*: a comparative study between wild plants and cadmium-exposed plants under controlled conditions. **Plant Physiology and Biochemistry**, 49:110–115.

MDIC. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior - MDIC. Balança comercial Brasileira janeiro – dezembro 2018. Disponível em: <<http://www.mdic.gov.br/balanca/mes/2018//texto.doc>>. Acesso em: 01 maio. 2019.

Mittler R (2006) Abiotic stress, the field environment and stress combination. **Trends in plant science** 11(1):15-19.

Mittler R, Vanderauwera S, Gollery M, Van Breusegem F (2004) Reactive oxygen gene network of plants. **Trends in plant science** 9(10):490-498.

Molinari HBC, Marur CJ, Daros E, Campos MKF, Carvalho JFRP, Bessalho-Filho JC, Pereira LFP, Vieira LGE (2007) Evaluation of the stress-inducible production of proline in transgenic sugarcane (*Saccharum* spp.) osmotic adjustment, chlorophyll fluorescence and oxidative stress. **Physiologia Plantarum**, 130, 218–229.

Moller IM, Sweetlove LJ (2010) ROS signalling–specificity is required. **Trends in plant science** 15(7):370-374.

Oya T, Nepomuceno AL, Neumaier N, Farias JRB, Tobita S, Ito O (2004) Drought tolerance characteristics of Brazilian soybean cultivars. **Plant Production Science** 7(2):129-137.

Rampino P, Pataleo S, Gerardi C, Mita G, Perrotta C (2006) Drought stress response in wheat: physiological and molecular analysis of resistant and sensitive genotypes. **Plant, cell & environment** 29(12):2143-2152.

Recchia GH (2011) **Identificação de genes diferencialmente expressos em feijoeiro envolvidos na resistência ao estresse hídrico**. 152 f. Dissertação (Mestrado em Biologia na Agricultura e no Ambiente). Universidade de São Paulo, Piracicaba.

Roy J (2012) **Response of plants to multiple stresses**. New York: Academic Press, 396 p.

Ryter SW, Tyrrell RM (1998) Singlet molecular oxygen (1O_2): a possible effector of eukaryotic gene expression. **Free radical biology and medicine** 24(9):1520-1534.

Saha J, Brauer EK, Sengupta A, Popescu SC, Gupta K, Gupta B (2015) Polyamines as redox homeostasis regulators during salt stress in plants. **Frontiers in Environmental Science** 3:21.

Santos RF, Carlesso R (1998) Déficit hídrico e os processos morfológico e fisiológico das plantas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental** 2(3): 287-294.

Scandalios JG (1993) Oxygen stress and superoxide dismutases. **Plant Physiology**, 101(1):7-12.

Scandalios JG (2005) Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 38(7):995-1014.

Schiermeier Q. (2006). Climate change: A sea change. **Nature** 439:256–260.

Sediyama T, Teixeira RC, Barros HB (2009) **Tecnologias de produção e usos da soja**. Londrina: Mecenass, 1.

SEDIYAMA, T. **Tecnologias de produção e usos da soja**. Londrina: Macenas, 2009. 314 p.

Shao HB, Chen XY, Chu LY, Zhao XN, Wu G, Yuan YB, Zhao CX, Hu ZM (2006) Investigation on the relationship of proline with wheat anti drought under soil water deficits. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 53:113–119.

Silva RR (2013) **Relação entre precipitação pluviométrica da cultura de soja no município de Ibirubá – RS**. 93f. Dissertação (Mestrado em Geografia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

Sodek, L. Metabolismo do nitrogênio. In: KERBAUY, G. B. (Ed.). **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. cap. 4, p. 94-113.

Souza GD, Valle JLED, Moreno I (2000) Efeitos dos componentes da soja e seus derivados na alimentação humana. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas 34(2):61-69.

Stokstad E (2004) Defrosting the carbon freezer of the North. **Science** 304:1618-1620.

Strid Å, Chow WS, Anderson JM (1994) UV-B damage and protection at the molecular level in plants. **Photosynthesis Research** 39(3):475-489.

Taiz L, Zeiger E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 954 p.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA. World Agricultural Supply and Demand Estimates - 2018. Disponível em: <<http://www.usda.gov/oce/commodity/wasde/latest.pdf>>. Acesso em: 01 maio. 2019.

Wang L, Zhang T, Ding S (2006) Effect of drought and rewatering on photosynthetic physioecological characteristics of soybean. **Acta Ecologica Sinica** 26(7):2073-2078.

Wang WX, Vinocur B, Shoseyov O, Altman A (2000) Biotechnology of plant osmotic stress tolerance physiological and molecular considerations. In **IV International Symposium on In Vitro Culture and Horticultural Breeding** 560:285-292.

Yasar F, Ellialtioglu S, Yildiz K (2008) Effect of salt stress on antioxidant defense systems, lipid peroxidation, and chlorophyll content in green bean. **Russian journal of plant physiology** 55(6):782.

Zhu X, Gong H, Chen G, Wang S, Zhang C (2005) Different solute levels in two spring wheat cultivars induced by progressive field water stress at different developmental stages. **Journal of Arid Environments** 62(1):1-14.

CAPÍTULO 2 – TROCAS GASOSAS EM PLANTAS DE SOJA SOB DÉFICIT HÍDRICO EM DIFERENTES ESTÁDIOS FENOLÓGICOS

RESUMO - A seca é um estresse abiótico que tem ocasionado perdas expressivas e tem sido o principal desafio para a produção de grãos. Este estresse interfere diretamente na fotossíntese, um dos processos fundamentais para a existência da vida na Terra. Dessa forma, os objetivos deste estudo foram verificar o efeito do déficit hídrico: nas trocas gasosas, na eficiência fotoquímica, no teor de clorofila e nos caracteres agrônômicos em genótipos de soja. Sendo que foram estudadas 3 fontes de variação, sendo: nove estádios fenológicos (VG, R1, R2, R3 R4, R5.1, R5.3, R5.5 e R6), três genótipos (MG/BR 48, PI 416937 e M 7908 RR) e duas reposição água (50 % e 100 % da ETc). Para tanto, realizou-se as seguintes análises: temperaturas do ar ambiente, temperatura da folha, concentração intercelular de CO₂, condutância estomática, taxa de assimilação líquida de CO₂, transpiração, eficiência fotoquímica do FSII, aferição indireta dos teores de clorofila, número total de vagens e o peso total de grãos. Diante do encontrado no trabalho podemos concluir que as trocas gasosas, a eficiência fotoquímica e os caracteres agrônômicos das cultivares MG/BR 48, PI 416937 e M 7908 RR são alteradas pelo déficit hídrico, principalmente no estágio fenológico R5. O genótipo M 7908 RR é suscetível ao déficit hídrico pelo maior decréscimo dos fatores fisiológicos analisados, reduzindo drasticamente o metabolismo fotossintético que interfere diretamente na produtividade. O genótipo PI 416937 tem mecanismos que induzem a tolerância ao estresse hídrico, sendo tal fato confirmado pela redução de 15% na produção.

Palavras-chave: condutância estomática, fotossíntese, SPAD e *Glycine max* L.

CHAPTER 2 – GAS EXCHANGES IN SOYBEAN PLANTS UNDER WATER DEFICIT IN DIFFERENT PHENOLOGICAL GROWTH STAGES

ABSTRACT - Drought is an abiotic stress that has caused significant losses and has been the main challenge for grain production. This stress directly interferes with photosynthesis, one of the fundamental processes for the existence of life on earth. This study aimed to verify the effect of water deficit: gas exchange, photochemistry, chlorophyll content and agronomic characters in soybean genotypes. Three sources of variation were studied: nine growth stages (VG, R1, R2, R3 R4, R5.1, R5.3, R5.5 and R6), three genotypes (MG/BR 48, PI 416937 and M 7908 RR) and two levels of water replacement in soil (50% and 100% ETc). For this, the following analyzes were performed: ambient air temperatures, leaf temperature, intercellular CO₂ concentration of leaves, stomatal conductance, net CO₂ assimilation rate, the transpiration, photochemical efficiency of photosystem FSII, indirect measurement of leaf chlorophyll, the total number of pods and total grain weight. In view of what was found in the study, we can conclude that gas exchange, photochemical efficiency and agronomic characters of the cultivars MG/BR 48, PI 416937 and M 7908 RR are altered by the water deficit, mainly at the R5 growth stages. The genotype M 7908 RR showed a higher tendency to stress due to water deficit due to the greater decrease of the physiological factors analyzed, drastically reducing the photosynthetic metabolism that directly interferes with the productivity. The PI 416937 has mechanisms that induce tolerance to water stress confirmed by the 15% reduction in production.

Keywords: stomatal conductance, photosynthesis, SPAD, *Glycine max* L.

1. INTRODUÇÃO

A seca é considerada um estresse abiótico que tem ocasionado perdas expressivas e atualmente tem sido o principal desafio para a produção de grãos mundialmente (Abreu, 2017). As mudanças climáticas têm aumentado a ocorrência de padrões climáticos extremos, incluindo chuvas irregulares, temperatura mais alta, etc. podendo levar ao estresse hídrico, que causa reduções na produção agrícola (Lesk et al., 2016). Estas perdas de rendimento das principais culturas têm sido crescentes, apesar do aumento progressivo do rendimento através da criação e gestão de várias práticas agrícolas, incluindo o melhoramento de plantas desde a década de 1960 (Boyer, 2013; Rosenzweig et al., 2014; Lobell et al., 2014). Existem previsões de que o rendimento das culturas diminuirá de 30 a 82% até o final do século em função do aquecimento global (Hatfield et al., 2011).

A soja, como uma das principais culturas, sofreu cerca de 40% de redução no rendimento pela seca (Specht et al., 1999). Nos últimos anos agrícolas, o Brasil, passou por forte redução na sua produção, devido à seca que ocorreu, afetando principalmente os estados de maior produção desse grão (CONAB, 2018).

Para superar os impactos negativos do estresse hídrico na soja, muitas estratégias têm sido desenvolvidas e adotadas, incluindo principalmente práticas agrícolas e o melhoramento genético de cultivares de soja. A chuva e a água de irrigação estão sendo usadas de maneira mais eficiente, porém, a adaptação dos sistemas de irrigação é limitada em certas regiões, elevando os custos de produção. Claramente, melhorar a tolerância à seca das variedades de soja é estrategicamente crucial (Turner, 1986; Ye et al., 2018).

Em geral, a seca acarreta a deficiência hídrica vegetal, que ocorre quando a taxa de absorção de água excede a taxa de transpiração (Tavares et al. 2013). Inúmeras características fisiológicas são alteradas em plantas sob déficit hídrico, incluindo principalmente no uso eficiente da água (Amede et al. 1999), o potencial hídrico foliar (Karamanos e Papatheohari 1999), propriedades estomáticas (Ricciardi 1989; Bond et al. 1994) e a temperatura foliar (Khan et al. 2010). Além das alterações fisiológicas, o déficit hídrico também reduz a produção de biomassa, o rendimento dos grãos, além de modificar a composição química e nutricional dos mesmos (Baroowa

e Gogoi 2013). O nível das alterações depende da duração e da intensidade do estresse, do material genético utilizado e do estágio de desenvolvimento da planta (Farooq et al. 2009). Ou seja, a complexidade das respostas que as plantas têm à tolerância ou suscetibilidade a seca depende principalmente do seu genótipo e do estágio fenológico de desenvolvimento em que esta se encontra (Recchia, 2011).

Além disso, estas alterações podem auxiliar na seleção de genótipos mais adaptados para serem cultivados em ambientes com déficit hídrico. Sendo essa tolerância à seca em soja está relacionada a essas características que aumentam a estabilidade do rendimento, devido aumentar a capacidade de sobrevivência (Bartels et al., 2006; Blum, 2009; Passioura, 2010; Sinclair, 2011; Ye et al., 2018).

Deste modo, torna-se de grande importância que os programas de melhoramento realizem a caracterização de genótipos que respondem sob condições adversas, de modo a caracterizar genótipos que expressem genes individualmente, ou em conjunto, que possam conferir tolerância à seca (Oya et al., 2004). O fator essencial para melhorar a tolerância à seca nas culturas, incluindo a soja, é conservar a água nas plantas e reduzir a transpiração desnecessária (Turner, 2000; Turner et al., 2001; Ye et al., 2018).

Dessa forma, os objetivos deste estudo foram verificar o efeito do déficit hídrico: nas trocas gasosas, na eficiência fotoquímica, no teor de clorofila e nos caracteres agrônômicos em genótipos de soja.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área experimental

O experimento foi conduzido em casa de vegetação climatizada no Departamento de Produção Vegetal, FCAV, UNESP, Câmpus de Jaboticabal – SP, entre os meses de novembro a fevereiro do ano agrícola 2017/18. O solo utilizado no experimento foi proveniente de uma área de solo de barranco, sendo peneirado para eliminar os torrões e posteriormente homogeneizado para o enchimento dos vasos. Foi retirada uma amostra simples de cada vaso para compor uma amostra composta que foi remetida ao laboratório. O solo foi caracterizado como Latossolo Vermelho

Eutrófico, típico, textura muito argilosa, de acordo com Santos et al. (2018), com 18% de areia, 27% de silte e 55% de argila. O solo foi devidamente corrigido de forma a elevar a saturação por bases a 60% utilizando a relação 3:1 de Ca:Mg. O resultado das características químicas do solo foram: pH em $\text{CaCl}_2 = 6,4$; K (mmolc dm^{-3})= 0,5; Ca^{2+} (mmolc dm^{-3})= 12; Mg^{2+} (mmolc dm^{-3})= 3; Al^{3+} (mmolc dm^{-3})= 1; H+Al (mmolc dm^{-3})= 16; SB (mmolc dm^{-3})= 16; t (mmolc dm^{-3})= 17; T (mmolc dm^{-3})= 32; V (%)= 49; m (%)= 5,9; M.O. (mg dm^{-3})= 8 e P-rem (mg dm^{-3})= 3. As adubações de plantio e cobertura foram realizadas conforme recomendado por Malavolta (1980), e os teores dos nutrientes aplicados foram 200 mg dm^3 de fósforo; 150 mg dm^3 de potássio, 75 mg dm^3 de cálcio; 15 mg dm^3 de magnésio; 50 mg dm^3 de enxofre; 0,5 mg dm^3 de boro; 1,5 mg dm^3 de cobre; 1,5 mg dm^3 de ferro; 3 mg dm^3 de manganês; 0,1 mg dm^3 de molibdênio; 5 mg dm^3 de zinco.

Na adubação de plantio, foi aplicado 40% da dose de potássio, 30% da dose de boro e zinco e 100% da dose de fósforo, cálcio, magnésio, enxofre, cobre, ferro, manganês e molibdênio. As doses restantes de potássio, boro e zinco foram aplicadas no estádio R3. Antes do semeio, foi realizada a inoculação de sementes com bactérias fixadoras de nitrogênio na soja.

2.2 Dados climáticos

Durante a condução do experimento, foram coletados os dados de temperatura e umidade relativa do ar por meio de um termohigrômetro (Simpla-TH02) instalado no interior da casa de vegetação.

2.3 Delineamento experimental

Foram estudadas 3 fontes de variação (FV), sendo: nove estádios fenológicos (VG, R1, R2, R3 R4, R5.1, R5.3, R5.5 e R6), três genótipos (MG/BR 48, PI 416937 e M 7908 RR) e duas lâminas de água (50 e 100 % da reposição da evapotranspiração diária). O delineamento experimental foi em blocos casualizados (DBC), com cinco blocos completos. A unidade experimental consistiu de um vaso de plástico com uma capacidade de 15 dm^3 de solo, contendo uma planta por vaso. A reposição de água

para cada vaso foi obtida a partir da quantidade de água evapotranspirada diariamente, para isso, foram instalados, drenos de coleta da água de percolação em 9 vasos (três vasos de cada cultivar), possibilitando a equação do balanço de água no solo apresentado na Equação 1. Este método foi utilizado devido a sua confiabilidade, pois o mesmo estima diretamente a ETc.

$$ET = I - D \quad \text{(Equação 1)}$$

em que:

ET = evapotranspiração diária;

I = quantidade de água aplicada;

D = quantidade de água drenada.

2.4 Trocas gasosas

Em cada estágio fenológico, no período das 9 às 11 horas, em folhas totalmente expandidas, isentas de pragas e de qualquer outro sinal ou sintoma, com radiação fotossinteticamente ativa constante ($1200 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) e sob concentração de CO_2 ambiente ($400 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), com auxílio de um analisador de gás infravermelho portátil (LC-PRO+, ADC Bioscientific Ltda Herts England), foram realizadas as seguintes medições: Temperaturas do ar ambiente (TA), expressas em $^{\circ}\text{C}$; Temperatura da folha (TF), expressas em $^{\circ}\text{C}$; Concentração intercelular de CO_2 (C_i), expressas em $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{CO}_2$; Condutância estomática (GS), expressas em $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de H_2O ; Taxa assimilação líquida de CO_2 (A), expressas em $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{CO}_2$; Transpiração (E), expressas em $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de H_2O ; Eficiência do uso da água (EUA), expressas em $\text{mol CO}_2 \text{ mol de H}_2\text{O}^{-1}$; Eficiência intrínseca do uso da água (EIUA), expressas em $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{H}_2\text{O}$; Eficiência instantânea de carboxilação (EIC), expressas em $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol H}_2\text{O}^{-1}$.

2.5 Eficiência fotoquímica do FSII (Fv Fm)

Foram realizadas medições da emissão da fluorescência da clorofila, após as folhas serem adaptadas ao escuro durante 30 minutos, isentas de pragas e de

qualquer outro sinal ou sintoma, com o auxílio de um fluorômetro portátil (Plant Efficiency Analyser; Hansatech).

2.6 Aferição indireta dos teores de clorofila (SPAD)

Foram realizadas medições do teor relativo de clorofila com auxílio de um medidor portátil (SPAD-502; Minolta) em folhas isentas de pragas e de qualquer outro sinal ou sintoma.

2.7 Caracteres agronômicos

Foram realizadas as seguintes avaliações agronômicas: Contagem do número total de vagens (NTV) e o peso total de grãos (PG), expresso em g.

2.8 Análises estatísticas

A análise dos dados foi realizada utilizando-se do conceito de medidas repetidas no tempo com um fator longitudinal e o procedimento MIXED do programa computacional estatístico SAS (Littell et al., 1996), considerando-se um modelo fixo e aleatório. Para a escolha da matriz de variância e covariância, foi utilizado o Critério de Informação de Akaike ($-2l + 2d$, em que l denota o valor da máxima verossimilhança, em log, e d denota a dimensão do modelo), selecionando-se a que possuiu menor valor para este parâmetro (Akaike, 1974; Akaike, 1987 e SAS, 2013). Na análise dos caracteres agronômicos não foi utilizado o conceito de medidas repetidas no tempo.

Foram obtidas as médias ajustadas dos efeitos fixos através do comando LSMEANS (Least Square Means) e as comparações de médias foram realizadas pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$), pelo SAS (2013).

3. RESULTADOS

3.1 Dados climáticos

Durante o período de condução do experimento, a temperatura média observada no interior da casa de vegetação foi 27.47°C. Os valores médios de temperatura máxima e mínima observados foram de 30.77°C e 24.17°C, respectivamente. Na Fig. 1 encontram-se os valores de temperaturas máxima, média e mínima diária.

Os dados referentes à umidade relativa do ar (UR), registrados diariamente podem ser observados na Fig. 2. Ao longo do ciclo a UR média registrada no interior da casa de vegetação foi de 74.83%.

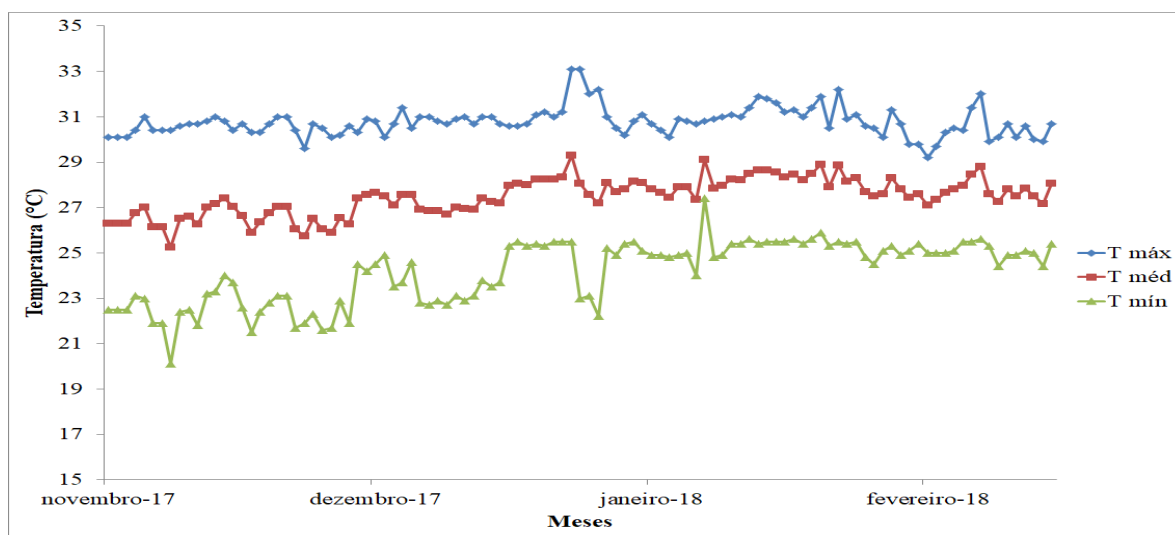


Figura 1. Valores diários de temperatura máxima, média e mínima.

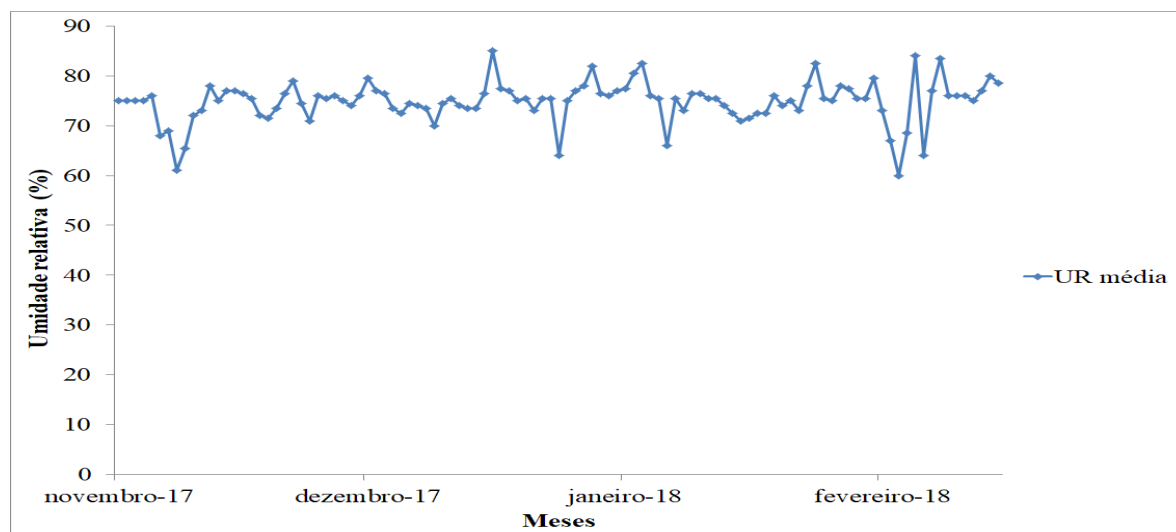


Figure 2. Valores médios diários de umidade relativa do ar.

3.2 Trocas gasosas

Para as temperaturas do ar ambiente (TA), houve diferença significativa em todas as interações (Fig. 3). Considerando-se dentro de cada estágio fenológico (Fig. 3A), os genótipos apresentaram comportamentos diferentes nos estádios fenológicos, exceto no VG, sendo que o genótipo MG/BR 48 apresentou o menor valor em todos os estádios fenológicos. Os genótipos entre os estádios fenológicos, o genótipo MG/BR 48 apresentou maiores médias nos estádios fenológicos VG, R3, R4 e R5.1 (32,49; 32,72; 31,60; 32,47 °C), os genótipos PI 416937 e M 7908 RR apresentaram maiores médias no estágio fenológico R3 (34,10; 34,34 °C).

Entre as lâminas dentro dos estádios fenológicos, não houve diferença significativa somente no estágio VG (Fig 3B), sendo as maiores médias para temperatura do ar ambiente em 50 % da reposição da evapotranspiração diária. Para as lâminas de 50 e 100 % entre os estádios fenológicos, as maiores médias de temperatura do ar do ambiente foi no estágio fenológico R3 (33,90; 33,54 °C).

Na interação entre genótipos e lâminas (Fig. 3C) verificou-se que dentro das lâminas o genótipo MG/BR 48 apresentou menor média em ambas as lâminas (32,14; 31,44 °C). Já entre as lâminas (Fig. 4), o genótipo PI 416937 foi o único a não apresentar diferença significativa para temperatura do ar ambiente.

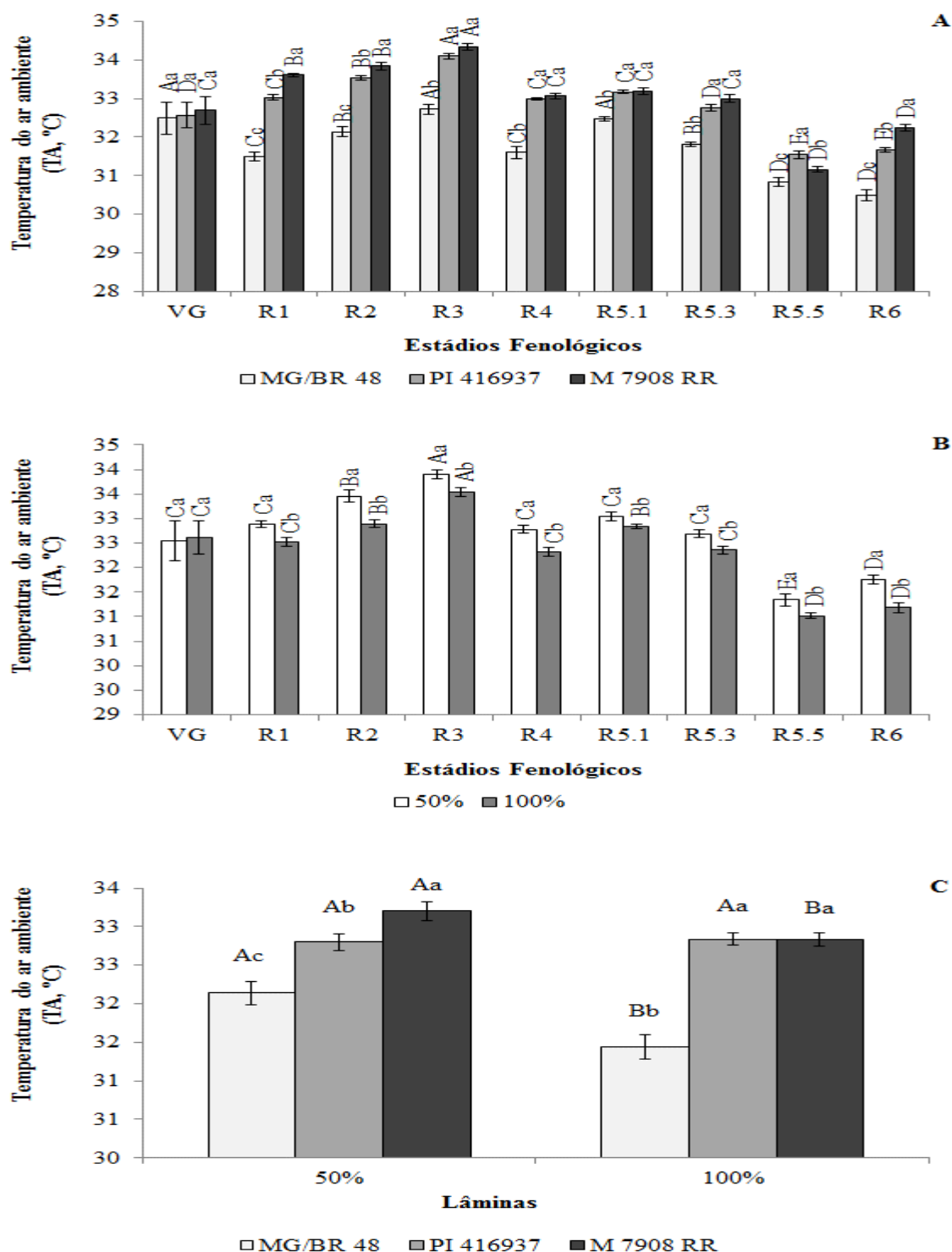


Figura 3. Temperatura do ar ambiente (TA, °C). **A.** Em três genótipos de soja (MG/BR48, PI 416937 e M 7908 RR) sob nove estádios fenológicos (VG, R1, R2, R3 R4, R5.1, R5.3, R5.5 e R6). **B.** Em duas lâminas de reposição da evapotranspiração (50% e 100%) sob nove estádios fenológicos (VG, R1, R2, R3 R4, R5.1, R5.3, R5.5 e R6). **C.** Interação de três genótipos de soja (MG/BR48, PI 416937 e M 7908 RR) e duas lâminas de reposição da evapotranspiração (50% e 100%). Médias seguidas de mesma letra minúscula (dentro dos fatores) e maiúscula (entre os fatores) não diferem entre si pelo teste de Scott - Knott ($P < 0,05$). Valores são médias \pm DP ($n=5$).

Para as temperaturas da folha (TF), houve diferença significativa em todas as interações (Fig. 4). Dentro de cada estágio fenológico (Fig. 4A), ocorreram diferenças significativas entre quase todos os genótipos, exceto no VG, sendo que o genótipo MG/BR 48 apresentou o menor valor de temperatura em todos os estádios fenológicos. Considerando entre os estádios fenológicos, o genótipo MG/BR 48 apresentou as maiores médias para temperatura da folha nos estádios fenológicos VG, R3 e R5.1 (33,51; 33,76; 33,51 °C), já os genótipos PI 416937 e M 7908 RR apresentaram as maiores médias para temperatura da folha no estágio fenológico R3 (35,15; 35,39 °C).

Para as lâminas dentro dos estádios fenológicos (Fig. 4B), verificaram-se diferenças significativas praticamente em todos estádios fenológicos, exceto no VG, sendo que a maior média para temperatura da folha foi em 50% da reposição da evapotranspiração diária. Considerando entre as lâminas, ambas apresentaram a maior média no estágio R3 (34,95; 34,58 °C).

Na interação entre genótipos e lâminas (Fig. 4C), considerando-se dentro de cada lâmina o genótipo MG/BR 48 apresentou menor média em ambas as lâminas (33,20; 32,52 °C). Entre as lâminas, verificou-se que o genótipo PI 416937 foi o único a não apresentar diferença significativa para temperatura da folha.

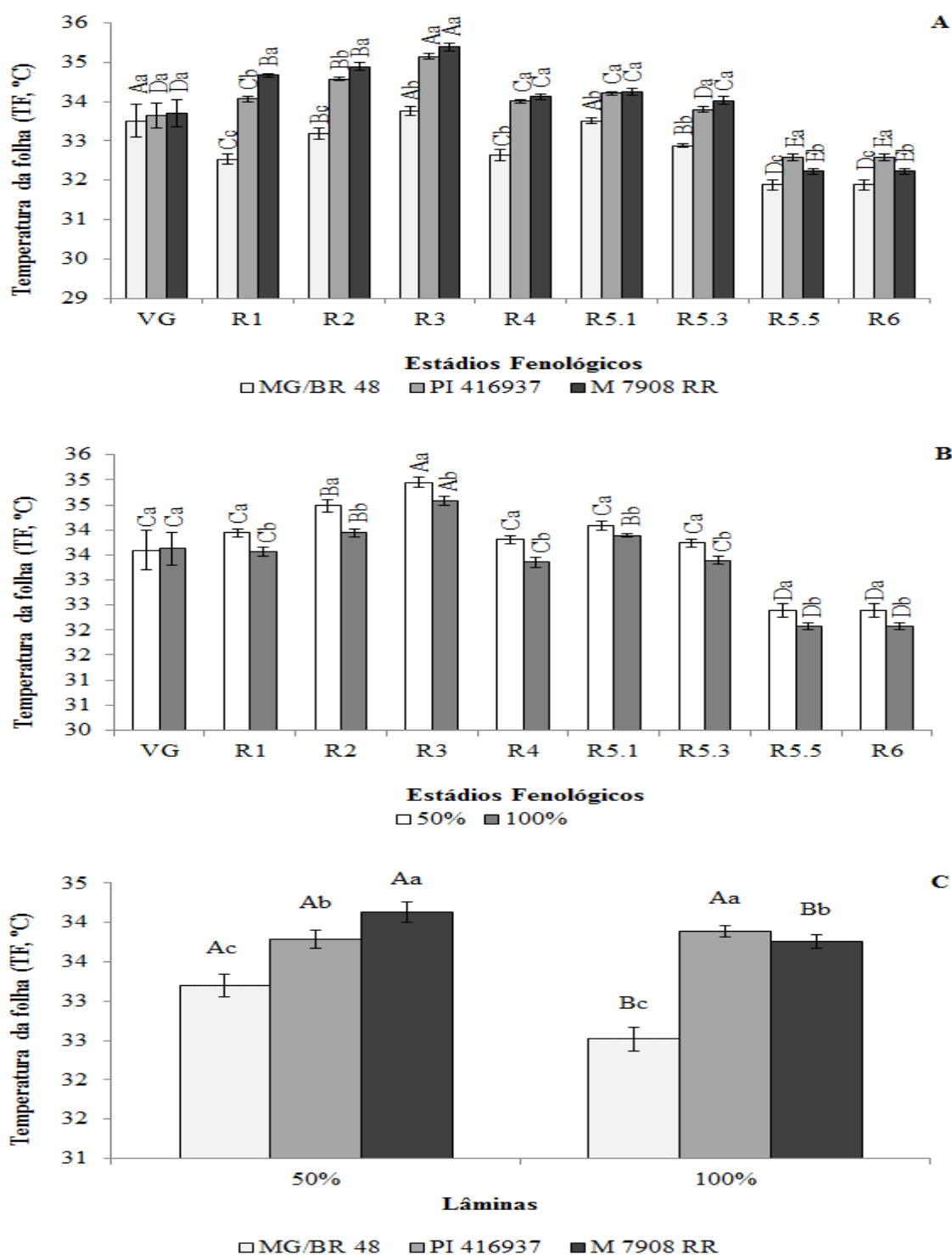


Figura 4. Temperatura da folha (TF, °C). **A.** Em três genótipos de soja (MG/BR48, PI 416937 e M 7908 RR) sob nove estádios fenológicos (VG, R1, R2, R3, R4, R5.1, R5.3, R5.5 e R6). **B.** Em duas lâminas de reposição da evapotranspiração (50% e 100%) sob nove estádios fenológicos (VG, R1, R2, R3, R4, R5.1, R5.3, R5.5 e R6). **C.** Interação de três genótipos de soja (MG/BR48, PI 416937 e M 7908 RR) e duas lâminas de reposição da evapotranspiração (50% e 100%). Médias seguidas de mesma letra minúscula (dentro dos fatores) e maiúscula (entre os fatores) não diferem entre si pelo teste de Scott - Knott ($P < 0,05$). Valores são médias \pm DP ($n=5$).

Para concentração intercelular de CO₂ (C_i), houve diferença significativa em todas as interações (Fig. 5). Dentro de cada estágio fenológico (Fig. 5A), ocorreram diferenças significativas, sendo que o genótipo MG/BR 48 apresentou o maior valor no estágio fenológico em R2 e R6 (253,10; 269,70 mg L⁻¹), o genótipo PI 416937 apresentou maior valor no VG e R6 (266,80; 264,50 mg L⁻¹) e o genótipo M 7908 RR apresentou maior valor no R5.1 e R5.3 (256,60; 253,20 mg L⁻¹). Considerando os genótipos entre os estádios fenológicos, o genótipo MG/BR 48, PI 416937 e M 7908 RR apresentaram as maiores médias para concentração intercelular de CO₂ no estágio fenológico R1 (345,40; 333,40; 335,70mg L⁻¹).

Dentro das lâminas nos estádios fenológicos (Fig. 5B), ocorreram diferenças significativas em VG, R2 e R5.5, sendo os maiores valores em 100% da reposição da evapotranspiração diária (259,80; 241,47; 258,80 mg L⁻¹). Entre as lâminas as maiores médias foram encontradas no estágio fenológico R1 (335,87; 340,47 mg L⁻¹) para concentração intercelular de CO₂.

Na interação entre genótipos e lâminas (Fig. 5C), considerando-se dentro de cada lâmina, verificou-se que não ocorreram diferenças significativas em 50% da reposição da evapotranspiração diária entre os genótipos. Para 100% da reposição da evapotranspiração, houve diferença significativa, as maiores médias foram nos genótipos M 7908 RR e MG/BR 48 (264,69; 263,07 mg L⁻¹). Considerando o genótipo entre as lâminas, o genótipo PI 416937 foi o único a não apresentar redução para a concentração intercelular de CO₂.

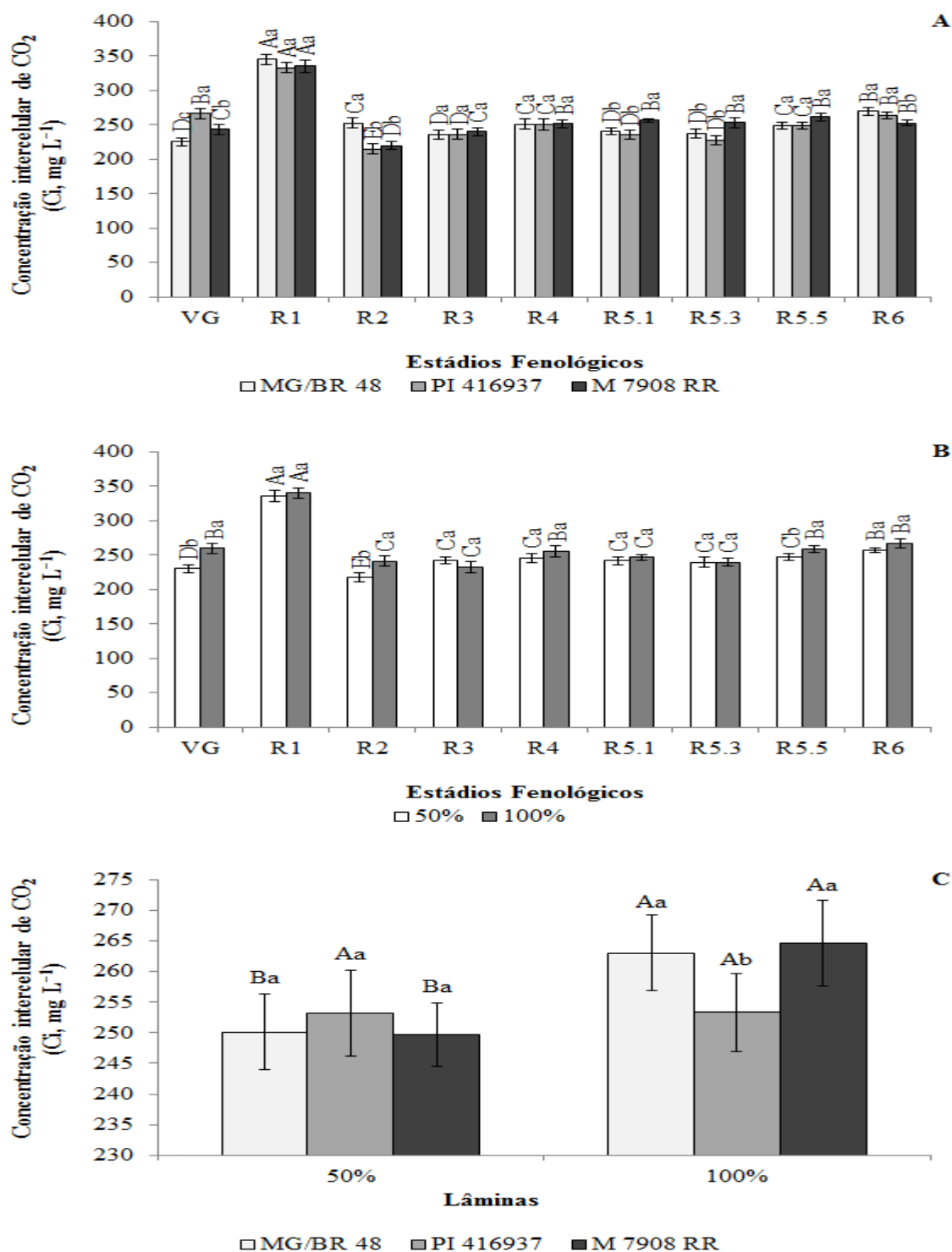


Figura 5. Concentração intercelular de CO₂ (Ci, mg L⁻¹). **A.** Em três genótipos de soja (MG/BR48, PI 416937 e M 7908 RR) sob nove estádios fenológicos (VG, R1, R2, R3, R4, R5.1, R5.3, R5.5 e R6). **B.** Em duas lâminas de reposição da evapotranspiração (50% e 100%) sob nove estádios fenológicos (VG, R1, R2, R3, R4, R5.1, R5.3, R5.5 e R6). **C.** Interação de três genótipos de soja (MG/BR48, PI 416937 e M 7908 RR) e duas lâminas de reposição da evapotranspiração (50% e 100%). Médias seguidas de mesma letra minúscula (dentro dos fatores) e maiúscula (entre os fatores) não diferem entre si pelo teste de Scott - Knott (P<0,05). Valores são médias ± DP (n=5).

Para Taxa de assimilação líquida de CO₂ (A), houve diferença significativa em todas as interações (Fig. 6). Considerando-se dentro de cada estágio fenológico (Fig. 6A), ocorreram diferenças significativas, sendo que o genótipo MG/BR 48 apresentou o maior valor no estágio fenológico em VG, R1, R2, R3, R5.1, R5.3 R5.5 e R6 (16,61; 15,70; 13,08; 17,22; 17,26; 16,34; 17,18; 15,76 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), o genótipo PI 416937 apresentou maiores valores nos VG e R5.3 (15,86; 16,03 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), o genótipo M 7908 RR apresentou maior valor no R2 (13,28 03 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Considerando os genótipos entre os estádios fenológicos, o genótipo MG/BR 48 apresentou os maiores valores de média para taxa de assimilação líquida de CO₂ nos estádios fenológicos VG, R3, R5.1 e R5.5 (16,61; 17,22; 17,26; 17,18 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), o genótipo PI 416937 no estágio fenológico VG, R5.1, R5.3 e R5.5 (15,86; 15,50; 16,03; 15,34 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e o genótipo M 7908 RR no estágio fenológico VG e R3 (14,87; 15,80 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Para lâminas dentro dos estádios fenológicos (Fig. 6B), os maiores valores foram encontrados em 100% da reposição da evapotranspiração diária (17,51; 14,44; 13,55; 16,65; 16,00 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Entre a lâmina de 50% da reposição da evapotranspiração diária, a maior média foi no estágio fenológico R5.5 (15,84 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e para a lâmina de 100% da reposição da evapotranspiração diária as maiores médias foram nos estádios fenológicos VG e R3 (17,51; 16,65 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Para a interação entre genótipos e lâminas (Fig. 6C), dentro de cada lâmina houve diferença significativa em 50% e 100% da reposição da evapotranspiração diária entre os genótipos, sendo que o genótipo MG/BR 48 apresentou maior média em ambas as lâminas (14,74; 16,86 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Considerando entre as lâminas, verificou-se que o genótipo PI 416937 foi o único que não apresentou redução para taxa de assimilação líquida de CO₂.

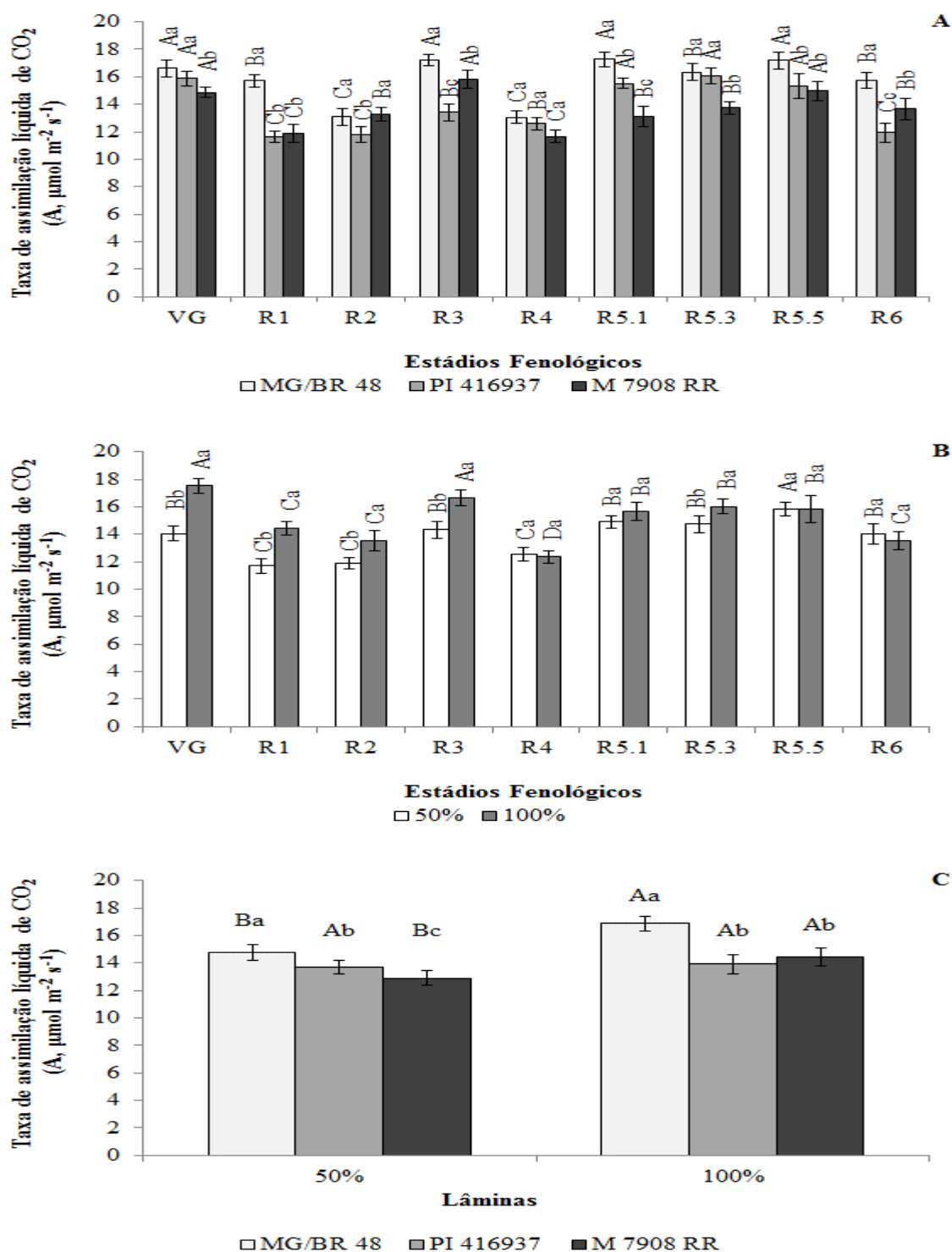


Figura 6. Taxa de assimilação líquida de CO₂ (A, μmol m⁻² s⁻¹). **A.** Em três genótipos de soja (MG/BR48, PI 416937 e M 7908 RR) sob nove estádios fenológicos (VG, R1, R2, R3, R4, R5.1, R5.3, R5.5 e R6). **B.** Em duas lâminas de reposição da evapotranspiração (50% e 100%) sob nove estádios fenológicos (VG, R1, R2, R3, R4, R5.1, R5.3, R5.5 e R6). **C.** Interação de três genótipos de soja (MG/BR48, PI 416937 e M 7908 RR) e duas lâminas de reposição da evapotranspiração (50% e 100%). Médias seguidas de mesma letra minúscula (dentro dos fatores) e maiúscula (entre os fatores) não diferem entre si pelo teste de Scott - Knott (P<0,05). Valores são médias ± DP (n=5).

Para a condutância estomática (GS), houve diferença significativa em todas as interações (Fig. 7). Considerando-se dentro de cada estágio fenológico (Fig. 7A), ocorreram diferenças significativas entre quase todos os genótipos nos estágios fenológicos, exceto no R5.3, sendo que o genótipo MG/BR 48 apresentou os maiores valores nos estágios fenológicos em VG, R1, R2, R3, R4, R5.1, R5.5 e R6 (0,25; 0,27; 0,23; 0,28; 0,26; 0,25; 0,27; 0,26 mol m⁻² s⁻¹ de H₂O), o genótipo PI 416937 apresentou maior valor no VG (0,23 mol m⁻² s⁻¹ de H₂O) e o genótipo M 7908 RR apresentou os maiores valores em R5.1 e R.6 (0,25; 0,24 mol m⁻² s⁻¹ de H₂O). Considerando entre os estágios fenológicos, o genótipo MG/BR 48 apresentou maiores medias no estágio fenológico R1, R3, R4, R5.5 e R6 (0,27; 0,28; 0,26; 0,27; 0,26 mol m⁻² s⁻¹ de H₂O). O genótipo PI 416937 no estágio fenológico VG, R4, R5.1, R5.3 e R5.5 (0,23; 0,24; 0,22; 0,23; 0,23 mol m⁻² s⁻¹ de H₂O). O genótipo M 7908 RR no estágio fenológico R3, R4, R5.1, R5.3, R5.5 e R6 (0,25; 0,23; 0,25; 0,25; 0,25; 0,24 mol m⁻² s⁻¹ de H₂O).

Dentro dos estágios fenológicos (Fig. 7B), diferenças significativas foram observadas em VG, R1, R2 e R5.3, sendo os maiores valores em 100% da reposição da evapotranspiração diária (0,25; 0,25; 0,21; 0,25 mol m⁻² s⁻¹ de H₂O). Entre os estágios fenológicos, os maiores valores para a lâmina de 50% da reposição da evapotranspiração diária, foram nos estágio fenológico R3, R4, R5.1, R5.3, R5.5 e R6 (0,24; 0,25; 0,23; 0,23; 0,25; 0,24 mol m⁻² s⁻¹ de H₂O) para condutância estomática. Para a lâmina de 100% da reposição evapotranspiração diária, os menores valores encontram-se nos estágios fenológicos R2 e R6 (0,21; 0,23 mol m⁻² s⁻¹ de H₂O).

Na interação entre genótipos e lâminas (Fig. 7C), considerando-se dentro de cada lâmina houve diferenças significativas em 50 % e 100 % da reposição da evapotranspiração diária entre os genótipos, sendo que o genótipo MG/BR 48 apresentou maior média em ambas as lâminas (0,24; 0,27 mol m⁻² s⁻¹ de H₂O). Entre as lâminas, verificou-se que o genótipo MG/BR 48 foi o único a apresentar uma redução significativa na condutância estomática.

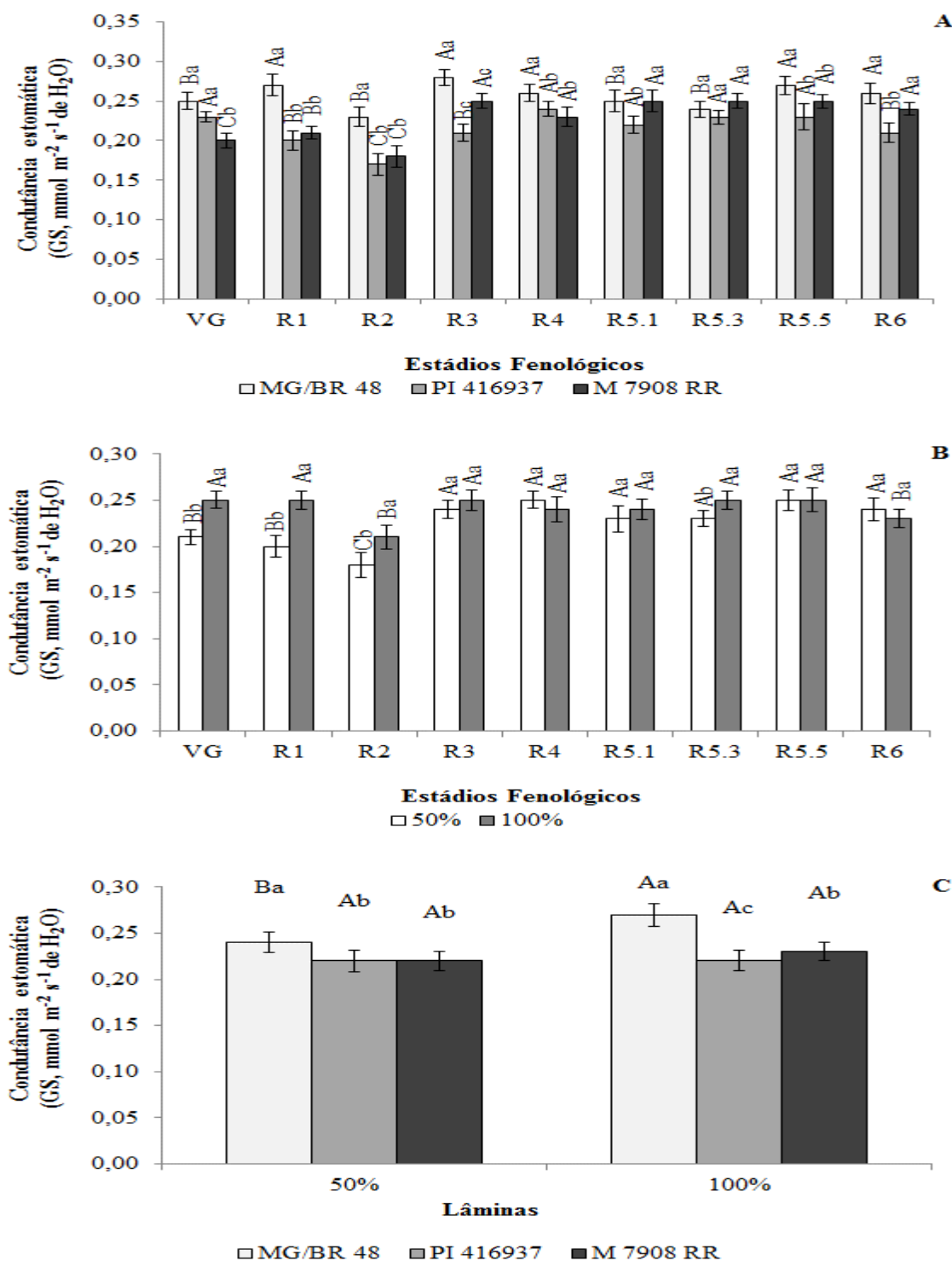


Figura 7. Condutância estomática (GS, $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de H_2O). **A.** Em três genótipos de soja (MG/BR48, PI 416937 e M 7908 RR) sob nove estádios fenológicos (VG, R1, R2, R3 R4, R5.1, R5.3, R5.5 e R6). **B.** Em duas lâminas de reposição da evapotranspiração (50% e 100%) sob nove estádios fenológicos (VG, R1, R2, R3 R4, R5.1, R5.3, R5.5 e R6). **C.** Interação de três genótipos de soja (MG/BR48, PI 416937 e M 7908 RR) e duas lâminas de reposição da evapotranspiração (50% e 100%). Médias seguidas de mesma letra minúscula (dentro dos fatores) e maiúscula (entre os fatores) não diferem entre si pelo teste de Scott - Knott ($P < 0,05$). Valores são médias \pm DP ($n=5$).

Para a Transpiração (E), houve diferença significativa em todas as interações (Fig. 8). Considerando-se dentro de cada estágio fenológico (Fig. 8A), verificaram-se diferenças significativas entre quase todos os genótipos nos estádios fenológicos, exceto no R1, R4 e R5.5, sendo que o genótipo MG/BR 48 apresentou o maior valor no estágio fenológico em R2 ($3,60 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ de H_2O), o genótipo PI 416937 apresentou maior valor no VG ($3,90 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ de H_2O), o genótipo M 7908 RR apresentou maior valor no VG, R3, R5.3 e R.6 ($4,03$; $4,24$; $3,89$; $3,83 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ de H_2O). Considerando entre os estádios fenológicos, os maiores valores encontrados no genótipo MG/BR 48 foram nos estádios fenológicos R1e R3 ($3,84$; $3,60 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ de H_2O), no genótipo PI 416937 nos estádios fenológicos VG e R3 ($3,90$; $3,82 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ de H_2O) e no genótipo M 7908 RR nos estádios fenológicos VG e R3, ($4,03$; $4,24 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ de H_2O) foram os que apresentaram maiores médias para transpiração.

Para as lâminas nos estádios fenológicos (Fig. 8B), dentro dos estádios fenológicos verificou-se diferença significativa em VG, R1, R2, R4 e R6, sendo os maiores valores em 100 % da reposição da evapotranspiração diária em VG, R1 e R2 ($4,20$; $3,93$; $3,58 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ de H_2O) e os maiores valores em 50 % da reposição da evapotranspiração diária em R4 e R6 ($3,73$; $3,75 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ de H_2O). Entre os estádios fenológicos, na lâmina de 50% da reposição da evapotranspiração diária o estágio fenológico R3 ($4,00 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ de H_2O) foi que apresentou maior média para transpiração. Já para a lâmina de 100% da reposição evapotranspiração diária o maior valor encontra-se no estágio fenológico VG ($3,36 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ de H_2O).

Para a interação entre genótipos e lâminas (Fig. 8C), considerando-se dentro de cada lâmina, verificou-se que ocorreram diferenças significativas em 50% e 100% da reposição da evapotranspiração diária entre os genótipos, sendo que o genótipo M 7908 RR apresentou maior média em ambas as lâminas ($3,77$; $3,81 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ de H_2O). Considerando entre as lâminas, verificou-se que o genótipo MG/BR 48 foi o único a apresentar uma redução na transpiração em 50 % da reposição da evapotranspiração diária.

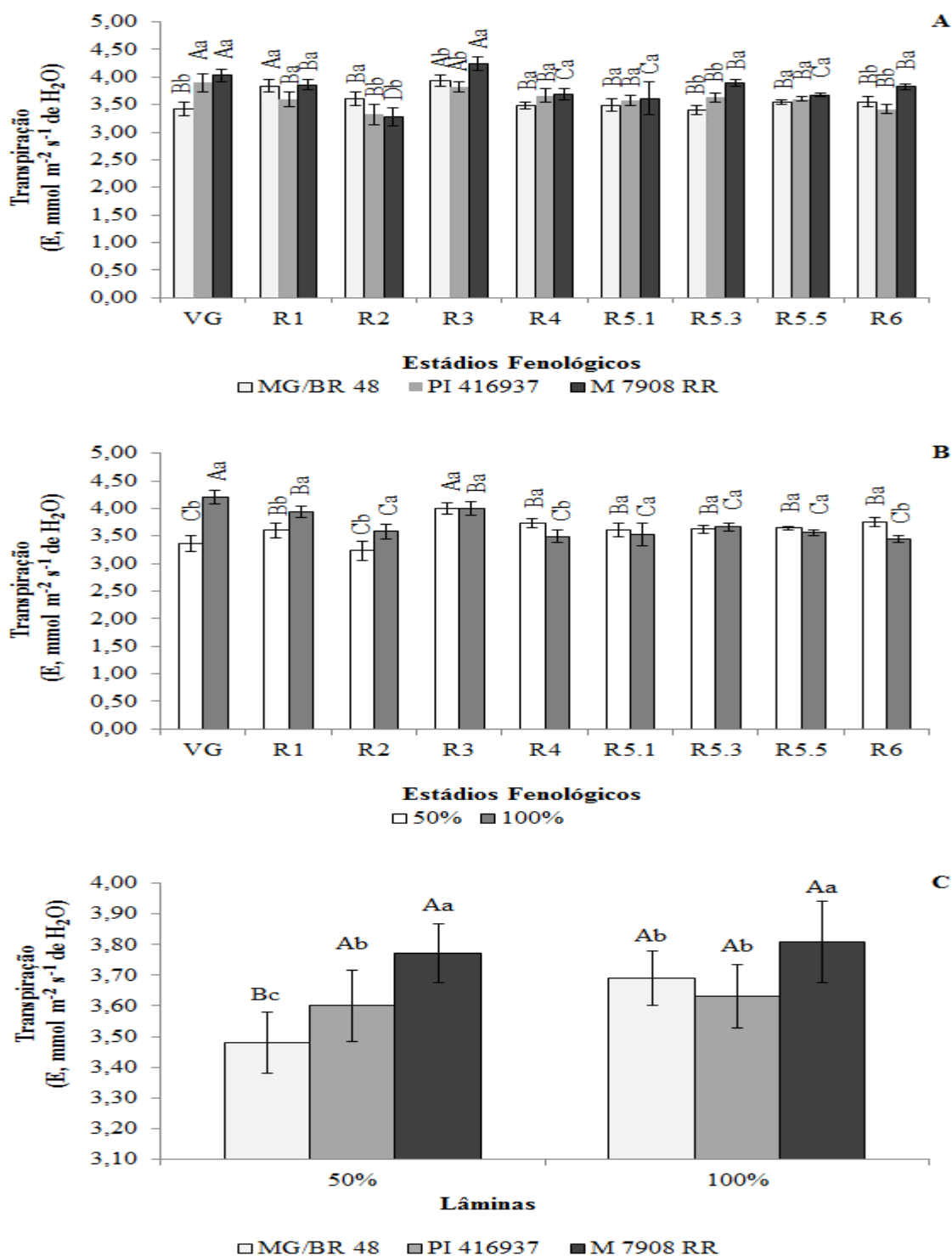


Figura 8. Transpiração (E , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de H_2O). **A.** Em três genótipos de soja (MG/BR48, PI 416937 e M 7908 RR) sob nove estádios fenológicos (VG, R1, R2, R3, R4, R5.1, R5.3, R5.5 e R6). **B.** Em duas lâminas de reposição da evapotranspiração (50% e 100%) sob nove estádios fenológicos (VG, R1, R2, R3, R4, R5.1, R5.3, R5.5 e R6). **C.** Interação de três genótipos de soja (MG/BR48, PI 416937 e M 7908 RR) e duas lâminas de reposição da evapotranspiração (50% e 100%). Médias seguidas de mesma letra minúscula (dentro dos fatores) e maiúscula (entre os fatores) não diferem entre si pelo teste de Scott - Knott ($P < 0,05$). Valores são médias \pm DP ($n=5$).

3.3 Eficiência fotoquímica do FSII (Fv Fm)

Para a Eficiência fotossintética (Fv Fm), não houve diferença significativa na interação genótipo x lâmina, havendo em todas outras interações (fig. 9). Considerando-se dentro de cada estágio fenológico (Fig. 9A), verificaram-se diferenças significativas entre os genótipos nos estádios fenológicos VG, R2, R4, R5.3, R5.5 e R6, sendo que o genótipo MG/BR 48 apresentou os maiores valores nos estádios fenológicos em VG, R4, R5.3 e R5.5 (0,82; 0,85; 0,80; 0,79), o genótipo PI 416937 apresentou maiores valores no R2 e R5.3 (0,71; 0,81), o genótipo M 7908 RR apresentou maiores valores no VG, R2, R5.5 e R6 (0,83; 0,68; 0,79; 0,79). Considerando entre os estádios fenológicos, o genótipo MG/BR 48 apresentou maiores valores nos estádios fenológicos VG, R1, R3 e R4 (0,82; 0,83; 0,83; 0,85) para a eficiência fotossintética, o genótipo PI 416937 nos estádios fenológicos R1, R3, e R5.3 (0,81; 0,83; 0,81) e o genótipo M 7908 RR nos estádios fenológicos VG, R1 e R3 (0,83; 0,82; 0,83) para a eficiência fotossintética.

Para a interação estágio fenológico e lâminas (Fig. 9B), dentro dos estádios fenológicos, verificou-se diferença significativa em VG, R2, R4, R5.1 e R5.5, sendo que em 100 % da reposição da evapotranspiração diária, os maiores valores ocorreram em VG, R2 e R5.5 (0,84; 0,70; 0,80) e em 50 % da reposição da evapotranspiração diária, os maiores valores foram em R4 e R5.1 (0,83; 0,76). Entre os estádios fenológicos os maiores valores para a lâmina de 50% da reposição da evapotranspiração diária foram nos estádios fenológicos R3 e R4(0,83; 0,83) e para a lâmina de 100% da reposição da evapotranspiração diária, as maiores médias foram nos estádios fenológicos VG, R1 e R3 (0,84; 0,83; 0,83) para eficiência fotossintética.

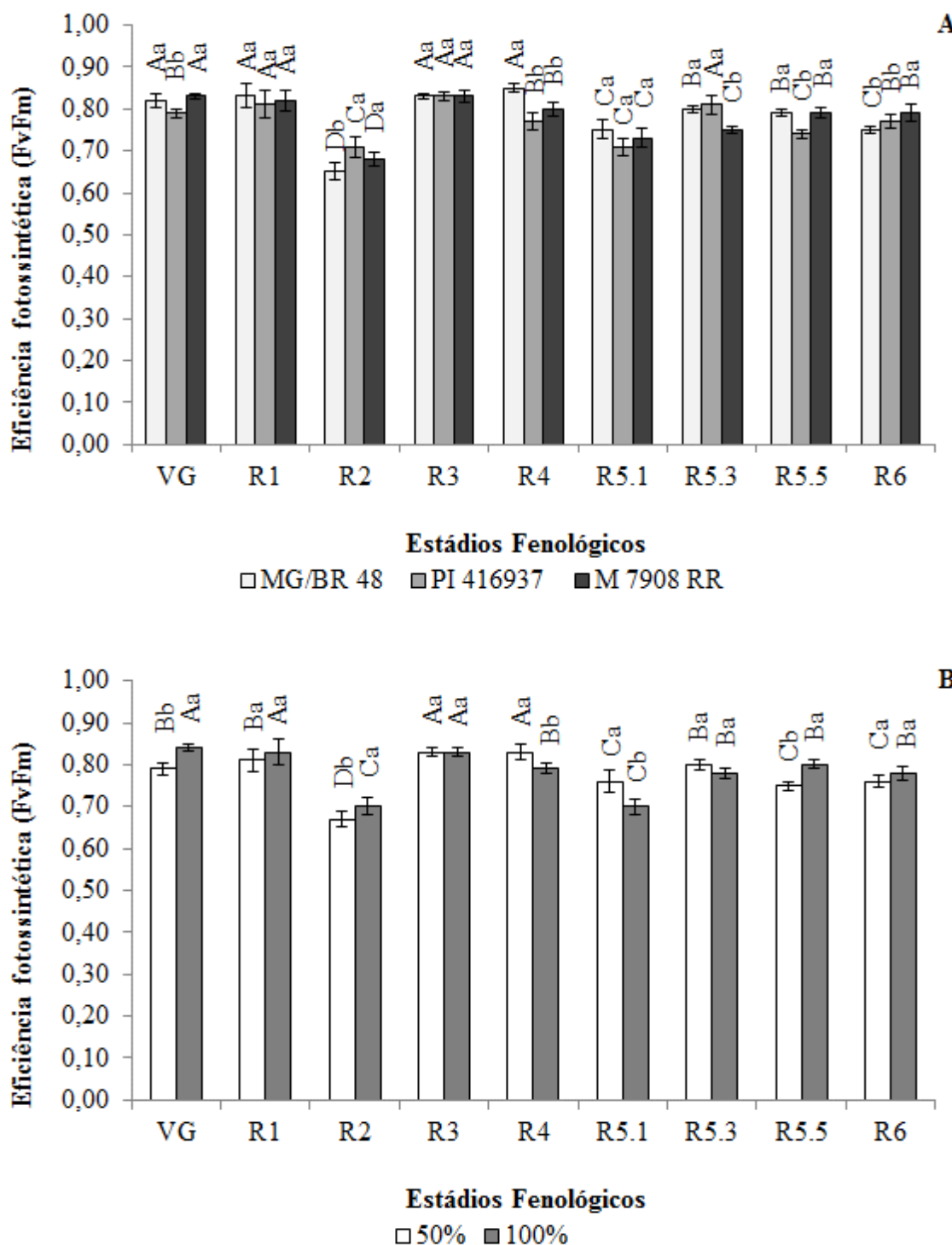


Figura 9. Eficiência fotossintética (Fv/Fm). **A. A.** Em três genótipos de soja (MG/BR48, PI 416937 e M 7908 RR) sob nove estádios fenológicos (VG, R1, R2, R3, R4, R5.1, R5.3, R5.5 e R6). **B.** Em duas lâminas de reposição da evapotranspiração (50% e 100%) sob nove estádios fenológicos (VG, R1, R2, R3, R4, R5.1, R5.3, R5.5 e R6). **C.** Interação de três genótipos de soja (MG/BR48, PI 416937 e M 7908 RR) e duas lâminas de reposição da evapotranspiração (50% e 100%). Médias seguidas de mesma letra minúscula (dentro dos fatores) e maiúscula (entre os fatores) não diferem entre si pelo teste de Scott - Knott ($P < 0,05$). Valores são médias \pm DP ($n=5$).

3.4 Aferição indireta dos teores de clorofila (SPAD)

Para teor relativo de clorofila (SPAD), houve diferença significativa em todas as interações (Fig. 10). Considerando-se dentro de cada estágio fenológico (Fig. 10a), verificou-se diferenças significativas entre os genótipos nos estádios fenológicos em VG, R1, R2, R4, R5.1, R5.3, R5.5 e R6, sendo que o genótipo MG/BR 48 apresentou os maiores valores nos estádios fenológicos em VG, R1, R4, R5.1, R5.3, R5.5 e R6 (18,14; 24,50; 26,93; 34,09; 27,71; 37,96; 31,36), o genótipo PI 416937 apresentou maior valor no R2 (21,37), o genótipo M 7908 RR apresentou maiores valores no VG, R2 e R6 (16,51; 20,27; 30,55). Considerando os genótipos entre os estádios fenológicos, o genótipo MG/BR 48 no estágio fenológico R5.5 (37,96) apresentou maior valor para o teor relativo de clorofila, o genótipo PI 416937 no estágio fenológico R5.5 (29,61) e o genótipo M 7908 RR no estágio fenológico R6 (30,55).

Para a interação lâminas nos estádios fenológicos (Fig. 10B), foram verificadas diferenças significativas dentro dos estágios fenológicos em praticamente todos os estádios, exceto no R2 e R6, sendo os maiores valores em 100 % da reposição da evapotranspiração diária. Entre as lâminas, para 50% da reposição da evapotranspiração diária, o maior valor encontrado foi no estágio fenológico R5.5 (31,46) para o teor relativo de clorofila. Já para 100% da reposição da evapotranspiração diária, o maior valor encontrado foi nos estádios fenológicos R5.1 e R5.5 (31,63; 32,65) para teor relativo de clorofila.

Para a interação entre genótipos e lâminas (Fig. 10C), considerando-se dentro de cada lâmina, verificou-se que houve diferenças significativas em 50 % e 100 % da reposição da evapotranspiração diária entre os genótipos, sendo que o genótipo MG/BR 48 apresentou maior média em ambas as lâminas (26,09; 27,55). Entre as lâminas, verificou-se que todos os genótipos apresentam maiores médias para o teor relativo de clorofila em 100 % da reposição da evapotranspiração diária.

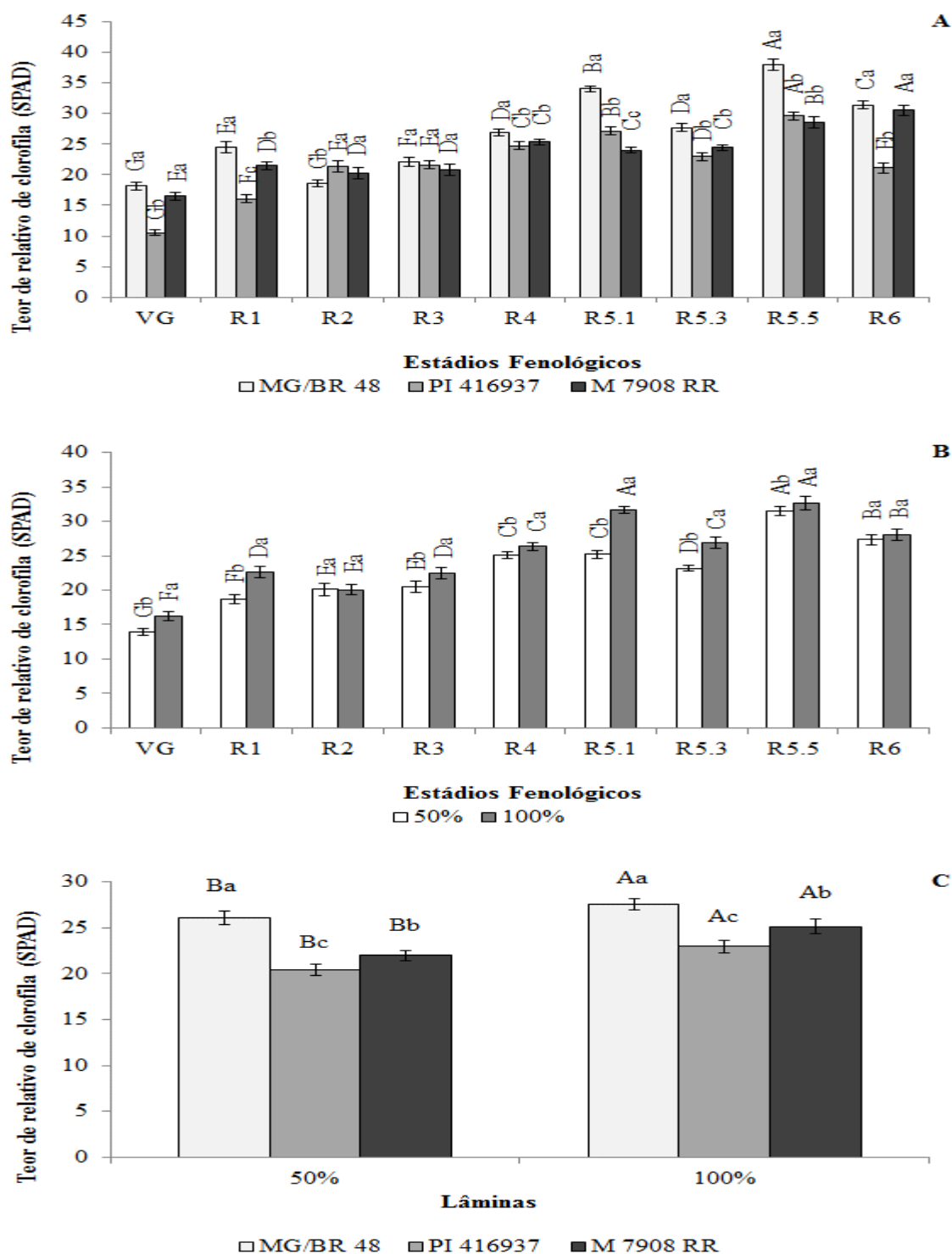


Figura 10. Teor relativo de clorofila (SPAD). **A.** Em três genótipos de soja (MG/BR48, PI 416937 e M 7908 RR) sob nove estádios fenológicos (VG, R1, R2, R3 R4, R5.1, R5.3, R5.5 e R6). **B.** Em duas lâminas de reposição da evapotranspiração (50% e 100%) sob nove estádios fenológicos (VG, R1, R2, R3 R4, R5.1, R5.3, R5.5 e R6). **C.** Interação de três genótipos de soja (MG/BR48, PI 416937 e M 7908 RR) e duas lâminas de reposição da evapotranspiração (50% e 100 %). Médias seguidas de mesma letra minúscula (dentro dos fatores) e maiúscula (entre os fatores) não diferem entre si pelo teste de Scott - Knott ($P < 0,05$). Valores são médias \pm DP ($n=5$).

3.5 Caracteres agrônômicos

Para número de vagens totais, houve diferença significativa na interação genótipos e lâminas. Considerando-se dentro de cada lâmina (Fig. 11), verificou-se que houve diferenças significativas em 50 % e 100 % da reposição da evapotranspiração diária entre os genótipos, sendo que o genótipo MG/BR 48 apresentou maior média em ambas as lâminas (110; 194). Considerando o genótipo entre as lâminas, verificou-se que genótipo PI 416937 não apresentou redução significativa no número de vagens totais.

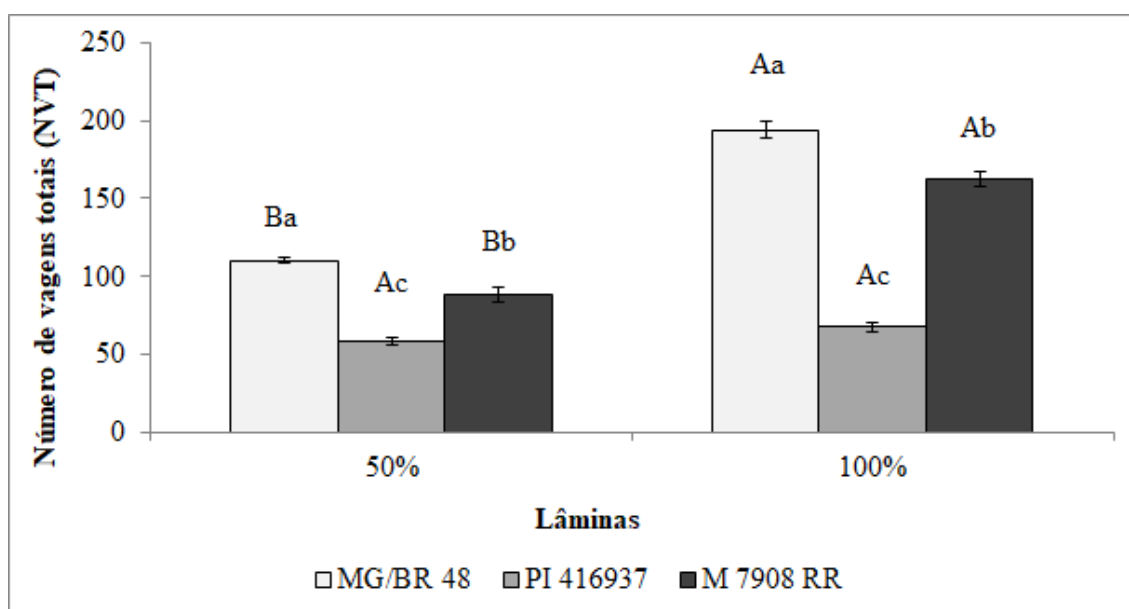


Figura 11. Número de vagens totais (NVT) em três genótipos de soja (MG/BR48, PI 416937 e M 7908 RR) e duas lâminas de reposição da evapotranspiração (50% e 100%), segundo genótipo e lâmina. Médias seguidas de mesma letra minúscula (dentro dos fatores) e maiúscula (entre os fatores) não diferem entre si pelo teste de Scott - Knott ($P < 0,05$). Valores são médias \pm DP ($n=5$).

Para peso de grãos por planta, houve diferença significativa na interação genótipos e lâminas. Considerando-se dentro de cada lâmina (Fig. 12), verificou-se que houve diferenças significativas em 50 % e 100 % da reposição da evapotranspiração diária entre os genótipos, sendo que o genótipo PI 416937 apresentou menor média em ambas as lâminas (22; 26 g). Considerando entre as lâminas, verificou-se que os genótipos MG/BR 48, PI 416937 e M 7908 RR apresentam maiores médias em 100 % da reposição da evapotranspiração diária (66;

26; 60 g), sendo que a redução do genótipo PI 4169387 foi de 15% enquanto os outros dois genótipos apresentaram uma redução próxima a 50%.

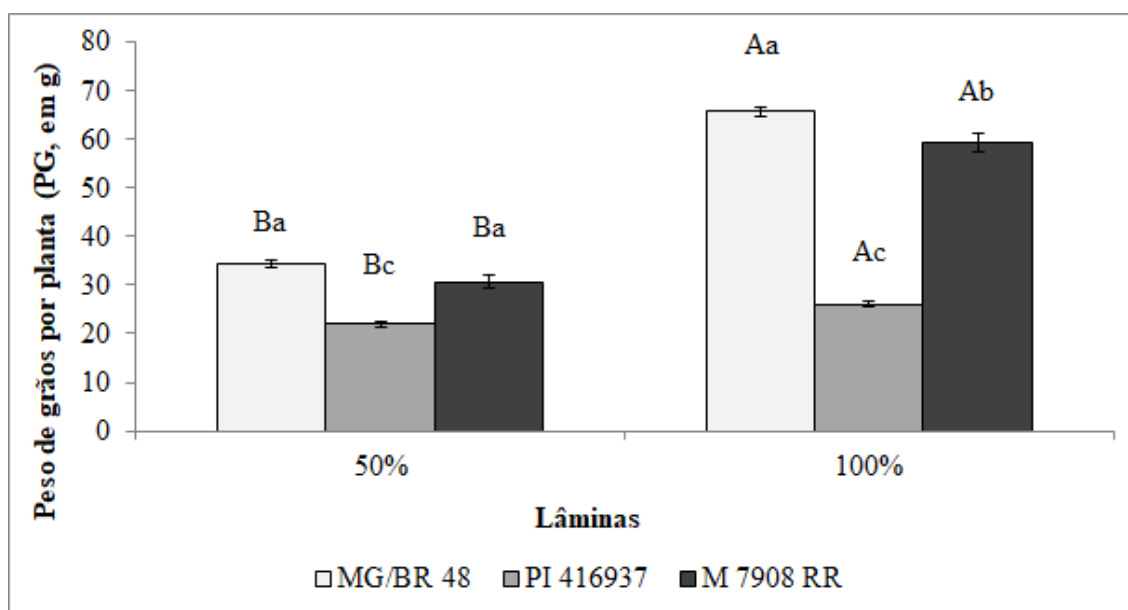


Figura 12. Peso de grãos por planta (PG) em três genótipos de soja (MG/BR48, PI 416937 e M 7908 RR) e duas lâminas de reposição da evapotranspiração (50% e 100%), segundo genótipo e lâmina. Médias seguidas de mesma letra minúscula (dentro dos fatores) e maiúscula (entre os fatores) não diferem entre si pelo teste de Scott - Knott ($P < 0,05$). Valores são médias \pm DP ($n=5$).

4. DISCUSSÃO

As temperaturas às quais o experimento foi submetido estão de acordo com as ideais para a cultura da soja (Fig. 1). Para o desenvolvimento ideal, a cultura tem como exigência a faixa de temperatura entre 20°C e 30°C, sendo considerada como ideal a temperatura de 30°C. O crescimento vegetativo da soja é baixo ou nulo em temperaturas abaixo de 10°C, e acima de 40°C ocorrem efeitos adversos no metabolismo reduzindo o crescimento da planta, sendo agravado em condições de déficit hídrico (Fontana et al., 2001; Farias et al., 2007), sendo importante a manutenção da temperatura ideal para o cultivo. Vale salientar que a fotossíntese, o crescimento radicular de plantas e os demais processos vitais, são afetados pela temperatura (Allen e Ort, 2001; Wan et al., 2004).

De modo geral, o déficit hídrico ocasiona diversas alterações nas plantas e as respostas envolvem inúmeros fatores (Hossain et al., 2014). A redução da

disponibilidade de água provoca alterações nas folhas de soja afetando o desempenho fotossintético, causando uma redução na taxa fotossintética, condutância estomática, transpiração das plantas, no fechamento estomático entre outros fatores (Varone e Gratani 2015; Zhang et al., 2016), podendo com isso justificar as alterações encontradas nesse trabalho em plantas de soja com déficit hídrico.

A mensuração da temperatura do ar ambiente e da folha (Fig. 3 e Fig. 4) são afetadas principalmente nos estádios R1 e R5, e que sob uma restrição hídrica, as cultivares apresentem uma maior temperatura, sendo um indicativo que certos genótipos possuem uma tolerância ao estresse estudado, pois conseguem manter sua temperatura estável em ambientes adversos, a exemplo do genótipo PI 416937 como encontrado no presente trabalho. A alteração da temperatura implica numa alteração direta de todos caracteres fisiológico, com essa alteração é possível esperar uma resposta diferenciada nos caracteres relacionados a produção das plantas em plantas submetidas ao déficit hídrico.

As concentrações intercelular de CO_2 é uma variável que possui uma resposta diretamente relacionada a temperatura da folha e ou ambiente, no presente trabalho existe essa tendência com a temperatura, onde se observa que plantas com maiores temperaturas apresentam uma menor concentração intercelular de CO_2 , isto é observado principalmente quando as plantas estão em restrição hídrica (Fig. 5). Esse fato pode ser justificado devido às temperaturas maiores auxiliarem a taxa fotossintética e o consumo de CO_2 . Diante disso a observação de CO_2 apresenta-se como um reflexo de como a planta responde ao ambiente (Inman-Bamber et al., 2012).

Os maiores valores da taxa de assimilação líquida de CO_2 (Fig. 6), ou simplesmente taxa fotossintética encontradas foram nos estádios VG e R5, pois nesses períodos há uma necessidade maior de energia para o crescimento da planta e enchimento de grão, ou seja, há um grande gasto energético. Podemos ressaltar que plantas que não possuem tolerância à seca apresentam uma menor capacidade de realizar fotossíntese, como observado nos genótipos MG/BR 48 e M 7908 RR, o que não observou-se com o genótipo PI 416937 evidenciando que este genótipo possui uma tolerância ao déficit hídrico (Fig. 6C), pois mesmo em condição de restrição hídrica o mesmo conseguiu manter a capacidade fotossintética.

A condutância estomática para o genótipo PI 416937 apresentou menores valores no estágio fenológico R5 (Fig. 7), isso é um indicativo que essa variedade possui um controle melhor na regulação de abertura e fechamento dos seus estômatos, plantas que tem a maior necessidade de fotossíntese, tendem a ficar com os estômatos mais abertos, permitindo a maior troca gasosa. Outro ponto a ser destacado é que a condutância estomática é afetada quando as plantas estão em déficit hídrico e cada genótipo possui uma resposta diferente sobre esse estresse, evidenciando menor valor encontrado para o genótipo MG/BR 48 (Fig. 7C).

Tal fato mencionado acima pode ser explicado em razão que o controle da abertura dos estômatos depende de vários fatores, pois percebe-se que, entre as variedades, há uma grande variação nas dimensões e quantidade de estômatos, o que interfere diretamente nas diferenças de regulações das trocas gasosas (Angelocci, 2002). Então, claramente, as plantas podem apresentar uma variação na condutância estomática devido à resposta das alterações do ambiente (Smith e Singels, 2006).

Um fator de grande importância que explica claramente o processo de déficit hídrico é a transpiração (Fig. 8), observamos que plantas que estão sobre esse estresse e possuem um mecanismo que respondem de maneira mais eficiente tendem a diminuir sua transpiração como um mecanismo de defesa e preservação de água. No presente trabalho fica evidente que o genótipo M 7908 RR possui uma menor capacidade para a percepção do déficit e cessar seus processos fisiológicos com a finalidade de se manter viva por mais tempo. Tal comportamento já foi observado em milho submetido a condições de déficit hídrico, onde Bergonci e Pereira, 2002 encontraram respostas semelhantes a esse trabalho. Outro estudo que podemos destacar e corroboram com resultados encontrados foi o trabalho de Cechin et al. (2010), que sobre o impacto do estresse hídrico em plantas de girassol, por meio da suspensão total da irrigação, onde as variáveis fisiológicas ligadas a fotossíntese como a condutância estomática e transpiração foram reduzidas em função do estresse imposto.

Outra característica ligada à temperatura que é indicativa para verificar a tolerância de genótipos para déficit hídrico é a eficiência fotoquímica (Fig. 9), onde-se observa que os estádios fenológicos que tiveram uma alteração de temperatura,

também apresentam uma alteração na eficiência fotoquímica do FSII, isso ocorre devido à temperatura interferir diretamente na atividade da Rubisco, alterando o fotossistema, fazendo que ocorra uma interferência nos processos de transporte de elétrons.

Uma maneira de verificar se os processos fisiológicos estão funcionais é a avaliação do teor relativo de clorofila, no presente trabalho destaca o estágio fenológico R5.5 (Fig. 10), onde os genótipos apresentam comportamentos distintos, com maior valor para os genótipos MG/BR 48 e PI 416938, sendo que, as plantas que não estão submetidas à restrição hídrica, apresentam um menor teor relativo de clorofila (Fig. 10C). Verificar o teor de clorofila é uma maneira indireta de observar a sanidade das plantas, onde plantas que não apresentam um alto teor de clorofila é um indicativo que essa clorofila está sendo degradada sendo e no caso deste trabalho o estresse por déficit hídrico.

De maneira bem geral as características avaliadas e citadas acima estão amplamente ligadas entre si, e o processo de distúrbio fisiológico ocasionado pela falta de água de solo afeta diretamente no crescimento dessas plantas e como uma consequência direta a diminuição da produção e abortamento de vagens. Podemos ressaltar que se há uma boa condição hídrica, os estômatos se abrem permitindo uma maior transpiração, e isso propicia que a temperatura foliar fique menor que a do ar circundante (Honna et al., 2016).

Porém quando isso não ocorre acontece uma redução da transpiração sob déficit hídrico, que contribuiu para a redução da taxa fotossintética nas plantas, já que a transpiração foliar é reduzida, a capacidade de dissipação de calor latente tende a diminuir, o que aumenta a temperatura da folha e reduz a atividade da carboxilação, ocorrendo à diminuição da assimilação de CO₂ pelas plantas (Hallgren et al., 1991).

A alteração dos caracteres avaliados acima impactaram diretamente em variáveis referente a produção da planta. Dessa maneira é de grande importância a avaliação desses caracteres para correlacionar aos processos fisiológicos. Um distúrbio fisiológico ocasionado em plantas pelo estresse afeta o crescimento e rendimento de plantas. No caso o resultado para número de vagens totais encontrado nesse trabalho foi semelhante ao encontrado por Fioreze et al. (2011), onde foram comparadas em casa de vegetação, três cultivares de soja submetidos a diferentes

períodos de déficit hídrico, no início do período reprodutivo da cultura, e observaram a diminuição da média do número de vagens totais produzidas por planta, em duas cultivares estudadas.

Outro trabalho que corrobora é o de Demirtas et al. (2010), que observaram resultado semelhante em que diferentes déficits hídricos afetaram significativamente o número total de vagens por planta interferindo na produtividade da cultura.

Como esperado devido ao déficit hídrico, ocorreu uma série de distúrbios fisiológicos, ocasionando uma diminuição no número de vagens totais e como consequência a diminuição de produtividade. A diminuição do número de vagens pode ser justificada principalmente que plantas em déficit hídrico venham a ter um maior abortamento de flores. Podemos observar que o genótipo PI 416937 na condição de restrição hídrica imposta nesse trabalho, apresentou uma redução em ambas características de produção de aproximadamente 15% sendo que os genótipos MG/BR 48 e M 7908 RR apresentaram uma redução de aproximadamente 50%, indicando a capacidade do genótipo PI 416937 possuir uma maior tolerância do que os outros dois genótipos avaliados.

Tal informação pode ser embasada em razão que, dentre os componentes de produção da soja, este é o parâmetro mais importante para a produtividade da cultura, porém é também o mais sensível à restrição hídrica e, portanto uma oferta adequada de água é necessária para a produção de vagens, em cultivares de alta produtividade (Comlekcioglu e Simsek, 2011).

5. CONCLUSÕES

As trocas gasosas, a eficiência fotoquímica e os caracteres agrônômicos das cultivares MG/BR 48, PI 416937 e M 7908 RR são alteradas pelo déficit hídrico, principalmente no estágio fenológico R5.

O genótipo M 7908 RR é suscetível ao déficit hídrico pelo maior decréscimo dos fatores fisiológicos analisados, reduzindo drasticamente o metabolismo fotossintético que interfere diretamente na produtividade.

O genótipo PI 416937 tem mecanismos que induzem a tolerância ao estresse hídrico.

REFERÊNCIAS

Abreu VM, Von Pinho EVDR, Santos HO, Carvalho MR, Naves GMDF, Von Pinho RG (2017) Indirect selection for drought tolerance in maize through agronomic and seeds traits. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo** 16(2):287-296.

Akaike H (1987) **Factor analysis and AIC. In Selected Papers of Hirotugu Akaike** Springer, 371-386.

Akaike H. (1974). **A new look at the statistical model identification. In Selected Papers of Hirotugu Akaike.** Springer, 215-222.

Allen DJ, Ort DR (2001) Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm-climate plants. **Trends in plant science** 6(1):36-42.

Amede T, Kittlitz EV, Schubert S (1999) Differential drought responses of faba bean (*Vicia faba* L.) inbred lines. **Journal of agronomy and crop science** 183(1):35-45.

Angelocci LR (2002) **Água na planta e trocas gasosas/energéticas com a atmosfera: introdução ao tratamento biofísico.** Piracicaba: Edição do Autor, 272 p.

Baroowa B, Gogoi N (2013) Biochemical changes in two *Vigna* spp. during drought and subsequent recovery. **Indian Journal of Plant Physiology** 18(4):319-325.

Bartels D, Ditzer A, Furini A (2006) What can we learn from resurrection plants. **Drought adaptation in cereals** 599-622.

Bergonci JI, Pereira PG (2002) Comportamento do potencial da água na folha e da condutância estomática do milho em função da fração de água disponível no solo. **Revista Brasileira de Agrometeorologia** 10(2):229-235.

Blum A (2009) Effective use of water (EUW) and not water-use efficiency (WUE) is the target of crop yield improvement under drought stress. **Field crops research** 112(2-3):119-123.

Bond DA, Jellis GJ, Rowland GG, Le Guen J, Robertson LD, Khalil SA, Li-Juan L (1994) Present status and future strategy in breeding faba beans (*Vicia faba* L.) for resistance to biotic and abiotic stresses. **Euphytica** 73:151–166.

Boyer JS, Byrne P, Cassman KG, Cooper M, Delmer D, Greene T, Lafitte R (2013) The US drought of 2012 in perspective: A call to action. **Global Food Security** 2(3):139-143.

Cechin I, Corniani N, Fumis TDF, Cataneo AC (2010) Differential responses between mature and young leaves of sunflower plants to oxidative stress caused by water deficit. **Ciência Rural** 40(6):1290-1294.

Comlekcioglu N, Simsek M (2011) Effects of deficit irrigation on yield and yield components of vegetable soybean [*Glycine max* L.(Merr.)] in semi-arid conditions. **African Journal of Biotechnology** 10(33):6227-6234.

CONAB. **Perspectivas para a agropecuária, safra 2018/2019**. Brasília: Conab, 2019. Disponível em <<https://www.conab.gov.br/images/arquivos/outros/Perspectivas-para-a-agropecuaria-2018-19.pdf>>. Acesso em: 29 Dez. 2019.

Demirtaş Ç, Yazgan S, Candogan BN, Sincik M, Buyukcangaz H, Goksoy AT (2010) Quality and yield response of soybean (*Glycine max* L. Merril.) to drought stress in sub-humid environment. **African Journal of Biotechnology** 9(41):6873-6881.

Edwards CE, Ewers BE, McClung CR, Lou P, Weinig C (2012) Quantitative variation in water-use efficiency across water regimes and its relationship with circadian, vegetative, reproductive, and leaf gas-exchange traits. **Molecular Plant** 5(3):653-668.

Farias JRB, Nepomuceno AL, Neumaier N (2007) **Circular Técnica 48: Ecofisiologia da Soja**. Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br/download/cirtec/cirtec48.pdf>>. Acesso em: 26 maio. 2019.

Farooq M, Wahid A, Kobayashi N, Fujita D, Basra SMA (2009) **Plant drought stress: effects, mechanisms and management** In Sustainable agriculture Springer, Dordrecht, 153-188.

Fioreze SL, Pivetta LG, Fano A, Machado FR, Guimarães VF (2011) Performance of soybean genotypes under high intensity drought stress in greenhouse conditions. **Revista Ceres** 58(3):342-349.

Fontana DC, Ducati JR, Weber E, Berlato MA, Bergamaschi H, Figueiredo DC (2001). Monitoramento e previsão da safra de soja 1999/2000 no Brasil. Porto Alegre: CEPSSRM/UFRGS, 121.

Hallgren S W, TAUER Charles G, LOCK, JE (1991) Fine root carbohydrate dynamics of loblolly pine seedlings grown under contrasting levels of soil moisture. **Forest science** 37(3):766-780.

Hällgren, J. E.; Stand, M.; Lundmark, T. Temperature stress. In: Raghavendra AS (Ed.). **Physiology of trees**. New York: John Wiley, 1991, 301-335.

Hatfield JL, Boote KJ, Kimball BA, Ziska LH, Izaurralde RC, Ort D, Wolfe D (2011) Climate impacts on agriculture: implications for crop production. **Agronomy journal** 103(2):351-370.

Honna PT, Fuganti-Pagliarini R, Ferreira LC, Molinari MD, Marin SR, de Oliveira MC, Nakashima K (2016) Molecular, physiological, and agronomical characterization, in greenhouse and in field conditions, of soybean plants genetically modified with AtGolS2 gene for drought tolerance. **Molecular breeding** 36(11):157.

Hossain MM, Liu X, Qi X, Lam HM, Zhang J (2014) Differences between soybean genotypes in physiological response to sequential soil drying and rewetting. **The Crop Journal** 2(6):366-380.

Inman-Bamber NG, Lakshmanan P, Park S (2012) Sugarcane for water-limited environments: Theoretical assessment of suitable traits. **Field Crops Research** 134:95-104.

Karamanos AJ, Papatheohari AY (1999) Assessment of drought resistance of crop genotypes by means of the water potential index. **Crop science** 39(6):1792-1797.

Khan HR, Paull JG, Siddique KHM, Stoddard FL (2010) Faba bean breeding for drought-affected environments: A physiological and agronomic perspective. **Field Crops Research** 115(3):279-286.

Lesk C, Rowhani P, Ramankutty N (2016) Influence of extreme weather disasters on global crop production. **Nature** 529(7584):84.

Littell RC, Milliken GA, Stroup WW, Wolfinger RD (1996) **SAS® system for mixed models**. Cary: N.C.: SAS Institute Inc., 633p.

Lobell DB, Roberts MJ, Schlenker W, Braun N, Little BB, Rejesus RM, Hammer GL (2014) Greater sensitivity to drought accompanies maize yield increase in the US Midwest. **Science** 344(6183):516-519.

Malavolta E (1980) **Elementos de nutrição mineral de plantas**. Piracicaba: Agronômica Ceres, 251p.

Oya T, Nepomuceno AL, Neumaier N, Farias JRB, Tobita S, Ito O (2004) Drought tolerance characteristics of Brazilian soybean cultivars. **Plant Production Science** 7(2):129-137.

Passioura JB (2010) Scaling up: the essence of effective agricultural research. **Functional Plant Biology** 37(7):585-591.

Recchia GH (2011) **Identificação de genes diferencialmente expressos em feijoeiro envolvidos na resistência ao estresse hídrico**. 152 f. Dissertação (Mestrado em Biologia na Agricultura e no Ambiente). Universidade de São Paulo, Piracicaba.

Ricciardi L (1989) Plant breeding for resistance to drought. II. Relationships between stomatal and agronomic traits in *Vicia faba* L. genotypes. **Agric Mediterr** 119:424-434.

Rosenzweig C, Elliott J, Deryng D, Ruane AC, Müller C, Arneth A, Neumann K (2014) Assessing agricultural risks of climate change in the 21st century in a global gridded crop model intercomparison. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 111(9):3268-3273

Santos HG, Jacomine PKT, Dos Anjos LHC, De Oliveira VA, Lumberras JF, Coelho MR, Cunha TJF (2018) **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília, DF: Embrapa.

SAS INSTITUTE (2013) Statistical analysis system: release 9.4. Cary: Statistical Analysis System Institute.

Sinclair TR (2011) Challenges in breeding for yield increase for drought. **Trends in Plant Science** 16:289-93.

Smit MA, Singels A (2006) The response of sugarcane canopy development to water stress. **Field Crops Research** 98(2-3):91-97.

Specht JE, Hume DJ, Kumudini SV (1999) Soybean yield potential a genetic and physiological perspective. **Crop Science** 39(6):1560-1570.

Tavares LC, de Rufino CA, Brunes AP, Tunes LM, Barros ACSA, Peske ST (2013) Desempenho de sementes de soja sob deficiência hídrica: rendimento e qualidade fisiológica da geração F1. **Ciência rural** 43(8).

Turner NC (1986) Adaptation to water deficits: a changing perspective. **Functional Plant Biology** 13(1):175-190.

Turner NC (2000) Drought resistance: A comparison of two frameworks. *Management of Agricultural Drought: Agronomic and Genetic Options*. New Delhi, Inde: Oxford IBH, 5-12.

Turner NC, Wright GC, Siddique KHM (2001) Adaptation of grain legumes (pulses) to water-limited environments. **Advances in Agronomy** 193-231.

Varone L, Gratani L (2015) Leaf respiration responsiveness to induced water stress in Mediterranean species. **Environmental and Experimental Botany** 109:141-150.

Wan X, Landhäusser SM, Zwiazek JJ, Lieffers VJ (2004) Stomatal conductance and xylem sap properties of aspen (*Populus tremuloides*) in response to low soil temperature. **Physiologia Plantarum** 122(1):79-85.

Ye H, Roorkiwal M, Valliyodan B, Zhou L, Chen P, Varshney R, Nguyen HT (2018) Genetic diversity of root system architecture in response to drought stress in grain legumes. **Journal of Experimental Botany** 69:3267–3277.

Ye H, Song L, Schapaugh WT, Ali ML, Sinclair TR, Riar MK, Pizolato Neto, A. (2019). The importance of slow canopy wilting in drought tolerance in soybean. **Journal of experimental botany**.

Zhang J, Liu J, Yang C, Du S, Yang W (2016). Photosynthetic performance of soybean plants to water deficit under high and low light intensity. **South African Journal of Botany** 105: 279-287.

CAPÍTULO 3 – CARACTERES FISIOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS E AGRONÔMICOS EM PLANTAS DE SOJA SOB DÉFICIT HÍDRICO EM DIFERENTES ESTÁDIOS FENOLÓGICOS

RESUMO – A tolerância ao déficit hídrico é um mecanismo que permite que as plantas mantenham seu metabolismo, mesmo em condição de um baixo potencial hídrico. A complexidade das respostas que as plantas têm à tolerância ou suscetibilidade a seca, depende principalmente do seu genótipo, do estágio fenológico e da intensidade do estresse. Diante disso o objetivo deste trabalho consistiu em avaliar a tolerância da soja ao déficit hídrico por meio do estudo de variáveis fisiológicas-bioquímicas e caracteres agronômicos. Para tanto, foram utilizadas três fontes de variação, sendo: cinco estádios fenológicos (VG, R1, R3, R5.1 e R5.3), três genótipos (MG/BR 48, PI 416937 e M 7908 RR) e duas reposição água (50 % e 100 % da ETc). Foram realizadas as seguintes avaliações: peroxidação de lipídeos, teor de prolina livre, atividade da superóxido dismutase, atividade da ascorbato peroxidase, atividade da catalase, número total de vagens e o peso total de grãos. Diante dos resultados encontrados podemos concluir que os genótipos respondem diferentemente à atividade enzimática sob diferentes condições estressantes e reduzem os níveis de peroxidação lipídica. O genótipo PI 416937 apresenta uma menor redução (15%) na sua produção entre os genótipos avaliados. O melhor estágio fenológico para avaliação em soja é principalmente em fenológico R5. A prolina é um atenuante indicador de estresse hídrico em soja

Palavras-chave: Prolina, estresse oxidativo, peroxidação lipídica, e *Glycine max* L.

CHAPTER 3 – PHYSIOLOGICAL, BIOCHEMICAL AND AGRONOMIC TRAITS OF SOYBEAN UNDER WATER DEFICIT IN DIFFERENT GROWTH STAGES

ABSTRACT - Tolerance to water deficit is a mechanism that allows plants to maintain their metabolism, even under conditions of low water potential. The complexity of the responses that plants have to drought tolerance or susceptibility, depends mainly on their genotype, phenological growth stage and intensity of stress. In view of this, this study aimed to evaluate the tolerance of soybean to the water deficit through the study of physiological-biochemical variables and agronomic characters. For this, three sources of variation were used: five growth stages (VG, R1, R3, R5.1 and R5.3), three genotypes (MG/BR 48, PI 416937 and M 7908 RR) and two levels of water replacement in soil (50% and 100% ETc). The following evaluations were performed: lipid peroxidation, free proline, activity of superoxide dismutase, activity of ascorbate peroxidase, activity of catalase, the total number of pods and total grain weight. The results found, we can conclude that genotypes responded differently to enzyme activity under different stressful conditions and decreased lipid peroxidation levels. PI 416937 showed a lowest decrease in yield (15%) in among the evaluated genotypes. The phenological growth stage for soybean evaluation is mainly in phenological R5. Proline is a mitigating indicator in soybean genotypes subjected to water deficit.

Keywords: Proline, oxidative stress, lipid peroxidation, *Glycine max* L.

1. INTRODUÇÃO

A soja, como uma das principais culturas, sendo a leguminosa mais produzida no mundo, vem sofrendo perdas devido a disponibilidade hídrica adequada, em estudo estima-se que a redução esta em 40% (Specht et al., 1999). A seca é o principal fator limitante para o rendimento das culturas (Azevedo e Lea, 2011; Tavarini et al., 2011, Azevedo, 2012; Abreu, 2017). Existem previsões de que o rendimento das culturas diminuirá de 30 a 82% até o final do século, em função do aquecimento global (Hatfield et al., 2011).

Na soja, para superar os impactos negativos do estresse hídrico, algumas estratégias têm sido desenvolvidas e adotadas, incluindo principalmente práticas agrícolas e o melhoramento genético de cultivares (Turner, 1986; Ye et al., 2018).

A tolerância ao déficit hídrico é um mecanismo que permite que as plantas mantenham seu metabolismo, após uma redução no potencial hídrico (Mitra, 2001). O nível das alterações depende da duração e da intensidade do estresse, do material genético utilizado e do estágio de desenvolvimento da planta (Farooq et al. 2009). Ou seja, a complexidade das respostas que as plantas têm à tolerância ou suscetibilidade a seca, depende principalmente do seu genótipo e do estágio fenológico de desenvolvimento em que esta se encontra (Recchia, 2011).

Ademais, nesse processo, ocorre uma série de modificações fisiológicas, bioquímicas e reguladoras de plantas (Song et al., 2010; Rogiers et al., 2011a; Del Pozo et al., 2012; Ye et al., 2019). Para as alterações químicas das plantas, podemos exemplificar o acúmulo de solutos compatíveis e a capacidade antioxidante, onde têm sido relatados como mecanismos que permitem que as plantas tolerem a redução do potencial hídrico do solo (Sairam et al., 2002; Moussa e Abdel-Aziz, 2008).

Solutos ou osmólitos compatíveis como prolina, glicina betaína, trealose, sacarose e glicose têm a propriedade de não interferir com a função e estrutura das macromoléculas, mesmo em altas concentrações (Hoekstra et al., 2001; Rogiers et al., 2011b). A acumulação do aminoácido prolina tem sido amplamente utilizada como um indicador fisiológico-bioquímico do estresse hídrico (Shao et al., 2006) para que um aumento na concentração possa ser correlacionado com maior tolerância à seca (Molinari et al., 2007; Vendruscolo et al., 2007). Diversas funções têm sido propostas

para esse acúmulo de prolina: ajuste osmótico, armazenamento de carbono e nitrogênio a ser usadas durante a recuperação após o período de estresse, estabilização de proteínas e membranas e eliminação de espécies reativas de oxigênio (ERO) (Kishor et al., 2005).

A redução do O₂ molecular dá origem a ERO, como o radical superóxido (O₂⁻), o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e o radical hidroxila (OH^{*}), enquanto o oxigênio singlete (¹O₂) é formado pela reação do O₂ com clorofila excitada (Gratão et al., 2005). O estresse hídrico aumenta a produção de ERO, o que causa um desequilíbrio nas células, interrompendo a cadeia de transporte de elétrons e desencadeando o estresse oxidativo devido à ação tóxica da ERO (Gratão et al., 2005). A peroxidação lipídica é comumente usada como um indicador de estresse oxidativo. É caracterizada pelo ataque de ERO aos ácidos graxos poliinsaturados das membranas celulares, que podem afetar seriamente a integridade e a funcionalidade das células e causar danos irreversíveis (Gratão et al., 2005).

Vários mecanismos são usados pelas plantas para eliminar ou desintoxicar a ERO (Marquez-Garcia et al., 2011; Azevedo et al., 2012; Gallego et al., 2012). A importância dos sistemas de defesa antioxidante enzimática e não enzimática foi demonstrada durante o estresse hídrico (Guo et al., 2006; Kellos et al., 2008). O sistema antioxidante não enzimático compreende composto como ascorbato, glutathione, alcaloides, fenóis, tocoferóis e carotenoides (Gratão et al., 2005). O conjunto de enzimas chaves inclui superóxido dismutase (SOD - EC 1.15.1.1), catalase (CAT – EC 1.11.1.6), ascorbato peroxidase (APX – EC 1.11.1.11) entre outras (Martins et al., 2011). A superóxido dismutase é a primeira linha de defesa, convertendo O₂⁻ para H₂O₂. No entanto, o H₂O₂ também é tóxico para as células e é desintoxicado por outras enzimas para formar H₂O e O₂ (Monteiro et al., 2011).

Diante disso, estas alterações podem auxiliar na seleção de genótipos mais adaptados para serem cultivados em ambientes com déficit hídrico, desde que a tolerância à seca pode estar relacionada a essas características que aumentam a estabilidade do rendimento, e sua capacidade de sobrevivência (Bartels et al., 2006; Blum, 2009; Passioura, 2010; Sinclair, 2011; Ye et al., 2018).

Portanto, o objetivo deste trabalho consistiu em avaliar a tolerância da soja ao déficit hídrico por meio do estudo de variáveis fisiológicas-bioquímicas e caracteres agronômicos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área experimental

O experimento foi conduzido em casa de vegetação climatizada no Departamento de Produção Vegetal, FCAV, UNESP, Câmpus de Jaboticabal – SP, entre os meses de novembro a fevereiro do ano agrícola 2017/18. O solo utilizado no experimento foi retirado de uma área sem histórico de cultivo, sendo peneirado para eliminar os torrões e posteriormente homogeneizado para o enchimento dos vasos. Foi retirada uma amostra simples de cada vaso para compor uma amostra composta que foi remetida ao laboratório. O solo foi caracterizado como Latossolo Vermelho Eutrófico, típico, textura muito argilosa, de acordo com Santos et al. (2018), com 18% de areia, 27% de silte e 55% de argila. O solo foi devidamente corrigido de forma a elevar a saturação por bases a 60% utilizando a relação 3:1 de Ca:Mg. O resultado das características químicas do solo foram: pH em $\text{CaCl}_2 = 6,4$; K (mmolc dm^{-3}) = 0,5; Ca^{2+} (mmolc dm^{-3}) = 12; Mg^{2+} (mmolc dm^{-3}) = 3; Al^{3+} (mmolc dm^{-3}) = 1; H+Al (mmolc dm^{-3}) = 16; SB (mmolc dm^{-3}) = 16; t (mmolc dm^{-3}) = 17; T (mmolc dm^{-3}) = 32; V (%) = 49; m (%) = 5,9; M.O. (mg dm^{-3}) = 8 e P-rem (mg dm^{-3}) = 3. As adubações de plantio e cobertura foram realizadas conforme recomendado por Malavolta (1980), e os teores dos nutrientes aplicados foram 200 mg dm^3 de fosforo; 150 mg dm^3 de potássio, 75 mg dm^3 de cálcio; 15 mg dm^3 de magnésio; 50 mg dm^3 de enxofre; 0,5 mg dm^3 de boro; 1,5 mg dm^3 de cobre; 1,5 mg dm^3 de ferro; 3 mg dm^3 de manganês; 0,1 mg dm^3 de molibdênio; 5 mg dm^3 de zinco.

Na adubação de plantio foi aplicado 40% da dose de potássio, 30% da dose de boro e zinco e 100% da dose de fósforo, cálcio, magnésio, enxofre, cobre, ferro, manganês e molibdênio. As doses restantes de potássio, boro e zinco foram aplicadas no estágio R3. Antes do semeio, foi realizada a inoculação de sementes com bactérias fixadoras de nitrogênio na soja.

2.2 Delineamento experimental

Foram estudadas três fontes de variação (FV), sendo: cinco estádios fenológicos (VG, R1, R3, R5.1 e R5.3), três genótipos (MG/BR 48, PI 416937 e M 7908 RR) e duas lâminas de água (50 % e 100 % da reposição da evapotranspiração diária). O delineamento experimental foi em blocos casualizados (DBC), com 5 blocos completos. A unidade experimental consistiu de um vaso de plástico com uma capacidade de 15 dm³ de solo, contendo uma planta por vaso. A reposição de água para cada vaso foi obtida a partir da quantidade de água evapotranspirada diariamente, para isso, foram instalados, drenos de coleta da água de percolação em 9 vasos (três vasos de cada cultivar), possibilitando a equação do balanço de água no solo apresentado na Equação 1. Este método foi utilizado devido a sua confiabilidade, pois o método estima diretamente a ETc.

$$ET = I - D \quad \text{(Equação 1)}$$

em que:

ET = evapotranspiração diária;

I = quantidade de água aplicada;

D = quantidade de água drenada.

2.3 Análises bioquímicas

2.3.1 Prolina (PRO)

Os teores de prolina livre foram determinados de acordo com o método descrito por Bates et al. (1973). A leitura da absorbância das amostras foi realizada em espectrofotômetro no comprimento de onda 520 nm. Para a curva de padronização, utilizou-se solução estoque de prolina na concentração de 1mM de prolina PA e diluições seriadas em água destilada. Os teores de prolina livre foram expressos em $\mu\text{mol g}^{-1}$ massa fresca.

2.3.2 Ácido malondialdeído (MDA)

A peroxidação de lipídios foi determinada pelo conteúdo do malondialdeído (MDA). Foi determinado pela estimativa do conteúdo de substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico (TBARS) seguindo a método de Heath e Packer (1968). As leituras foram realizadas em espectrofômetro a 535 e 600 nm. A concentração do equivalente de MDA foi calculada usando o coeficiente de extinção molar do MDA (ϵ 155 mM⁻¹ cm⁻¹) e os resultados foram expressos em $\mu\text{mol MDA g}^{-1}$ de massa fresca.

2.3.3 Peróxido de hidrogênio (H₂O₂)

O conteúdo de H₂O₂ foi determinado como descrito por Gay et al. (1999). As folhas foram homogeneizadas em metanol (5: 1, volume de tampão: massa fresca) e centrifugou-se a 10.000 rpm durante 5 min. A absorbância foi lida a 560 nm e o conteúdo de H₂O₂ foi determinado usando uma curva padrão.

2.3.4 Extração e análise das enzimas antioxidantes

Para a análise das enzimas antioxidantes, foi preparado um extrato enzimático bruto utilizado para determinação das enzimas SOD, CAT e APX. As amostras foram homogeneizadas (3:1 volume do tampão de extração para peso fresco do tecido), o tampão de extração era composto: Fosfato de potássio 100 mM, pH 7,5, EDTA (ácido etilenodiaminotetracético) a 1 mM, ditioneitol (DTT) a 3 mM e polivinilpolipirrolidona (PVPP) 4% (p/v). O homogeneizado foi centrifugado a 12000 g, durante 30 minutos a 4°C, o sobrenadante foi coletado para a análise em triplicatas da atividade específica das enzimas superóxido desmutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT) (Gomes Junior et al., 2007).

2.3.4.1 Determinação da concentração de proteínas

A concentração de proteínas foi determinada para os cálculos das atividades enzimáticas, onde a mesma foi realizada segundo Bradford (1976), utilizando-se curva padrão construída com albumina sérica bovina (BSA).

2.3.4.2 Superóxido dismutase (SOD EC 1.15.1.1)

A atividade da superóxido dismutase foi determinada pela adição de 50 µL do extrato enzimático bruto em 1,45 mL de um meio de reação constituído de tampão fosfato de sódio 50 mM, pH 7,8, contendo metionina 13 mM, azul de p-nitro tetrazólio (NBT) 63 µM, EDTA 0,1 mM e riboflavina 1,3 µM. A reação foi conduzida a 25°C em câmara de reação sob iluminação de uma lâmpada fluorescente de 15 W mantida no interior de uma caixa fechada. Após 5 minutos de exposição à luz, a iluminação foi interrompida e a formazana azul produzida pela fotorredução do NBT foi medida a 560 nm (Giannopolitis e Ries, 1977). A atividade da enzima foi expressa em Unidade SOD mg⁻¹ proteína.

2.3.4.3 Catalase (CAT EC 1.11.1.6)

A atividade da catalase foi determinada segundo Kraus et al. (1995) e modificado por Azevedo et al. (1998). A reação se iniciou pela adição de 25 µL do extrato enzimático bruto a 1 mL de um meio de reação constituído de tampão de fosfato de potássio 100 mM, pH 7,5 e 25 µL H₂O₂. A atividade enzimática foi calculada e o resultado expresso em µmol.min⁻¹.mg⁻¹ proteína.

2.3.4.4 Ascorbato peroxidase (APX EC 1.11.1.11)

A atividade APX foi determinada seguindo-se a decomposição de peróxido de hidrogênio por 1 minuto, por alterações na absorbância a 290 nm segundo Moldes et al. (2008), determinada pela adição de 50 µL do extrato enzimático bruto em 950 µL de um meio de reação. O tampão de incubação foi composto por fosfato de potássio 80 mM, pH 7,0, ácido ascórbico 5 mM, EDTA 1 mM e H₂O₂ 1 mM. Os resultados foram expressos em nmol.min⁻¹.mg⁻¹ proteína.

2.4 Caracteres agronômicos

Foram realizadas as seguintes avaliações agronômicas: Contagem do número total de vagens (NTV) e o peso total de grãos (PG), expresso em g.

2.5 Análises estatísticas

A análise dos dados foi realizada utilizando-se do conceito de medidas repetidas no tempo com um fator longitudinal e o procedimento MIXED do programa computacional estatístico SAS (Littell et al., 1996), considerando-se um modelo fixo e aleatório. Para a escolha da matriz de variância e covariância foi utilizado o Critério de Informação de Akaike ($-2l + 2d$, em que l denota o valor da máxima verossimilhança, em log, e d denota a dimensão do modelo), selecionando-se a que possuiu menor valor para este parâmetro (Akaike, 1974; Akaike, 1987 e SAS, 2013). Na análise dos caracteres agronômicos não foi utilizado o conceito de medidas no tempo.

Foram obtidas as médias ajustadas dos efeitos fixos através do comando LSMEANS (least square means) e as comparações de médias foram realizadas pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$), pelo SAS (2013).

3. RESULTADOS

Para a peroxidação lipídica mensurada através do malondialdeído (MDA), houve diferença significativa em todas as interações (Fig. 1). Considerando-se dentro de cada estágio fenológico (Fig. 1A), os genótipos apresentaram comportamentos diferentes nos estádios fenológicos, sendo que o genótipo MG/BR 48 apresentou o maior valor em VG, R5.1 e R5.3 (2,47; 2,90; 2,40 nmol g⁻¹ matéria fresca), o genótipo PI 416937 no estágio fenológico R3 (2,35 nmol g⁻¹ matéria fresca) e o genótipo M 7908 RR em R1, R3 e R5.3 (2,10; 2,30 e 2,36 nmol g⁻¹ matéria fresca). Considerando entre os estádios fenológicos, o genótipo MG/BR 48 apresentou maior média em R5.1 (2,90 nmol g⁻¹ matéria fresca), o genótipos PI 416937 em R3 (2,35 nmol g⁻¹ matéria fresca) e o genótipo M 7908 RR no estágio fenológico R5.1 (2,75 nmol g⁻¹ matéria fresca).

Para o estágio fenológicos e lâminas (Fig. 1B), dentro dos estádios fenológicos, houve diferença significativa, sendo as maiores médias para a peroxidação lipídica em 50% da reposição da evapotranspiração diária. Entre os estádios fenológicos para ambas as lâminas, as maiores médias para a peroxidação lipídica foi no estágio fenológico R5.1 (2,88; 2,18 nmol g⁻¹ matéria fresca).

Na interação entre genótipos e lâminas (Fig. 1C), dentro de cada lâmina, verificou-se que houve diferenças significativas em 50% e 100% da reposição da evapotranspiração diária entre os genótipos, sendo que o genótipo PI 416937 apresentou menor média em ambas as lâminas (2,15; 1,68nmol g⁻¹ matéria fresca). Quando comparados entre as lâminas, verificou-se que todos os genótipos tiveram um aumento da peroxidação lipídica em 50% da reposição da evapotranspiração diária.

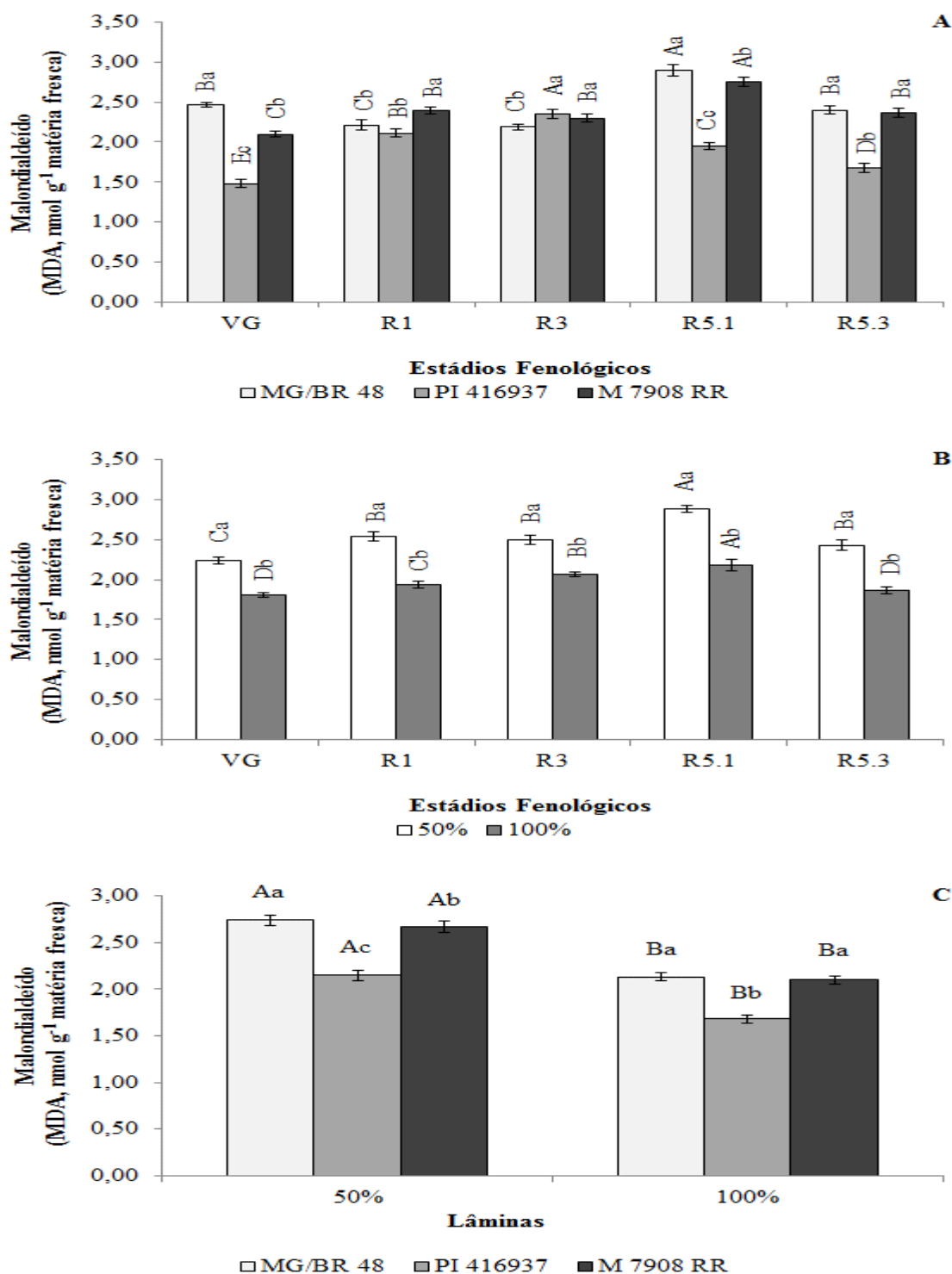


Figura 1. Malondialdeído (MDA, nmol g⁻¹ matéria fresca). **A.** Em três genótipos de soja (MG/BR48, PI 416937 e M 7908 RR) sob cinco estádios fenológicos (VG, R1, R3, R5.1 e R5.3). **B.** Em duas lâminas de reposição da evapotranspiração (50% e 100%) sob cinco estádios fenológicos (VG, R1, R3, R5.1 e R5.3). **C.** Interação de três genótipos de soja (MG/BR48, PI 416937 e M 7908 RR) e duas lâminas de reposição da evapotranspiração (50 e 100 %). Médias seguidas de mesma letra minúscula (dentro dos fatores) e maiúscula (entre os fatores) não diferem entre si pelo teste de Scott - Knott ($P < 0,05$). Valores são médias \pm DP ($n=5$).

Para o teor de prolina (PRO), houve diferença significativa em todas as interações (Fig. 2). Considerando-se dentro de cada estágio fenológico (Fig. 2A), os genótipos apresentaram comportamentos diferentes nos estádios fenológicos, sendo que o genótipo MG/BR 48 apresentou o maior valor quase todos os estádios fenológicos, exceto no estágio R5.3 onde destacou o genótipo PI 416937. Considerando entre os estádios fenológicos, o genótipo MG/BR 48 apresentou maior média em R5.1 (21,39 $\mu\text{mol g}^{-1}$ massa fresca), os genótipos PI 416937 e M 7908 RR apresentaram maiores médias em R5.3 (24,22; 21,10 $\mu\text{mol g}^{-1}$ massa fresca).

Para o estágio fenológicos e lâminas (Fig. 2B), dentro dos estádios fenológicos, houve diferença significativa somente em VG, sendo as maiores médias para o teor de prolina em 50% da reposição da evapotranspiração diária. Entre os estádios fenológicos para as lâminas de 50% e 100%, as maiores médias de teor de prolina foi em R5.3 (24,31; 19,10 $\mu\text{mol g}^{-1}$ massa fresca).

Para a interação entre genótipos e lâminas (Fig. 2C), considerando-se dentro de cada lâmina, verificou-se que houve diferenças significativas em 50% e 100% da reposição da evapotranspiração diária entre os genótipos, sendo que o genótipo M7908 RR apresentou menor média em ambas as lâminas (19,40; 16,54 $\mu\text{mol g}^{-1}$ massa fresca). Quando são comparados entre as lâminas, verificou-se que todos os genótipos tiveram um incremento do teor de prolina em 50% da reposição da evapotranspiração diária.

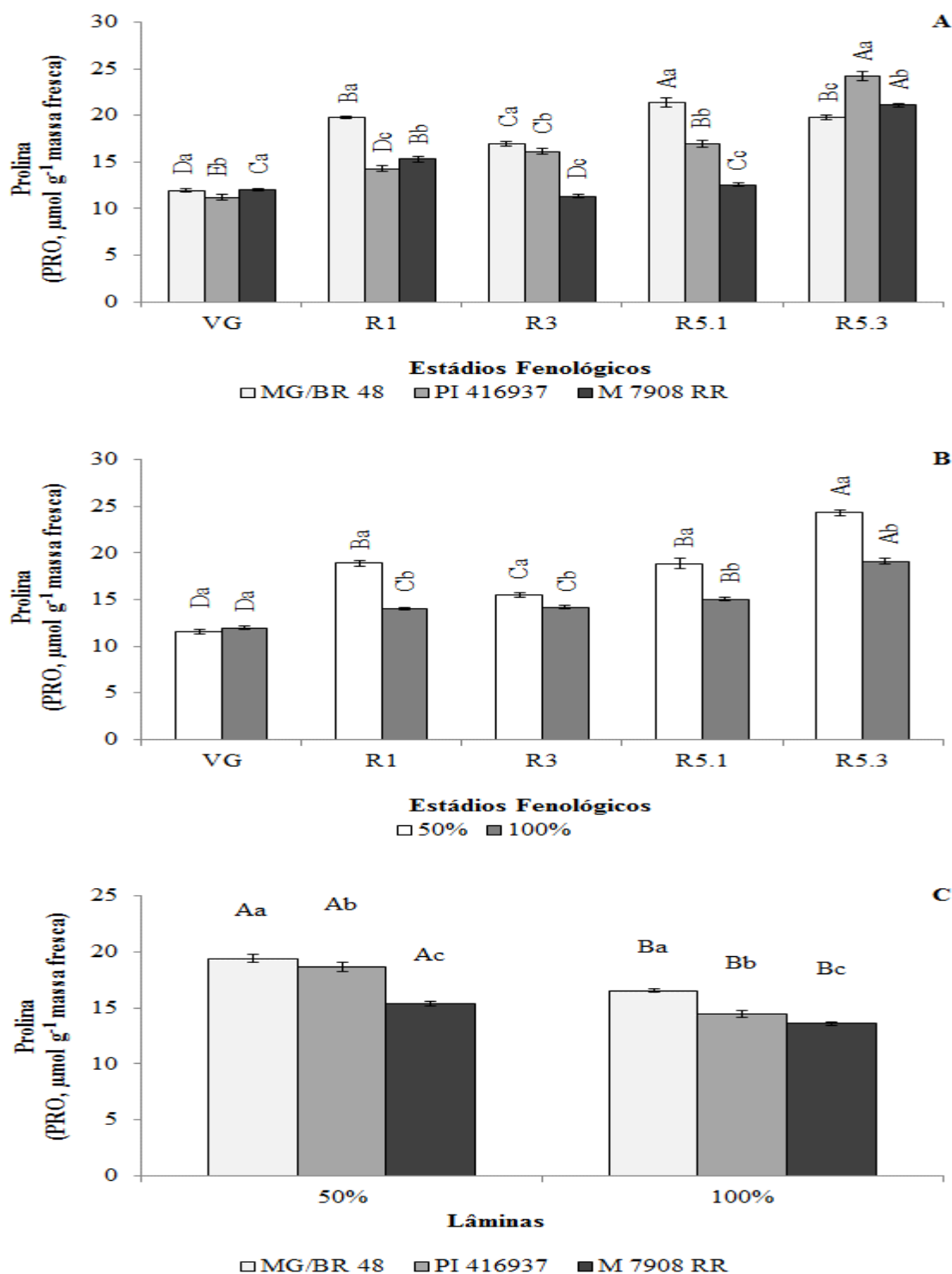


Figura 2. Prolina (PRO, $\mu\text{mol g}^{-1}$ massa fresca). **A.** Em três genótipos de soja (MG/BR48, PI 416937 e M 7908 RR) sob cinco estádios fenológicos (VG, R1, R3, R5.1 e R5.3). **B.** Em duas lâminas de reposição da evapotranspiração (50% e 100%) sob cinco estádios fenológicos (VG, R1, R3, R5.1 e R5.3). **C.** Interação de três genótipos de soja (MG/BR48, PI 416937 e M 7908 RR) e duas lâminas de reposição da evapotranspiração (50 e 100 %). Médias seguidas de mesma letra minúscula (dentro dos fatores) e maiúscula (entre os fatores) não diferem entre si pelo teste de Scott - Knott ($P < 0,05$). Valores são médias \pm DP ($n=5$).

Para o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), houve diferença significativa em todas as interações (Fig. 3). Considerando-se dentro de cada estágio fenológico (Fig. 3A), os genótipos apresentaram comportamentos diferentes nos estádios fenológicos, sendo que o genótipo MG/BR 48 apresentou o maior valor em VG, R1 e R5.3 (0,55; 0,53; 0,47 $nmol\ g^{-1}$ matéria fresca) e o genótipo M 7908 RR em R3 e R5.1 (0,54; 0,39 $nmol\ g^{-1}$ matéria fresca). Considerando entre os estádios fenológicos, o genótipo MG/BR 48 apresentou maior média em VG (0,55 $nmol\ g^{-1}$ matéria fresca), o genótipos PI 416937 em R5.3 (0,44 $nmol\ g^{-1}$ matéria fresca) e o genótipo M 7908 RR em R1 (0,51 $nmol\ g^{-1}$ matéria fresca).

Para o estágio fenológicos e lâminas (Fig. 3B), dentro dos estádios fenológicos, houve diferença significativa em todos os estádios fenológicos, sendo as maiores médias para o peróxido de hidrogênio em 50% da reposição da evapotranspiração diária. Entre os estádios fenológicos para a lâmina de 50%, as maiores médias para o peróxido de hidrogênio foram em VG e R1 (0,59; 0,59 $nmol\ g^{-1}$ matéria fresca) e para a lâmina de 100%, as maiores médias para o peróxido de hidrogênio foram em R5.3 (0,40 $nmol\ g^{-1}$ matéria fresca).

Para a interação entre genótipos e lâminas (Fig. 3C), considerando-se dentro de cada lâmina, verificou-se que houve diferenças significativas em 50% e 100% da reposição da evapotranspiração diária entre os genótipos, sendo que o genótipo PI 416937 apresentou menor média em ambas as lâminas (0,49; 0,32 $nmol\ g^{-1}$ matéria fresca). Quando são comparados entre as lâminas, verificou-se que todos os genótipos tiveram um incremento do teor de peróxido de hidrogênio em 50% da reposição da evapotranspiração diária.

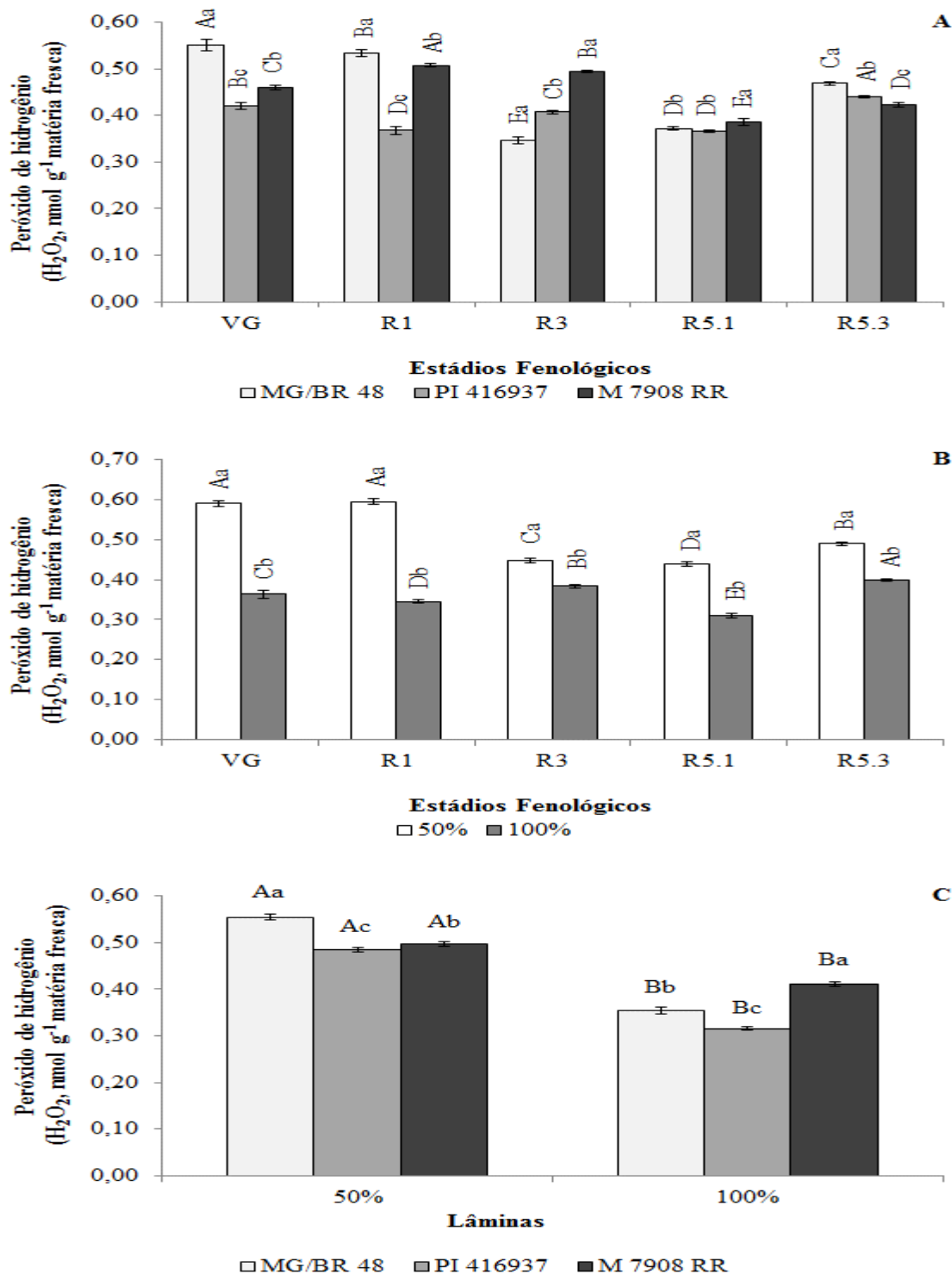


Figura 3. Peróxido de hidrogênio (H₂O₂, nmol g⁻¹ matéria fresca). **A.** Em três genótipos de soja (MG/BR48, PI 416937 e M 7908 RR) sob cinco estádios fenológicos (VG, R1, R3, R5.1 e R5.3). **B.** Em duas lâminas de reposição da evapotranspiração (50% e 100%) sob cinco estádios fenológicos (VG, R1, R3, R5.1 e R5.3). **C.** Interação de três genótipos de soja (MG/BR48, PI 416937 e M 7908 RR) e duas lâminas de reposição da evapotranspiração (50 e 100 %). Médias seguidas de mesma letra minúscula (dentro dos fatores) e maiúscula (entre os fatores) não diferem entre si pelo teste de Scott - Knott (P<0,05). Valores são médias ± DP (n=5).

Para a atividade da superóxido dismutase (SOD), houve diferença significativa em todas as interações (Fig. 4). Considerando-se dentro de cada estágio fenológico (Fig. 4A), os genótipos apresentaram comportamentos diferentes nos estádios fenológicos, sendo que o genótipo PI 416937 apresentou a maior atividade em quase todos os estádios fenológicos, exceto em R5.3. Considerando entre os estádios fenológicos, os genótipos MG/BR 48 e PI 416937 apresentaram maior atividade em R3 (13,66; 16,74 mg⁻¹ proteína) e o genótipo M 7908 RR em R1, R3 e R5.3 (14,24; 14,57; 14,48 mg⁻¹ proteína).

Para o estágio fenológicos e lâminas (Fig. 4B), dentro dos estádios fenológicos, houve diferença significativa em quase todos os estádios fenológicos, exceto no R1, sendo as maiores médias para atividade da superóxido dismutase em 50% da reposição da evapotranspiração diária. Entre os estádios fenológicos para a lâmina de para a lâmina de 50%, a maior atividade da superóxido dismutase foi em R3 (17,67 mg⁻¹ proteína) e para a lâmina de 100%, a maior atividade foi em R1 (13,53 mg⁻¹ proteína).

Para a interação entre genótipos e lâminas (Fig. 4C), considerando-se dentro de cada lâmina, verificou-se que houve diferenças significativas em 50% e 100% da reposição da evapotranspiração diária entre os genótipos, sendo que o genótipo PI 416937 apresentou maior atividade da superóxido dismutase em ambas as lâminas (15,88; 11,74 mg⁻¹ proteína). Quando são comparados os genótipos entre as lâminas, verificou-se que os três genótipos tiveram a maior atividade da superóxido dismutase em 50% da reposição da evapotranspiração diária.

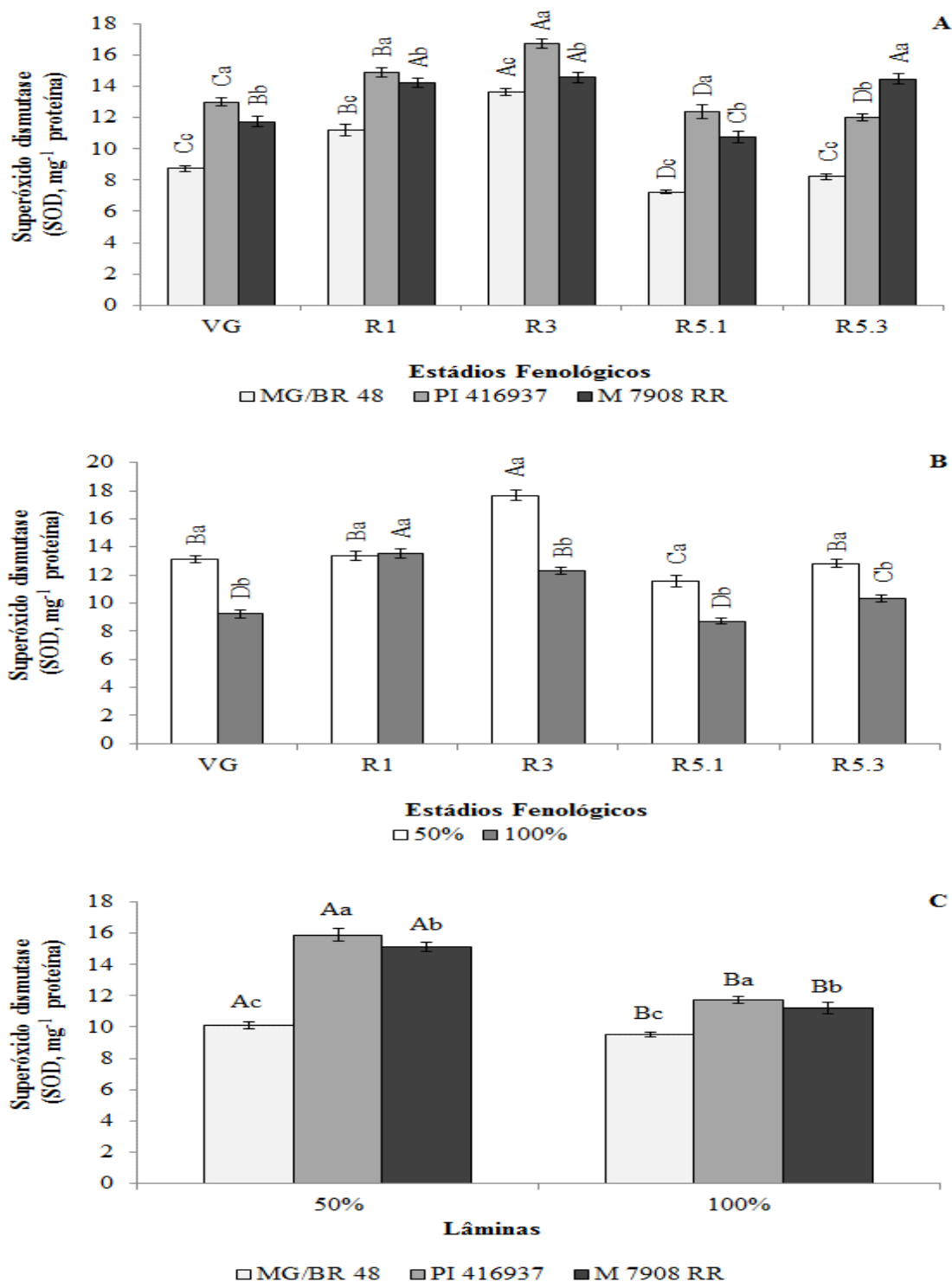


Figura 4. Superóxido dismutase (SOD, mg⁻¹ proteína). **A.** Em três genótipos de soja (MG/BR48, PI 416937 e M 7908 RR) sob cinco estádios fenológicos (VG, R1, R3, R5.1 e R5.3). **B.** Em duas lâminas de reposição da evapotranspiração (50% e 100%) sob cinco estádios fenológicos (VG, R1, R3, R5.1 e R5.3). **C.** Interação de três genótipos de soja (MG/BR48, PI 416937 e M 7908 RR) e duas lâminas de reposição da evapotranspiração (50 e 100 %). Médias seguidas de mesma letra minúscula (dentro dos fatores) e maiúscula (entre os fatores) não diferem entre si pelo teste de Scott - Knott ($P < 0,05$). Valores são médias \pm DP ($n=5$).

Para a atividade da catalase (CAT), houve diferença significativa em todas as interações (Fig. 5). Considerando-se dentro de cada estágio fenológico (Fig. 5A), os genótipos apresentaram comportamentos diferentes nos estádios fenológicos, sendo que o genótipo MG/BR 48 apresentou o maior valor em R1 e R3 (116,62; 145,87 $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína), o genótipo PI 416937 apresentou o maior valor em VG e R5.1 (94,68; 100,34 $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína) e o genótipo M 7908 RR no em R5.3 (101,87 $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína). Considerando entre os estádios fenológicos, o genótipo MG/BR 48 apresentou maior média em R3 (145,87 $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína), o genótipo PI 416937 em VG, R1 e R5.1 (94,68; 95,72; 100,34 $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína) e o genótipo M 7908 RR no estágio fenológico R3 (117,17 $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína).

Para o estágio fenológicos e lâminas (Fig. 5B), entre as lâminas dentro dos estádios fenológicos, houve diferença significativa em quase todos os estádios fenológicos, exceto no R5.3, sendo as maiores médias para atividade da catalase em 50% da reposição da evapotranspiração diária. Entre os estádios fenológicos para a lâmina de 50%, as maiores médias para a atividade da catalase foram em VG e R3 (119,31; 120,10 $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína) e para a lâmina de 100%, a maior atividade foi em R3 (109,20 $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína).

Para a interação entre genótipos e lâminas (Fig. 5C), considerando-se dentro de cada lâmina, verificou-se que houve diferenças significativas somente em 100% da reposição da evapotranspiração diária entre os genótipos, sendo que o genótipo PI 416937 apresentou menor média (71,37 $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína). Quando são comparados os genótipos entre as lâminas, verificou-se que todos os genótipos tiveram um incremento da atividade da catalase em 50% da reposição da evapotranspiração diária.

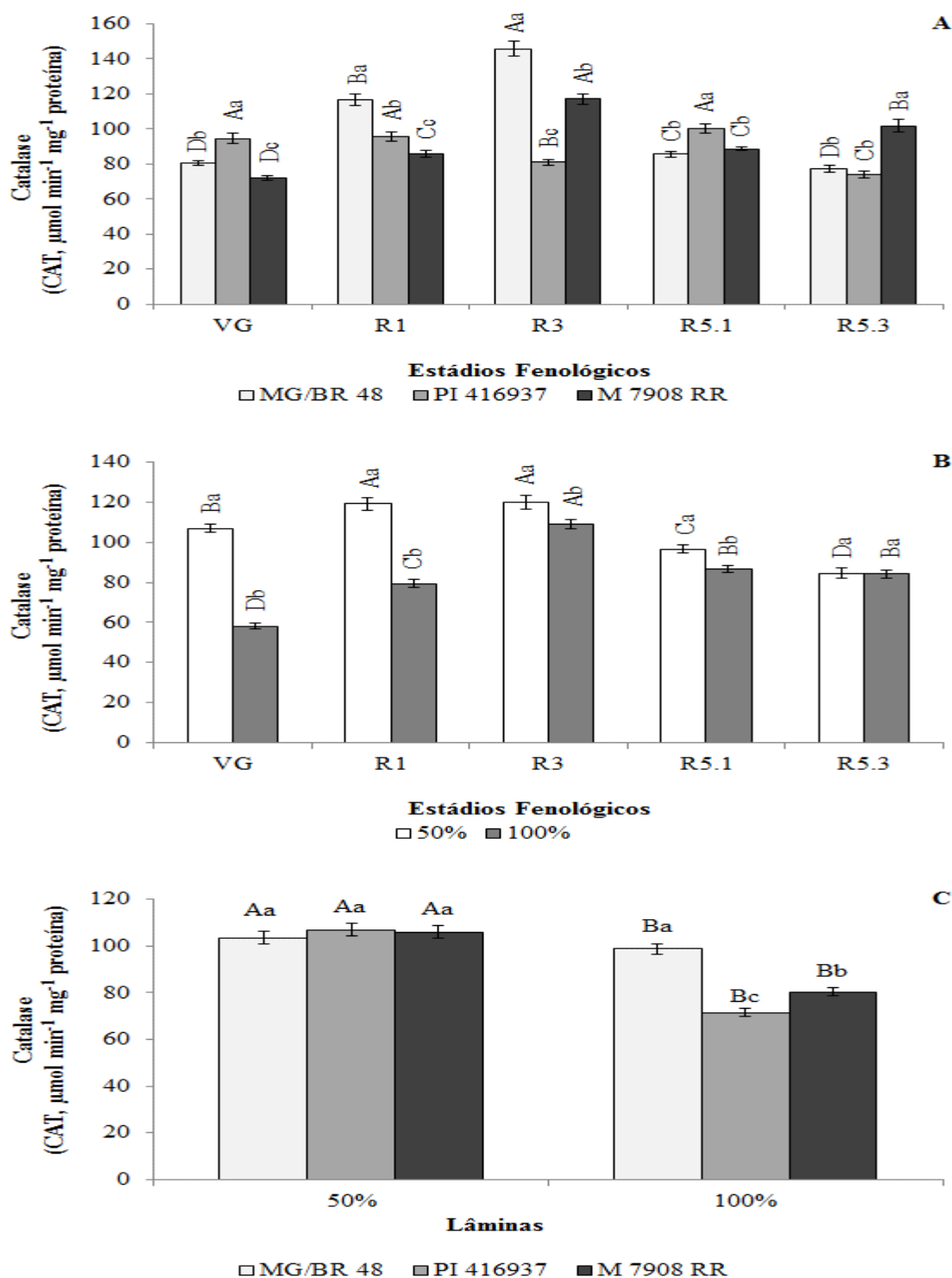


Figura 5. Catalase (CAT, $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{proteína}$). **A.** Em três genótipos de soja (MG/BR48, PI 416937 e M 7908 RR) sob cinco estádios fenológicos (VG, R1, R3, R5.1 e R5.3). **B.** Em duas lâminas de reposição da evapotranspiração (50% e 100%) sob cinco estádios fenológicos (VG, R1, R3, R5.1 e R5.3). **C.** Interação de três genótipos de soja (MG/BR48, PI 416937 e M 7908 RR) e duas lâminas de reposição da evapotranspiração (50 e 100 %). Médias seguidas de mesma letra minúscula (dentro dos fatores) e maiúscula (entre os fatores) não diferem entre si pelo teste de Scott - Knott ($P < 0,05$). Valores são médias \pm DP ($n=5$).

Para a atividade da ascorbato peroxidase (APX), houve diferença significativa em todas as interações (Fig. 6). Considerando-se dentro de cada estágio fenológico (Fig. 6A), os genótipos apresentaram comportamentos diferentes nos estádios fenológicos, sendo que o genótipo MG/BR 48 apresentou a maior atividade em R3 (142,81 $\text{nmol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína), o genótipo PI 416937 apresentou os maiores valores em VG e R3 (258,89; 147,40 $\text{nmol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína) e o genótipo M 7908 RR em R1, R5.1 e R5.3 (179,22; 144,38; 230,06 $\text{nmol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína). Considerando entre os estádios fenológicos, o genótipo MG/BR 48 apresentou maior atividade em R3 (142,81 $\text{nmol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína), o genótipo PI 416937 em VG (258,90 $\text{nmol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína) e o genótipo M 7908 RR em R5.3 (230,06 $\text{nmol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína).

Para o estágio fenológicos e lâminas (Fig. 6B), dentro dos estádios fenológicos, houve diferença significativa em quase todos os estádios fenológicos, exceto no R1, sendo as maiores médias para atividade da ascorbato peroxidase em 50% da reposição da evapotranspiração diária. Entre os estádios fenológicos para a lâmina de 50%, as maiores atividades da ascorbato peroxidase foram em VG e R5.3 (201,11; 204,33 $\text{nmol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína) e para a lâmina de 100%, as maiores atividades da enzima foram em VG e R1 (156,27; 1569,97 $\text{nmol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína).

Para a interação entre genótipos e lâminas (Fig. 6C), considerando-se dentro de cada lâmina, verificou-se que houve diferenças significativas em 50% e 100% da reposição da evapotranspiração diária entre os genótipos, sendo que o genótipo M 7908 RR apresentou maior atividade da ascorbato peroxidase em 50% (200,42 $\text{nmol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína) e o genótipo PI 416937 apresentou maior atividade em 100% (155,73 $\text{nmol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína). Quando são comparados entre as lâminas, verificou-se que os genótipos PI 416937 e M 7908 RR tiveram a maior atividade da ascorbato peroxidase em 50% da reposição da evapotranspiração diária, já o genótipo MG/BR 48 apresentou maior atividade da enzima em 100% da reposição da evapotranspiração diária.

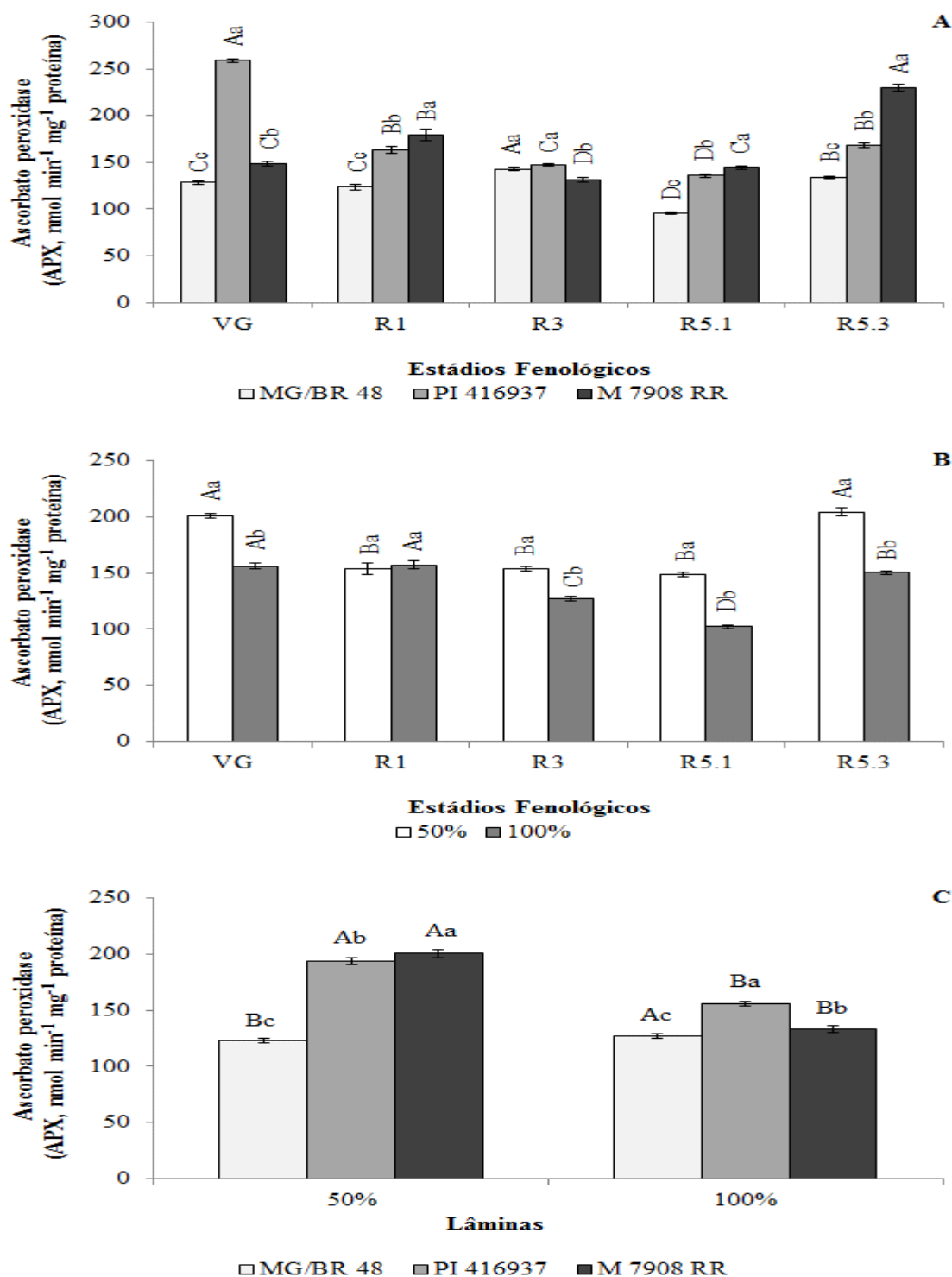


Figura 6. Ascorbato peroxidase (APX, $\text{nmol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína). **A.** Em três genótipos de soja (MG/BR48, PI 416937 e M 7908 RR) sob cinco estádios fenológicos (VG, R1, R3, R5.1 e R5.3). **B.** Em duas lâminas de reposição da evapotranspiração (50% e 100%) sob cinco estádios fenológicos (VG, R1, R3, R5.1 e R5.3). **C.** Interação de três genótipos de soja (MG/BR48, PI 416937 e M 7908 RR) e duas lâminas de reposição da evapotranspiração (50 e 100 %). Médias seguidas de mesma letra minúscula (dentro dos fatores) e maiúscula (entre os fatores) não diferem entre si pelo teste de Scott - Knott ($P < 0,05$). Valores são médias \pm DP ($n=5$).

Para número de vagens totais, houve diferença significativa na interação genótipos lâmina (Fig. 8). Considerando-se dentro de cada lâmina, verificou-se que houve diferenças significativas em 50 % e 100 % da reposição da evapotranspiração diária entre os genótipos, sendo que o genótipo MG/BR 48 apresentou maior média em ambas as lâminas (110; 194 vagens totais). Considerando o genótipo entre as lâminas, verificou-se que os genótipos MG/BR 48 e M 7908 RR apresentam maiores médias em 100% da reposição da evapotranspiração diária (194; 162 vagens totais), o genótipo PI 416937 não apresentou diferença significativa.

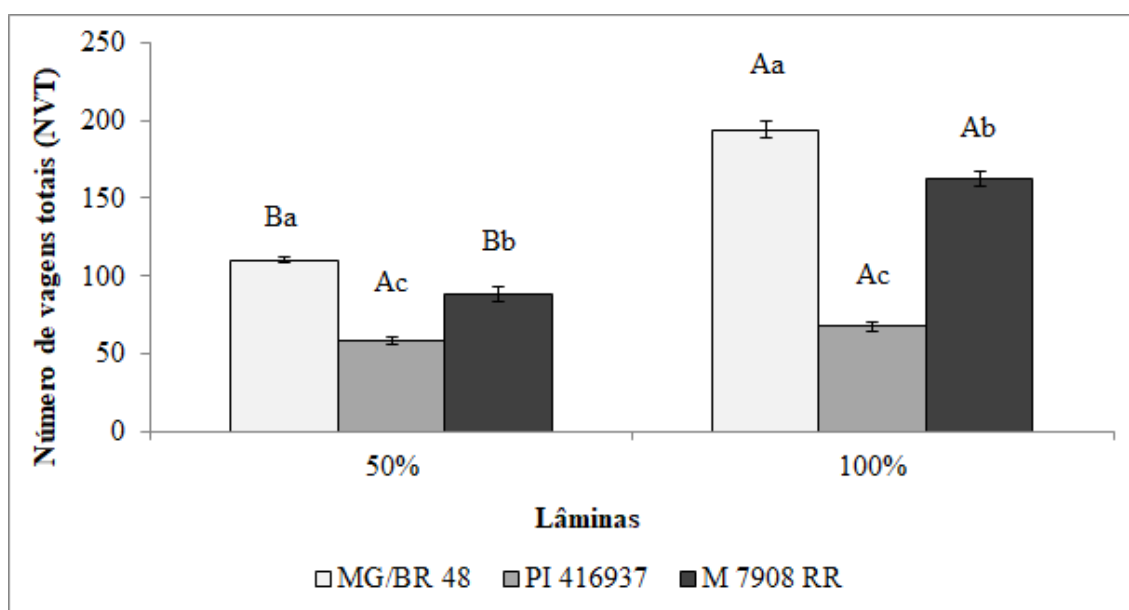


Figura 8. Número de vagens totais (NVT) em três genótipos de soja (MG/BR48, PI 416937 e M 7908 RR) e duas lâminas de reposição da evapotranspiração (50% e 100%), segundo genótipo e lâmina. Médias seguidas de mesma letra minúscula (dentro dos fatores) e maiúscula (entre os fatores) não diferem entre si pelo teste de Scott - Knott ($P < 0,05$). Valores são médias \pm DP ($n=5$).

Para peso de grãos por planta, houve diferença significativa na interação genótipos e lâmina (Fig. 9). Considerando-se dentro de cada lâmina, verificou-se que houve diferenças significativas em 50% e 100% da reposição da evapotranspiração diária entre os genótipos, sendo que o genótipo PI 416937 apresentou menor média em ambas as lâminas (22; 26 g). Considerando o genótipo entre as lâminas, verificou-se que os genótipos MG/BR 48, PI 416937 e M 7908 RR apresentam maiores médias em 100% da reposição da evapotranspiração diária (66; 26; 60 g).

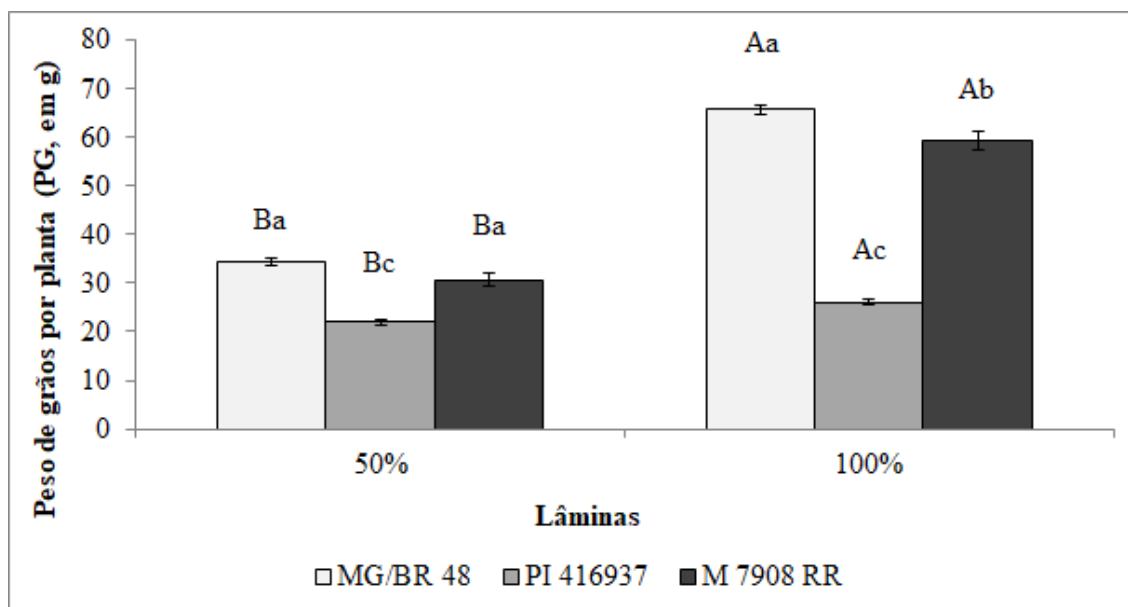


Figura 9. Peso de grãos por planta (PG, em gramas) em três genótipos de soja (MG/BR48, PI 416937 e M 7908 RR) e duas lâminas de reposição da evapotranspiração (50% e 100%), segundo genótipo e lâmina. Médias seguidas de mesma letra minúscula (dentro dos fatores) e maiúscula (entre os fatores) não diferem entre si pelo teste de Scott - Knott ($P < 0,05$). Valores são médias \pm DP ($n=5$).

4. DISCUSSÃO

O estresse oxidativo causado pelo déficit hídrico pode ocasionar a indução de proteínas de estresse, compostos antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, além do acúmulo de solutos compatíveis (Farooq et al., 2009). Porém, estes processos estão fortemente relacionados à intensidade e ao tempo do estresse, a espécie, ao ambiente e ao genótipo analisado (Chaves et al., 2003; Ghelfi et al., 2011).

Em caso de estresse severo, pode ocorrer um aumento na produção de ERO, o que irá desencadear uma sequência de eventos, iniciada pela peroxidação dos lipídeos, avançando para a degradação das membranas e a morte celular (Jaleel et al., 2009). Podemos observar que plantas que não apresentam uma característica de tolerância ao estresse hídrico apresentam uma maior peroxidação de lipídeos, os níveis de MDA do genótipo PI 416937 se mantiveram mais baixos, quando estão na condição de estresse. Outro ponto a ser observado é que no estágio fenológico R5, o mesmo genótipo apresentou um menor nível de MDA. Tal fato torna um indicativo que o genótipo PI 416937 possui uma maior capacidade de desintoxicação, evitando dessa maneira a peroxidação de lipídeos mensurada através do MDA (Fig. 1).

Um das maneiras de evitar os danos causados pela peroxidação lipídica e que as plantas desenvolveram estratégias para a proteção dos danos oxidativos, como o sistema enzimático, composto por superóxido dismutase, catalisando a reação do radical superóxido a H_2O_2 ; catalase que produz água e oxigênio a partir da água; e enzimas do ciclo ascorbato-glutationa, como a ascorbato peroxidase e as peroxidases (Ben Ahmed et al., 2009; Jaleel et al., 2009). Outra maneira seria o acúmulo de prolina, o qual também está relacionada a uma melhoria do estado da água celular e eliminação de ERO em algumas culturas (Molinari et al., 2007; Wahid e Close, 2007).

O acúmulo de prolina é diferente em cada genótipo, para cada nível de estresse assim como depende do estágio fenológico que a soja se encontra. No estágio R5, onde a cultura precisa de uma mais energia devido à necessidade do enchimento de grão observa-se um maior acúmulo de prolina, resultado semelhante acontece quando as plantas estão sobre o déficit hídrico onde os genótipos tolerantes apresentam um maior acúmulo de prolina (Fig. 2).

Resultado semelhante foi encontrado Devi e Giridhar (2015), que também observaram o aumento progressivo no nível de prolina em cultivares de soja observada após 5 dias em condições de seca. Tal resultado também foi observado na cana-de-açúcar (Queiroz et al., 2011; Cia et al., 2012) e no milho (Anjum et al., 2016), quando foi constatado que o aumento do teor de prolina manteve a turgidez do tecido durante uma condição de estresse hídrico progressivo. Burle e Rodrigues (1990), apesar de não detectarem aumento de prolina em seus experimentos de soja (cultivar Doko) sob déficit hídrico, relataram o acúmulo de prolina na soja em resposta ao déficit hídrico em trabalhos, concluindo que esse é um mecanismo específico de cada cultivar.

A capacidade protetora da prolina está relacionada ao seu acúmulo no vacúolo celular, promovendo uma regulação osmótica, o que aumenta a capacidade da planta de extrair água do solo, de proteger a integridade celular, ou ainda, participar da constituição de estoque de N e C que poderiam ser usados no período após o estresse hídrico (Machado, 2004).

A atividade da superóxido dismutase é a primeira linha de defesa contra as ERO causada por estresses ambientais como secas com aumentos transitórios na

atividade da SOD, consistentemente associadas a aumento tolerância ao estresse (Gratão et al., 2005; Zhang et al., 2007; Gill, 2010; Foyer e Noctor, 2011), fato presente neste trabalho, onde observa que plantas na condição de estresse apresentaram uma maior atividade dessa enzima, essa atividade está diretamente ligada ao H_2O_2 , onde observamos que menores níveis de H_2O_2 está relacionado as maiores atividades da SOD (Fig. 3 e Fig. 4).

No entanto, vários autores relataram atividade inalterada (Luna et al., 1985; Moran et al., 1994), aumento (Luna et al., 1985; Tezara e Lawlor, 1995; Wang e Huang, 2004; Demidchik, 2015; Darmanti et al., 2016; Khakdan et al. (2016) e diminuição (Quartacci e Navari-Izzo, 1992; Wang e Huang, 2004) na atividade SOD.

O H_2O_2 produzido em resposta à atividade de SOD e outros processos metabólicos, subsequentemente pode ser reduzido a H_2O pela ação de duas enzimas CAT e APX. Os resultados encontrados indicam que a atividade de CAT foi apresentou uma atividade diferente dentro os estádios fenológicos e que os três genótipos quando submetidos ao déficit hídrico apresentou um incremento na atividade da CAT (Fig. 9 e Fig. 10). Ainda podemos observar onde temos a atividade de CAT mais intensa, há uma contribuição da diminuição do teor de H_2O_2 , como observado no genótipo MG/BR 48 no estágio R3 (Fig. 3 e Fig. 5).

Devido a isso, a CAT torna-se eficiente na remoção e controle dos altos níveis de H_2O_2 , mas são menos adequados para um ajuste em baixa concentração de H_2O_2 , que pode ser importante para a homeostase celular. A CAT não depende de nenhum redutor adicional para a eliminação de H_2O_2 , representando uma grande vantagem dessa enzima (Feierabend, 2005).

Esse ajuste em baixa concentração de H_2O_2 pode ser feito pela ascorbato peroxidase (APX), que utiliza o ascorbato como equivalente redutor. Zhang e Kirkham (1996) encontraram redução na atividade de APX em plantas de sorgo cultivadas sob estresse hídrico, relatando a participação direta do ascorbato na remoção de peróxido de hidrogênio. Tal fato pode ser observado no genótipo MG/BR 48, onde sob condição estressante, o mesmo apresentou uma redução da atividade da APX (Fig. 6).

De maneira geral, observamos que o aumento das atividades das enzimas estudadas neste trabalho proporcionou uma diminuição dos níveis de MDA. Isso é um indicativo que a capacidade de certas plantas em apresentar um sistema de defesa

ao estresse oxidativo mais eficiente, permite que as plantas se estabilizem em um estado mais saudável durante todo seu ciclo.

Uma outra maneira de relacionar a eficiência do sistema antioxidante é através da avaliação de caracteres relacionados à produção. Uma planta que apresenta um certo grau de tolerância ao déficit hídrico, evitando os danos causados, devido ao aumento de atividades das enzimas que reparam esses danos em condições estressantes, fazem que os caracteres de produção não tenham um decréscimo elevado quando comparado a uma planta que não possui esse sistema de defesa eficiente.

O resultado para número total de vagens encontrado nesse trabalho foi semelhante ao encontrado por Fioreze et al. (2011), onde comparando em casa de vegetação três cultivares de soja submetidos a diferentes períodos de déficit hídrico no início do período reprodutivo da cultura, observaram a diminuição da média do número de vagens totais produzidas por planta, em duas cultivares estudadas.

O genótipo PI 416937 nessa condição hídrica apresentou uma redução em ambas características de produção de aproximadamente 15% sendo que os genótipos MG/BR 48 e M 7908 RR apresentaram uma redução de aproximadamente 50%, indicando a capacidade do genótipo PI 416937 possuir uma maior tolerância do que os outros dois genótipos avaliados.

Tal informação pode ser embasada em razão que dentre os componentes de produção da soja, este é o parâmetro mais importante para a produtividade da cultura, porém o mais sensível à restrição hídrica e, portanto, uma oferta adequada de água é necessária para a produção de vagens, em cultivares de alta produtividade (Comlekcioglu e Simsek, 2011).

Sendo assim podemos relatar que para a diminuição dos danos causados pelo déficit hídrico, podemos relacionar que o sistema antioxidante enzimático foi fundamental para aumentar a tolerância das plantas ao estresse. Dentre os genótipos estudados podemos observar o que PI 416937 apresenta uma maior capacidade de evitar ou eliminar os danos ocasionados pelo estresse imposto, sua produtividade tende a ter um menor decréscimo, sendo o indicativo que o sistema de defesa é mais eficiente, possibilitando um melhor desenvolvimento e produção.

5. CONCLUSÕES

Os genótipos respondem diferentemente à atividade enzimática sob diferentes condições estressantes e reduzem os níveis de peroxidação lipídica.

O genótipo PI 416937 apresenta uma menor redução na sua produção entre os genótipos avaliados.

O melhor estágio fenológico para avaliação em soja é principalmente em fenológico R5.

A prolina é um atenuante indicador de estresse hídrico em soja.

REFERÊNCIAS

Abreu VM, Von Pinho EVDR, Santos HO, Carvalho MR, Naves GMDF, Von Pinho RG (2017) Indirect selection for drought tolerance in maize through agronomic and seeds traits. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo** 16(2):287-296.

Akaike H (1987) **Factor analysis and AIC. In Selected Papers of Hirotugu Akaike** Springer, 371-386.

Akaike H. (1974). **A new look at the statistical model identification. In Selected Papers of Hirotugu Akaike.** Springer, 215-222.

Anjum S A, Tanveer M, Ashraf U, Hussain S, Shahzad B, Khan I, Wang L (2016) Effect of progressive drought stress on growth, leaf gas exchange, and antioxidant production in two maize cultivars. **Environmental Science and Pollution Research** 23(17):17132-17141.

Azevedo RA, Alas RM, Smith RJ, Lea, PJ (1998) Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and a catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum** 104(2):280-292.

Azevedo RA, Gratao PL, Monteiro CC, Carvalho RF (2012) What is new in the research on cadmium-induced stress in plants?. **Food and Energy Security** 1(2):133-140.

Azevedo RA, Lea PJ (2011) Research on abiotic and biotic stress—what next?. **Annals of Applied Biology** 159(3):317-319.

Bartels D, Ditzer A, Furini A (2006) What can we learn from resurrection plants. **Drought adaptation in cereals** 599-622.

Bates LS, Waldren RP, Teare ID (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and soil** 39(1):205-207.

Ben Ahmed C, Rouina BB, Sensoy S, Boukhris M, Abdallah, FB (2009) Changes in gas exchange, proline accumulation and antioxidative enzyme activities in three olive cultivars under contrasting water availability regimes. **Environmental and Experimental Botany** 67(2):345-352.

Blum A (2009) Effective use of water (EUW) and not water-use efficiency (WUE) is the target of crop yield improvement under drought stress. **Field crops research** 112(2-3):119-123.

Bradford, MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry** 72(1-2):248-254.

Burle ML, Rodrigues GC (1990) Relações hídricas internas da soja sob déficit hídrico em condições de campo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 25(6):905-913.

Carneiro FM (2018) **Sensores de dossel no monitoramento da variabilidade temporal das culturas da soja e do amendoim**. 107 f. Tese (Doutorado em Agronomia – Produção Vegetal) – Unesp, Jaboticabal.

Chaves MM, Maroco JP, Pereira JS (2003) Understanding plant responses to drought—from genes to the whole plant. **Functional plant biology** 30(3):239-264.

Cia MC, Guimarães ACR, Medici LO, Chabregas SM, Azevedo RA (2012) Antioxidant responses to water deficit by drought-tolerant and-sensitive sugarcane varieties. **Annals of Applied Biology** 161(3):313-324.

Comlekcioglu N, Simsek M (2011) Effects of deficit irrigation on yield and yield components of vegetable soybean [*Glycine max* L.(Merr.)] in semi-arid conditions. **African Journal of Biotechnology** 10(33):6227-6234.

Darmanti S, Santosa KD, Dewi K, Nugroho LH (2016) Antioxidative defenses of soybean [*Glycine max* (L.) Merr. cv. Grobogan] against purple nutsedge (*Cyperus rotundus* L.) interference during drought stress. **J. Anim. Plant Sci** 26(1):225-232.

Del Pozo A, Castillo D, Inostroza L, Matus I, Méndez AM, Morcuende, R (2012) Physiological and yield responses of recombinant chromosome substitution lines of barley to terminal drought in a Mediterranean-type environment. **Annals of Applied Biology** 160(2):157-167.

Demidchik V (2015) Mechanisms of oxidative stress in plants: from classical chemistry to cell biology. **Environmental and experimental botany** 109:212-228.

Devi MA, Giridhar P (2015) Variations in physiological response, lipid peroxidation, antioxidant enzyme activities, proline and isoflavones content in soybean varieties

subjected to drought stress. **Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences** 85(1):35-44.

Fahad S, Bajwa AA, Nazir U, Anjum SA, Farooq A, Zohaib A, Ihsan MZ (2017) Crop production under drought and heat stress: plant responses and management options. **Frontiers in Plant Science** 8:1147.

Farooq M, Wahid A, Kobayashi N, Fujita D, Basra SMA (2009) **Plant drought stress: effects, mechanisms and management** In Sustainable agriculture Springer, Dordrecht, 153-188.

Feierabend J (2005) Catalases in plants: molecular and functional properties and role in stress defense. In: SMIRNOFF, N. (Ed.) **Antioxidants and reactive oxygen species in plants**. Oxford: Blackwell, p.101-140.

Fioreze SL, Pivetta LG, Fano A, Machado FR, Guimarães VF (2011) Performance of soybean genotypes under high intensity drought stress in greenhouse conditions. **Revista Ceres** 58(3):342-349.

Foyer CH, Noctor G (2011) Ascorbate and glutathione: the heart of the redox hub. **Plant Physiology** 155:2–18.

Gallego SM, Pena LB, Barcia RA, Azpilicueta CE, Iannone MF, Rosales EP, Zawoznik MS, Groppa MD, Benavides MP (2012) Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: insight into regulatory mechanisms. **Environmental and Experimental Botany** 83:33–46.

Gay C, Collins J, Gebicki JM (1999) Hydroperoxide assay with the ferric–xylenol orange complex. **Analytical biochemistry** 273(2):149-155.

Ghelfi A, Gaziola SA, Cia MC, Chabregas SM, Falco MC, Kuser-Falcão PR, Azevedo RA (2011) Cloning, expression, molecular modelling and docking analysis of glutathione transferase from *Saccharum officinarum*. **Annals of Applied Biology** 159(2):267-280.

Giannopolitis CN, Ries SK (1977) Superoxide dismutases: II. Purification and quantitative relationship with water-soluble protein in seedlings. **Plant physiology** 59(2):315-318.

Gill SS, Tuteja N (2010) Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant physiology and biochemistry** 48(12):909-930.

Gomes-Junior RA, Gratão PL, Gaziola SA, Mazzafera P, Lea PJ, Azevedo RA (2007) Selenium-induced oxidative stress in coffee cell suspension cultures. **Functional Plant Biology** 34(5):449-456.

Gratão PL, Polle A, Lea PJ, Azevedo RA (2005) Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. **Functional Plant Biology** 32:481–494.

Guo Z, Ou W, Lu S, Zhong Q (2006) Differential responses of antioxidative system to chilling and drought in four rice cultivars differing in sensitivity. **Plant Physiology and Biochemistry** 44:828–836.

Hatfield JL, Boote KJ, Kimball BA, Ziska LH, Izaurralde RC, Ort D, Wolfe D (2011) Climate impacts on agriculture: implications for crop production. **Agronomy journal** 103(2):351-370.

Heath RL, Packer L (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of biochemistry and biophysics** 125(1):189-198.

Hoekstra FA, Golovina EA, Buitink J (2001) Mechanisms of plant desiccation tolerance. **Trends in Plant Science** 6:431–438.

Jaleel CA, Riadh K, Gopi R, Manivannan P, Ines J, Al-Juburi HJ, Panneerselvam R (2009). Antioxidant defense responses: physiological plasticity in higher plants under abiotic constraints. **Acta Physiologiae Plantarum** 31(3):427-436.

Karthikeyan B, Jaleel CA, Gopi R, Deiveekasundaram M (2007) Alterations in seedling vigour and antioxidant enzyme activities in *Catharanthus roseus* under seed priming with native diazotrophs. **Journal of Zhejiang University Science B** 8(7):453-457.

Kellős T, Timar I, Szilagyi V, Szalai G, Galiba G, Kocsy G (2008) Stress hormones and abiotic stresses have different effects on antioxidants in maize lines with different sensitivity. **Plant Biology** 10(5):563-572.

Kishor PBK, Sangam S, Amrutha RN, Laxmi PS, Naidu KR, Rao KRSS, Rao S, Reddy KJ, Theriappan P, Sreenivasulu N (2005) Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. **Current Science** 88:424–438.

Kraus TE, Pauls KP, Fletcher RA (1995) Paclobutrazol-and hardening-induced thermotolerance of wheat: are heat shock proteins involved?. **Plant and cell physiology** 36(1):59-67.

Littell RC, Milliken GA, Stroup WW, Wolfinger RD (1996) SAS[®] system for mixed models. Cary: N.C.: SAS Institute Inc., 633p.

Luna M, Badiani M, Felici M, Artemi F, Sermanni GG (1985) Selective enzyme inactivation under water stress in maize (*Zea mays* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. **Environmental and experimental botany** 25(2):153-156.

Machado AV (2004) **Efeitos do estresse hídrico em plantas jovens de *Hedyosmum brasiliense* Mart. (Chloranthaceae)**. 65 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

Malavolta E (1980) Elementos de nutrição mineral de plantas. Piracicaba: Agronômica Ceres, 251p.

Márquez-García B, Horemans N, Cuypers A, Guisez Y, Córdoba F (2011) Antioxidants in *Erica andevalensis*: A comparative study between wild plants and cadmium-exposed plants under controlled conditions. **Plant Physiology and Biochemistry** 49(1):110-115.

Martins PF, Carvalho G, Gratão PL, Dourado MN, Pileggi M, Araújo WL, Azevedo RA (2011) Effects of the herbicides acetochlor and metolachlor on antioxidant enzymes in soil bacteria. **Process Biochemistry** 46(5):1186-1195.

Mitra J (2001) Genetics and genetic improvement of drought resistance in crop plants. **Current Science** 80:758–763.

Moldes CA, Medici LO, Abrahao OS, Tsai SM, Azevedo RA (2008) Biochemical responses of glyphosate resistant and susceptible soybean plants exposed to glyphosate. **Acta Physiologiae Plantarum** 30(4):469-479.

Molinari HBC, Marur CJ, Daros E, Campos MKF, Carvalho JFRP, Bessalho-Filho JC, Pereira LFP, Vieira LGE (2007) Evaluation of the stress-inducible production of proline in transgenic sugarcane (*Saccharum* spp.) osmotic adjustment, chlorophyll fluorescence and oxidative stress. **Physiologia Plantarum** 130:218–229.

Monteiro CC, Carvalho RF, Gratão PL, Carvalho G, Tezotto T, Medici LO, Peres LEP, Azevedo RA (2011) Biochemical responses of the ethylene-insensitive Never ripe

tomato mutant subjected to cadmium and sodium stresses. *Environmental and Experimental Botany* 71:306–320.

Moran JF, Becana M, Iturbe-Ormaetxe I, Frechilla S, Klucas RV, Aparicio-Tejo P (1994) Drought induces oxidative stress in pea plants. *Planta* 194(3):346-352.

Moussa HR, Abdel-Aziz SM (2008) Comparative response of drought tolerant and drought sensitive maize genotypes to water stress. *Australian Journal of Crop Science* 1:31–36

Passioura JB (2010) Scaling up: the essence of effective agricultural research. *Functional Plant Biology* 37(7):585-591.

Quartacci MF, Navari-Izzo F (1992) Water stress and free radical mediated changes in sunflower seedlings. *Journal of Plant physiology* 139(5):621-625.

Queiroz RJB, Santos DMMD, Ferraudo AS, Carlin SD, Silva MDA (2011) Biochemical and physiological responses of sugarcane cultivars to soil water deficiencies. *Scientia Agricola* 68(4):469-476.

Recchia GH (2011) **Identificação de genes diferencialmente expressos em feijoeiro envolvidos na resistência ao estresse hídrico**. 152 f. Dissertação (Mestrado em Biologia na Agricultura e no Ambiente). Universidade de São Paulo, Piracicaba.

Rogiers SY, Greer DH, Hutton RJ, Clarke SJ (2011a) Transpiration efficiency of the grapevine cv. Semillon is tied to VPD in warm climates. *Annals of Applied Biology* 158:106–114.

Rogiers SY, Holzappel BP, Smith JP (2011b) Sugar accumulation in roots of two grape varieties with contrasting response to water stress. *Annals of Applied Biology* 159:399–413.

Sairam RK, Rao KV, Srivastava GC (2002) Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science* 163:1037–1046.

Santos HG, Jacomine PKT, Dos Anjos LHC, De Oliveira VA, Lumberras JF, Coelho MR, Cunha TJF (2018) **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília, DF: Embrapa.

SAS INSTITUTE (2013) Statistical analysis system: release 9.4. Cary: Statistical Analysis System Institute.

Shao HB, Chen XY, Chu LY, Zhao XN, Wu G, Yuan YB, Zhao CX, Hu ZM (2006) Investigation on the relationship of proline with wheat anti drought under soil water deficits. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces** 53:113–119.

Sinclair TR (2011) Challenges in breeding for yield increase for drought. **Trends in Plant Science** 16:289-93.

Song Y, Birch CJ, Hanan J (2010) Maize canopy production under contrasted water regimes. **Annals of Applied Biology** 157:111–123.

Specht JE, Hume DJ, Kumudini SV (1999) Soybean yield potential a genetic and physiological perspective. **Crop Science** 39(6):1560-1570.

Tavarini S, Gil MI, Tomas-Barberan FA, Buendia B, Remorini D, Massai R, Guidi L (2011) Effects of water stress and rootstocks on fruit phenolic composition and physical/chemical quality in Suncrest peach. **Annals of Applied Biology** 158(2):226-233.

Tezara W, Lawlor DW (1995) Effects of water stress on the biochemistry and physiology of photosynthesis in sunflower. In: MATHIS, P. (Ed) **Photosynthesis: from light to biosphere**. Dordrecht: Kluwer, p.625-628.

Turner NC (1986) Adaptation to water deficits: a changing perspective. **Functional Plant Biology** 13(1):175-190.

Vendruscolo ECG, Schusterl, Pileggi M, Scapim CA, Molinari HBC, Marur CJ, Esteves Vieira LG (2007) Stress-induced synthesis of proline confers tolerance to water deficit in transgenic wheat. **Journal of Plant Physiology** 164:1367–1376.

Wahid A, Close TJ (2007) Expression of dehydrins under heat stress and their relationship with water relations of sugarcane leaves. **Biologia Plantarum** 51:104–109.

Wang Z, Huang B (2004) Physiological recovery of Kentucky bluegrass from simultaneous drought and heat stress. **Crop Science** 44(5):1729-1736.

Ye H, Roorkiwal M, Valliyodan B, Zhou L, Chen P, Varshney R, Nguyen HT (2018) Genetic diversity of root system architecture in response to drought stress in grain legumes. **Journal of Experimental Botany** 69:3267–3277.

Ye H, Song L, Schapaugh WT, Ali ML, Sinclair TR, Riar MK, Pizolato Neto, A. (2019). The importance of slow canopy wilting in drought tolerance in soybean. **Journal of experimental botany**.

Zhang JX, Kirkman MB (1996) Antioxidant responses to drought in sunflower and sorghum seedlings. **New Phytologist** 132:361–373.

Zhang M, Duan L, Tian X, He Z, Li J, Wang B, Li, Z (2007) Uniconazole-induced tolerance of soybean to water deficit stress in relation to changes in photosynthesis, hormones and antioxidant system. **Journal of Plant Physiology** 164(6):709-717.

CAPITULO 4 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em nível mundial, a soja é considerada uma das principais culturas do mundo e possui uma grande importância econômica. Devido às alterações climáticas, o Brasil e o mundo têm passado por muitas dificuldades, podendo ocorrer queda na produção. A previsão e sazonalidade estão com ocorrências atípicas, sendo que épocas de chuvas normais (período ideal de cultivo), já não possui a mesma frequência. Com essas mudanças, o cultivo agrícola é afetado diretamente, interferindo na produção das culturas e impactando o setor diretamente. No presente estudo, objetivou-se caracterizar um grupo de genótipos de soja com relação ao déficit hídrico, com a finalidade de utilização dos mesmos, em hibridações para compor um programa de melhoramento para tolerância à baixa disponibilidade de água no solo. Para a condição testada, constatou-se que o genótipo PI 416937 possui características genéticas que possibilitam uma defesa eficiente da planta quando submetida ao déficit hídrico, sendo dessa maneira um genótipo indicado como genitor doador de alelos para essa característica. A partir dos resultados obtidos, no presente trabalho pode-se iniciar um programa de melhoramento de soja com tolerância ao déficit hídrico utilizando o genótipo PI 416937 para iniciar os cruzamentos e formar populações segregantes com essa característica. Vale ressaltar que a utilização de um genótipo com alto potencial produtivo hibridizado com o genótipo PI 416937 viabilizaria a busca de genótipos segregantes com alto potencial produtivo e tolerante ao déficit hídrico. As populações segregantes devem ser avaliadas para o potencial produtivo desses genótipos em condições de deficiência hídrica, como foi feito nesse trabalho de pesquisa. Estudos desta natureza representam um dos grandes desafios para a agricultura no Brasil e fornecem informações importantes, principalmente devido à falta de metodologias eficientes para avaliar características relacionadas ao estresse hídrico.

Sendo assim, consideramos que, tais trabalhos de pesquisa podem auxiliar no desenvolvimento de genótipos com essa característica, sendo que, ao final do programa de melhoramento ocorra a recomendação mais precisa de genótipos com bom desempenho em ambientes com menor disponibilidade hídrica, permitindo dessa forma, a ampliação da área de cultivo e incentivo do uso da cultura da soja.