UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu

FCA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
UNESP | BOTUCATU

VITOR HENRIQUE GONÇALVES LOPES

ATUAÇÃO DE UM OSMOPROTETOR VISANDO AMENIZAR O DÉFICIT HIDRICO DURANTE A GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE SOJA (*Glycine max*)

Botucatu

2024

VITOR HENRIQUE GONÇALVES LOPES

Atuação de um osmoprotetor visando amenizar o déficit hídrico durante a germinação de sementes de soja (*Glycine max*)

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Agricultura)

Orientador: Edvaldo Aparecido Amaral da Silva

Coorientador(a): Daiani Ajala Luccas

Botucatu

2024

G635a

Gonçalves Lopes, Vitor Henrique
Atuação de um osmoprotetor visando amenizar o déficit hídrico durante a germinação de sementes de soja (Glycine max) / Vitor Henrique Gonçalves Lopes. -- Botucatu, 2024
122 p. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu
Orientador: Edvaldo Aparecido Amaral da Silva
Coorientadora: Daiani Ajala Luccas

1. Sementes. 2. Osmoprotetor. 3. Qualidade fisiológica. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos pelo autor(a).

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Botucatu

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: ATUAÇÃO DE UM OSMOPROTETOR VISANDO AMENIZAR O DÉFICIT HIDRICO DURANTE A GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE SOJA (Glycine max)

AUTOR: VITOR HENRIQUE GONÇALVES LOPES
ORIENTADOR: EDVALDO APARECIDO AMARAL DA SILVA
COORIENTADORA: DAIANI AJALA LUCCAS

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Agronomia (Agricultura), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. EDVALDO APARECIDO AMARAL DA SILVA (Participaçao Presencial)
Producao Vegetal / Faculdade de Ciencias Agronomicas de Botucatu

Pesquisadora Dr.ª NATÁLIA HELENA GAVILAN (Participaçao Presencial)
Horticultura / Emerge Agro

Voluntário Livre-Docente JOÃO NAKAGAWA (Participaçao Presencial)
Produção Vegetal / Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu

Botucatu, 31 de julho de 2024

Aos meus amados pais, Nina e Rodolfo, que sob muito sol, fizeram-me chegar até aqui, na sombra

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Dedico este trabalho a todos aqueles que tornaram possível a realização deste percurso acadêmico desafiador e enriquecedor.

Primeiramente, quero agradecer a Deus por dar forças para não desistir nos momentos que me sentia incapaz, inseguro e frente a dificuldade, por cada experiência, pelos livramentos, pelas oportunidades e por tudo que me permitiu viver e aprender durante esses dois anos.

Agradeço aos meus pais Rodolfo Luis Gonçalves Lopes e Ilionina Tavares de Souza, sem o apoio incondicional, amor e encorajamento que sempre me proporcionaram, eu não teria alcançado esse sonho. Desde o início, vocês foram minha fonte de inspiração, cada sacrifício que fizeram, cada palavra de incentivo e cada gesto de apoio foram fundamentais para que eu pudesse enfrentar os desafios e perseverar até aqui. O amor e apoio que me concederam, com suas lições de vida, me fez a pessoa que sou hoje. Vocês são minha âncora, meu porto seguro, e tudo que conquistei é também fruto do amor e dos valores que vocês me ensinaram ao longo da vida. Sou imensamente grato por ter pais tão maravilhosos como vocês. Obrigado por acreditarem em mim, mesmo nos momentos que nem eu acreditava em mim.

Aos meus irmãos, Luis Eduardo Gonçalves Lopes e Cesar Augusto Gonçalves Lopes e minha cunhada Tamires e minha sobrinha Ana Luisa por todo apoio, carinho e incentivo.

Ao meu orientador Prof. Dr. Edvaldo A. Amaral da Silva, pela orientação e pelos momentos de apoio, atenção e dedicação e também por contribuir com seus conhecimentos para a realização deste trabalho, me auxiliando nos momentos de dificuldade e estando sempre disponível para me atender. Além de todo o crescimento profissional e pessoal durante esses anos de trabalho juntos.

A minha coorientadora, Dra. Daiani Ajala Luccas, pela coorientação durante a condução deste trabalho e por facilitar minha jornada no mestrado, sempre me incentivando. Te agradeço por toda ajuda e pelos ensinamentos. Obrigado pelas palavras de incentivo, pelas trocas de ideias, nossos momentos compartilhados foram essenciais para ampliar minha perspectiva e enriquecer meu aprendizado.

Agradeço à equipe EmergeAgro pelo apoio crucial ao longo deste trabalho, tanto em termos operacionais quanto intelectuais, enriquecendo significativamente meu projeto e sempre estando dispostos a me auxiliar.

Ao Laboratório de Análise de Sementes (L.A.S) da UNESP/FCA Botucatu, do qual faço parte, agradeço profundamente. A Valéria, pela dedicação incansável em me auxiliar durante a execução deste trabalho. Também agradeço a todos os meus colegas de profissão que me apoiaram: Brunna, Michelane, Felipe, Dennis, Mônica, Gustavo, Tamires, Ana e aos estagiários de iniciação científica. Trabalhar ao lado de vocês certamente tornou esta jornada mais leve e produtiva.

Agradeço às amigas que fiz durante a pós-graduação e que pretendo levar para toda a vida, especialmente a Renata Arruda, Aline Oliveira e Taise Rodrigues, pelo companheirismo no trabalho e na vida pessoal. Obrigado por tornarem mais leve os momentos difíceis que enfrentamos ao longo desses dois anos, pelas risadas, diversões e aventuras. As palavras de incentivo, ao compartilhar experiências e a amizade verdadeira foram fundamentais para minha motivação e bem-estar ao longo deste período. Ainda, a troca de experiências profissionais e pessoais foi fundamental para que essa jornada fosse mais enriquecedora.

Gostaria de expressar meu profundo agradecimento aos amigos que estiveram ao meu lado durante esta jornada da dissertação, mesmo de longe. A vocês, Gabriela Vechiatto, Natalia Aquino, Ana Lorusso, Djeyne Gerônimo, Ingridy Gerônimo, Giovanna Seron, Maria Andressa e Paula Rodrigues, meu mais sincero reconhecimento pelo apoio incondicional, pela compreensão nos momentos de ausência e pela presença constante, tornando essa etapa desafiadora mais leve e significativa. Agradeço de coração por fazerem parte da minha vida e por tornarem esta conquista possível.

À Faculdade de Ciências Agronômicas (FCA/UNESP) e ao Departamento de Produção Vegetal – Agricultura, que me proporcionou a oportunidade de buscar o conhecimento, de realização do curso e qualificação profissional. E também a todos os professores que compartilharam seus conhecimentos e aos colegas que, de alguma forma, contribuíram para o meu desenvolvimento acadêmico

Não posso deixar de agradecer a mim mesmo por ter conduzido este trabalho com dedicação incansável, perseverança diante dos desafios e comprometimento constante. Apenas eu sei das dificuldades enfrentadas e quanto este trabalho me ajudou a superá-las, contribuindo para o meu amadurecimento pessoal e profissional, minha determinação em enfrentar as complexidades e minha incessante busca pelo conhecimento foram fundamentais para alcançar este importante marco acadêmico.

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

RESUMO

Com o aumento do aquecimento global, os fenômenos climáticos têm se tornado mais frequentes, representando um desafio para a agricultura devido aos estresses abióticos, como o déficit hídrico que ocorre durante a germinação e o estabelecimento inicial das plantas. Este déficit resulta em danos às estruturas celulares e membranas das plantas, comprometendo seu crescimento e desenvolvimento e, consequentemente, reduzindo a produtividade. Nesse contexto, é necessário desenvolver alternativas para mitigar os efeitos do estresse hídrico, especialmente durante a fase inicial de germinação e estabelecimento das plantas, sendo uma alternativa viável o uso de osmoprotetores. O objetivo deste estudo foi investigar o impacto do osmoprotetor no tratamento de sementes, avaliando seu efeito na germinação, na longevidade das sementes e também durante o estabelecimento inicial das plantas submetidas ao déficit hídrico induzido. O experimento foi conduzido em diversas etapas. Inicialmente, foram selecionadas concentrações desse osmoprotetor por meio de avaliações fisiológicas. Em seguida, essas concentrações foram testadas em diferentes produtos contendo osmoprotetor, induzindo estresse osmótico e avaliando atributos fisiológicos. Ainda, as sementes tratadas foram avaliadas quanto ao seu efeito na longevidade. Posteriormente, foi avaliado o efeito do tratamento de sementes com osmoprotetor no estabelecimento de plantas em condições de déficit hídrico em casa de vegetação, utilizando substrato com capacidade reduzida de água, e foram analisados parâmetros fisiológicos. Em uma última etapa, foi selecionado um produto e concentração para associação com inoculante e fungicida, técnicas difundidas no tratamento de sementes. Os resultados sugerem que o osmoprotetor, quando aplicada no tratamento de sementes, incorpora-se internamente na semente e contribui para uma maior expressão da qualidade fisiológica das sementes (germinação, vigor e longevidade), além de minimizar os efeitos do déficit hídrico após a germinação. Durante o desenvolvimento das plantas, observou-se que há um acúmulo desse osmoprotetor, mitigando os efeitos do déficit hídrico. Assim, o uso do osmoprotetor no tratamento de sementes mostrou-se promissor para uma melhor expressão da qualidade fisiológica das sementes de soja e em reduzir os efeitos ocasionados do déficit hídrico.

Palavras-chave: soja; estresse hídrico; osmoprotetor; qualidade fisiológica; longevidade.

ABSTRACT

With the increase in global warming, climatic phenomena have become more frequent, representing a challenge for agriculture due to abiotic stresses, such as the water deficit that occurs during the germination and initial establishment of plants. This deficit results in damage to the cell structures and membranes of plants, compromising their growth and development and, consequently, reducing productivity. In this context, it is necessary to develop alternatives to mitigate the effects of water stress, especially during the initial phase of germination and plant establishment, and one viable alternative is the use of osmoprotectants. The aim of this study was to investigate the impact of osmoprotectants in seed treatment, assessing their effect on germination, seed longevity and also during the initial establishment of plants subjected to induced water deficit. The experiment was conducted in several stages. Initially, concentrations of this osmoprotectant were selected through physiological evaluations. Next, these concentrations were tested in different products containing osmoprotectant, inducing osmotic stress and evaluating physiological attributes. The treated seeds were also evaluated for their effect on longevity. Subsequently, the effect of seed treatment with osmoprotectants on the establishment of plants under conditions of water deficit in a greenhouse, using a substrate with reduced water capacity, was evaluated and physiological parameters were analyzed. In a final step, a product and concentration were selected for association with inoculant and fungicide, techniques that are widespread in seed treatment. The results suggest that the osmoprotectant, when applied in the seed treatment, is incorporated internally into the seed and contributes to a greater expression of the physiological quality of the seeds (germination, vigour and longevity), as well as minimizing the effects of water deficit after germination. During plant development, it was observed that this osmoprotectant accumulates, mitigating the effects of water deficit. Thus, the use of the osmoprotectant in seed treatment has shown promise for better expression of the physiological quality of soybean seeds and for reducing the effects of water deficit.

Keywords: soybean; water stress; osmoprotectant; physiological quality; longevity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Demanda hídrica diária (mm) da soja por estádio vegetativo (V) e reprodutivo (R).....33

Capítulo 1 – Osmoprotetor como estratégia para mitigar o déficit hídrico em sementes de soja (*Glycine max*) durante o processo de germinação.

Figura 1 - Gráfico de médias de Primeira contagem de germinação (A); Classificação do vigor (B); Comprimento de parte aérea (C) e Comprimento de raiz primária (D); da cultivar de soja NEO 610 IPRO em diferentes concentrações de formulação pura (D-Trealose). Médias seguida pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade 52

Figura 2 - Gráfico de Primeira contagem de germinação (A) e; Germinação (B) de soja cv. NEO 610 IPRO nas concentrações 120 mmol e 180 mmol com diferentes produtos a seguir: tratamento 1 (testemunha); tratamento 2 (formulação pura); tratamento 3 (formulação 2); tratamento 4 (formulação 4); tratamento 5 (formulação 6). Médias seguida pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade 54

Figura 3 - Gráfico de Classificação do vigor (A) e; Comprimento de parte aérea (B) de soja cv. NEO 610 IPRO nas concentrações 120 mmol e 180 mmol com diferentes produtos a seguir: tratamento 1 (testemunha); tratamento 2 (formulação pura); tratamento 3 (formulação 2); tratamento 4 (formulação 4); tratamento 5 (formulação 6). Médias seguida pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade 55

Figura 4 - Gráfico de T50 (horas) de soja cv. NEO 610 IPRO na concentração de 120 mmol com diferentes produtos a seguir: tratamento 1 (testemunha); tratamento 2 (formulação pura); tratamento 3 (formulação 2); tratamento 4 (formulação 4); tratamento 5 (formulação 6). Médias seguida pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade 56

Figura 5 - Gráfico de Protrusão de soja cv. NEO 610 IPRO na concentração de 180 mmol com diferentes produtos a seguir: tratamento 1 (testemunha); tratamento 2 (formulação pura); tratamento 3 (formulação 2); tratamento 4

(formulação 4); tratamento 5 (formulação 6). Médias seguida pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade..... 57
Figura 6 - Curva de embebição de sementes de soja cv. NEO 610 IPRO 58
Figura 7 - Gráfico de médias da Classificação de vigor na concentração de 120 mmol (A) e 180 mmol (B) de soja cv. NEO 610 IPRO com diferentes produtos a seguir: tratamento 1 (testemunha); tratamento 2 (formulação pura); tratamento 3 (formulação 4); tratamento 4 (formulação 6). Médias seguida pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade 59
Figura 8 - Gráfico de médias de Massa de matéria seca de parte aérea na concentração de 120 mmol e 180 mmol de soja cv. NEO 610 IPRO com diferentes produtos a seguir: tratamento 1 (testemunha); tratamento 2 (formulação pura); tratamento 3 (formulação 4); tratamento 4 (formulação 6). Médias seguida pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade 60
Figura 9 - Gráfico de médias de Massa de matéria seca da raiz na concentração de 120 e 180 mmol de soja cv. NEO 610 IPRO com diferentes produtos a seguir: tratamento 1 (testemunha); tratamento 2 (formulação pura); tratamento 3 (formulação 4); tratamento 4 (formulação 6). Médias seguida pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade 61
Figura 10 - Gráfico de médias de Precocidade da emissão da raiz primária maior que 6 cm na concentração de 120 mmol de soja cv. NEO 610 IPRO com diferentes produtos a seguir: tratamento 1 (testemunha); tratamento 2 (formulação pura); tratamento 3 (formulação 4); tratamento 4 (formulação 6). Médias seguida pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade 62
Figura 11 - Gráfico dos dados de Temperatura (ºC) e Umidade relativa (UR) coletados a cada período de armazenamento. 63
Figura 12 - Longevidade das sementes. A: Curva da distribuição da germinação por protrusão da raiz primária ao longo do armazenamento; B: P_{50} (tratamento 1: testemunha; tratamento 2: FP 120 mmol; tratamento 3: FP 180 mmol; tratamento 4: F4 120 mmol; tratamento 5: F4 180 mmol; tratamento 6: F6 120 mmol e; tratamento 7: F6 180 mmol) 64

Figura 13 - Análise de componentes principais da concentração de 120mM e 180mM dos produtos FP, F4, F6 e testemunha dos componentes de qualidade fisiológica durante a longevidade (plântulas normais (PN), plântulas anormais (PA), sementes mortas (SM), primeira contagem de germinação (PC), plântulas fortes (Fortes), plântulas fracas (Fracas), índice de velocidade de emergência (IVE), emergência (Emerg.), protrusão, T50, comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), massa de matéria seca de parte aérea (MMSPA) e, massa de matéria seca da raiz (MMSR) 65

Capítulo 2 – Uso de osmoprotetor para mitigar os impactos do déficit hídrico no estabelecimento inicial de plantas de soja (*Glycine max*) em casa de vegetação.

Figura 1 - Gráfico de médias de Comprimento de parte aérea (A) e; Comprimento da raiz (B) na concentração de 120 mmol em condições de controle (60% CRA) e estresse hídrico (30% CRA) com diferentes produtos a seguir: tratamento 1 (testemunha); tratamento 2 (formulação pura); tratamento 3 (formulação 4); tratamento 4 (formulação 6). Média seguida pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade 91

Figura 2 - Gráfico de médias de Massa de matéria seca de parte aérea na concentração de 120 mmol (A) e 180 mmol (B) em condições de controle (60% CRA) e estresse hídrico (30% CRA) com diferentes produtos a seguir: tratamento 1 (testemunha); tratamento 2 (formulação pura); tratamento 3 (formulação 4); tratamento 4 (formulação 6). 92

Figura 3 - Gráfico de médias de Massa de matéria seca d*a* raiz na concentração de 120 *mmol* (A) e 180 *mmol* (B) em condições de controle (60% CRA) e estresse hídrico (30% CRA) com diferentes produtos a seguir: tratamento 1 (testemunha); tratamento 2 (formulação pura); tratamento 3 (formulação 4); tratamento 4 (formulação 6). Média seguida pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade 93

Figura 4 - Análise de componentes principais da concentração de 120mM e 180mM dos produtos FP, F4 e F6 em condição de 30% da capacidade de retenção de água do substrato em que os tratamentos: 1 – Testemunha 120 mmol;

2 – FP 120 mmol; 3 – F4 120 mmol; 4 – F6 120 mmol; 5 – Testemunha 180 mmol; 6 – FP 180 mmol; 7 – F4 180 mmol e; 8 – F6 180 mmol 95

Figura 5 - Gráfico de médias de comprimento de parte aérea (A) e comprimento de raiz (B) de soja cv. NEO 610 IPRO, em que os tratamentos: 1 – Testemunha; 2 – F6 180 mmol; 3 – Inoculante; 4 – Fungicida; 5 – F6 180 mmol + Inoculante; 6 – FP 180 mmol + Fungicida; 7 – Inoculante + Fungicida e; 8 – F6 180 mmol + Inoculante + Fungicida. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade 97

Figura 6 - Gráfico de médias de Massa de matéria seca de parte aérea (A) e da raiz (B) de soja cv. NEO 610 IPRO, em que os tratamentos: 1 – Testemunha; 2 – F6 180 mmol; 3 – Inoculante; 4 – Fungicida; 5 – F6 180 mmol + Inoculante; 6 – FP 180 mmol + Fungicida; 7 – Inoculante + Fungicida e; 8 – F6 180 mmol + Inoculante + Fungicida. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade..... 98

Figura 7 - Gráfico de médias do Número de nódulos (A) e Massa de matéria seca de nódulos (B) de soja cv. NEO 610 IPRO, em que os tratamentos: 1 – Testemunha; 2 – F6 180 mmol; 3 – Inoculante; 4 – Fungicida; 5 – F6 180 mmol + Inoculante; 6 – FP 180 mmol + Fungicida; 7 – Inoculante + Fungicida e; 8 – F6 180 mmol + Inoculante + Fungicida. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade 99

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1 – Osmoprotetor como estratégia para mitigar o déficit hídrico em sementes de soja (*Glycine max*) durante o processo de germinação

Tabela 1 - Porcentagem de plântulas fortes, primeira contagem de germinação, plântulas fracas, germinação (plântulas normais, plântulas anormais e sementes mortas), comprimento de parte aérea, comprimento da raiz, massa de matéria seca de parte aérea, protrusão, T50, índice de velocidade de emergência e emergência, autovalores, variação explicada e acumulada ao longo das duas primeiras componentes principais (PC1 e PC2) 66

Tabela 2 - Valores médios da área abaixo da curva de plântulas normais (PN), primeira contagem de germinação (PC), plântulas fortes (PF), comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), massa de matéria seca de parte aérea (MMPA) e, massa de matéria seca de raiz (MMSR) ao longo do armazenamento, com diferentes produtos: testemunha; tratamento 1 (Formulação pura); tratamento 2 (formulação 4); tratamento 3 (formulação 6). 68

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL 23

REVISÃO DE LITERATURA 27

CAPÍTULO 1 - OSMOPROTETOR COMO ESTRATÉGIA PARA MITIGAR O EFEITO DO DÉFICIT HÍDRICO EM SEMENTES DE SOJA (Glycine max) DURANTE O PROCESSO DE GERMINAÇÃO 41

RESUMO 41

ABSTRACT 42

1.1 INTRODUÇÃO 43

1.2 MATERIAL E MÉTODOS 44

1.2.1 Tratamento de sementes 44
1.2.2 Determinação das concentrações de trealose usadas 45
1.2.3 Concentrações selecionadas a partir da formulação pura 45
1.2.4 Simulação de déficit hídrico utilizando Polietilenoglicol 6000. 46
1.2.5 Avaliação da qualidade física e fisiológica das sementes 47
1.2.5.1 Determinação teor de água 47
1.2.5.2 Germinação 47
1.2.5.3 Precocidade da emissão da raiz primária 47
1.2.5.4 Primeira contagem de germinação 48
1.2.5.5 Classificação de vigor de plântulas(fortes e fracas) 48
1.2.5.6 Determinação do comprimento e massa de matéria seca de raiz e da parte aérea de plântulas 48
1.2.5.7 Tempo médio para ocorrência de 50% de germinação (T50) 49
1.2.5.8 Emergência e Índice de Velocidade de Emergência (IVE) em areia 49
1.2.6 Avaliação da longevidade 49
1.2.7 Análise dos resultados 50
1.3 RESULTADOS 51

1.3.1 Avaliação da qualidade inicial e seleção de concentrações 51
1.3.2 Efeito das concentrações selecionadas na germinação e no vigor 53
1.3.3 Curva de embebição 57
1.3.4 Impacto da simulação de déficit hídrico com o uso de Polietilenoglicol 6000 em sementes tratadas e germinadas 58
1.3.5 Avaliação da longevidade das sementes 62
1.4 DISCUSSÃO 69

1.4.1 Seleção de concentrações e o efeito dessas na germinação e no vigor 69
1.4.2 Impacto da simulação de déficit hídrico com o uso de Polietilenoglicol 6000 em sementes tratadas e germinadas 70
1.4.3 Efeito na longevidade das sementes 72
REFERÊNCIAS 75

CAPÍTULO 2. USO DE OSMOPROTETOR PARA MITIGAR OS IMPACTOS DO DÉFICIT HÍDRICO NO ESTABELECIMENTO INICIAL DE PLANTAS DE SOJA (Glycine max) EM CASA DE VEGETAÇÃO 81

RESUMO 81

ABSTRACT 82

2.1 INTRODUÇÃO 83

2.2 MATERIAL E MÉTODOS 84

2.2.1 Avaliação inicial das sementes 84

2.2.2 Preparo do substrato e Capacidade de Retenção da Água 85

2.2.3 Tratamento de sementes 85

2.2.4 Condições de cultivo em déficit hídrico em casa de vegetação 86

2.2.4.1 Avaliações 87

2.2.4.1.1 Emergência e Índice de Velocidade de Emergência 87

2.2.4.1.2 Área foliar 87

2.2.4.1.3 Comprimento e massa de matéria seca de parte aérea e de raiz 87

2.2.5 Associação do produto F6 180 mmol com inoculante e fungicida em casa de vegetação 88

2.2.5.1. Avaliações 89

2.2.5.1.1 Área Foliar 89

2.2.5.1.2 Comprimento e massa de matéria seca de parte aérea e de raiz 89

2.2.5.1.3 Nodulação 89

2.2.6 Análise dos resultados 89

2.3. RESULTADOS 90

2.3.1 Efeito do déficit hídrico das sementes tratadas com FP, F4 e F6 nas concentrações de 120 e 180 mmol em casa de vegetação 90

2.3.2 Associação das sementes tratadas com F6, inoculante e fungicida em casa de vegetação 95

2.4 DISCUSSÃO 99

2.4.1 O efeito déficit hídrico das sementes tratadas com FP, F4 e F6 nas concentrações de 120 e 180 mmol em casa de vegetação 99

2.4.2 Efeito nas sementes tratadas com F6 em associação com inoculante e fungicida em casa de vegetação 101

CONSIDERAÇÕES FINAIS 110

REFERÊNCIAS 110

INTRODUÇÃO GERAL

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill], principal commodity brasileira, tem o Brasil como o maior produtor mundial, devido a importância de seus produtos e subprodutos, ter um valor socioeconômico relevante, tanto para o mercado interno como para o externo. E a qualidade das sementes está aliada a essa relevância, sendo um fator essencial para a prática agrícola, garantindo altas produções e segurança alimentar.

A semente possui atributos que vão determinar sua qualidade, sendo eles: genético, físico, fisiológico e sanitário, garantindo assim um alto desempenho no campo, sendo considerado o sucesso de uma lavoura (França-Neto; Henning, 2010). A qualidade fisiológica tem destaque por referir-se à germinação, o vigor e a longevidade, que determinam a capacidade de armazenamento, o estabelecimento de plântulas vigorosas, a performance das plantas no campo e a produtividade (Bewley *et al*., 2013).

Com os eventos climáticos, em virtude do aquecimento global, a ocorrência de seca e altas temperaturas tem sido um problema recorrente, principalmente no Brasil. Essa situação provoca instabilidade no sistema agrícola, tornando as condições ambientais fatores determinantes para a produção agrícola (Noaa, 2016). No entanto, a deficiência hídrica é um dos principais fatores que afetam a produção agrícola visto que ocorre quando a precipitação pluvial apresenta valores menores do que a taxa de evaporação da água e de transpiração das plantas (Kerbauy, 2012), impactando no resultado final das safras, porque a água participa de processos metabólicos nos vegetais necessários para a sobrevivência (Mcqueen, 2000; Zipper; Qiu; Kucharik, 2016).

A água é o fator essencial envolvido diretamente e indiretamente nas etapas do metabolismo germinativo de uma semente, sendo que quando a semente entra em contato com a água ocorre a ativação e síntese de enzimas, solubilização e transporte de metabólitos (Bradford, 1995) fazendo com que ocorra um estímulo das substâncias de reserva para retomar o crescimento do embrião e resultar na formação da plântula.

A ocorrência de déficit hídrico no início do estabelecimento de plântulas de soja, leva a formação de plântulas com pequenas estaturas, desuniformidade na emergência e isso pode se refletir em perdas na produtividade, além de formar plantas com entrenós curtos (Ferrari *et al.*, 2015). Ainda, o déficit hídrico tem um impacto direto

na redução do crescimento da planta e da área foliar, o que consequentemente, afeta o rendimento dos grãos. Em situações extremas, a escassez de água pode levar à morte das plantas (Farias *et al.*, 2007).

Em plantas de soja sob déficit hídrico, ocorrem várias adaptações fisiológicas como o fechamento estomático, que reduz a assimilação líquida de CO_2 e, consequentemente, a fotossíntese (Farias *et al.*, 2007; Pereira, 2012). Essas mudanças incluem a redução do potencial hídrico foliar, a diminuição da parte aérea da planta, a aceleração da senescência e a abscisão das folhas. No nível fisiológico e metabólico, a soja se ajusta ao ambiente adverso como um mecanismo de defesa, promovendo alterações tanto no metabolismo quanto na morfologia da planta para tentar sobreviver às condições de estresse hídrico. Essas adaptações visam garantir a sobrevivência da planta, embora frequentemente resultem em um comprometimento significativo do seu potencial produtivo.

Nesse contexto em que a variabilidade climática está cada vez mais evidente e os eventos de seca são recorrentes, é relevante priorizar estudos voltados para a compreensão e mitigação dos efeitos do déficit hídrico sobre as plantas. Este fenômeno é particularmente prejudicial, pois compromete significativamente os períodos críticos de desenvolvimento das plantas (Sarmento *et al.*, 2019; Ullah *et al.*, 2018).

Uma resposta comum das plantas para os estresses abióticos é o acumulo de açúcares e outros solutos compatíveis que irão atuar como osmoprotetores, conferindo uma tolerância aos estresses abióticos em diversas espécies de plantas (Hare *et al.*, 1998; Iturriaga *et al.*, 2009).

Diante desse cenário desafiador, uma abordagem promissora para atenuar os impactos negativos da seca é a utilização de osmoprotetores. Estes compostos possuem a capacidade de induzir mecanismos de defesa nas plantas, conferindo-lhes maior tolerância aos estresses ambientais, incluindo o déficit hídrico (Muley *et al.*, 2019). Um exemplo dessa estratégia é observado na cultura do milho, onde o uso do açúcar trealose, têm sido aplicados com sucesso para aumentar a tolerância das plantas à escassez de água (Zhou *et al.*, 2014).

A trealose, um dissacarídeo não redutor composto por duas moléculas de glicose, é amplamente distribuída na natureza e reconhecida por seu papel fisiológico crucial na proteção contra o estresse abiótico em uma variedade de organismos, incluindo bactérias, leveduras e invertebrados (Wingler *et al.*, 2002; Elbein *et al.*,

2003). Esses autores demonstraram que a trealose desempenha uma função significativa na estabilização de enzimas, proteínas e membranas lipídicas, além de proteger estruturas biológicas contra danos durante a dessecação.

Desse modo, o objetivo do trabalho consiste em avaliar o efeito da trealose durante a germinação e estabelecimento inicial das plântulas de soja em condições simuladas (laboratório) e campo (casa de vegetação) de déficit hídrico, a partir do tratamento de sementes.

Para tanto, a pesquisa teve os seguintes objetivos específicos:

- Identificar a melhor concentração do osmoprotetor trealose em sementes tratadas;
- Estudar o efeito da trealose em sementes de soja tratadas com esse osmoprotetor;
- Avaliar o efeito da trealose na longevidade das sementes tratadas;
- Avaliar o efeito no estabelecimento de plantas originadas de sementes tratadas com trealose;
- Avaliar o efeito da interação entre trealose, inoculante e fungicida.

REVISÃO DE LITERATURA

Cenário atual e importância da cultura da soja no Brasil

Dentre as espécies de interesse agronômico, a soja (*Glycine max (*L.) Merril) se destaca. É uma planta herbácea, pertencente à família Fabaceae, subfamília Faboideae, da classe Rosideae e ordem Fabales (Embrapa, 2021), tem como seu centro de origem e domesticação o nordeste da Ásia tendo sido disseminada para as outras regiões através das navegações (Chung e Singh, 2008).

A soja é a *commodity* mais produzida no mundo e um dos principais produtos de exportação do Brasil, em virtude da sua proteína ser utilizada na alimentação animal e o óleo na alimentação humana (HirakurI; Lazzarotto, 2014). Além disso estima-se que os altos investimentos em produzir soja no Brasil seja devido ao seu alto potencial nutritivo (proteína 40~43%) e a sua versatilidade, pois também é utilizada em indústrias químicas, cosméticas, produção de biodiesel (Boschiero, 2023) em virtude de atender a demanda e ter preços mais competitivos que outras espécies como amendoim e palma (César *et al.*, 2018). Muitos estudos indicam que os metabólitos secundários da soja podem ser benéficos à saúde humana, por possuir antioxidantes e anticancerígenos (Van die *et al.*, 2014).

Atualmente, o Brasil é considerado o maior produtor de soja mundialmente. Na safra atual de 2023/2024 a produção de grãos no país atingiu um total de 147.684,8 milhões de toneladas, o que representa uma redução de 4,5% à obtida na safra anterior (2022/2023), e com uma produtividade média de 3.229 kg/ha, semeado em uma área de 47.733,2 milhões de hectares, 3,8% superior a safra passada (Conab, 2024). A redução na produtividade é devida aos fenômenos climáticos adversos nos principais estados produtores do Brasil, apesar desse fator, a boa rentabilidade é o que estimula os produtores a cultivá-la, continuando a dominar o uso da terra no país (Oecd-fao, 2015).

As condições climáticas favoráveis, extensão territorial, topografia e as propriedades edáficas são os pilares da produção agrícola massiva dessa cultura no país. A fronteira agrícola composta pelo estado do Mato Grosso e a região de MATOPIBA (Maranhão, Tocantins, Piauí e Bahia) (Araújo *et al.*, 2019) são responsáveis por 69% de toda a soja produzida. Sua rápida expansão é devido ao valor econômico e ao melhoramento genético, fundamental no desenvolvimento de novas cultivares adaptadas as mais diferentes condições ambientais. No entanto,

apesar de boas produtividades, a produção de soja tem estado susceptível aos efeitos do ambiente, influenciando no seu desenvolvimento (Mertz-henning *et al.*, 2018). O aumento da temperatura média global e a ocorrência constante de fenômenos climáticos afetam diretamente sua produtividade e a qualidade dos grãos de soja (Mertz-henning *et al.*, 2018). Diante disso, essa cultura é amplamente afetada com as mudanças em virtude do déficit hídrico e veranicos mais intensos, fazendo com que tenha prejuízos econômicos (Pbmc, 2013). Assim, é crucial desenvolver estratégias que reduzam os impactos climáticos na cultura aliado a ganhos de produtividade (Bornhofen *et al.*, 2015).

Qualidade fisiológica de sementes de soja

A semente, diferente de um grão, possui atributos de qualidade genéticos físicos, fisiológicos e sanitários, garantindo um bom desempenho no campo o que é essencial para uma boa lavoura e como consequência atingindo altas produtividades. A semente de soja, para ser considerada de alta qualidade, deve apresentar características como vigor, germinação, longevidade, sanidade, pureza varietal e física em altos índices, além de não conter sementes de plantas daninhas e tudo isso combinado traz um bom desempenho das sementes no campo, gerando um bom estabelecimento da população de plantas de acordo com o potencial da cultivar, atingindo assim os tetos produtivos (KryzanowskI, 2004).

A aquisição dos componentes de qualidade fisiológica como vigor, germinação e longevidade é regulada geneticamente por vias de sinalização hormonal quando está ocorrendo o processo de desenvolvimento e maturação das sementes. E essa aquisição é amplamente afetada pelas fatores ambientais e intrínsecos (Ligterink; Joosen; Hilhorst, 2012; Finch-Savage; Bassel, 2016). Dentre os fatores que podem afetar a aquisição da qualidade fisiológica das sementes, pode-se citar alta intensidade e frequência dos períodos de seca em associação com altas temperaturas (Farias; Nepomuceno; Neumaier, 2007; Sternberg, 2011; Sheffield; Wood; Roderick, 2012).

O processo de germinação também é considerado muito importante para a qualidade fisiológica já que é a retomada do crescimento do embrião resultando na emergência da plântula. De acordo com Marcos Filho (2005), a germinação inicia com a protrusão da raiz primaria, mas alguns autores defendem que a germinação se inicia

com a absorção de água pela semente, ou seja, embebição e termina com o surgimento da raiz primária. E a retomada do crescimento é efetiva a partir do momento em que a semente é colocada em um substrato adequado para absorver água (Carvalho e Nakagawa, 2012).

Desse modo, Bewley e Black (1978) apresentaram um padrão trifásico de absorção de água, gerando assim a curva de embebição que é o processo inicial da germinação, sendo dividida em três fases. A fase I caracterizada pela transferência de água para a semente através do substrato pela diferença de potencial (Marcos Filho, 2005). Já a fase ll, a água é constante e começa a preparação e ativação do metabolismo. E por fim, a fase lll é quando há um aumento da presença de água na semente associada com a expansão celular e alongamento do eixo embrionário (Ferreira e Borghetti, 2004).

A *International Seed Test Association* (ISTA), após vários anos de discussão em relação ao conceito de vigor, visto que esse atributo envolve diversas características associadas ao comportamento da semente durante o processo de desenvolvimento da plântula, chegaram ao conceito mais aceito atualmente: “conjunto de propriedades que determinam a atividade e o desempenho de lotes de sementes com germinação aceitável, sob ampla variação de condições do ambiente” (Ista, 2015). E, com isso a qualidade fisiológica da semente de soja tem o vigor como um de seus principais atributos, quando se trata de implantação de uma lavoura visto que o uso de sementes vigorosas assegura um bom estabelecimento das plantas, as vezes mesmo em uma variação de condição ambiental durante a emergência (Tekrony e Egli, 1991), ao contrário de sementes de baixo vigor que podem gerar redução na velocidade de emergência, não trazendo uniformidade para a lavoura e no tamanho das plântulas o que reflete no desempenho da cultura ao longo de seu ciclo (Schuch e Lin, 1982; Schuch *et al.*, 1999; Machado, 2002; Vanzolini e Carvalho, 2002; Höfs, 2003).

O efeito do vigor das sementes sobre o rendimento dos grãos tem uma grande associação em relação a produtividade, podendo aumentar em até 9% usando semente certificadas e com alto vigor (Scheeren, 2002), e ainda há uma redução no rendimento dos grãos em virtude da utilização de sementes com baixo vigor (Kolchinski *et al.*, 2005).

Outra característica fisiológica é a longevidade, definida como o período em que uma semente pode permanecer viável quando armazenadas em condições

favoráveis. E o armazenamento deve estar intimamente ligado a preservação da qualidades fisiológica visto que durante o armazenamento começa a deterioração das sementes que compreende por várias alterações bioquímicas e fisiológicas após a maturação, que podem acarretar em redução do vigor e germinação.

Todavia, quando as condições de campo não são ideais, deterioração pode ocorrer, influenciado por fatores como: percevejos, umidade e danos mecânicos. O dano por umidade é devido as oscilações que ocorrem decorrente das chuvas, neblina, orvalho e quando se associa a temperatura elevada causa rugas no tegumento, por ocorrer hidratação e desidratação. Os danos por percevejos podem ser muito prejudiciais pois os mesmos injetam enzimas salivares nos tecidos da semente que pode resultar em necrose nas regiões afetadas (Kryzanowski, 2004). E daí vem a importância de se entender e desenvolver tecnologias para que os atributos fisiológicos tenham sua máxima expressão e minimizar os efeitos causados pelos estresses abióticos e bióticos durante a germinação, garantindo que a sementes tenham um bom desempenho em condições de campo.

Estresse abiótico

O estresse está relacionado a algum fator de ordem ambiental ou físico-químico, que pode provocar danos ao organismo alvo (Levitt, 1980), e pode ser definido como uma condição que inibe o correto funcionamento dos organismos vivos, como as plantas (Jones e Jones, 1989). De acordo com Poltronieri *et al.* (2011), o estresse causado por fatores abióticos (água, luz, temperatura, salinidade, etc.) tem relação com o rendimento das culturas, sendo o principal responsável pela queda na produtividade, ocasionando em perdas.

Com o aquecimento global, a ocorrência de seca e altas temperaturas têm se tornado um problema recorrente nas últimas safras, principalmente no Brasil, trazendo instabilidade para o sistema agrícola por afetar a disponibilidade dos recursos hídricos, colocando em risco a segurança alimentar (NOAA, 2016; Mousavi-Derazmahalleh *et al.*, 2019). E, altas temperaturas associada a períodos de seca, levam a queda das flores e prejudicam a fertilização comprometendo a formação de sementes ou formando sementes inviáveis (GIBSON e MULLEN, 1996).

Por sua vez, o estresse hídrico quando causado por um déficit se conceitua na não disponibilidade de água do solo para as plantas, gerando uma redução na absorção de água e alguns nutrientes pelo sistema radicular, acarretando em

prejuízos. Todas as sementes necessitam de água para germinar, para a planta se desenvolver e completar seu ciclo normalmente, sua falta acarreta em efeitos negativos no crescimento vegetal, causando inibição da fotossíntese, expansão do sistema radicular, entre outros. Além disso, em casos severos, de falta de água no solo, podem acarretar na morte da planta

Como mecanismo de proteção ao déficit hídrico, as plantas utilizam algumas estratégias para diminuir os danos, como o fechamento dos estômatos para reduzir a transpiração, enrolamento das folhas, senescência das folhas para diminuir área foliar, regulação osmótica e aparecimento de tricomas (Marenco e Lopes, 2005; Taiz e Zeiger, 2013).

Estudos, elaborados por Firmano, Kuwahara e Souza (2009), mostraram que o déficit hídrico diminui a taxa de fotossíntese liquida das plantas de soja, resultados semelhantes foram encontrados por Santos (2018).

A produção agrícola está relacionada a formação dos órgãos reprodutivos, como frutos e grãos, sua produtividade está associada a água com prejuízos, seja pelo excesso ou pela deficiência (Pimentel, 1998) uma vez que os processos de germinação da sementes, reprodução, floração e enchimento de grãos são estimulados pela disponibilidade de água no solo para as plantas. O principal meio da absorção dessa água é através do sistema radicular das plantas e desse modo possibilitando a distribuição da água para a parte aérea da planta via vaso condutor conhecido como xilema, sendo este encarregado do processo de levar a seiva bruta das raízes para folhas e caules (Taiz e Zeiger, 2009).

Diante disso, a água é um recurso com grande relevância para as plantas por atuar nos processos fisiológicos como o fotoquímico da fotossíntese, transporte e absorção de nutrientes pelos vasos condutores e isso leva a ser um recurso vital para o desenvolvimento das espécies vegetais, compreendendo cerca de 90 a 95% da biomassa verde das plantas. Atua também na manutenção funcional dos tecidos, células e organismos (Taiz e Zeiger, 2009; Chavarria e Santos, 2012). E, a água é recurso mais requerido pelas plantas para crescer e se desenvolver e também o que mais restringe, pois sem ela as plantas não conseguem completar seus processos fisiológicos para se manter viva.

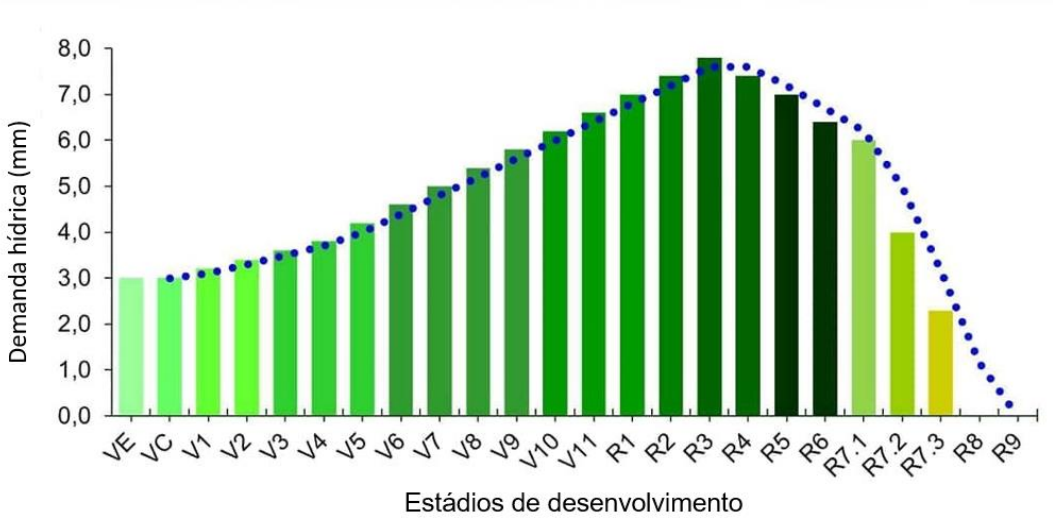
Demanda hídrica da soja

Para a implantação de qualquer cultura de interesse agronômico é necessário compreender sua necessidade hídrica, para estimar o volume de água durante o seu ciclo de desenvolvimento, a fim de minimizar as perdas.

A soja é composta de 90% de água em relação ao peso da planta, atuando em todos os processos fisiológicos e bioquímicos, responsáveis por reações durante o ciclo, mas que sua exigência se intensifica nos estádios de germinação/emergência e floração/enchimento de grãos (Farias *et al.*, 2007; Silva, 2013).

Na fase de germinação, que tem início no processo de embebição, a falta ou excesso de água são prejudiciais. Para uma boa germinação é necessário que a semente absorva 50% do seu peso em água, e isso é estimado de modo que o solo não deve estar acima de 85% ou abaixo de 50% da sua capacidade de retenção de água (Farias *et al.*, 2007; Silva, 2013), acarretando em danos por embebição e desuniformidade na emergência e formação das plantas na lavoura. A necessidade de água, vai aumentando com o desenvolvimento da cultura, sendo o máximo exigido na fase de floração e enchimento de grãos (R1 a R5) quando a planta necessita de cerca de 7 a 8 milímetros (mm) de água por dia. Após esses estádios, a necessidade de água fica menor (Farias *et al*., 2007), como é ilustrado na Figura 1.

Figura 1 - Demanda hídrica diária (mm) da soja por estádio vegetativo (V) e reprodutivo (R)



Fonte: Edemar Moro (2020).

Durante o ciclo a soja requer de 450 a 800 mm de água de maneira distribuída para atingir o seu máximo de produção, aliado a outras práticas agronômicas, como o suprimento nutricional. A necessidade de água é influenciada por fatores como o ciclo da cultivar, tipo de solo, condições climáticas, entre outros. O clima é um fator em que não tem como se ter controle quando em condições reais de campo e sem sistema de irrigação. É valido que a cultivar seja semeada em sua época recomendada para evitar os riscos climáticos e uma tática de defesa contra os veranicos é adotar práticas que favorecem o armazenamento de água no solo, para que esteja disponível nos momentos de maior necessidade (Embrapa, 2021), no entanto, nem sempre é possível devido aos fenômenos climáticos.

Efeito do déficit hídrico durante a germinação das sementes e emergência de plântulas

As plantas quando expostas a déficit hídrico têm mudanças na sua anatomia, na fisiologia e na bioquímica e o grau de severidade e intensidade depende do tipo da planta e o período de duração desse estresse hídrico (Araújo *et al*., 2010), podendo afetar todos os estádios de desenvolvimento, iniciando na germinação até o final do ciclo, em que alguns são mais críticos. No entanto, existem plantas que são adaptadas ao déficit hídrico, seja como uma forma de sobrevivência natural ou favorecidas pelo homem, através de técnicas de melhoramento genético e assim desenvolvem

estratégias, para sobreviver, da ordem fisiológica e morfológica, sendo consideradas resistentes ou tolerantes a seca (Doss *et al*., 2009).

A primeira etapa na sequência dos eventos que levam a germinação, é a embebição, caracterizada pela absorção da água do ambiente pela semente, comandada pelo potencial matricial. A limitação da água pode diminuir a velocidade ou até mesmo impedir a germinação (Moterle *et al.*, 2008). Quando ocorre falta ou redução da capacidade de embebição das sementes por déficit hídrico, a germinação é afetada de forma negativa, causando emergência desigual, estabelecimento inicial insatisfatório das plântulas e consequentemente a redução na produtividade da cultura. (Souza *et al.*, 2016; Lawles *et al.*, 2012; Steiner *et al.*, 2017).

Quando em condições de campo, o ambiente nem sempre oferece uma condição ótima para a germinação e isso está relacionado com a falta de água após a semeadura (Coelho *et al.*, 2010). Nesse cenário, o solo apresenta potenciais hídricos que dificultam a absorção necessária para a germinação das sementes (Machado Neto *et al.*, 2006), resultando em déficit hídrico logo após a semeadura, um dos principais fatores abióticos que afetam o processo germinativo, interferindo na atividade enzimática da planta (Garcia *et al.*, 2012). Potenciais hídricos muito negativos, especialmente durante a fase inicial de embebição, impactam a absorção de água pelas sementes, potencialmente interrompendo o desdobramento dos eventos do processo germinativo (Mikusinski, 1987).

Com isso, justifica-se que o processo germinativo das sementes e o desenvolvimento de plântulas representam um papel importante dentro do processo produtivo.

Alterações fisiológicas e morfológicas

Quando são realizadas semeaduras antecipadas aos períodos recomendado, há chances de ocorrer um déficit hídrico, e em sementes de baixo vigor, quando expostas a esse déficit, apresentam alterações fisiológicas em virtude das mudanças bioquímicas, como a diminuição do metabolismo respiratório, levando a baixa absorção de oxigênio, maior permeabilidade das membranas celulares fazendo com que haja uma maior perda de metabólitos orgânicos e inorgânicos da semente, além da diminuição da síntese de proteínas e polissacarídeos (Nóbrega *et al.*, 1998).

O desempenho de sementes de soja após a semeadura sob déficit hídrico está correlacionado com o potencial fisiológico (germinação, vigor e longevidade) e o vigor

é mais afetado que a germinação para um mesmo nível de potencial hídrico (Braccini *et al.,* 1998).

Em um trabalho realizado por Soares *et al.*, (2015), a germinação e o vigor das sementes de soja foram reduzidos sob condições de estresse, seja déficit hídrico ou salino, no entanto, se as sementes estão vigorosas, tendem a ser mais resistentes às condições de déficit hídrico (Sá, 1987). Já Costa *et al.* (2004) viram que com a redução do potencial hídrico (disponibilidade de água), o desenvolvimento das plântulas é mais afetado que a germinação. E quando ocorre déficit hídrico em estádios posteriores, como no reprodutivo (Desclaux; Huynh; Roumet, 2000), há uma redução na fase de enchimento de grãos, correlacionado com o acumulo de massa de matéria seca (Desclaux e Roumet, 1996), na altura de planta, no número de vagens, na produtividade e danos aos órgãos fotossintéticos (Costa *et al.,* 2004; Hu e Wiatrak, 2012), além de causar mudanças na expansão celular, na regulação estomática, na fotossíntese, na respiração, na translocação de substâncias e na síntese da parede celular (Kramer, 1995). Ademais, estudos demonstraram que, duas cultivares de soja quando produzidas com e sem déficit hídrico, a longevidade das sementes reduziu durante o armazenamento, com redução da viabilidade entre 13-11%, quando comparado ao controle (Ducatti, 2019).

Em situações de emergência de plântulas sob condições de déficit hídrico, as plântulas fecham seus estômatos como mecanismo de defesa, para que a pouca água que está sendo absorvida não seja perdida por transpiração e continue dentro da plântula para serem utilizadas nos processos metabólicos. No entanto, isso afeta seu metabolismo em virtude de a temperatura interna aumentar, prejudicando sua produtividade. Ainda, podem modificar a abertura e posição das folhas, alterando a interceptação da luz solar, redução da fotossíntese e em casos mais extremos pode ocasionar murcha permanente da planta, abscisão das folhas e senescência prematura (Canfalone e Dujmovich, 1999; Taiz e Zeiger, 2009; Gonçalves, 2013).

E com alterações na morfologia, histologia, citologia e fisiologia da planta, as diferentes espécies desenvolvem mecanismos para enfrentar o déficit hídrico, de modo a evitar ou tolerar (Machado, 2004). O déficit hídrico desencadeia vários eventos fisiológicos na planta, como a redução do potencial hídrico foliar, fechamento dos estômatos que reduz a condutância estomática e concentração interna de CO_2, refletindo na diminuição da taxa fotossintética (Hong-Bo, 2008).

De modo geral, a resposta das sementes colocadas para germinar sob deficiência hídrica tem se mostrado dependente da qualidade fisiológica e quanto menor a qualidade fisiológica piores são o desempenho (Parmar e Moore, 1968 e Matthews & Powell, 1986) em condições de estresse.

Regulação osmótica

O acúmulo intracelular de solutos osmoticamente ativos, ou seja, a capacidade das partículas atrair água é o mecanismo de ajuste mais importante adotado pelas plantas que toleram as condições de déficit hídrico (Turner 1986; Chaves Filho; Seraphin, 2001). Esse mecanismo é conhecido por ajuste osmótico, principal resposta das plantas ao estresse hídrico e tem correlação com o grau de resistência. Esse mecanismo é eficaz na manutenção da turgescência celular, pois permite a abertura estomática e fotossíntese, mesmo sob baixo potencial hídrico, o qual foi observado em diversas espécies vegetais (Turner,1986; Kramer, 1995). O ajuste osmótico não faz com que a fotossíntese seja reduzida em condições de déficit hídrico, mas sim a turgescência é preservada, permitindo que a fotossíntese e outras atividades da ordem metabólica e fisiológica ocorram, mesmo que em baixa intensidade (Palta *et al.*,1994).

Neste processo, ocorre a biossíntese e o armazenamento de solutos compatíveis, seja no citosol ou vacúolo da célula, o qual irá desempenhar função osmoprotetora, mantendo o equilíbrio hídrico e protegendo a integridade celular de proteínas, enzimas e membranas para a continuidade das suas atividades fundamentais. Essa estratégia representa uma das adaptações das plantas para lidar com os efeitos provocados pelos estresses (Abdul Jaleel *et al*., 2007).

De acordo com Morgan (1984), a influência dos solutos no ajuste osmótico, varia de acordo com a espécie. Por exemplo, em forrageiras tropicais, o potássio e o cloro são os que mais contribuem para esse mecanismo (Ford e Wilson, 1981). Em contrapartida, estudos realizados com soja, foi observado que os aminoácidos e açúcares foram identificados como os principais agentes osmóticos (Meyer e Boyer, 1981). O acúmulo dos solutos ativos intracelularmente tem maior eficiência na diminuição do potencial hídrico do que na diminuição da perda de água pela célula e, a adição de solutos é responsável pela redução de até metade do potencial hídrico, fazendo com que ocorra o funcionamento do aparelho fotossintético das plantas, tornando possível o crescimento radicular mesmo em baixos potenciais hídricos que

seriam impedidos. Os solutos correspondem de 60 a 100% do ajuste osmótico, atuando como osmoprotetores (Kramer, 1995; Turner, 1997). Diversas substâncias possuem função osmoprotetora, no que se destacam a trealose, a glicina betaína e a prolina (El-Bashiti *et al.*, 2005).

Função dos osmoprotetores

Os osmoprotetores são moléculas orgânicas pequenas, eletricamente neutras, altamente solúveis e de baixa toxicidade. Eles podem se acumular em grandes quantidades nas células e levando ao equilíbrio do meio intracelular quando uma condição osmótica é desfavorável, não interferindo nas vias metabólicas celulares devido a sua alta solubilidade (Ahn; Park; Park, 2011). Essas moléculas causam adaptações ao meio celular devido aos estresses ambientais, principalmente em condições de déficit hídrico e salinidade onde há um desequilibro osmótico, aumentando as chances de sobrevivência do organismo (TiwarI *et al*., 2010; Lang, 2007). Vários estudos demonstram a eficácia dos osmoprotetores em variadas condições de déficit hídrico (Parida *et al*., 2008; Li *et al*., 2012; Shahbaz *et al*., 2013; Filippou *et al*., 2014). Eles podem ser classificados em três categorias: aminoácidos (prolina, ectoína), compostos de amônia (glicina-betaína, poliaminas, b-alanina betaína) e açucares polióis (trealose, mio-inositol, sorbitol, manitol, frutano) (Ashraf; Foolad, 2007). Todos exercem funções na resposta ao estresse ambiental, contribuindo para a produtividade das culturas (Reguera; Peleg; Blumwald, 2012; Jain, 2013).

Trealose

A trealose é um açúcar não redutor de dissacarídeo com duas moléculas de glicose, encontrado em todos os organismos, exceto nos vertebrados (Elbein, 1974). Nos vegetais esse açúcar desempenha funções importantes quando há presença de estresse, principalmente déficit hídrico e salino (Garcia *et al*., 1997; Ali e Ashraf, 2011; Duman et al., 2011) e o seu primeiro relato foi em plantas de *Myrothamnus flabellifolius* (Drennan *et al*., 1993) e *Selaginella tamariscina* (Liu; Chien; Lin, 2008).

A trealose está relacionada com a proteção contra patógenos e estresses abióticos, sendo sintetizada pelas plantas e capaz de promover a formação de um fluido que protege a membrana celular da desidratação (Feofilova *et al*., 2014), além de ser capaz de formar ligações de hidrogênio e promover estabilidade química das

células (Roser, 1991; Almeida *et al.*, 2007). Em ensaios com rabanetes submetidos a déficit hídrico, a aplicação de trealose via foliar e tratamento de sementes resultou no aumento do comprimento das raízes e da biomassa, além de reduzir a permeabilidade da membrana e promover acúmulo de alguns nutrientes essenciais para o crescimento, como o potássio, cálcio e fósforo (Akram *et al*., 2015). Em síntese, a trealose é responsável pela osmorregulação, tolerância à dessecação, fonte de reserva, termo tolerância e regulação do crescimento e desenvolvimento do vegetal (Ilhan; Ozdemir; Bor, 2015).

Além disso, é considerada uma molécula sinalizadora, com característica antioxidante, possuindo um papel na defesa dos genes envolvidos na desintoxicação e resposta a estresse (Bae *et al*., 2005). Desse modo, devido a sua importância, frente aos estresses abióticos, a trealose vem sendo amplamente estudada (Garg *et al.*, 2002; Tang *et al.*, 2018; Wang; Ouyang; Wang, 2019; Acosta-Peres *et al.,* 2020).

Trealose e sua interação com as plantas

A trealose tem alta relevância no metabolismo e crescimento vegetal, mas, sob altas concentrações, ocorre a indução da enzima trealase (treA) a qual catalisa a trealose em duas moléculas de glicose (Garg et al., 2002; Fernandez *et al.,* 2010).
Em plantas de arroz, o uso de trealose elevou os teores de açucares solúveis aumentando a tolerância ao déficit hídrico e ao estresse salino (GArg *et al.,* 2002; Fernandez *et al.,* 2010). Ainda, nas plantas milho pode auxiliar na formação da inflorescência, e aumentar a tolerância a estresses como salino e ao déficit hídrico (Satoh-Nagasawa *et al.,* 2006; Zhou *et al.,* 2014). A aplicação foliar de trealose em nabo forrageiro aumentou a biomassa (Akram *et al.,* 2015). Em plantas de trigo a trealose conferiu maior tolerância a seca e reduziu o acúmulo de EROs (Luo *et al.,* 2018). Muitos estudos demonstraram que algumas culturas têm obtido ganhos significativos com a aplicação da trealose (Zeid, 2009; Ibrahim e Abdellatif, 2016; Akram *et al.*, 2016; Asaf, 2017). Ademais, a manipulação das vias bioquímicas e das enzimas responsáveis pela metabolização da trealose, combinada ao melhoramento genético, resultou em avanços significativos na produção global, fortalecendo a resistência e a capacidade de tolerância dos cultivares a diversos tipos de estresses (Lunn *et al*., 2014; Paul *et al.*, 2015; Zhao *et al.*, 2019).

A trealose também foi observada em nódulos de *Medicago truncatula*, *Phaseolus vulgaris* (feijão-comum) e *Glycine max* (soja), constatando seu acúmulo em resposta ao estresse hídrico (Streeter e Gomez, 2006; Lopez *et al.*, 2008; Suarez *et al.*, 2008). A produção de trealose pela soja durante o início da fixação biológica do nitrogênio pode ser uma resposta ao estresse provocado pela colonização ou infecção bacteriana, sugerindo a presença de condições que resultam em estresse (Muller *et al*., 1996). E, plantas de tabaco, batata e tomate modificadas geneticamente com genes envolvidos na biossíntese de trealose, são altamente resistentes à seca, baixa e alta temperatura, salinidade e ao estresse oxidativo (Yeo *et al.,* 2000; Almeida *et al.,* 2005; Cortina e CulianeZ-Macia, 2005).

Uso de bioestimulantes na agricultura

Os bioestimulantes podem ser definidos como a mistura de reguladores vegetais ou biorreguladores com substâncias como sais minerais, extratos de algas, microrganismos, aminoácidos e açúcares (Dabadia, 2015). Em virtude de os fatores climáticos não serem controlados, algumas técnicas de manejo têm sido utilizadas, como o uso de bioestimulantes contendo osmoprotetores, que atuam nas respostas às condições de estresse, aumentando a produtividade e a resistência das plantas aos estresses hídricos e climáticos (Albrecht *et al*., 2012; Mariani *et al.*, 2017).

Essas substâncias são eficazes porque promovem um desempenho benéfico nos processos vitais da planta e permitem o desenvolvimento adequado das plantas (Casillas *et al.,* 1986; Zhang *et al*., 2016), quando aplicados de maneira exógena (via tratamento de sementes, solo ou foliar) precisam ser absorvidos para exercer sua atividade e possuem ações similares aos grupos de hormônios vegetais, como as auxinas, giberelinas, citocininas, etc. (Castro e Vieira, 2001; Taiz e Zeiger, 2009). No entanto, sua ação depende dos fatores climáticos e características da planta (Vieira e Monteiro, 2002), atuando em processos fisiológicos ou morfológicos, como a germinação, estabelecimento de plantas, crescimento vegetativo, florescimento, frutificação e senescência (KLAHOLD *et al*., 2006).

De acordo com Rodrigues *et al.* (2015), essas substâncias ajudam em uma maior absorção de água e nutrientes, possibilitando um menor efeito quando da ocorrência de períodos de déficit hídrico ao longo do ciclo da cultura. Assim, os bioestimulantes tem um maior impacto quando as plantas estão cultivadas em condições de estresse, seja hídrico, térmico ou nutricional, entre outros (Lana *et al*.,

2009). Alguns trabalhos tem constatado o efeito de bioestimulantes como uma ação promotora na cultura da soja (Ávila *et al*., 2008; Moterle *et al*., 2008), mostrando resultados relevantes ao desempenho das plantas, componentes de produção e qualidade de sementes.

Além disso, esses bioestimulantes, por conter osmoprotetores, estabilizam as proteínas e estruturas celulares mantendo sua turgescência por meio do equilíbrio osmótico, sem que afete os processos celulares (GalinskI, 1995; Quiñones, *et al.*, 2005; Kurz, 2008).

CAPÍTULO 1

OSMOPROTETOR COMO ESTRATÉGIA PARA MITIGAR O EFEITO DO DÉFICIT HÍDRICO EM SEMENTES DE SOJA (*Glycine max*) DURANTE O PROCESSO DE GERMINAÇÃO

RESUMO

O déficit hídrico durante a fase inicial de germinação, considerado um fenômeno crítico, é problemático pois é nesse estádio que as sementes necessitam absorver água para ativar seu metabolismo e iniciar a germinação. A falta de água nesse momento implica significativamente no estabelecimento inicial das plantas e, consequentemente, na produção agrícola, representando assim um problema para a agricultura. Perante a esses desafios, é necessário buscar estratégias para driblar os efeitos do déficit hídrico. O objetivo desse estudo foi encontrar uma melhor concentração de produtos à base de um osmoprotetor, avaliar seu efeito na germinação e vigor de sementes tratadas em condições de déficit hídrico simulado e também na longevidade das sementes durante o armazenamento. Inicialmente, obteve-se uma curva de concentração utilizando um produto desenvolvido pelo autor, selecionando várias concentrações. Em seguida, foram avaliados os efeitos das concentrações selecionadas em quatro produtos (FP, F2, F4 e F6), excluindo F2. A partir disso, as sementes tratadas e germinadas com 2 mm de raiz primária foram submetidas a um período de estresse osmótico com PEG 6000, durante 72 horas a um potencial osmótico de -1,7 MPa e na temperatura de 10ºC, avaliando parâmetros de germinação e vigor. Simultaneamente, foi conduzida a avaliação da longevidade das sementes, avaliando a cada 30 dias, em que foi determinado o P_{50} (período em dias para que o lote de sementes armazenado perde 50% de sua viabilidade). Os resultados indicaram que as concentrações selecionadas e os produtos contendo água e o osmoprotetor em sua formulação promoveram um efeito positivo sob condições de déficit hídrico pós-germinação, melhorando o desempenho das plântulas. Além disso, observou-se que os mesmos produtos também contribuíram para uma longevidade superior das sementes.

Palavras-chave: soja; germinação; déficit hídrico; osmoprotetor; fisiologia.

ABSTRACT

Water deficit during the initial germination phase, considered a critical phenomenon, is problematic because it is at this stage that seeds need to absorb water in order to activate their metabolism and begin germination. A lack of water at this stage significantly affects the initial establishment of plants and, consequently, crop production, thus posing a problem for agriculture. Faced with these challenges, it is necessary to look for strategies to overcome the effects of water deficit. The aim of this study was to find the best concentration of products based on an osmoprotectant, to evaluate their effect on the germination and vigor of seeds treated under simulated water deficit conditions and also on the longevity of the seeds during storage. Initially, a concentration curve was obtained using a product developed by the author, selecting various concentrations. Next, the effects of the selected concentrations were evaluated in four products (FP, F2, F4 and F6), excluding F2. After this, the treated and germinated seeds with 2 mm of primary root were subjected to a period of osmotic stress with PEG 6000 for 72 hours at an osmotic potential of -1.7 MPa and a temperature of 10ºC, assessing germination and vigor parameters. At the same time, the longevity of the seeds was assessed every 30 days, in which the P50 (period in days for the stored batch of seeds to lose 50% of its viability) was determined. The results indicated that the selected concentrations and the products containing water and the osmoprotectant in their formulation had a positive effect under conditions of post-germination water deficit, improving seedling performance. In addition, it was observed that the same products also contributed to superior seed longevity.

Keywords: soybean; germination; water deficit; osmoprotectant; physiology.

1.1 INTRODUÇÃO

As culturas de interesse agronômico para serem produzidas, começam com a semeadura de uma semente e assim é estabelecido uma planta no campo. No entanto, as mudanças climáticas globais estão ameaçando o sistema agrícola, afetando negativamente o desenvolvimento das culturas, colocando em risco a segurança a alimentar (Noaa, 2016). Um destaque para a cultura da soja (*Glycine max*), principal commodity produzida no Brasil, cujos produtos e subprodutos possuem importância socioeconômica tanto no mercado interno quanto externo, sendo necessário criar estratégias para driblar o efeito negativo das mudanças climáticas, visto que os estresses abióticos afetam gravemente o crescimento e metabolismo das plantas (Hussain et al., 2008 , Munns e Tester, 2008 , Türkan e Demiral, 2009). Dentre os estresses abióticos, pode-se citar o déficit hídrico que traz uma limitação no desenvolvimento das culturas pela falta de água. E isso ocorre porque a água participa de diversos eventos metabólicos que permitem crescimento e desenvolvimento das plantas (Kucharik, 2016). O déficit hídrico quando associado a germinação das sementes, causa prejuízo no estabelecimento inicial das plântulas expandindo para o ciclo da cultura (Lawles *et al*., 2012; Souza *et al*., 2016; Steiner *et al*., 2017) por ser uma fase muito sensível a falta de água.

Como no ambiente à campo não há um controle de água em áreas não irrigadas, o processo germinativo da semente pode ser afetado com a falta de água após a semeadura, acarretando em dificuldade na absorção de água necessária para germinação de sementes, resultando em estresse hídrico e no interrompimento dos eventos do processo germinativo (Mikusinski, 1987; Machado Neto *et al*., 2006; Coelho *et al*., 2010; Machado Neto *et al*., 2006). O uso de osmoprotetores pode reduzir os efeitos do estresse causado pela falta de água. Esses compostos são moléculas orgânicas pequenas, neutras, solúveis e de baixa toxicidade, que se acumulam nas células, promovendo um equilíbrio que não interfere no metabolismo (Ahn; Park; Park, 2011).

Essas moléculas orgânicas irão funcionar como osmólitos, que estabilizam as estruturas celulares em condições de estresse, um exemplo é a trealose (Türkan e Demiral, 2009; Fernandez *et al*., 2010 , Smeekens *et al*., 2010 , Trouvelot *et al*., 2014). A trealose é um açúcar não redutor encontrado nas plantas, nas quais desempenha funções importantes na presença de estresse (hídrico e salino), neutralizando seus

efeitos de forma a causar uma proteção das estruturas das plantas frente a condições de seca, considerado um osmoprotetor (Elbein, 1974; Jain e Roy, 2010). No entanto, sua concentração, quando encontrada, é baixa nas plantas, mas necessária para evitar os estresses ocasionados pela seca, e o fornecimento de trealose tem o intuito de aumentar o sistema defesa das plantas (Fernandez *et al*., 2010; Ponnu *et al*., 2011; Redillas *et al*., 2012).

Associado a isso, como uma forma de amenizar o efeito do déficit causado durante a germinação das sementes de soja, a pesquisa teve por objetivo avaliar a qualidade fisiológica de sementes tratadas com trealose e seu efeito em condições simuladas de estresse hídrico além de selecionar concentrações de produtos contendo trealose e o efeito das sementes tratadas na longevidade durante o armazenamento.

1.2 MATERIAL E MÉTODOS

As sementes de soja utilizadas neste trabalho foram produzidas durante a safra 2021/2022, no município de Itapeva – São Paulo. Utilizou-se a cultivar NEO 610 IPRO adquiridas comercialmente, as quais foram produzidas em condições de campo, colhidas mecanicamente, beneficiadas, e transportadas ao Laboratório de Análise de Sementes da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), campus de Botucatu - São Paulo, Brasil. No laboratório foram armazenadas em câmara fria à temperatura de 10±5 ºC e umidade relativa de 50-60% para a realização da avaliação inicial e condução dos experimentos.

1.2.1 Tratamento de sementes

O procedimento de tratamento das sementes foi iniciado com a disposição das sementes em um saco plástico transparente. Em seguida, o produto a ser utilizado foi aplicado na dose adequada, proporcional à quantidade de sementes a serem tratadas. Após a aplicação, o saco foi fechado manualmente, e uma etapa de homogeneização foi realizada, envolvendo a agitação do saco por mais de dois minutos. Este processo garantiu uma distribuição uniforme do produto sobre todas as sementes, até que estas apresentassem um aspecto de tratadas. As sementes foram então deixadas em repouso durante pelo menos 12 horas, antes de serem utilizadas, assegurando a absorção adequada do tratamento.

1.2.2 Determinação das concentrações de trealose usadas

Para determinação da resposta a formulação pura (FP) foi construída uma curva de diferentes concentrações, com intuito de selecionar concentrações a serem conduzidas durante a pesquisa, produto elaborado pelo autor. O FP é um produto composto por trealose e água destilada. O ingrediente ativo foi pesado em uma balança analítica, de acordo com a quantidade especificada para cada concentração. Em seguida, diluído e armazenado em condições ambiente, protegido da luz solar e da umidade.

A fim de visualizar o efeito das diferentes concentrações na qualidade fisiológica (germinação e vigor), o vigor das sementes foi reduzido artificialmente de modo semelhante ao teste de envelhecimento acelerado. Para isso, as sementes foram dispostas sobre telas de alumínio encaixadas em caixas plásticas do tipo gerbox contendo 40 mL e levadas para a câmara B.O.D (Biochemical Oxygen Demand) à 41 ºC por 60 horas, criando um ambiente de alta umidade relativa (95%) e alta temperatura (41 ºC).

As sementes foram tratadas com a FP nas diferentes concentrações: 30, 60, 120, 150, 180, 210, 240, 270, 300 milimol (mmol) e testemunha (água) conforme procedimento descrito no item 2.1. e avaliando o seu efeito na qualidade fisiológica das sementes através dos testes de germinação (plântulas normais, anormais, sementes mortas/duras e dormentes), primeira contagem de germinação, classificação do vigor de plântulas (fortes e fracas), comprimento de parte aérea e da raiz, massa da matéria seca de parte aérea e da raiz, protrusão da raiz primária e T50 (tempo médio para ocorrência de 50% de germinação).

1.2.3 Concentrações selecionadas a partir da formulação pura

O ingrediente ativo (D-trealose) dos produtos utilizados durante a condução do experimento foi fornecido pela empresa Nagase do Brasil Comércio de Produtos Químicos Ltda. E, os produtos contendo esse ingrediente ativo, formulação pura (FP: D-trealose + água destilada), formulação 2 (F2: D-trealose + surfactante siliconado), formulação 4 (F4: D-trealose + surfactantes) e formulação 6 (F6: D-trealose + água) foi elaborado e cedido por uma indústria química. A dose utilizada para o tratamento de sementes foi de 10mL/kg de sementes.

Com isso foi possível, avaliar o efeito das concentrações selecionadas e dos produtos na qualidade fisiológica (germinação e vigor) das sementes. Para isso, houve a necessidade de realizar uma diluição com água destilada dos produtos (F2, F4 e F6) para diminuir a concentração do soluto que inicialmente era de 185 mmol e obter as concentrações selecionadas. Foi reduzido o vigor das sementes utilizadas para avaliar esse efeito, de modo semelhante ao descrito no tópico anterior (2.2). No entanto, foi aumentado o tempo de exposição das sementes de 60h para 72h na presença de alta umidade (95%) e temperatura de 41º C.

Os tratamentos das sementes foram compostos por: T1 (água destilada – testemunha), T2 (FP –120mmol), T3 (FP –180 mmol), T4 (F2 – 120mmol), T5 (F2 – 180 mmol), T6 (F4 – 120 mmol), T7 (F4 – 180 mmol), T8 (F6 – 120 mmol) e T9 (F6 – 180 mmol), e realizado conforme descrito no item 2.1. A avaliação foi realizada por meio de testes de: germinação (plântulas normais, anormais, sementes mortas/duras e dormentes), primeira contagem de germinação, classificação do vigor (plântulas fortes e fracas), comprimento de parte aérea e raiz, massa seca de parte aérea e raiz, protrusão da raiz primária e T50.

1.2.4 Simulação de déficit hídrico utilizando Polietilenoglicol 6000.

Para a simulação do déficit hídrico utilizou-se o Polietilenoglicol 6000 (PEG 6000) da empresa Sigma-Aldrich e foi preparada uma solução com potencial osmótico de -1,7 MPa à 10ºC de acordo com a tabela citada por Villela et al., (1991).

As sementes utilizadas foram tratadas com T1 (água destilada – testemunha), T2 (FP – 120 mmol), T3 (FP – 180 mmol), T4 (F4 – 120 mmol), T5 (F4 – 180 mmol), T6 (F6 – 120 mmol) e T7 (F6 – 180 mmol), conforme descrito no item 2.1. Após, as sementes tratadas foram colocadas para germinar de modo semelhante ao teste de germinação por rolo de papel (RP), descrito na Regra para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), no entanto como critério de avaliação foi a emissão da raiz primária até atingir 2 mm de comprimento. Posteriormente, as sementes foram transferidas para placas de Petri entre papéis filtro qualitativo (duas folhas abaixo e uma recobrindo) e umedecidos com 25 mL de solução de PEG 6000, quantidade suficiente para umedecer e recobrir as sementes, levando-as para germinador tipo B.O.D por 72 horas.

Em seguida, foi retirado o excesso de PEG 6000 das sementes com auxílio de um papel toalha e submetidas ao teste de germinação por meio do método rolo de

papel (plântulas normais e anormais), primeira contagem de germinação, classificação do vigor (plântulas fortes e fracas), precocidade da raiz primária (> 3 cm e > 6 cm – 24 horas e 48 horas depois da instalação, respectivamente), comprimento de parte aérea e raiz, massa de matéria seca de parte aérea e raiz e teor de água.

1.2.5 Avaliação da qualidade física e fisiológica das sementes

1.2.5.1 Determinação teor de água

As sementes foram avaliadas quanto ao teor de água através do método da estufa a 105 ± 3ºC (Brasil, 2009) com quatro repetições de 20 sementes durante 24 horas e os resultados expressos em porcentagem de água em base úmida.

1.2.5.2 Germinação

- Protrusão da raiz primária: Consistiu na utilização do substrato papel Germitest® utilizando o modo rolo de papel por repetição, sendo 4 repetições com 50 sementes por tratamento e umedecidas com água destilada (2,5 vezes o peso do papel seco) e mantidos em câmara de germinação tipo B.O.D. no escuro à 25ºC e avaliado, ao final do oitavo dia, sementes germinadas com raiz primária maior que 2 milímetros. Os dados foram expressos em porcentagem.

- Germinação padrão (plântulas normais e anormais): Realizado de maneira similar a protrusão da raiz primária e diferenciando apenas na forma de avaliação, tendo como base os parâmetros descritos na RAS (Brasil, 2009) para considerar uma plântula normal ou anormal. Os resultados foram expressos em porcentagem. Para a simulação do déficit hídrico empregando PEG 6000, utilizou-se 4 repetições de 25 sementes.

- Sementes mortas: Realizado concomitantemente com o teste de germinação, ao final da avaliação verificou-se a presença de sementes mortas, ou seja, aquelas que não germinaram. Os resultados foram expressos em porcentagem.

1.2.5.3 Precocidade da emissão da raiz primária

Para condução deste teste foram utilizadas 4 repetições de 25 sementes para cada tratamento. O substrato utilizado foi papel Germitest® e umedecidos com quantidade de água destilada equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco, após isso

foram confeccionados os rolos de papel (RP) e mantidas em câmara de germinação tipo B.O.D. regulada a temperatura de 25ºC, de modo semelhante ao descrito na RAS (Brasil, 2009). Contabilizando o número de sementes que desenvolveu raiz primária, após 24 e 48 horas do início do teste. Os resultados foram expressos em porcentagem.

1.2.5.4 Primeira contagem de germinação

Realizado concomitante ao teste de germinação, consistiu em utilizar três folhas de papel do tipo Germitest® por repetição de 50 sementes umedecidas com água destilada 2,5 vezes o peso do papel seco, dispondo as sementes sobre duas folhas de papel e uma para recobrir e assim formando um rolo levado para a câmara de germinação tipo B.O.D. à 25ºC, avaliou-se depois de 5 dias as plântulas que são consideradas normais de acordo com a RAS (Brasil, 2009), expressando os resultados em porcentagem. Para simulação do déficit hídrico com PEG 6000 foi realizado o mesmo procedimento com 4 repetições de 25 sementes.

1.2.5.5 Classificação de vigor de plântulas(fortes e fracas)

Instalado e conduzido concomitantemente com o teste de germinação sendo 4 repetições de 50 sementes, diferenciando-se apenas na maneira de avaliar em que aos 5 e 8 dias foram contabilizadas as plântulas fortes e aos 8 dias as plântulas fracas (Abrates, 2021). Da mesma maneira, para simulação do déficit hídrico com PEG 6000 utilizou-se 4 repetições de 25 sementes. Os resultados foram expressos em porcentagem.

1.2.5.6 Determinação do comprimento e massa de matéria seca de raiz e da parte aérea de plântulas

Foram utilizadas três folhas de papéis do tipo Germitest® duas para a base e uma para recobrir umedecidos com água destilada 2,5 vezes o peso do papel seco e com o auxílio de um lápis cópia foi feito um risco no terço médio da folha base e colocada 10 sementes voltadas com o hilo para a parte inferior do papel com o intuito de orientar o crescimento da plântula em linha reta (Nakagawa, 2000) em uma distância de 2 centímetros entre as sementes formando assim um rolo o que representou uma repetição e levados para a câmara B.O.D. à 25ºC mantidos verticalmente por 6 dias, e posteriormente com auxílio de uma régua milimétrica foi

medido o comprimento da parte área e raiz separadamente, sendo os resultados expressos em centímetros. Com as plântulas obtidas através do comprimento de plântulas, foram levadas para a estufa de circulação de ar à 60ºC por 72 horas e pesadas em balança de precisão 0,0001g.

1.2.5.7 Tempo médio para ocorrência de 50% de germinação (T50)

Para condução do teste foram utilizadas placas de Petri contendo 3 folhas de papel filtro qualitativo e umedecidas com a quantidade de água destilada 2,5 vezes o peso do papel seco, com 4 repetições por tratamento de 25 sementes, acondicionados em sacos plásticos e levando-as para a câmara de germinação tipo B.O.D., avaliando a cada 6 horas até que 50% das sementes viáveis atingisse um comprimento de raiz primária igual ou maior que 2 milímetros. O tempo (em horas), para que ocorresse 50% de germinação das sementes, foi calculado por meio do software Germinator (Joosen *et al*., 2010).

1.2.5.8 Emergência e Índice de Velocidade de Emergência (IVE) em areia

Realizado em canteiros contendo areia de granulometria fina. Na semeadura foram abertos sulcos com auxílio de um “gabarito” com 2 cm de profundidade e espaçados de 4 cm entre si, utilizando 50 sementes por repetição, totalizando 4 repetições por tratamento. O teste foi conduzido por 14 dias e diariamente era contabilizado o número de plântulas que romperam a superfície do solo. O teste não houve controle de temperatura e a umidade do canteiro mantida com irrigações moderadas.

Para o cálculo do IVE foi utilizado a formula proposta por Maguire (1962) IVE = (G1/N1)+ (G2/N2) + ... + (Gn/Nn), em que: IVE = índice de velocidade de emergência; G = número de plântulas computadas nas contagens; N = número de dias da semeadura à 1ª, 2ª...14ª avaliação. E o número final de plântulas emergidas foi transformado em percentagem de emergência.

1.2.6 Avaliação da longevidade

Para caracterização da longevidade das sementes, os seguintes tratamentos foram aplicados: T1 (água destilada – testemunha), T2 (FP – 120 mmol), T3 (FP – 180 mmol), T4 (F4 – 120mmol), T5 (F4 – 180 mmol), T6 (F6 – 120 mmol) e T7 (F6 – 180 mmol). O tratamento das sementes foi realizado conforme descrito no item 1.2.1. e

armazenadas em sacos de papel Kraft em condições não controladas (câmara fria desativada), porém com o monitoramento da temperatura e umidade relativa do ar com termo-higrômetro entre os meses de dezembro/2022 a julho/2023, período em que esse componente de qualidade fisiológica foi avaliado. A cada avaliação era coletado os dados do ambiente e registrados. As sementes armazenadas foram amostradas durante diferentes períodos de armazenamento (0, 30, 60, 90, 120, 150, 180 e 210 dias) e avaliadas por teste de germinação (plântulas normais, anormais, sementes mortas e duras/dormentes), primeira contagem de germinação, classificação do vigor (plântulas fortes e fracas), comprimento de parte aérea e raiz, massa de matéria seca de parte aérea e raiz, protrusão da raiz primária (protrusão da raiz primária com 2 mm de comprimento), T50, emergência em areia e IVE (índice de velocidade de emergência). Para isso utilizou-se quatro repetições de 50 sementes. Com os resultados obtidos criou-se uma curva sigmoide de distribuição da longevidade ao longo do armazenamento e calculou-se o P_{50} (período em dias para que o lote de sementes armazenado perde 50% de sua viabilidade), através do modelo da equação de Probit: $v = Ki – p/\sigma$ (v = viabilidade em dias; Ki = germinação inicial; p = morte esperada; e σ = inclinação da reta), (Ellis e Roberts, 1980).

1.2.7 Análise dos resultados

Com os dados obtidos, foi realizada a análise de variância pelo teste F e quando significativo foi realizado teste de comparação das médias entre os tratamentos nas diferentes concentrações pelo teste Tukey em nível de 5% de probabilidade, através do programa estatístico AgroEstat (Barbosa e Maldonado, 2015). Para avaliar a característica fisiológica da longevidade, estimou-se os valores de P_{50} de alguns tratamentos (T1, T2 e T7) utilizando o software OriginLab (versão, 2022), devido ao fato de que as sementes se esgotaram antes de alcançar esse parâmetro. Além disso, foi feita a área abaixo da curva nesse mesmo software para relacionar o tempo (período de armazenamento) com as variáveis analisadas, já que o tempo é uma variável dependente, e posteriormente foi realizada a análise de variância em esquema fatorial duplo com adicional (2x3 + testemunha) pelo teste F e comparação de médias pelo teste Tukey em nível de 5% de probabilidade no software AgroStat e comparação dos tratamentos com o controle por meio do teste de Dunnett no software Minitab 19.

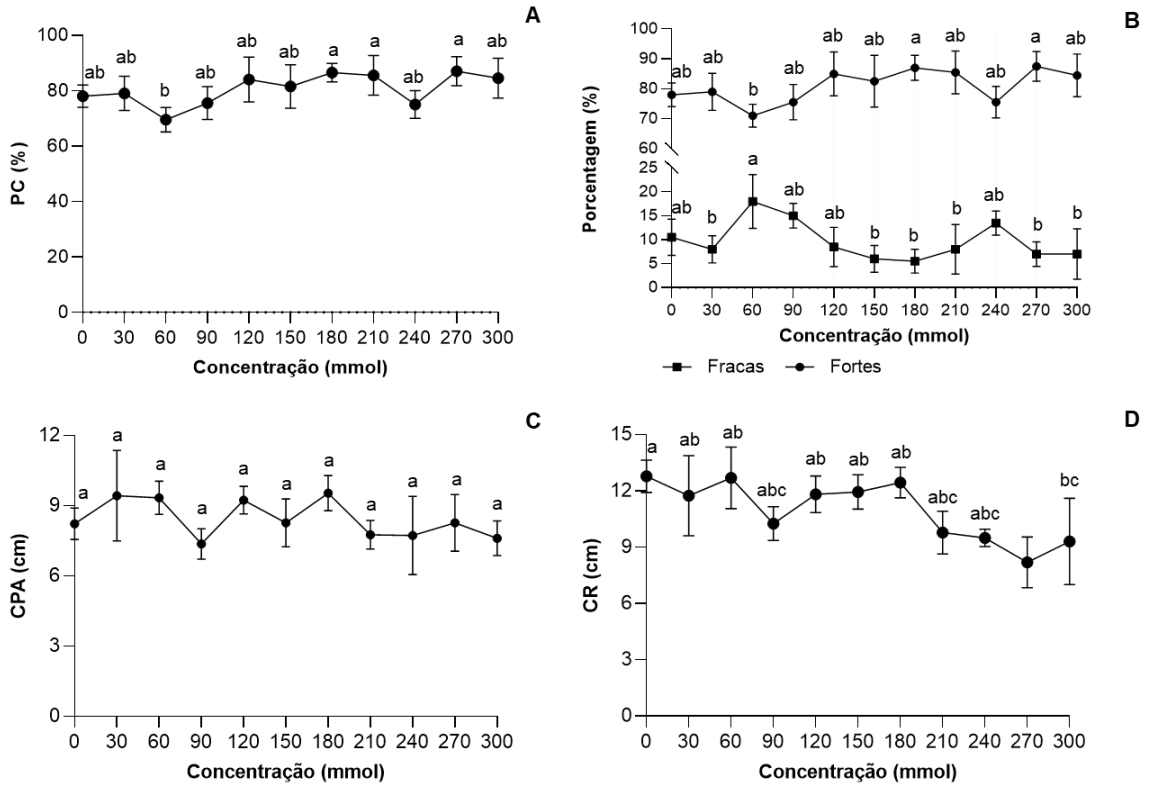
1.3 RESULTADOS

1.3.1 Avaliação da qualidade inicial e seleção de concentrações

O teor de água inicial das sementes foi de 13,3% e a germinação de 92%. O teste de envelhecimento por 72 horas, utilizado para redução do vigor das sementes, levou a redução na germinação, para 88%.

O efeito nas sementes tratadas sob diferentes concentrações da FP é observado na Figura 1. Nos resultados dos testes de primeira contagem da germinação, classificação do vigor (fortes e fracas) e comprimento de raiz houve diferença significativa. Para o comprimento de parte aérea não houve diferença estatística, mas observou-se diferença numérica, a qual possibilitou na tomada de decisão para a seleção de concentrações a serem usadas. E para as outras variáveis estudadas, tais como protrusão da raiz primária, germinação (plântulas normais, anormais e sementes mortas), T50 e massa de matéria seca de parte aérea e da raiz não houve diferença estatística.

Figura 1 - Gráfico de médias de Primeira contagem de germinação (A); Classificação do vigor (B); Comprimento de parte aérea (C) e Comprimento de raiz primária (D); da cultivar de soja NEO 610 IPRO em diferentes concentrações de formulação pura (D-Trealose). Médias seguida pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade



,

Nos resultados quanto ao teste de primeira contagem (Figura 1A) observa-se que as concentrações 180, 210 e 270 mmol apresentaram porcentagem superior de formação de plântulas normais ao quinto dia quando comparada com a concentração de 60 mmol. Para este mesmo parâmetro analisado, as outras concentrações testadas não se diferiram entre si. Foi observado esse mesmo comportamento para a classificação do vigor (Figura 1B), em que essas concentrações geraram uma porcentagem maior de plântulas fortes e menor plântulas fracas.

Em relação ao comprimento de parte aérea (Figura 1C), apesar de não se diferir estatisticamente, a concentração 30, 60, 120 e 180 mmol tiveram incremento de 23%, 22%, 21% e 25%, respectivamente comparada a testemunha (concentração 0). Para o comprimento de raiz (Figura 1D), a testemunha teve um efeito superior, mas que não diferiu das demais concentrações, exceto a 270 e 300 mmol.

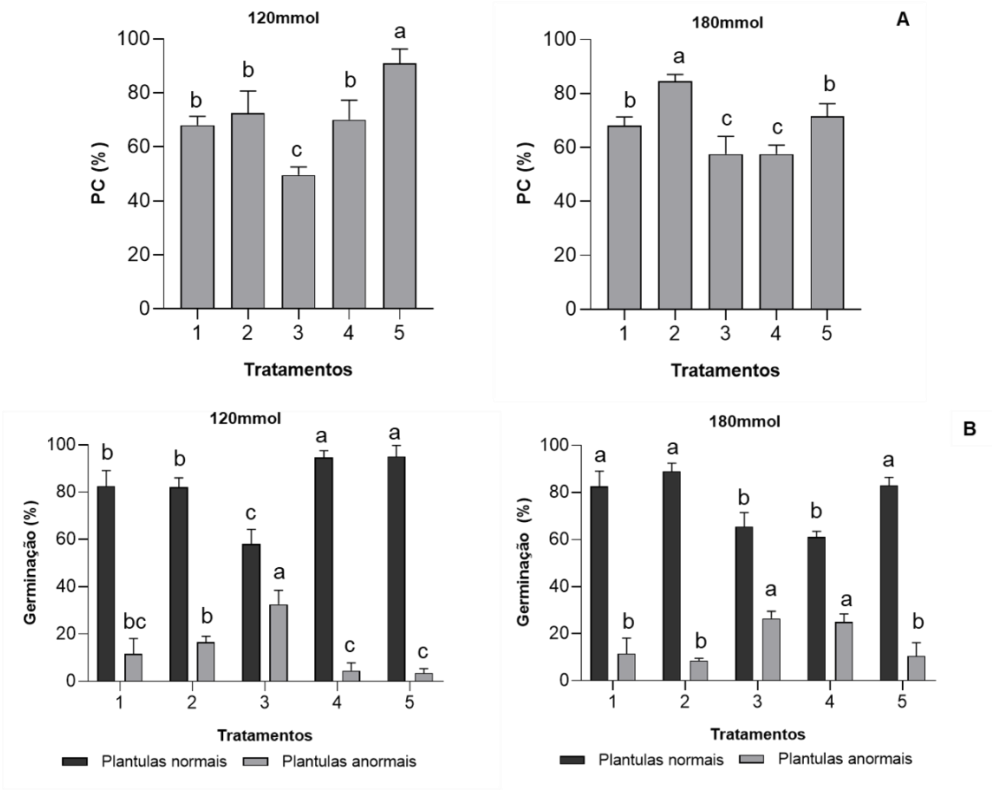
Em síntese, a aplicação do produto FP resultou em uma melhor expressão do vigor, componente da qualidade fisiológica das sementes (primeira contagem de germinação, classificação do vigor e comprimento de raiz primária). E, desse modo, as concentrações 120 e 180 mmol foram utilizadas nos experimentos subsequentes, por apresentarem efeitos positivos na qualidade fisiológica das sementes.

1.3.2 Efeito das concentrações selecionadas na germinação e no vigor

Para verificar o efeito dos produtos (FP, F2, F4 e F6) frente as concentrações selecionadas (120 e 180 mmol), as sementes foram tratadas e submetidas a testes de germinação e vigor. Na Figura 2A, observa-se os resultados de primeira contagem de germinação para a concentração de 120 mmol, o produto F6 e a concentração 180 mmol para o produto FP, houve aumento na formação de plântulas normais ao quinto dia de 68% para 91% e 84,50%, respectivamente, comparado a testemunha. O produto F2 teve resultado inferior tanto na concentração de 120 mmol, quanto da concentração de 180 mmol, levando a redução na formação de plântulas normais na primeira contagem de 68% para 49,50% e 57,50%, respectivamente.

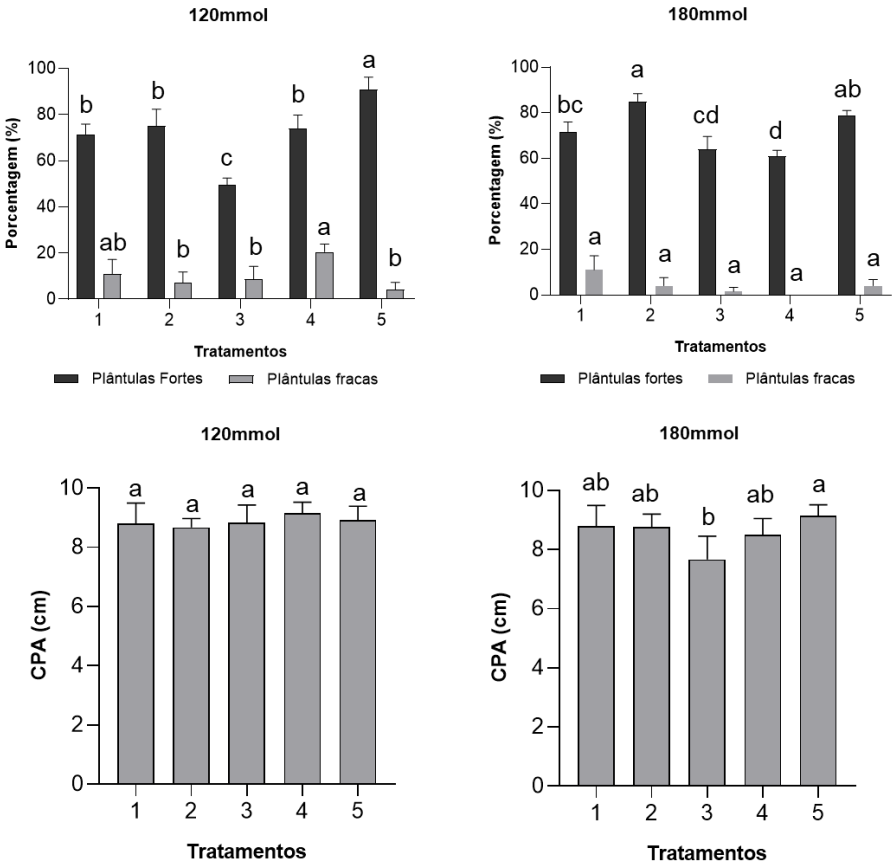
Para a germinação houve um efeito significativo em relação as concentrações e produtos testados, nota-se que o tratamento com F6 apresentou resultados superiores nas concentrações de 120 e 180 mmol com porcentagens superiores de 95% e 83%, respectivamente. O produto FP para a concentração 180 mmol teve 89% de plântulas normais. No entanto, o produto F2 para as duas concentrações (120 e 180 mmol) teve um desempenho inferior, reduzindo a germinação de 82,50% para 58% e 65,50%, respectivamente, comparado a testemunha (Figura 2B). Diante disso, os produtos FP e F6 contribuíram para uma maior formação de plântulas normais, fazendo com que ocorra uma maior expressão do atributo de vigor das sementes nas concentrações selecionadas.

Figura 2 - Gráfico de Primeira contagem de germinação (A) e; Germinação (B) de soja cv. NEO 610 IPRO nas concentrações 120 mmol e 180 mmol com diferentes produtos a seguir: tratamento 1 (testemunha); tratamento 2 (formulação pura); tratamento 3 (formulação 2); tratamento 4 (formulação 4); tratamento 5 (formulação 6). Médias seguida pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade



Na Figura 3A, a formação de plântulas fortes ocorreu em sementes tratadas com FP na concentração de 180 mmol e F6 na concentração de 120 mmol, com desempenho superior comparado com a testemunha, sendo esses valores de 85% e 91%, respectivamente. E os produtos F2 e F4 apresentaram comportamento inferior para a formação de plântulas fortes com porcentagens inferiores.

Figura 3 - Gráfico de Classificação do vigor (A) e; Comprimento de parte aérea (B) de soja cv. NEO 610 IPRO nas concentrações 120 mmol e 180 mmol com diferentes produtos a seguir: tratamento 1 (testemunha); tratamento 2 (formulação pura); tratamento 3 (formulação 2); tratamento 4 (formulação 4); tratamento 5 (formulação 6). Médias seguida pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade



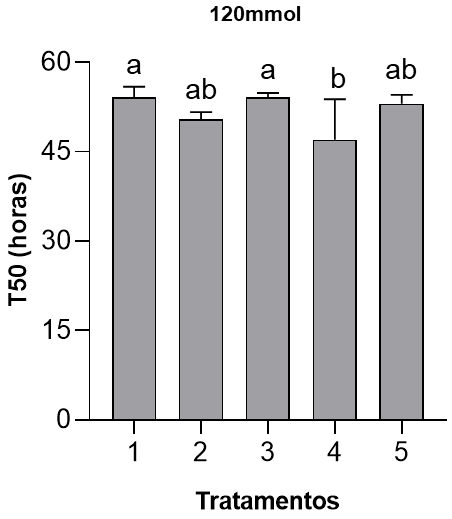
Para o comprimento de parte aérea na concentração de 120 mmol não houve diferença estatística. No entanto, para essa mesma variável na concentração de 180 mmol o produto F6 teve um desempenho superior com média de 9,15 cm e o produto F2 apresentou redução no comprimento da parte aérea, com valor médio de 7,67 cm (Figura 3B).

Em relação ao T50, houve resultado significativo apenas para concentração de 120 mmol. Neste teste, quanto maior o tempo em horas, menor seu vigor, pois significa que as sementes estão gastando energia para fazer reparo metabólico ao invés de emitirem sua raiz primária. E a causa desse reparo pode ser devido a deterioração

das sementes, e este precisa ser realizado antes que a germinação possa continuar (MATTHEWS e KHAJEH-HOSSEINI, 2007).

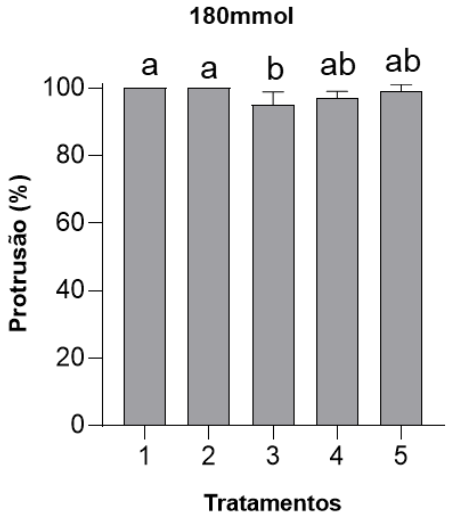
Desse modo, sementes tratadas com o produto F2 e a testemunha apresentaram um tempo superior para a emissão da raiz primária, com valores médios de 54,18 horas para os dois tratamentos, em contrapartida o produto F4 obteve um tempo de 47,05 horas (FIGURA 4).

Figura 4 - Gráfico de T50 (horas) de soja cv. NEO 610 IPRO na concentração de 120 mmol com diferentes produtos a seguir: tratamento 1 (testemunha); tratamento 2 (formulação pura); tratamento 3 (formulação 2); tratamento 4 (formulação 4); tratamento 5 (formulação 6). Médias seguida pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade



Foi observado diferença significativa no teste de germinação por protrusão da raiz primária (Figura 5) na concentração de 180 mmol. O tratamento de sementes com a F2 implicou em uma redução na protrusão, com valor médio de 95% quando comparado a testemunha e FP que proporcionaram porcentagens de germinação superiores, com valor médio de 100%.

Figura 5 - Gráfico de Protrusão da raiz primária de soja cv. NEO 610 IPRO na concentração de 180 mmol com diferentes produtos a seguir: tratamento 1 (testemunha); tratamento 2 (formulação pura); tratamento 3 (formulação 2); tratamento 4 (formulação 4); tratamento 5 (formulação 6). Médias seguida pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade



As concentrações selecionadas surtiram efeitos positivos nas sementes tratadas com os produtos FP e F6, garantindo uma maior expressão da germinação e vigor. No entanto, o uso do produto F2, levou a uma redução da qualidade fisiológica da sementes, inclusive inferior até em comparação com a testemunha. Com isso, em virtude dos resultados apresentados, o produto F2 não foi utilizado nos estudos subsequentes.

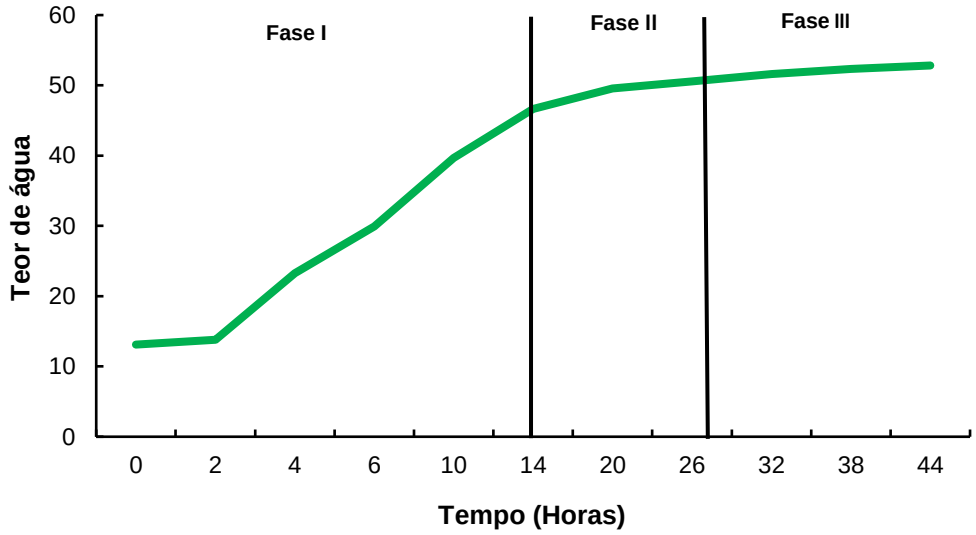
1.3.3 Curva de embebição

O padrão de embebição das sementes foi avaliado por meio da curva de embebição com o objetivo de identificar o tempo em horas para que a emissão da raiz primária da semente atinja 2 mm. A curva de embebição pode ser observada na Figura 6.

Assim, verificou-se que as sementes seguem o padrão trifásico descrito anteriormente para as espécies, em que a fase I teve uma duração de aproximadamente 14 horas, elevando o teor de água de 13,1% para 46,6%. A fase ll, compreendida entre 14 horas até 26 horas, com duração de 12 horas, elevou o teor de água até 50,5%.

E, por fim a fase lll foi iniciada após 26 horas de embebição, compreendida pela emissão da raiz primária, em que observa a emissão da raiz primária após esse período, com um teor de água de 50,5 %. No entanto, a emissão da raiz primária com 2 mm de comprimento ocorreu com 32 horas e teor de água das sementes foi de 51,5 %, aproximadamente.

Figura 6 - Curva de embebição de sementes de soja cv. NEO 610 IPRO



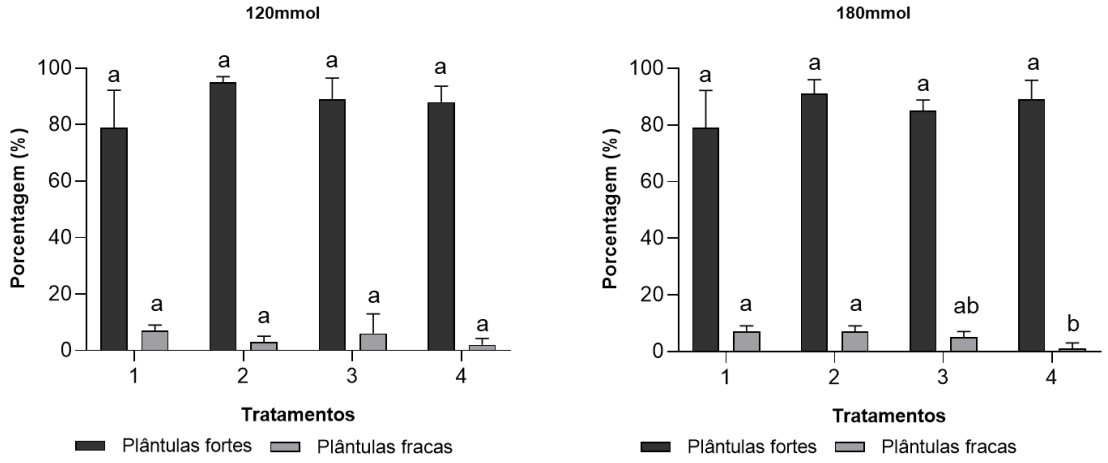
1.3.4 Impacto da simulação de déficit hídrico com o uso de Polietilenoglicol 6000 em sementes tratadas e germinadas

Para as sementes tratadas e germinadas com FP, F4, F6 e testemunha, submetidas à redução do potencial osmótico com PEG 6000, a fim de simular o déficit hídrico, observou-se diferença significativa para os atributos da qualidade fisiológica (germinação e vigor), sendo as variáveis de vigor estudadas as seguintes: classificação de vigor (plântulas fortes e fracas), massa de matéria seca da parte aérea e da raiz precocidade da emissão da raiz primária maior que 6 cm de comprimento.

No teste de classificação de vigor, não houve diferença estatística para a concentração de 120 mmol; no entanto, observou-se uma diferença numérica, com as sementes oriundas do tratamento com FP apresentando um valor médio de plântulas fortes 16% superior ao da testemunha. Para a concentração de 180 mmol, observou-

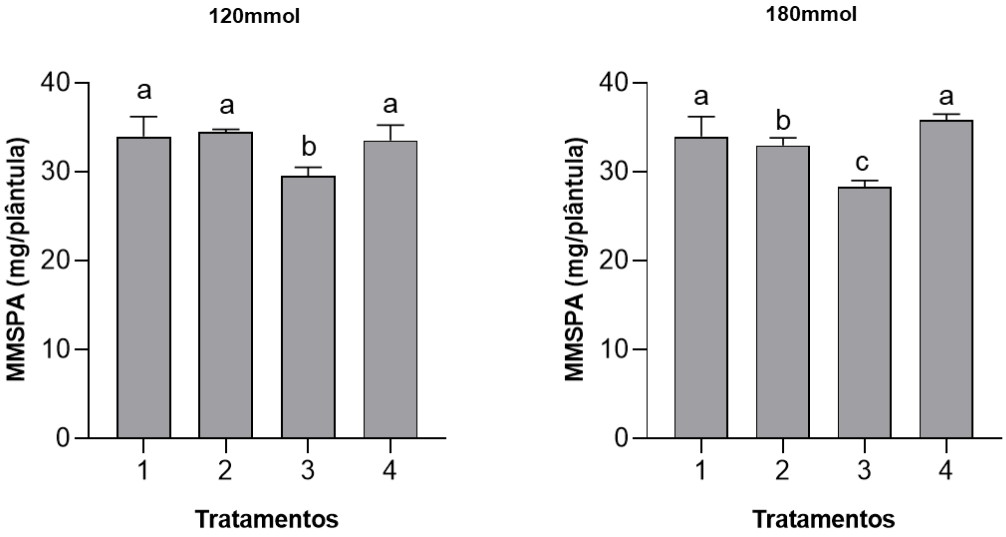
se que as sementes germinadas oriundas do tratamento com o produto F6 tiveram 1% de plântulas fracas, quando comparadas à testemunha e ao FP, que apresentaram 7%. E, mesmo não observando diferença estatística para a variável plântula forte nessa mesma concentração, visualiza-se diferença numérica, em que os tratamentos com FP e F6 obtiveram um desempenho superior de 12% e 10%, quando comparado com a testemunha, conforme Figura 7.

Figura 7 - Gráfico de médias da Classificação de vigor na concentração de 120 mmol (A) e 180 mmol (B) de soja cv. NEO 610 IPRO com diferentes produtos a seguir: tratamento 1 (testemunha); tratamento 2 (formulação pura); tratamento 3 (formulação 4); tratamento 4 (formulação 6). Médias seguida pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade



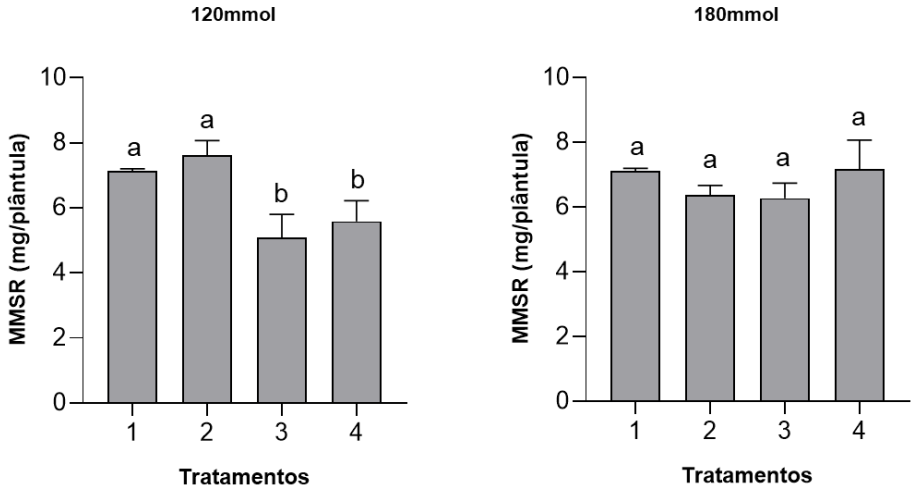
Na variável de massa de matéria seca da parte aérea (Figura 8), observou-se que na concentração de 120 mmol as sementes tratadas com os produtos FP, F6 e a testemunha não se diferiram entre si, mas quando tratadas com o produto F4 expressou um desempenho inferior, com uma redução de 4,42 mg/plântula na massa. O mesmo comportamento foi observado na concentração de 180 mmol, em que as sementes tratadas com o produto F4 também teve sua massa reduzida em 5,97 mg/plântula, comparado com a testemunha.

Figura 8 - Gráfico de médias de Massa de matéria seca de parte aérea na concentração de 120 mmol e 180 mmol de soja cv. NEO 610 IPRO com diferentes produtos a seguir: tratamento 1 (testemunha); tratamento 2 (formulação pura); tratamento 3 (formulação 4); tratamento 4 (formulação 6). Médias seguida pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade



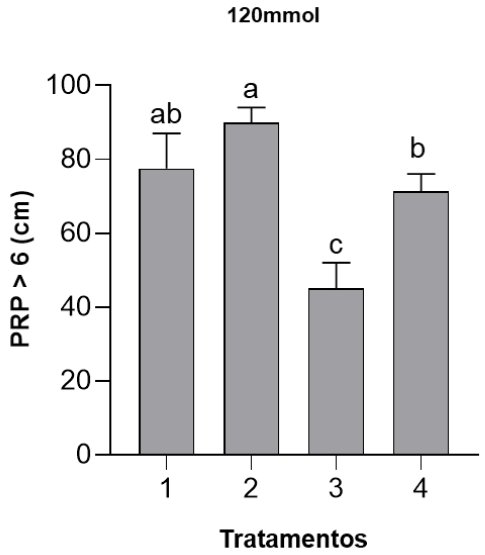
Na Figura 9 observa-se o comportamento da variável de massa de matéria seca da raiz, em que na concentração de 120 mmol as sementes tratadas com o produto FP e a testemunha apresentaram desempenho superior com 7,61 e 7,13 mg/plântula. Por outro lado, os produtos F4 e F6 geraram valores médios inferiores de massa de raiz, obtendo um desempenho com 5,08 e 5,59 mg/plântula. Para a concentração de 180 mmol não houve diferença significativa.

Figura 9 - Gráfico de médias de Massa de matéria seca da raiz na concentração 120 e 180 mmol de soja cv. NEO 610 IPRO com diferentes produtos a seguir: tratamento 1 (testemunha); tratamento 2 (formulação pura); tratamento 3 (formulação 4); tratamento 4 (formulação 6). Médias seguida pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade



Com relação a precocidade da emissão da raiz primária maior que 6 cm, observou-se diferença significativa apenas para a concentração de 120 mmol, em que sementes germinadas, oriundas do tratamento com o produto FP, apresentaram um desempenho superior, com valor médio de 90% com 6 cm de raiz primária após 48 horas do início do teste. A aplicação do produto F4 resultou em um desempenho inferior, quando comparado à testemunha com um valor médio de 45% de sementes germinadas com 6 cm raiz primária após 48h (Figura 10).

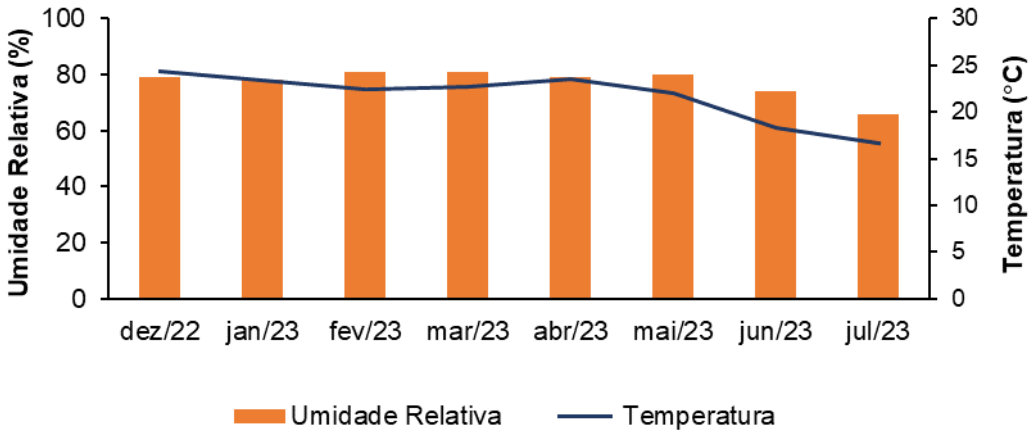
Figura 10 - Gráfico de médias de Precocidade da emissão da raiz primária maior que 6 cm na concentração de 120 mmol de soja cv. NEO 610 IPRO com diferentes produtos a seguir: tratamento 1 (testemunha); tratamento 2 (formulação pura); tratamento 3 (formulação 4); tratamento 4 (formulação 6). Médias seguida pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade



1.3.5 Avaliação da longevidade das sementes

Os dados de temperatura do ar e umidade relativa são exibidos na Figura 11. A temperatura média durante a condução do experimento em câmara fria desativada foi de 21,6 ºC, observando a maior temperatura no mês de dezembro e a menor temperatura no mês de julho. A umidade relativa média foi de 77%, sendo os meses de fevereiro e março com valores de umidade relativa superior a 81%. O mês mais seco foi o de julho com 61%. Esses dados corroboram com o que se é esperado por esses meses, já que as estações climáticas predominantes foram verão, outono e inverno.

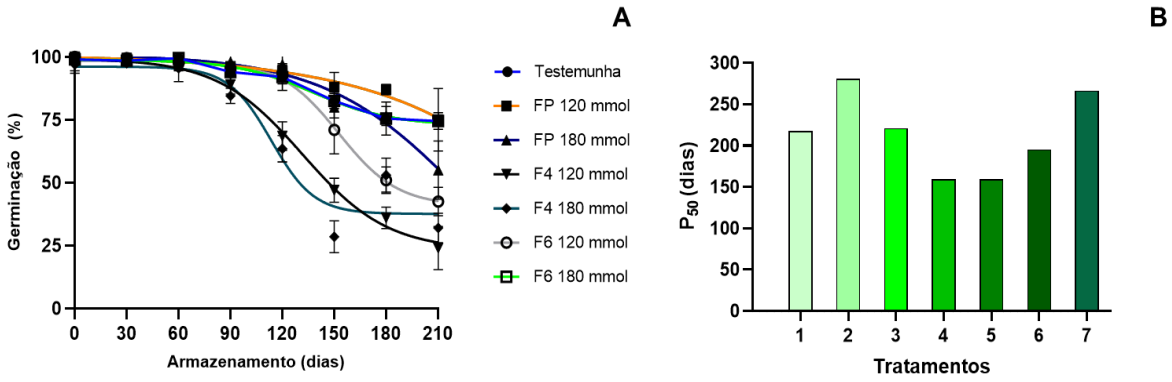
Figura 11 - Gráfico dos dados de Temperatura do ar (ºC) e Umidade relativa (UR) coletados a cada período de armazenamento



Fonte: Gonçalves (2024).

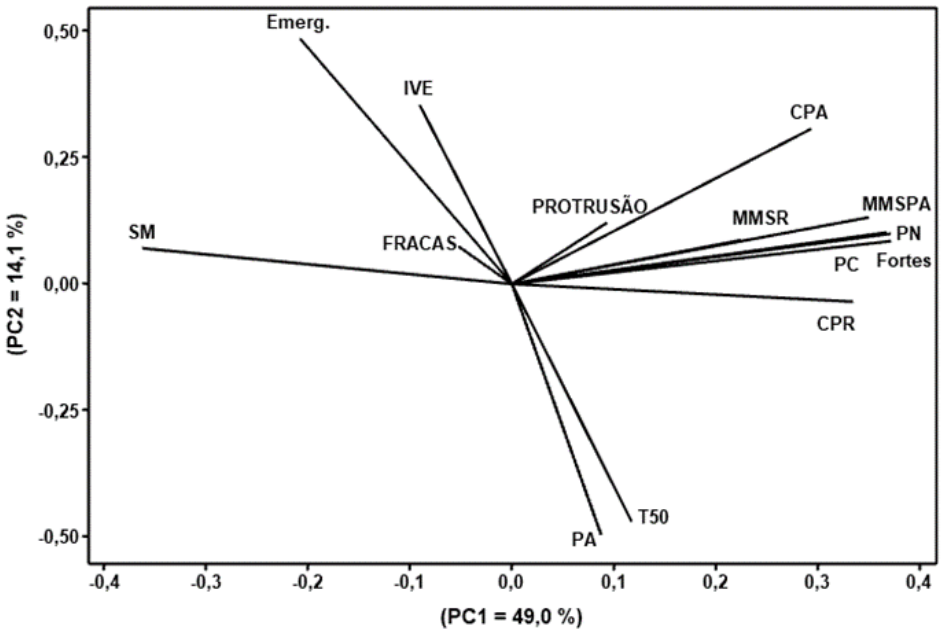
Para complementar a análise da qualidade fisiológica, foi realizada a determinação da longevidade das semente tratadas, em que se observa o comportamento da germinação ao longo do armazenamento (FIGURA 12A) e da determinação do P_{50} (FIGURA 12B). A condução do armazenamento ocorreu até 210 dias, contudo alguns tratamentos não alcançaram a perda de 50% da viabilidade e as sementes tratadas se esgotaram, sendo necessário a estimação da longevidade (P_{50}). Diante disso, nota-se que as sementes tratadas com o produto F4 nas concentrações de 120 e 180 mmol, e o produto F6 na concentração de 120 mmol demonstraram um desempenho inferior em relação à germinação (protrusão da raiz primária) durante o período de armazenamento, quando comparadas com a testemunha. Esses resultados são consistentes com os dados obtidos de P_{50} (longevidade), onde esses tratamentos apresentaram uma perda de viabilidade mais rápida. Por outro lado, as sementes tratadas com FP 120 mmol e F6 180 mmol tiveram um desempenho superior, com P50 estimados em 281 e 266 dias, respectivamente.

Figura 12 - Longevidade das sementes. A: Curva da distribuição da germinação por protrusão da raiz primária ao longo do armazenamento; B: P_{50} (tratamento 1: testemunha; tratamento 2: FP 120 mmol; tratamento 3: FP 180 mmol; tratamento 4: F4 120 mmol; tratamento 5: F4 180 mmol; tratamento 6: F6 120 mmol e; tratamento 7: F6 180 mmol)



A seleção de variáveis a fim de verificar maior relação entre produtos e concentrações se baseou na análise de componentes principais (PCA) com os parâmetros avaliados durante a longevidade, sendo eles germinação (plântulas normais, plântulas anormais e sementes mortas), primeira contagem de germinação, plântulas fortes, plântulas fracas, índice de velocidade de emergência, emergência, protrusão, T50, comprimento de parte aérea, comprimento de raiz, massa de matéria seca de parte aérea e massa de matéria seca de raiz. Com isso, as componentes PCA2 e PCA1 explicam melhor os resultados obtidos da análise multivariada e, portanto, foram utilizadas para selecionar as variáveis (Figura 13).

Figura 13 - Análise de componentes principais da concentração de 120mM e 180mM dos produtos FP, F4, F6 e testemunha dos componentes de qualidade fisiológica durante a longevidade (plântulas normais (PN), plântulas anormais (PA), sementes mortas (SM), primeira contagem de germinação (PC), plântulas fortes (Fortes), plântulas fracas (Fracas), índice de velocidade de emergência (IVE), emergência (Emerg.), protrusão, T50, comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), massa de matéria seca de parte aérea (MMSPA) e, massa de matéria seca da raiz (MMSR)



Com base nos resultados obtidos pela análise de componentes principais, os respectivos autovalores e porcentagens de variância explicada e acumulada por cada um estão apresentados na Tabela 1. Considerando a sua contribuição nas duas principais componentes e levando em conta a influência da qualidade fisiológica das sementes, algumas variáveis foram escolhidas para uma análise mais detalhada dos dados, visando compreensão mais detalhada das informações pertinentes ao problema em estudo, sendo elas: plântulas normais (PC1 0,368), primeira contagem de germinação (PC1 0,372), plântulas fortes (PC1 0,372), comprimento de parte aérea (PC1 0,294 e PC2 0,307), comprimento de raiz (PC1 0,335), massa de matéria seca de parte aérea (PC1 0,350) e da raiz (PC1 0,225).

Tabela 1 - Porcentagem de plântulas fortes, primeira contagem de germinação, plântulas fracas, germinação (plântulas normais, plântulas anormais e sementes mortas), comprimento de parte aérea, comprimento da raiz, massa de matéria seca de parte aérea e da raiz, protrusão, T50, índice de velocidade de emergência e emergência, autovalores, variação explicada e acumulada ao longo das duas primeiras componentes principais (PC1 e PC2)

Variável	Componentes	
	PC1	PC2
Fortes	0,372	0,085
PC	0,372	0,099
FRACAS	-0,053	0,075
PN	0,368	0,102
PA	0,088	-0,496
SM	-0,363	0,071
CPA	0,294	0,307
CPR	0,335	-0,035
MMSPA	0,350	0,132
MMSR	0,225	0,087
PROTRUSÃO	0,093	0,121
T50	0,118	-0,470
IVE	-0,090	0,354
Emerg.	-0,208	0,485
Autovalores	6,8575	1,9688
Variação explicada	0,490	0,141
Variação acumulada	0,490	0,631

Dentro da Tabela 2, são apresentados os dados da interação significativas entre os produtos e concentrações nas variáveis selecionadas de acordo com a análise de componentes principais, sendo elas: plântulas normais, primeira contagem da germinação, plântulas fortes, comprimento da parte aérea e da raiz e massa de matéria seca da parte aérea e da raiz.

Nos parâmetros de germinação e vigor avaliados, observa-se comportamentos divergentes em relação a plântulas normais, primeira contagem de germinação, plântulas fortes, comprimento da parte aérea e da raiz e massa seca da parte aérea, sendo as sementes tratadas com o produto FP na concentração de 120 mmol, obteve desempenho superior em relação ao produto F4, que obteve valores inferiores e

consequentemente, baixo desempenho, nessa mesma concentração. E, para a massa de matéria seca de raiz o comportamento foi o mesmo entre esses produtos citados.

Já para a concentração de 180 mmol há um destaque para as sementes tratadas com o produto F6, com um desempenho superior para todas as variáveis avaliadas de germinação e vigor que houve interação.

Tabela 2 - Valores médios da área abaixo da curva de plântulas normais (PN), primeira contagem de germinação (PC), plântulas fortes (PF), comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), massa de matéria seca de parte aérea (MMPA) e, massa de matéria seca de raiz (MMSR) ao longo do armazenamento, com diferentes produtos: testemunha; tratamento 1 (Formulação pura); tratamento 2 (formulação 4); tratamento 3 (formulação 6).

Variáveis	Tratamentos	Concentração	
		120	180
PN[2]	1	16222,50 Aa	15585,00 Aa
	2	12037,50 Ca	11805,00 Ba
	3	14197,0 Bb	16057,50 Aa
PC[2]	Testemunha	11565#	
	1	14370,00 Aa	13042,50 Bb
	2	9990,00 Ca	9757,50 Ca
	3	12045,00 Ba#	14310,00 Ab
PF[2]	Testemunha	11902,50 #	
	1	14505,00 Aa	13605,00 Bb
	2	10192,50 Ca	10065,00 Ca
	3	12555,00 Bb#	14580,00 Aa
CPA (cm)[2]	Testemunha	1530,38 #	
	1	1750,68 Aa	1661,25 Ab
	2	1527,00 Ba#	1527,75 Ba#
	3	1554,00 Bb#	1679,62 Aa
CR(cm)[2]	1	1921,31 Aa	1872,00 Ba
	2	1587,75 Ba	1438,12 Cb
	3	1779,0 Ab	2227,68 Aa
MMSPA (mg/plântula)[2]	1	5007,96 Aa	4815,54 Ba
	2	4378,43 Ca	4229,57 Ca
	3	4679,06 Bb	5107,62 Aa
MMSR (mg/plântula)[2]	1	753,33 Aa	740,28 Ba
	2	750,16 Aa	574,66 Cb
	3	726,77 Ab	890,0 Aa

Legenda: Áreas seguidas de letras iguais na linha minúscula e na coluna maiúsculas não diferem pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Médias seguidas por # não diferem do controle pelo teste de Dunnett com alfa 5%.

1.4 DISCUSSÃO

1.4.1 Seleção de concentrações e o efeito dessas na germinação e no vigor

A trealose, um dissacarídeo não redutor, é reconhecida pela sua função na estabilização de enzimas, proteínas e membranas lipídicas, além de proteger estruturas biológicas contra danos durante a dessecação (Wingler *et al*., 2002; Elbein *et al*., 2003). Em função disso a trealose tem sido usada aplicada via foliar ou no tratamento de sementes. Todavia, a concentração de trealose usada no tratamento de sementes e aplicação nas plantas é bem variável, conforme os trabalhos de Horita e Saruyama (2006) que descobriram que a aplicação de trealose no tratamento de sementes na concentração de 400 mM resultou em germinação rápida e uniforme das sementes de cebola (*Allium cepa* L.) na ausência de estresses. Em outro estudo, Akram *et al*. (2016) observaram que a utilização de trealose em concentração de 25 mM nas sementes de rabanete (*Raphanus raphanistrum* subsp. sativus L.) resultou em aumento significativo da massa fresca e seca, além dos teores de clorofila a e açúcares solúveis totais. Em plantas de soja os tratamentos contendo trealose aumentaram o comprimento da parte aérea, biomassa e o teor de clorofila em condições normais (Asaf, 2017). No presente trabalho, com a aplicação de diferentes formulações e concentrações de trealose em sementes de soja, verificou-se que os produtos contendo em sua formulação trealose e água (FP e F6) nas concentrações de 120 e 180 mmol auxiliam em uma maior expressão da qualidade fisiológica (germinação e vigor) das sementes tratadas, principalmente para aquelas sementes que tiveram o vigor reduzido.

A redução do vigor resulta na degradação das reservas da semente, ocasionando danos às membranas celulares e comprometendo a viabilidade celular, afetando a capacidade realizar funções metabólicas essenciais e consequentemente, comprometendo a qualidade fisiológica (Pachecho, 1996; Bernardes, 2015; Brandelero, 2018; Bigolin, 2022). Diante disso, os resultados sugerem que sementes envelhecidas e tratadas com trealose em concentrações adequadas podem reparar os danos, suprir as reservas consumidas e servir como fonte de armazenamento, contribuindo para uma melhor expressão do vigor e da germinação em condições favoráveis à cultura. Em alguns estudos já foi relatado que a trealose atua como uma fonte de armazenamento para as plantas auxiliando no crescimento e desenvolvimento (Elbein *et al*., 2003; Iturriaga *et al*., 2009).

Em associação a essas concentrações citadas, foram testados os produtos recebidos de uma indústria química contendo em sua formulação trealose e surfactantes (F2 e F4). O produto F2 causou uma redução da qualidade fisiológica das sementes (Figura 2, 3, 4 e 5) e isso pode ter sido devido ao fato do surfactante presente na composição, que teria de proporcionar um maior ajuste entre duas substâncias potencializando ainda mais o efeito do ingrediente ativo, causou uma instabilidade na molécula de trealose, tornando o efeito negativo.

1.4.2 Impacto da simulação de déficit hídrico com o uso de Polietilenoglicol 6000 em sementes tratadas e germinadas

A síntese da trealose nas plantas ocorre naturalmente a partir da combinação de moléculas de UDP-glicose e glicose-6-fosfato, através da ação de duas enzimas chaves: a trealose-6-fosfato sintase (TPS) e a trealose-6-fosfato fosfatase (TPP). Essas enzimas agem sobre a trealose-6-fosfato (T6P) removendo seu grupo fosfato e convertendo-a em trealose (Avonce *et al*., 2006; Fernandez *et al*., 2010). Esse acúmulo de trealose serve como um osmoprotetor, uma estratégia adaptativa que ajuda as plantas a manterem seu potencial hídrico, turgor celular e estabilidade de membrana durante períodos de estresse hídrico. Isso reduz os danos causados pelo estresse e ajuda as plantas a sobreviverem em condições adversas (Chen e Murata, 2002; John *et al*., 2017). Acredita-se que fornece trealose para as sementes seja uma estratégia benéfica, pois durante o estresse hídrico, as plântulas não precisam gastar energia na síntese desse açúcar, pois ele já estará presente no metabolismo das sementes. Isso as prepara melhor para enfrentar os efeitos ocasionados pelo estresse hídrico durante a germinação e emergência das plântulas, garantindo que tenham recursos suficientes para se desenvolverem em diversas condições ambientais, incluindo na presença de déficit hídrico, no entanto, isso precisa ser aprofundado e validado.

O papel da trealose na promoção da tolerância ao estresse foi inicialmente identificado em plantas de ressureição como *Myrothamnus flabellifolius* e *Selaginella tamariscina* e *Selaginella lepidophylla* (Drennan PM, *et al*. 1993; Liu M. *et al*., 2008). Essas espécies vegetais demonstraram uma notável capacidade de sobreviver à dessecação, podendo ser desidratadas quase que completamente e, após a reidratação, recuperar sua viabilidade. Foi observado que a trealose, o principal açúcar solúvel presente, aumentou durante o processo de desidratação,

desempenhando um papel protetor para as proteínas e membranas celulares dessas plantas (Drennan PM, *et al*. 1993; Liu M. *et al*., 2008*)*. Segundo LI *et al*. (2023), a trealose é um açúcar que desempenha papel fundamental no crescimento e desenvolvimento das plantas além da sua adaptação as condições de estresse.

Os resultados obtidos sugerem que a trealose quando aplicada e incorporada à estrutura interna da semente causa uma proteção destas estruturas e em paralelo, quando ocorre um estresse abiótico por redução de água, o metabolismo da semente não é afetado significativamente, mantendo a integridade das suas membranas e estruturas, o que aponta que o estresse hídrico não impacta negativamente na retomada do crescimento das sementes tratadas com os produtos FP e F6, resultando em uma maior expressão de germinação e vigor. Em um estudo realizado por Ilhan *et al*. (2015), foi relatado que trealose demonstrou aliviar de maneira significativa o estresse hídrico mediado por PEG em *Capparis ovata* Desf., além de aumentar a tolerância de *Solanum lycopersicum* à seca (Macintyre et al., 2022). Iordachescu e Imai (2008) destacaram a importância da biossíntese de trealose nas respostas ao estresse abiótico, conforme evidenciado por estudos anteriores.

A resposta ao estresse abiótico também está relacionada com produção de espécies reativa de oxigênio (EROs), uma vez que seu acúmulo excessivo prejudica a integridade das membranas causando danos oxidativos e, com isso as plantas geralmente precisam remover essas moléculas para não ter seu metabolismo danificado. Umas das causas que pode estar relacionado a resposta das sementes tratadas com trealose e submetidas a estresse osmótico seria a remoção das espécies reativas de oxigênio com a indução das enzimas antioxidantes, sem prejudicar o posterior desenvolvimento e formação das plântulas quando submetidas a estresse osmótico no processo pós germinação. Em um trabalho, realizado por Li *et al*., (2023), quando há ocorrência de um déficit hídrico os teores de H_2O_2 e O_2^- aumentam e na presença de trealose a produção de EROs são reduzidos significativamente. Todavia, no presente trabalho não foi quantificada a presença de espécies reativas de oxigênio, mas acredita-se que a determinação de algumas espécies reativas de oxigênio ajudaria a compreender a função da trealose na presença de estresse no estabelecimento das plântulas de soja.

Toda essa relação da trealose em manter a integridade das moléculas, pode estar ligada também com a manutenção da formação do estado vítreo do citoplasma o qual pode prevenir a desnaturação das moléculas durante o processo de

desidratação, o que está relacionado em manter a atividade metabólica quando é reidratada e também com o mecanismo de reposição de água, que durante o processo de desidratação, a trealose substitui a água ao estabelecer ligações de hidrogênio com as membranas (Roser, 1993; Cleg, 1985).

Quando se avaliou o efeito da trealose nas plântulas, na presença de déficit hídrico, observou-se que houve maior rapidez na retomada do crescimento da raiz primária pós estresse (Figura 10) e por consequência maior porcentagem de plântulas fortes, que são observadas no tratamento com FP e F6, mesmo que as diferenças sejam numéricas (Figura 7), há influência da trealose, recuperando sua viabilidade completamente.

O efeito da trealose em relação a massa de matéria seca da parte aérea e da raiz é inconclusivo, pois os valores encontrados não se diferem da testemunha (Figura 8 e 9). No entanto, quando se relaciona essa variável com os produtos, tem-se que produto F4 que contém surfactantes, traz uma redução na qualidade fisiológica das sementes em condições de estresse, existindo uma incompatibilidade entre esse composto e sua ação na qualidade das sementes, devendo ser investigado.

Com base em John et al. (2017), torna-se evidente que tanto a trealose endógena quanto exógena ocasiona melhorias significativas na capacidade de tolerância aos estresses abióticos (induzido naturalmente ou por PEG), bem como no crescimento e desenvolvimento das plantas, protegendo as moléculas dos danos induzidos pela desidratação (Rezvani e Shariati, 2009), e essas melhorias se baseiam em uma combinação de efeitos morfológicos, fisiológicos e metabólicos .

1.4.3 Efeito na longevidade das sementes

Outro atributo da qualidade fisiológica avaliado foi a longevidade, em que neste estudo observou-se que houve um contraste entre os produtos que continham na sua formulação trealose + água (FP e F6), para o produto que continha trealose + água + surfactante (F4), nos parâmetros avaliados (Tabela 2).

Durante o armazenamento, a perda de viabilidade segue um padrão sigmoide, no qual, em algum momento, as sementes perdem a capacidade de gerar plântulas normais. Isso é seguido pela incapacidade de germinação, marcada pela protrusão da radícula, e, eventualmente, resulta na morte das sementes Bewley *et al*. (2013) e Basso *et al*. (2018).

A deterioração das sementes começa após a aquisição completa da qualidade fisiológica e se estende durante a colheita, beneficiamento e, no armazenamento, quando é altamente influenciado pelos fatores internos e ambientais (Hampton e Tekrony, 1995). Os fatores internos que contribuem para uma deterioração mais rápida são: perda da integridade da membrana, alteração na estrutura das macromoléculas, degradação enzimática, comprometimento da síntese de RNA e degradação do DNA (Barton, 1961; Wilson e Mc Donald, 1986; Wettlaufer e Leopold, 1991; Bailly *et al*., 1998; Ravikumar *et al*., 1998). E, tais fatores resultam na diminuição do conteúdo de antioxidantes não enzimáticos e na atividade da catalase, resultando em um acúmulo de EROs, especialmente o H_2O_2, e induzindo a peroxidação lipídica na soja (Lin *et al*., 2022). Além disso, o acúmulo de EROs e radicais livres é considerado um dos elementos importantes no processo de envelhecimento das sementes (Mohan, 2023). Desse modo, essas alterações contribuem para diminuir a capacidade de sobrevivência da semente, visto que irão acarretar em perda da qualidade, germinação e vigor (Grennan, 200).

Sementes com reduzida longevidade apresentam perdas de vigor durante o armazenamento, o que afeta negativamente o estabelecimento das plântulas e consequentemente afeta o rendimento das culturas (Walters, 1998; Finch-Savage e Bassel, 2016). A longevidade das sementes é atribuída a uma gama de compostos protetores (Sano *et al*., 2016; Leprince *et al*., 2017), o que inclui açucares solúveis não redutores (Salvi *et al.*, 2016; Zinsmeister *et al*., 2016) e proteínas abundantes de embriogênese (LEA) e proteínas de choque térmico (sHSPs) (Tejedor-Cano *et al*., 2010; Hundertmark *et al*., 2011; Chatelain *et al*., 2012), desempenhando o papel de acompanhantes e escudos moleculares na proteção contra a desnaturação de proteínas e a instabilidade das membranas (Mohan, 2023).

Além de diversos mecanismos de reparo que contribuem para a longevidade quando são ativados durante a embebição das sementes para reparar os danos ocasionados nas proteínas e no DNA durante o armazenamento (Oge *et al*., 2008; Waterworth *et al*., 2010).

Contudo, em nosso dados, observou-se que as sementes tratadas contendo trealose e água em sua formulação (FP e F6) e avaliadas quanto a protrusão da raiz primária (P_{50}) (Figura 12), apresentaram valores superiores, levando a sementes a terem uma maior viabilidade quando armazenadas em ambiente não controlado após o tratamento. Neste sentido, é interessante associar os resultados encontrados com

o efeito da trealose nas sementes, em que pode agir na preservação da viabilidade e promoção da longevidade das sementes, atuando como um agente de proteção das estruturas internas durante o armazenamento da sementes. Além disso, a trealose pode proteger as proteínas e os lipídios dentro das células contra a oxidação e a desnaturação, preservando assim a integridade das estruturas celulares essenciais para a germinação quando as condições ambientais são favoráveis. Existe, portanto, indicações que tratamento das sementes com trealose nas sementes aumentam a capacidade das sementes em sobreviver por longos períodos de armazenamento.

Este trabalho aponta algumas possibilidades da função da trealose durante a germinação, no armazenamento e na transição semente-plântula, em presença de déficit hídrico. Assim, pode-se inferir que durante a germinação em condições ambientais favoráveis à cultura, a trealose quando incorporada internamente a semente é utilizada como uma fonte de energia para que a germinação e o vigor tenham uma maior expressão. Quando em associação com o déficit hídrico, a trealose promove osmoproteção das estruturas internas, reduzindo os efeitos do déficit hídrico durante a transição de semente para plântula. Isso resulta na preservação da integridade celular e no funcionamento normal do metabolismo. No armazenamento pode ser considerado um osmoprotetor, por manter a integridade das proteínas e dos lipídios intracelulares reduzindo a velocidade de degradação das sementes, resultando em uma maior longevidade.

1.5 CONCLUSÕES

A partir da curva de concentração realizada com a formulação pura, foi possível selecionar duas concentrações que apresenta um desempenho superior sobre a qualidade fisiológica.

Em condições de estresse hídrico simulado por meio do estresse osmótico, a trealose contribui para uma melhor expressão dos atributos de vigor avaliados, minimizando os efeitos ocasionados pelo estresse hídrico. Com a longevidade, é possível comprovar esse efeito de proteção e sobrevivência ao armazenamento, no qual as sementes tratadas com produtos FP na menor concentração e F6 na maior concentração utilizada auxilia para uma longevidade superior das sementes.

REFERÊNCIAS

AHN, J. H.; PARK, K. W.; PARK, S. K. **Effects of seed priming on the germination and seedling growth of Chinese cabbage**. Horticulture, Environment, and Biotechnology, v. 52, n. 4, p. 430-434, 2011.

AKRAM, N. A. et al. **O pré-tratamento com trealose induz tolerância à seca em plantas de rabanete (Raphanus sativus L.): algumas características fisio-bioquímicas importantes**. Planta Acta Physiol, v. 38, n. 3, 2016.

ASAF, S. et al. **Osmoprotective functions conferred to soybean plants via inoculation with Sphingomonas sp. LK11 and exogenous trehalose**. Microbiological Research, v. 205, p. 135-145, 2017.

AVONCE, N. et al. I**nsights on the evolution of trehalose biosynthesis**. BMC evolutionary biology, v. 6, n. 1, p. 109, 2006.

BAILLY, C. et al. **Eliminação de radicais livres afetada pelo envelhecimento acelerado e subsequente preparação em sementes de girassol**. Fisiol. Planta, v. 104, p. 646-652, 1998.

BARTON, L. V. **Preservação e longevidade de sementes**. Londres: Leonard Hill, 1961.

BASSO, D. P. et al. **Late seed maturation improves the preservation of seedling emergence during storage in soybean**. Journal of Seed Science, Londrina, v. 40, n. 2, 2018.

BERNARDES, P. M. et al. **Qualidade fisiológica de sementes de repolho de alto e baixo vigor sob estresse salino**. Nucleus, v. 12, p. 77-86, 2015.

BEWLEY, J. D. et al. **Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy**. 3. ed. New York: Springer, 2013.

BIGOLIN, G.; CONTI, A.; BENNEDETTI, R.; HARTER, L. **Influência do vigor de sementes no rendimento e qualidade fisiológica de sementes de soja**. 2022.

BRANDELERO, W. et al., **Vigor e viabilidade de sementes de soja em resposta a umidade durante o processo de armazenagem**. A produção do Conhecimento nas Ciências Agrárias e Ambientais, v. 5, 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: SNAD/DNDV/CLAV, 2009.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção.** 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588 p.

CHANGXIA, LI et al. **Trehalose alleviates the inhibition of adventitious root formation caused by drought stress in cucumber through regulating ROS**

metabolism and activating trehalose and plant hormone biosynthesis. Plant Physiology and Biochemistry, v. 205, 2023.

CHATELAIN, E. et al. **O perfil temporal do proteoma estável ao calor durante a maturação tardia de sementes de Medicago truncatula identifica um subconjunto restrito de proteínas abundantes em embriogênese tardia associadas à longevidade**. Ambiente de células vegetais, v. 35, p. 1440-1455, 2012.

CHEN, T. H. H.; MURATA, N. **Enhancement of tolerance of abiotic stress by metabolic engineering of betaines and other compatible solutes**. Current Opinion in Plant Biology, v. 5, n. 3, p. 250-257, 2002.

CLEGG, J. S. **As propriedades físicas e o estado metabólico dos cistos de Artemia com baixo teor de água: "A hipótese da reposição de água". Em: Membranas, Metabolismo e Organismos Secos**. Leopoldo, A. C. (Ed.). Cornell University Press: Ithaca, NY, EUA, 1985. p. 169-187.

COELHO, D. L. M. et al. **Estresse hídrico com diferentes osmóticos em sementes de feijão e expressão diferencial de proteínas durante a germinação**. Acta Scientiarum. Agronomy, Maringá, v. 32, n. 3, p. 491-499, 2010.D

DRENNAN, P. M.; SMITH, M. T.; GOLDSWORTHY, D.; VAN STADEN, J. **The occurrence of dehydrin-like proteins in seeds of Acer saccharinum during the loss of desiccation tolerance**. Journal of Plant Physiology, v. 142, n. 6, p. 696-700, 1993.

ELBEIN, A. D. et al. **New insights on trehalose: a multifunctional molecule. Glycobiology**, v. 13, p. 17r-27r, 2003.

ELBEIN, A. D. **The metabolism of α, α-trehalose. Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry**, v. 30, p. 227-256, 1974.

ELLIS, R. H.; ROBERTS, E. H. **Improved equations for the prediction of seed longevity. Annals of Botany**, n. 45, p. 13-30, 1980.

FERNANDEZ, O. et al. **Trehalose and plant stress responses: friend or foe?** Trends in Plant Science, v. 15, n. 7, p. 409-417, 2010.

FINCH-SAVAGE, N.; BASSEL, G. W. **Vigor das sementes e estabelecimento da cultura: estendendo o desempenho além da adaptação**. J. Exp. Bot., v. 67, p. 567-591, 2016.

GARCIA, S. H. et al. **Simulação de estresse hídrico em feijão pela diminuição do potencial osmótico**. Revista de Ciências Agroveterinárias, Lages, v. 11, n. 1, p. 35-41, 2012.

GRENNAN, A. K. **The role of trehalose biosynthesis in plants**. Plant Physiology, v. 144, n. 1, p. 3-5, 2007.

HAMPTON, J. M.; TEKRONY, D. M. **Manual de métodos de teste de vigor**. 3ª Edição. Zurique: ISTA, 1995.

HORITA, E.; SARUYAMA, H. **Aceleração da germinação de sementes de cebola por tratamento de condicionamento com trealose e rafinose**. Horticultural Research (Japão), v. 5, 2006.

HUNDERTMARK, M. et al. **A redução das deidrinas específicas das sementes reduz a longevidade das sementes em *Arabidopsis thaliana***. Seed Science Research, v. 21, p. 165-173, 2011.

HUSSAIN, M. et al**. Improving drought tolerance by exogenous application of glycinebetaine and salicylic acid in sunflower**. J. Agron. Crop Sci., v. 194, p. 193-199, 2008.

ILHAN, S. et al. **Contribuição da via biossintética da trealose para a tolerância ao estresse hídrico de *Capparis ovata* Desf**. Planta Biol., v. 17, p. 402-407, 2015.

IORDACHESCU, M.; IMAI, R. **Biossíntese de Trehalose em Resposta a Estresses Abióticos**. Journal of Integrative Plant Biology, v. 50, p. 1223-1229, 2008.

ITURRIAGA, G.; SUÁREZ, R. R.; NOVA-FRANCO, B. **Metabolismo da trealose: da osmoproteção à sinalização**. International Journal of Molecular Sciences, v. 10, p. 3793-3810, 2009.

JAIN, N. K.; ROY, I. **Trehalose and protein stability. Current Protocols in Protein** Science, v. 59, n. 4.9, p. 4.9.1-4.9.12, 2010.

JOHN, R. et al. Trealose: **Metabolismo e Papel na Sinalização de Estresse em Plantas**. In: SARWAT, M. et al. (Eds.). Sinalização de estresse em plantas: perspectiva genômica e proteômica, Volume 2. Springer, Cham, 2017.

JOOSEN, R. V. et al. **Germinator: a software package for high-throughput scoring and curve fitting of Arabidopsis seed germination**. Plant Journal, v. 62, n. 1, p. 148-159, 2010.

KRZYZANOWSKI, Francisco Carlos; VIEIRA, Roberval Daiton; MARCOS FILHO, Julio; FRANÇA-NETO, José de Barros (editores). Vigor de Sementes: Conceitos e Testes. 2. ed. Londrina: ABRATES, 2021. 601 p.

LAWLES, K. et al. **Effect of delayed emergence on corn grain yields**. Journal of Plant Nutrition, v. 35, n. 3, p. 480-496, 2012.

LEPRINCE, O. et al. **Maturação tardia das sementes: secagem sem morrer**. J. Exp. Robô., v. 68, p. 827–841, 2017.

LI, Y. H. et al. **Brassinosteroids is involved in methane-induced adventitious root formation via inducing cell wall relaxation in marigold**. BMC Plant Biology, v. 23, 2023.

LIN, Y. X. et al. **Dynamic changes in membrane lipid metabolism and antioxidant defense during soybean (*Glycine max* L. Merr.) seed aging**. Front. Plant Sci., v. 13, 2022.

LIU, X. et al. **Fisiologia do rendimento da soja e desenvolvimento de práticas de alto rendimento no Nordeste da China**. Res. de colheita de campo, v. 105, p. 157–171, 2008.

MACHADO NETO, N. B. et al. **Deficiência hídrica induzida por diferentes agentes osmóticos na germinação e vigor de sementes de feijão**. Revista Brasileira de Sementes, v. 28, p. 142-148, 2006.

MACINTYRE, A. M. et al. **A trealose aumenta a tolerância do tomate à seca, induz defesas e aumenta a resistência à murcha bacteriana**. PLoS UM, v. 17, n. 4, e0266254, 2022.

MAGUIRE, J. A., **Speed of germination: aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor.** Crop Science, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.

MATTHEWS, S.; KHAJEH-HOSSEINI, M**. Length of the lag period of germination and metabolic repair explain vigour differences in seed lots of maize (*Zea mays*).** Seed Science and Technology, v. 35, n. 1, p. 200-212, 2007.

MIKUSINSKI, O. M., **Testes de embebição e germinação em sementes de Ipomoea aristolochiaefolia**. Revista Brasileira de Sementes, Londrina, v. 9, n. 3, p. 103-108, 1987.

MOHAN, R. et al., **Insights into mechanisms of seed longevity in soybean: a review**. Frontiers in Plant Science, v. 14, 2023.

MUNNS, R.; TESTER, M., **Mechanisms of salinity tolerance**. Annual Review of Plant Biology, v. 59, p. 651-681, 2008.

NOAA, National Oceanic and Atmospheric Administration. **Cold and Warm Episodes by Season**. National Weather Service. Climate Prediction Center, 2016.

OGE, L. et al. **Reparação de proteínas A L-isoaspartil metiltransferase1 está envolvida tanto na longevidade das sementes quanto no vigor da germinação em *Arabidopsis***. Célula Vegetal, v. 20, p. 3022–3037, 2008.

PACHECO, C. A.; CASTOLDI, F. L.; ALVARENGA, E. M. **Efeito do dano mecânico na qualidade fisiológica e na capacidade de expansão de sementes de milho pipoca**, 1996.

PONNU, J. et al. **Trehalose-6-phosphate: connecting plant metabolism and development**. Frontiers in Plant Science, v. 2, p. 70, 2011.

RAVIKUMAR, R. et al. **Alterações bioquímicas induzidas pelo envelhecimento em sementes de Bambusa bambos**. Biol. Planta, v. 40, p. 459–464, 1998.

RENNAN, P. M. et al. **The occurrence of trehalose in the leaves of the desiccation-tolerant angiosperm Myrothamnus flabellifolius Welw**. Journal of Plant Physiology, v. 142, n. 4, p. 493-496, 1993.

REZVANI, S.; SHARIATI, S. A**lém disso, a análise da trealose em *Arabidopsis thaliana* L. é útil em todas as fases da DH**. Rasayan J. Chem., v. 2, p. 267–270, 2009.

ROSER, B.; COLAÇO, C. **Uma forma mais doce de comida fresca**. Nova Ciência, v. 138, p. 25–28, 1993.

SALVI, P. et al. **A (s) galactinol sintase (s) diferencialmente expressa (s) no grão de bico estão implicadas no vigor e na longevidade das sementes, limitando o acúmulo de ERO induzido pela idade**. Scientific Reports, v. 6, 35088, 2016.

SANO, N. et al. **Permanecer vivo: aspectos moleculares da longevidade das sementes**. Physiologia Plantarum, v. 57, p. 660–674, 2016.

SMEEKENS, S. et al. **Sugar signals and molecular networks controlling plant growth**. Current Opinion in Plant Biology, v. 13, p. 274-279, 2010.

SOUZA, T. M. A. de et al. **Cowpea growth and production under different levels of available water and soil cover**. International Journal of Current Research, v. 8, p. 39122-39126, 2016.

STEINER, F. et al. **Drought tolerance of wheat and black oat crops at early stages of seedling growth**. Revista de Ciências Agrárias, v. 40, n. 3, p. 576-586, 2017.

TEJEDOR-CANO, J. et al. P**erda de função do programa de longevidade de sementes HSFA9**. Plant, Cell & Environment, v. 33, p. 1408–1417, 2010.

TROUVELOT, S. et al. **Carbohydrates in plant immunity and plant protection: roles and potential application as foliar sprays**. Frontiers in Plant Science, v. 5, 2014.

TÜRKAN, I.; DEMIRAL, T. **Recent developments in understanding salinity tolerance**. Environmental and Experimental Botany, v. 67, p. 2-9, 2009.

VILLELA, F. A.; FILHO, L. D.; SEQUEIRA, E. L. **Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietilenoglicol 6.000 e da temperatura**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 26, p. 1957-1968, 1991.

WALTERS, C. **Compreender o mecanismo e a cinética do envelhecimento das sementes**. Seed Science Research, v. 8, p. 223–224, 1998.

WATERWORTH, W. M. et al. **A plant DNA ligase is an important determinant of seed longevity**. Plant Journal, v. 63, p. 848-860, 2010.

WETTLAUFER, H. S.; LEOPOLD, A. C. **Relevância dos produtos Amadari e Maillard na deterioração de sementes**. Physiologia Plantarum, v. 17, n. 1, p. 165-169, 1991.

WILSON, D. O.; MCDONALD, M. B. **O modelo de peroxidação lipídica do envelhecimento de sementes**. Seed Science and Technology, v. 14, n. 2, p. 269–300, 1986.

WINGLER, A. **The function of trehalose biosynthesis in plants**. Phytochemistry, v. 60, n. 5, p. 437-440, 2002.

ZINSMEISTER, J. et al. **ABI5 é um regulador da maturação e longevidade das sementes em leguminosas**. Plant Cell, v. 28, p. 2735–2754, 2016.

CAPÍTULO 2

USO DE OSMOPROTETOR PARA MITIGAR OS IMPACTOS DO DÉFICIT HÍDRICO NO ESTABELECIMENTO INICIAL DE PLANTAS DE SOJA (*Glycine max*) EM CASA DE VEGETAÇÃO

RESUMO

O déficit hídrico é um dos principais problemas que comprometem o crescimento e desenvolvimento das culturas agrícolas, como a soja. Essa cultura possui grande importância socioeconômica, pois seus produtos e subprodutos fazem parte do consumo humano e animal, tornando-se um dos principais cultivos no mundo. A aplicação de osmoprotetores é uma das possíveis soluções para mitigar os efeitos dos estresses abióticos ocasionados por fenômenos climáticos, em virtude do aumento do aquecimento global. O objetivo deste estudo foi realizar o tratamento de sementes utilizando produtos à base de osmoprotetores (FP, F4 e F6) em duas concentrações, sob condições de déficit hídrico induzido, e associar o produto e a concentração com maior desempenho com inoculante e fungicida. O experimento foi conduzido em casa de vegetação por 20 dias, em copos de plástico de 700 mL, e o estresse foi induzido pela redução da capacidade de retenção de água do substrato. Para a combinação com inoculante e fungicida, o experimento foi realizado por 30 dias sem restrição hídrica, utilizando a metodologia adaptada de vasos “Leonard”. Os parâmetros avaliados foram germinação e vigor. As diferenças encontradas nos resultados sugerem que, quando ocorre o tratamento de sementes com produtos contendo somente trealose e água na concentração maior, há um efeito benéfico durante o estabelecimento das plantas, refletindo na capacidade da planta de se proteger contra os efeitos negativos do déficit hídrico. Além disso, quando associados a inoculante e fungicida, observou-se maior nodulação nas plantas, o que consequentemente melhora a fixação biológica de nitrogênio.

Palavras-chave: soja; estabelecimento inicial; déficit hídrico; osmoprotetores.

ABSTRACT

Water deficit is one of the main problems that compromise the growth and development of agricultural crops, such as soybeans. This crop is of great socio-economic importance, as its products and by-products are part of human and animal consumption, making it one of the main crops in the world. The application of osmoprotectants is one of the possible solutions to mitigate the effects of abiotic stresses caused by climatic phenomena, due to the increase in global warming. The aim of this study was to treat seeds using osmoprotectant-based products (FP, F4 and F6) in two concentrations, under conditions of induced water deficit, and to associate the product and concentration with the best performance with inoculant and fungicide. The experiment was conducted in a greenhouse for 20 days, in 700 mL plastic cups, and stress was induced by reducing the water retention capacity of the substrate. For the combination with inoculant and fungicide, the experiment was carried out for 30 days without water restriction, using the adapted “Leonard” pot methodology. The parameters assessed were germination and vigor. The differences found in the results suggest that when seeds are treated with products containing only trehalose and water at the highest concentration, there is a beneficial effect during plant establishment, reflecting the plant's ability to protect itself against the negative effects of water deficit. Furthermore, when the inoculant and fungicide were combined, there was greater nodulation in the plants, which consequently improves biological nitrogen fixation.

Keywords: soybean; initial establishment; water deficit; osmoprotectants.

2.1 INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max*) é considerada a principal *commodity* produzida no Brasil e tem o Brasil como maior produtor mundial, seu destaque é devido aos seus produtos e subprodutos terem importância socioeconômica (Hussain *et al.*, 2008 , Munns e Tester, 2008 , Türkan e Demiral, 2009). No entanto, o aumento da frequência e intensidade de eventos ocasionados pelas mudanças climáticas têm se tornando um desafio crescente para a agricultura moderna em virtude das suas consequências, que resultam em estresses por altas ou baixas temperaturas, escassez ou excesso de água, entre outros (Kerbauy, 2012; Noaa, 2016).

Com isso, é necessário buscar alternativas sustentáveis que reduzem os efeitos ocasionados pelos estresses em virtude de comprometerem o crescimento, rendimento e metabolismo das plantas, sendo uma ameaça para a segurança alimentar mundial, e combinado a essas alternativas, deve-se utilizar sementes com alta qualidade fisiológica (germinação, vigor e longevidade), sanitária, genética e física que contribui para um bom estabelecimento da população de plantas a campo (Kryzanowski, 2004).

Dentre os estresses ambientais, destaca-se o déficit hídrico, ou seja, a falta de água para as plantas, ocorrendo limitação no crescimento e desenvolvimento das culturas como diminuição da parte aérea, redução do potencial hídrico foliar e contribui para a senescência das plantas mais acelerada. A água é o elemento que participa de eventos na estrutura interna da planta que regula o seu metabolismo, permitindo um maior crescimento e desenvolvimento o que no final do ciclo garantirá altas produtividades (Kucharik, 2016) combinadas com outras práticas agrícolas.

Uma alternativa para mitigar os efeitos do déficit hídrico é o uso de osmoprotetores, os quais são moléculas que promovem um equilibro interno nas estruturas celulares das plantas (Ahn; Park; Park, 2011). A trealose é dissacarídeo, considerado osmoprotetor, tem ganhado destaque devido ao seus efeitos benéficos sobre o metabolismo das plantas, promovendo o crescimento e desenvolvimento das plantas em condições adversas, como no déficit hídrico. Esse dissacarídeos funciona como um soluto compatível e desempenha um papel importante na estabilização de moléculas das plantas em condições de déficit hídrico e está presente em quantidade muito baixa nas plantas (Goddijn e Van Dun 1999; Garg *et al.,* 2002; Avonce *et al.,* 2005; Li *et al.,* 2011; Shafiq *et al.*, 2015). Seu fornecimento pode conferir uma

maior tolerância ao déficit hídrico, como foi observado em *Arabidopsis* (Lunn *et al*., 2006), em plantas de milho (Ali e Ashraf, 2011) e de arroz (Nounjan e Theerakulpisut, 2012).

Além do uso isolado, a combinação de trealose com outros produtos utilizados como inoculantes e defensivos agrícolas deve ser investigada, como uma estratégia para otimizar a respostas das plantas. A combinação entre esses produtos pode potencializar os efeitos protetores da trealose, aumentando a tolerância das plantas a condições ambientais desfavoráveis e potencializar a formação de nódulos contribuindo para uma melhora da fixação biológica de nitrogênio (FBN), como já foi visto por Streeter e Gomez (2006) que a trealose está envolvida na FBN das plantas.

Diante disso o objetivo do trabalho foi avaliar o desenvolvimento inicial de plantas originárias de sementes tratadas com trealose em condições de déficit hídrico induzido, em casa de vegetação, e verificar a compatibilidade da trealose, inoculante e fungicidas em plantas originárias de sementes tratadas com esses produtos em condições favoráveis a cultura.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

As sementes de soja utilizadas neste trabalho foram produzidas durante a safra 2022/2023, no município de Itapeva – São Paulo. Utilizou-se sementes da cultivar NEO 610 IPRO adquiridas comercialmente, as quais foram produzidas em condições de campo, colhidas mecanicamente, beneficiadas e transportadas ao Laboratório de Análise de Sementes da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), campus de Botucatu. No laboratório foram armazenadas em câmara fria à temperatura de 10±5 ºC e umidade relativa de 50-60% para a realização da avaliação inicial e condução dos experimentos.

2.2.1 Avaliação inicial das sementes

A avaliação da qualidade inicial do lote das sementes de soja da cultivar NEO 610 IPRO foi realizada por meio de parâmetros como:

Germinação (plântulas normais e anormais): A avaliação da germinação foi realizada com 4 repetições de 50 sementes, utilizando rolos de papel (RP) do tipo Germitest®. Esses rolos foram previamente umedecidos com água destilada (em quantidade correspondente a 2,5 vezes o peso do papel seco) e colocados dentro de

uma câmara de germinação B.O.D (Biochemical Oxygen Demand), mantida a uma temperatura constante de 25°C, e sem exposição à luz, por um período de oito dias. Após esse período, a formação tanto de plântulas normais quanto anormais foi avaliada, seguindo os critérios estabelecidos pela Regra de Análise de Sementes (RAS) (Brasil, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem.

Sementes mortas: As sementes foram assim consideradas quando, ao final do teste de germinação, não houve a protrusão da radícula. Os resultados foram expressos em porcentagem.

Primeira contagem de germinação: Realizado concomitantemente com o teste de germinação por plântulas normais e anormais, correspondeu ao número de plântulas normais formadas após o quinto dia da instalação do teste, conforme estabelecido pela RAS (Brasil, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem.

2.2.2 Preparo do substrato e Capacidade de Retenção da Água

O substrato utilizado durante a condução do experimento foi areia lavada de granulometria fina, esterilizado em estufas à 200ºC por um período de 2 horas (Brasil, 2009).

Após isso, foi realizado o teste para a Capacidade de Retenção de Água (CRA) da areia. Foram pesadas 500 gramas de areia esterilizada e colocados em um filtro de papel, semelhante a um coador de café, ao qual foram adicionados 200 mL de água. Após permanecerem em repouso por cerca de 24 horas sobre uma proveta, todo o excesso de água foi drenado. O volume restante foi então determinado por diferença, representando a quantidade de água retida na areia (100%). A partir desse valor, foi calculado 60% da CRA, que é o recomendado para leguminosas (Brasil, 2009).

2.2.3 Tratamento de sementes

O procedimento de tratamento das sementes foi iniciado com a disposição das sementes em um saco plástico transparente. Em seguida, o produto a ser utilizado foi aplicado na dose adequada, proporcional à quantidade de sementes a serem tratadas. Após a aplicação, o saco foi fechado manualmente, e uma etapa de homogeneização foi realizada, envolvendo a agitação do saco por mais de dois minutos. Este processo garantiu uma distribuição uniforme do produto sobre todas as sementes, até que estas

apresentassem um aspecto de tratadas. As sementes foram então deixadas em repouso durante pelo menos 12 horas, antes de serem utilizadas, assegurando a absorção adequada do tratamento. O tratamento com fungicida foi realizado de 8 à 10 horas após a aplicação com trealose e já com inoculante foi realizado momentos antes da semeadura.

2.2.4 Condições de cultivo em déficit hídrico em casa de vegetação

O experimento foi conduzido em casa de vegetação sem monitoramento e controle da temperatura e umidade relativa do ar, na Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, campus de Botucatu – São Paulo, Brasil.

O experimento foi realizado com duas concentrações em períodos diferentes, conduzidos de maneira similar. A primeira concentração utilizada foi a de 120 mmol realizado no mês de abril de 2023 e a segunda concentração foi a de 180 mmol, realizado no mês de maio de 2023.

O ingrediente ativo (D-trealose) dos produtos utilizados durante a condução do experimento foi fornecido pela empresa Nagase do Brasil Comércio de Produtos Químicos Ltda. E, os produtos contendo esse ingrediente ativo (FP, F4 e F6) foi elaborado e cedido por uma indústria química, exceto o FP que foi produzido pelo autor. A dose utilizada para o tratamento de sementes foi de 10mL/kg de sementes.

Inicialmente, houve a necessidade de realizar uma diluição com água destilada dos produtos (F4 e F6) para diminuir a concentração do soluto e obter as concentrações desejadas (120 mmol e 180 mmol), visto que os produtos têm concentração superior a 185 mmol.

Em primeiro momento, as sementes utilizadas foram tratadas com: T1 (água destilada – testemunha), T2 (FP – 120 mmol), T3 (F4 – 120 mmol), T4 (F6 – 120 mmol). Já no segundo momento de condução com: T1 (água destilada – testemunha), T2 (FP – 180 mmol), T3 (F4 – 180 mmol) e T4 (F6 – 180 mmol).

Em copos descartáveis de 700 mL foi adicionado 1 kg de areia esterilizada, o experimento foi composto por 4 tratamentos e 4 repetições de 24 sementes, em que cada repetição compunha 8 copos contendo 3 sementes, em duas condições, controle (60% da CRA) e déficit hídrico (30% CRA), adicionando 170 mL e 85 mL de água respectivamente, antes da semeadura.

O período de condução foi de 20 dias e para o fornecimento de água levou-se em consideração o aspecto visual do copo, mas, foi fornecido água duas vezes durante o experimento nas duas concentrações, aos 9 e 12 dias. Para a condição de controle forneceu-se 30% da CRA e para condição de déficit hídrico 15% da CRA.

2.2.4.1 Avaliações

2.2.4.1.1 Emergência e Índice de Velocidade de Emergência

O Índice de Velocidade de Emergência (IVE) foi avaliado através da contagem diária das plântulas emergidas (rompimento da superfície do solo) após a semeadura até a avaliação final aos 20 dias.

Para o cálculo do IVE foi utilizado a formula proposta por Maguire (1962) IVE = (G1/N1)+ (G2/N2) + (Gn/Nn), em que: IVE = índice de velocidade de emergência; G = número de plântulas computadas nas contagens; N = número de dias da semeadura à 1ª, 2ª...14ª avaliação. E o número final de plântulas emergidas foi transformado em percentagem de emergência.

2.2.4.1.2 Área foliar

Para análise de área foliar, foram seccionadas as folhas das plântulas, independentemente de estar totalmente expandida ou não, e fotografadas com auxílio de um smartphone. Para se ter referência de medida, utilizou-se uma régua graduada (em milímetros) juntamente com as folhas sobre um pano preto.

As imagens selecionadas, seguidas da definição da escala de referência (em milímetros) foi avaliada a área foliar de maneira digital com a utilização do programa ImageJ® versão 1.53 (Ferreira; Rasband, 2012) e os resultados exportados em formato Excel.

2.2.4.1.3 Comprimento e massa de matéria seca de parte aérea e de raiz

O comprimento de parte aérea e raiz das plântulas foi mensurado de maneira digital por meio do software ImageJ®, versão 1.53 (Ferreira; Rasband, 2012). As plântulas foram seccionadas com lâmina e separadas em parte aérea e raiz, colocadas sobre um pano preto contendo uma referência de medida (régua graduada em milímetros) e fotografadas com auxílio de um Smartphone.

Com as plântulas obtidas, foram levadas separadamente em parte aérea e raiz em sacos de papel multifoliados para a estufa de circulação de ar à 60ºC por 72 horas e pesadas em balança de precisão 0,0001g.

2.2.5 Associação do produto F6 180 mmol com inoculante e fungicida em casa de vegetação

O experimento foi conduzido em casa de vegetação com monitoramento da temperatura e umidade relativa (Data Logger), na Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, campus de Botucatu – São Paulo, Brasil.

Em copos descartáveis de 700 mL foram feitos 5 furos em sua base. Posteriormente foi adicionado o substrato (areia esterilizada + vermiculita de granulometria média previamente homogeneizados), metodologia Burton adaptada (1978) na proporção 1:1 (74 gramas de cada, de modo que enchesse o copo) e acondicionados 4 copos por bandeja (comprimento: 34cm largura: 24cm e altura: 6,5cm).

As sementes utilizadas foram tratadas com: T1 (água destilada – testemunha), T2 (F6 180 mmol), T3 (Inoculante), T4 (Fungicida), T5 (F6 180 mmol + Inoculante), T6 (F6 180 mmol + Fungicida), T7 (Inoculante + Fungicida) e T8 (F6 180 mmol + Inoculante + Fungicida), conforme o item 2.3.

O tratamento de sementes com inoculante foi realizado antes da semeadura com o produto da Bioma Brady® em uma dose de 2 mL/ 50kg de sementes, à base de bactérias do gênero *Bradyrhizobium japonicum* SEMIA 5079 e 5080. O fungicida utilizado foi Standak Top® em uma dose de 200 mL p.c./ 100kg de sementes.

Em seguida, foram colocados 75 mL de água em cada copo de modo que tivesse água para a semente iniciar o processo de embebição e assim semeadas 3 sementes por copo. Nas bandejas, inicialmente foram adicionados 1 litro de água adaptado de vasos de “Leonard” e trocando a água em dias alternados, adicionando 500 mL em cada bandeja para que o suprimento de água fosse interrupto. Aos 14 dias, observado o estabelecimento de plântulas foi feito o desbaste, deixando somente uma plântula por copo, conduzindo- a até o estádio V2 (aproximadamente 30 dias), período máximo que a planta tolera sem suprimento nutricional.

O experimento foi composto de 8 tratamentos e 5 repetições, em cada repetição compunha 4 copos, no total de 20 copos e plantas por tratamento.

2.2.5.1. Avaliações

2.2.5.1.1. Área Foliar

As folhas totalmente expandidas das plantas foram seccionadas no ápice do pecíolo para análise da área foliar. Elas foram, então, colocadas em sacos de papel e levadas ao Instituto de Biociências (IB) da UNESP, onde foram digitalizadas utilizando integrador de área foliar Li-COR, modelo Li 300, especificamente para quantificar a área foliar. O valor da área é exibido em um visor e expresso em centímetros quadrados (cm^2).

2.2.5.1.2 Comprimento e massa de matéria seca de parte aérea e de raiz

As plantas foram retiradas dos copos cuidadosamente, lavadas em água corrente a fim de retirar o excesso de substrato, seccionadas e separadas em parte aérea e raiz. O comprimento de parte aérea e raiz das plântulas foi mensurado com auxílio de uma régua graduada em milímetros.

Com as plântulas obtidas, foram levadas separadamente em parte aérea e raiz em sacos de papel multifoliados para a estufa de circulação de ar à 80ºC por 24 horas e pesadas em balança de precisão 0,0001g

2.2.5.1.3 Nodulação

A avaliação da nodulação das plantas de soja foi realizada nos tratamentos contendo inoculante e amostradas todas as plantas dos tratamentos. As plantas foram retiradas dos vasos e o substrato removido. Em seguida, os nódulos foram contados manualmente e retirado das plantas de modo a não danificar. Em etapa seguinte foram levados para a secagem em estufa a 60ºC por 24 horas e pesadas em balança de precisão 0,0001g.

2.2.6 Análise dos resultados

As análises de componentes principais foram realizadas usando software Minitab 19. Com os dados obtidos, foi realizada a análise de variância pelo teste F com comparação das médias entre os tratamentos nas diferentes concentrações e

produtos separadamente pelo teste Tukey em nível de 5% de probabilidade, através do programa estatístico AgroStat.

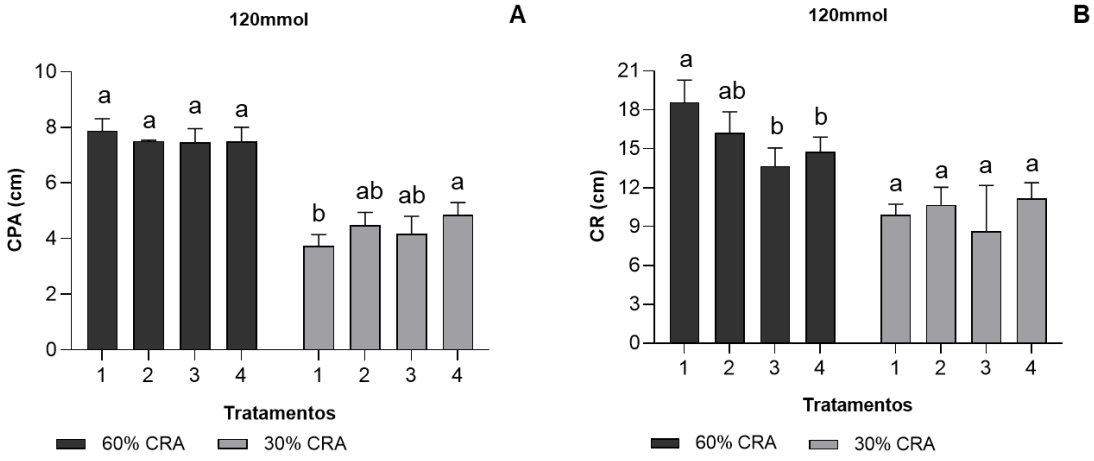
2.3. RESULTADOS

2.3.1 Efeito do déficit hídrico das sementes tratadas com FP, F4 e F6 nas concentrações de 120 e 180 mmol em casa de vegetação

Para avaliar o efeito dos produtos FP, F4, F6 e testemunha em casa de vegetação nas concentrações de 120 e 180 mmol em condição controle e estresse hídrico, sendo avaliados emergência de plântulas, índice de velocidade de emergência, área foliar, comprimento de parte aérea e da raiz e massa de matéria seca da parte aérea e da raiz. No entanto, verificou-se efeito significativo apenas para comprimento de parte aérea e raiz, massa de matéria seca da parte aérea e da raiz.

Na Figura 1A observa-se o comportamento do comprimento da parte aérea na concentração de 120 mmol, em que na condição controle não houve diferença estatística entre os produtos. Mas, não é observado o mesmo comportamento em condições de estresse hídrico, sendo possível visualizar que sementes tratadas oriundas do tratamento com F6 obteve um desempenho superior, com valores médios de comprimento de parte aérea 4,85 cm, um incremento de 1,11 cm quando comparado a testemunha, que apresentou um desempenho inferior com valores médios de 3,74 cm. A Figura 1B apresenta o gráfico dos valores médios do comprimento da raiz em condições controle e estresse na concentração de 120 mmol. Observa-se que em condição de controle, a testemunha teve desempenho superior com valor médio de 18,58 cm, mas que não se difere estatisticamente do produto FP que teve valor médio de 16,24 cm. No entanto, o comportamento dos produtos F4 e F6 foi inferior, reduzindo o comprimento da raiz, com valores médios de 13,65 e 14,74 cm, respectivamente. Para a condição de estresse, não houve diferença significativa, mas os produtos FP e F6 teve valores numéricos superiores de 10,67 e 11,15, em relação a testemunha com comprimento da raiz de 9,89 cm, além disso, o produto F4 foi até inferior a testemunha, com valor médio de comprimento da raiz de 8,64 cm.

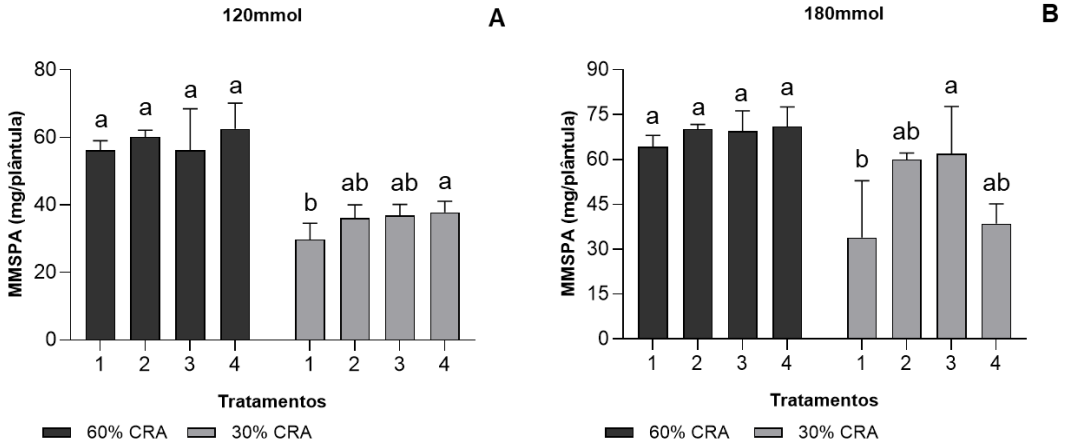
Figura 1 - Gráfico de médias de Comprimento de parte aérea (A) e; Comprimento da raiz (B) na concentração de 120 mmol em condições de controle (60% CRA) e estresse hídrico (30% CRA) com diferentes produtos a seguir: tratamento 1 (testemunha); tratamento 2 (formulação pura); tratamento 3 (formulação 4); tratamento 4 (formulação 6). Média seguida pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade



Na Figura 2A observa-se os gráficos da massa de matéria seca da parte aérea na concentração de 120 mmol em que na condição controle não houve efeito significativo. Na condição de estresse, as sementes tratadas com o produto F6 teve desempenho superior, com valor médio de 37,85 mg/plântula, incremento de 27%, em comparação com a testemunha.

Para a variável massa de matéria seca de parte aérea na concentração de 180 mmol (Figura 2B), a condição de controle não apresentou diferença significativa. Porém, para a condição de estresse hídrico, o produto F4 se destacou pelo seu desempenho superior, com um valor médio de 61,96 mg/plântula, mas não diferiu estatisticamente do produto FP que apresentou um valor médio de 60,02 mg/plântula, quando comparado com a testemunha que resultou em um desempenho inferior com um valor médio de 33,91 mg/plântula.

Figura 2 - Gráfico de médias de Massa de matéria seca de parte aérea na concentração de 120 mmol (A) e 180 mmol (B) em condições de controle (60% CRA) e estresse hídrico (30% CRA) com diferentes produtos a seguir: tratamento 1 (testemunha); tratamento 2 (formulação pura); tratamento 3 (formulação 4); tratamento 4 (formulação 6)

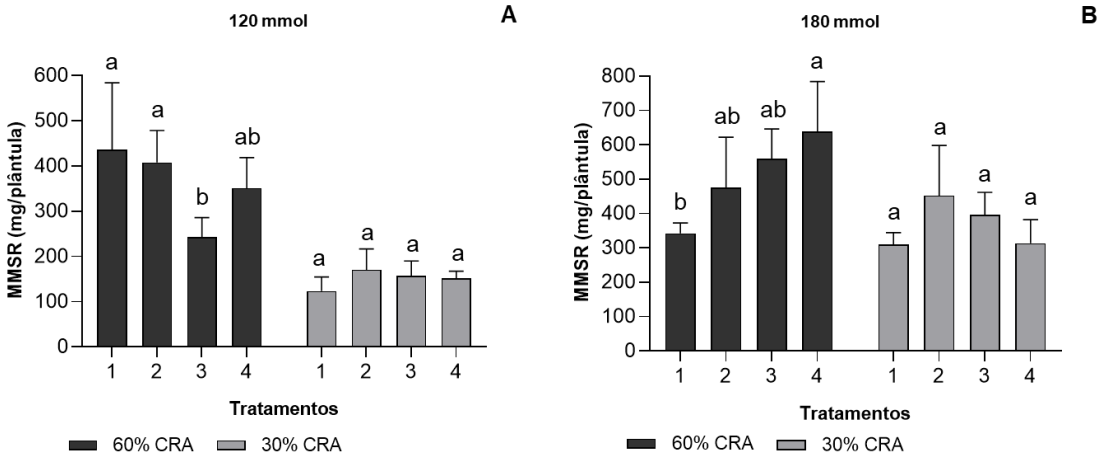


Para a variável massa de matéria seca da raiz na concentração de 120 mmol, observa-se que na condição de controle, a testemunha e as sementes tratadas com o produto FP, tiveram desempenho superior com massas de 435,53 e 408,20 mg/plântula, respectivamente. O produto F4, por sua vez, apresentou um desempenho inferior com um valor médio de 243,42 mg/plântula, reduzindo a massa da plântulas, comparado com a testemunha. Para a condição de estresse não houve efeito significativo, mas em numérico, o FP apresentou um valor médio de 170,66 mg/plântula, atingindo um valor maior em comparação com a testemunha que apresentou um valor de 123,54 mg/plântula (Figura 3A).

Na Figura 3B são apresentados os resultados da massa de matéria seca da raiz na concentração de 180 mmol, observa-se que para a condição controle as sementes oriundas do tratamento com o produto F6, apresentou desempenho superior, com destaque por atingir o valor médio de 638,29 mg/plântula, em comparação a testemunha que apresentou desempenho inferior, com valor médio de 342,05 mg/plântula. Em condição de estresse hídrico, não houve efeito significativo, porém os resultados numéricos se mostram interessantes, em que o produto FP apresentou valor médio de 452,53 mg/plântula com um desempenho maior numericamente em relação a testemunha, que apresentou 309,61 mg/plântula com

uma diferença numérica de 142,92 mg/plântula, o que confere um efeito do produto positivo sobre as sementes tratadas.

Figura 3 - Gráfico de médias de Massa de matéria seca d*a* raiz na concentração de 120 mmol (A) e 180 mmol (B) em condições de controle (60% CRA) e estresse hídrico (30% CRA) com diferentes produtos a seguir: tratamento 1 (testemunha); tratamento 2 (formulação pura); tratamento 3 (formulação 4); tratamento 4 (formulação 6). Média seguida pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade



A seleção de produtos e concentração para realizar a associação com inoculante e fungicida se baseou na análise de componentes principais (PCA) com os parâmetros de emergência, IVE, comprimento de parte aérea e da raiz, massa de matéria seca da parte aérea e da raiz e área foliar (Figura 4).

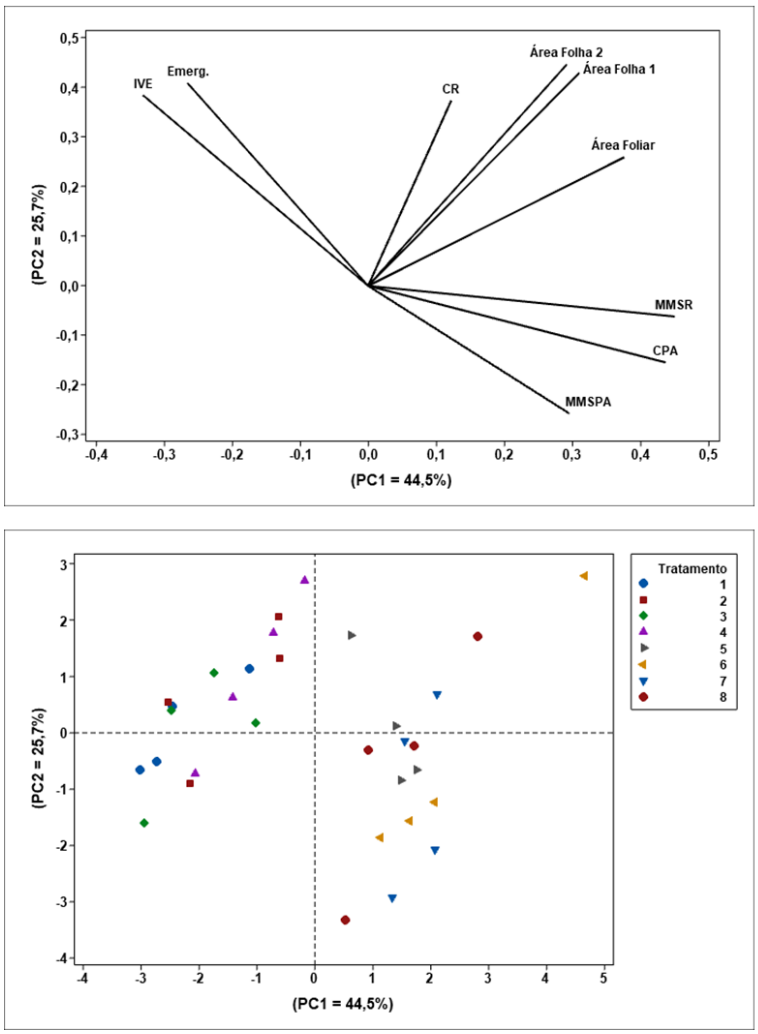
Determinar quantos PCs devem ser mantidos na análise de componentes principais (PCA), onde a quantidade de variação explicada é fundamental (Piedade *et al*., 2019) É recomendável que a proporção de variância explicada pelos PCs seja de pelo menos 70% (Rencher, 2002). Diante disso, na Figura 4A é possível notar a disposição das amostras, sendo consideradas a primeira e segunda componente, sendo que a primeira responde por 44,5 % e a segunda 25,7 % de representação de percentual da variância dos dados e juntas explicam 70,2 % da variância da matriz dos dados.

A análise de PCA possibilitou observar que as variáveis comprimento de parte aérea e da raiz, massa de matéria seca da parte aérea e da raiz e área foliar

apresentaram maior relação entre si dentre as variáveis analisadas e uma relação oposta foi observada para IVE e emergência.

De modo geral, as variáveis mais relacionadas se apresentaram agrupadas e relacionadas com a concentração de 180 mmol, podendo ver essa relação na Figura 4B. Essa concentração foi utilizada para associação com inoculante e fungicida e o produto escolhido foi o F6, por ter apresentado um desempenho superior nessa concentração como observado nos resultados.

Figura 4 - Análise de componentes principais da concentração de 120mM e 180mM dos produtos FP, F4 e F6 em condição de 30% da capacidade de retenção de água do substrato em que A: gráfico de loading e B: gráfico de scores e os tratamentos: 1 – Testemunha 120 mmol; 2 – FP 120 mmol; 3 – F4 120 mmol; 4 – F6 120 mmol; 5 – Testemunha 180 mmol; 6 – FP 180 mmol; 7 – F4 180 mmol e; 8 – F6 180 mmol

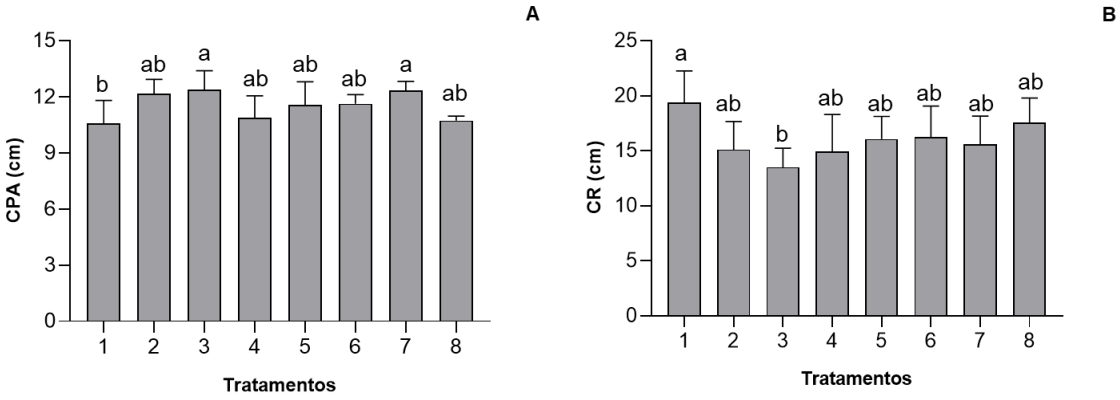


2.3.2 Associação das sementes tratadas com F6, inoculante e fungicida em casa de vegetação

Para avaliar o efeito da associação entre o produto F6 (concentração de 180 mmol) + inoculante + fungicida, foram avaliados a área foliar, o comprimento de parte aérea e da raiz, a massa de matéria seca da parte aérea, da raiz e dos nódulos e número de nódulos.

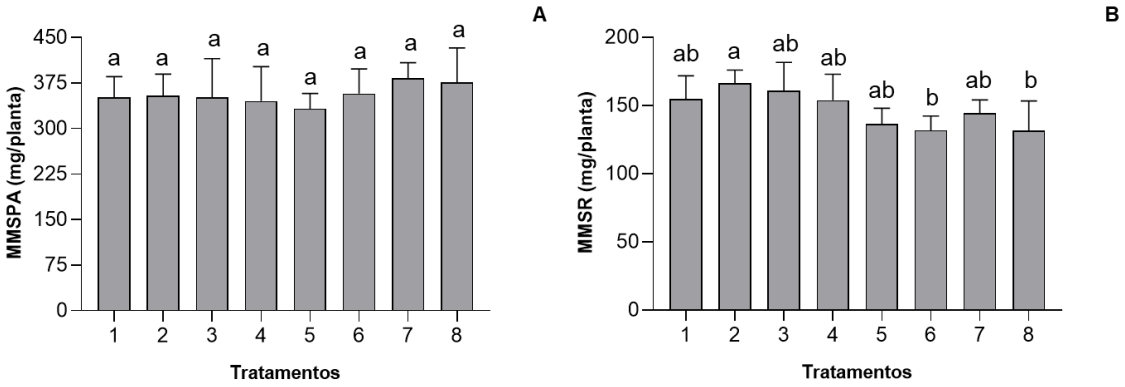
Na Figura 5 são apresentados os dados de comprimento de parte aérea (A) e da raiz (B). Para o comprimento de parte aérea, observa-se que as sementes do tratamento 3 (inoculante) e tratamento 7 (inoculante + fungicida) obtiveram um desempenho superior, quando comparado com a testemunha, gerando valores médios de 12,37 e 12,34 cm, respectivamente. Os outros tratamentos não se diferiram. Para o comprimento da raiz (Figura 5B), observa-se que a testemunha (tratamento 1) se destacou, apresentando um desempenho superior com um comprimento de raiz médio de 19,40 cm e sementes tratadas com inoculante (tratamento 3) apresentou desempenho inferior com comprimento médio de 13,51 cm, com redução de 5,89 cm, comparado com a testemunha. Os outros tratamentos não se diferiram.

Figura 5 - Gráfico de médias de comprimento de parte aérea (A) e comprimento de raiz (B) de soja cv. NEO 610 IPRO, em que os tratamentos: 1 – Testemunha; 2 – F6 180 mmol; 3 – Inoculante; 4 – Fungicida; 5 – F6 180 mmol + Inoculante; 6 – FP 180 mmol + Fungicida; 7 – Inoculante + Fungicida e; 8 – F6 180 mmol + Inoculante + Fungicida. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade



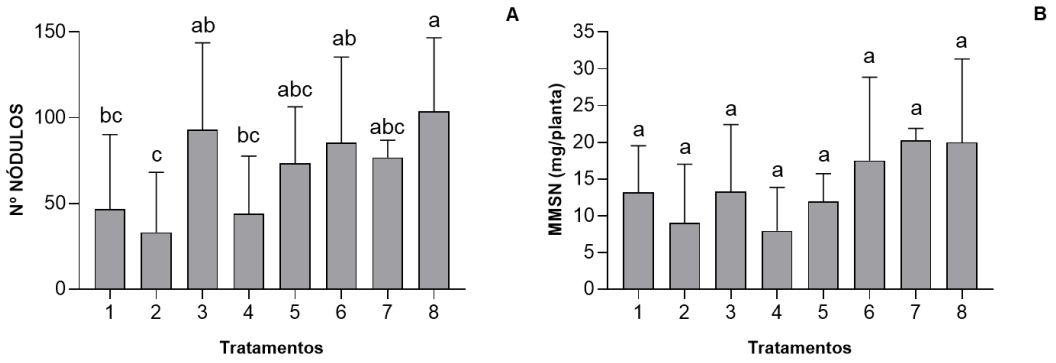
Em relação a massa de matéria seca de parte aérea (Figura 6A) não houve diferença significativa. Mas, para a massa de matéria seca da raiz (Figura 6B), sementes oriundas do tratamento com F6 na concentração de 180 mmol (tratamento 2), se destacou com um desempenho superior, apresentando um valor de 166,60 mg/planta. E, quando há uma associação entre F6 na concentração de 180 mmol e fungicida (tratamento 6) e F6 na concentração de 180 mmol, fungicida e inoculante (tratamento 8), os valores da massa apresentam um desempenho inferior, com menores valores médios.

Figura 6 - Gráfico de médias de Massa de matéria seca de parte aérea (A) e da raiz (B) de soja cv. NEO 610 IPRO, em que os tratamentos: 1 – Testemunha; 2 – F6 180 mmol; 3 – Inoculante; 4 – Fungicida; 5 – F6 180 mmol + Inoculante; 6 – FP 180 mmol + Fungicida; 7 – Inoculante + Fungicida e; 8 – F6 180 mmol + Inoculante + Fungicida. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade



Para o número de nódulos (Figura 7A) observa-se que quando há combinação de F6 na concentração de 180 mmol, fungicida e inoculante (tratamento 8) ocorreu aumento no número de nódulos, apresentando valores médios de 103,8 nódulos/planta, quando comparado com o tratamento só com inoculante (tratamento 3), que apresentou valor médio de 93 nódulos/planta. Para a variável massa de nódulos não houve diferença significativa, no entanto, houve numérica, em que o tratamento 7 (inoculante + fungicida) e tratamento 8 apresentaram maior massa, com valor médio de 20,25 e 20 mg/planta, respectivamente.

Figura 7 - Gráfico de médias do Número de nódulos (A) e Massa de matéria seca de nódulos (B) de soja cv. NEO 610 IPRO, em que os tratamentos: 1 – Testemunha; 2 – F6 180 mmol; 3 – Inoculante; 4 – Fungicida; 5 – F6 180 mmol + Inoculante; 6 – FP 180 mmol + Fungicida; 7 – Inoculante + Fungicida e; 8 – F6 180 mmol + Inoculante + Fungicida. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade



2.4 DISCUSSÃO

2.4.1 O efeito déficit hídrico das sementes tratadas com FP, F4 e F6 nas concentrações de 120 e 180 mmol em casa de vegetação

O efeito do estresse hídrico nas plantas causa uma instabilidade no sistema antioxidativo das plantas, induzem a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs), desestruturação nas estruturas internas das membranas, formação de radicais livres e como consequência, o estresse oxidativos nas plantas (El-Esawi *et al.*, 2018 , El-Esawi *et al*., 2019 , El-Esawi e Alayafi, 2019; Abdelaal *et al*., 2020; Ali *et al*., 2020; El-Esawi *et al*., 2020; Imran *et al*., 2020; Naveed *et al*., 2020; Zafar-Ul-Hye *et al*., 2020). E a molécula de trealose pode atuar como um osmoprotetor com um desempenho na manutenção do equilíbrio osmótico celular, estabilização das moléculas e estruturas celulares das plantas (Wingler *et al*., 2002; Elbein *et al*., 2003).

Foi verificado o efeito do tratamento de sementes com trealose nas concentrações de 120 e 180 mmol com diferentes produtos (FP, F4 e F6) sob condições de déficit hídrico por meio da redução da capacidade de retenção de água do substrato em casa de vegetação. Os resultados da análise revelaram um impacto positivo das plantas quando as sementes foram tratadas com trealose (Figuras 1, 2 e 3), mitigando os efeitos do estresse hídrico.

Os resultados referentes ao comprimento da parte aérea em condições de déficit hídrico na concentração de 120 mmol demonstrou diferença entre os tratamentos em que o produto F6 elevou o comprimento das plântulas (Figura 1A), com um possível acúmulo de trealose nas plantas (fase posterior a germinação) e houve a diminuição dos impactos negativos do estresse, o que faz com que ocorra a preservação da integridade das células durante o estresse hídrico e um aumento na tolerância ao déficit hídrico com um impacto positivo no crescimento e desenvolvimento das plântulas. Os resultados encontrados corroboram com o trabalho realizado por Farias-Rodriguez *et al*. (1998) que a aplicação de trealose influencia no crescimento de plantas de feijão em condições de estresse hídrico induzido e são coerentes com as descobertas anteriores, em que a trealose aplicada de forma exógena pode aumentar o crescimento de plantas de plantas de milho (Zeid, 2009), trigo (Ibrahim e Abdellatif, 2016) e rabanete (Akram *et al*., 2016) cultivadas em condições de estresse. Além disso em um estudo elaborado por Chen e Murata (2002) e John *et al*., (2017), o acúmulo de trealose nas plantas permite reter o seu potencial hídrico, manter turgor celular e a estabilidade da membrana, fazendo com que os danos ocasionados pelo déficit hídrico sejam reduzidos. Por outro lado, quando ocorre a aplicação foliar de trealose ocorre a regulação do sistema de defesa antioxidante com a eliminação de EROs, aumento do crescimento e progresso de plântulas de milho estressadas (Razzaq, 2024). Assim os dados obtidos sugerem que no tratamento de sementes é possível verificar a redução do efeito do estresse hídrico em plantas e consequentemente do estresse osmótico influenciado pela trealose. O mesmo comportamento pode ser observado em trabalho realizado por Shahbaz *et al*., (2017) em que a aplicação exógena (foliar) de trealose também aliviou os efeitos adversos do estresse osmótico causado pela seca e salinidade no crescimento das plantas de arroz, resultando em melhorias nos atributos de crescimento e rendimento, na fluorescência da clorofila e no teor de clorofila.

No entanto, quando é apresentada a variável de comprimento de raiz (Figura 1B), os resultados na condição de controle expressam uma redução no comprimento em que os tratamentos com trealose causam um efeito negativo, devendo ser investigado, pois esse açúcar não interfere negativamente no crescimento e desenvolvimento em condições favoráveis e ainda, por participar do metabolismo da plântula estimula o crescimento do seu sistema radicular, além de otimizar o uso dos recursos hídricos em condições ótimas (Li *et al*., 1998).

A relação entre o efeito da trealose com a massa matéria seca da parte aérea e raiz na concentração de 120 e 180 mmol na condição de estresse (Figura 2 e 3) demonstrou que a incorporação da trealose nas sementes também permitiu um acúmulo maior de massa na fase vegetativa, pós-germinação e emergência. Esse efeito pode estar relacionado com o ajuste osmótico, sem causar uma diminuição na fotossíntese em condições de déficit hídrico, é mantida a turgescência da planta, assim a fotossíntese e as atividades metabólicas e fisiológicas das plantas ocorrem normalmente (Palta *et al*.,1994) e com isso as plantas mantém sua capacidade de realizar a fotossíntese, acumular energia nas plantas, que por consequência leva a uma maior assimilação de carboidratos, mesmo que em condições adversas. A trealose é amplamente envolvida neste processo, pois provoca uma hidratação celular e protege as enzimas e proteínas que são envolvidas em processos metabólicos essenciais para a sobrevivência das plantas. Akram *et al*., (2016) demonstraram que o uso de trealose no tratamento de sementes de rabanete provocou um aumento na biomassa fresca e seca, bem como nos teores de clorofila e açúcar solúvel total.

Com base nos resultados, é possível deduzir que a aplicação de trealose no tratamento de sementes de soja proporcione uma capacidade de osmoproteção, ocasionando em um ajuste metabólico das estruturas celulares mais eficaz frente ao estresse hídrico induzido nas plantas em casa de vegetação, conferindo maior tolerância. No entanto são necessários mais estudos para verificar os efeitos a nível molecular e metabolismo da trealose.

2.4.2 Efeito nas sementes tratadas com F6 em associação com inoculante e fungicida em casa de vegetação

Com a análise de componentes principais (PCA), selecionou-se uma concentração para associar o inoculante e o fungicida a partir das variáveis já analisadas e, em paralelo, agrupando aquelas com maior similaridade (Valladares *et al*., 2008),

O produto F6 na concentração de 180 mmol foi selecionado e associado com fungicida e inoculante, com disponibilidade de água e na presença de 60% de CRA. Os resultados sugerem que há compatibilidade na utilização dos três produtos no tratamento de sementes para melhor desenvolvimento das plantas, visto que o uso de inoculante e fungicida é uma prática indispensável e benéfica no tratamento de sementes de soja.

A interação simbiótica entre planta-microrganismo causa um benefício para o hospedeiro e a formação de nódulos em leguminosas ou as associações micorrízicas muitas vezes resultam no aumento da biomassa do hospedeiro ou na melhoria da resistência ao estresse (Bhagwat, 1999). Diante disso, os resultados deste estudo têm sugerido que a combinação entre F6 na concentração de 180 mmol, inoculante (*Bradyrhizobium japonicum*) e fungicida não causa um efeito antagônico.

Neste trabalho, ao analisar os dados de comprimento da parte aérea e da raiz (Figura 5) das sementes tratadas com diferentes combinações de produtos, observou-se uma restrição no crescimento das plantas originadas das sementes tratadas com trealose. Este efeito é inusitado, pois a trealose geralmente promove o crescimento e desenvolvimento das plantas, mesmo quando em condições não estressantes (Li *et al*., 1998). Isso é considerado um resultado inconclusivo, sendo necessário uma investigação. Uma sugestão para esse fenômeno é que a planta pode ter redirecionado seus metabólitos para outras partes da planta e com isso comprometendo seu crescimento.

Os dados apresentados da massa de matéria seca da parte aérea e da raiz (Figura 6) sugerem que o tratamento de sementes com trealose estimula nas plantas maior formação de biomassa e, que isso, pode estar associado a um regulador (trehalose-6-phosphate) que participa da biossíntese da trealose nas plantas considerado uma molécula chave que aumenta sua capacidade fotossintética e, consequentemente, causa um aumento na biomassa das culturas (Pellny *et al*., 2004).

Tem sido sugerido que a trealose é um metabólito que atua como um sinalizador na interação da planta com microrganismos simbióticos (Garg e Singla, 2016), e por estar envolvida na interação planta-microrganismo, à medida que as plantas ativam respostas de defesa, são superadas pelo microrganismo, neste caso, a bactéria (Bhagwat, 1999) e sua presença foi relatada no início da década de 1980 em nódulos de soja (Streeter e Gomez, 2006), e pelo fato da síntese de trealose ocorrer nas bactérias neste caso, a maior parte é encontrada no citoplasma das células vegetais hospedeiras (Farias-Rodriguez *et al*., 1998). E a presença de trealose em nódulos pode melhorar a tolerância do hospedeiro ao estresse, conforme revelado pelo aumento na síntese de trealose em nódulos durante o estresse hídrico (Farias-Rodriguez *et al*., 1998). No entanto, as condições ambientais deste estudo não foi de estresse hídrico, mas quando se é observado o efeito na nodulação, responsável pela fixação biológica de nitrogênio (FBN) nas leguminosas, há um maior número de

nódulos originários da combinação entre fungicida, trealose e inoculantes (Figura 7A), nesse caso os dados sugerem que houve uma melhor eficiência das bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, com benefício favorável ao microrganismo e com consequência beneficiando o hospedeiro (planta). Em um estudo realizado por Suárez *et al*. (2008), com plantas de feijão-comum inoculadas com uma cepa de *Rhizobium etli* que expressa um gene da síntese da trealose, mostrou um aumento de 27% no número de nódulos, um aumento de 38% na atividade de nitrogenase (enzima envolvida no processo da FBN) e um incremento de 25% na biomassa das plantas, em comparação com plantas hospedeiras inoculadas com cepas selvagem.

Por outro lado, a trealose também está envolvida na proteção dos nódulos da FBN durante o estresse hídrico, como foi observado por McIntyre *et al*., (2007) que concluíram que a trealose acumulada intracelularmente não só protege as células de *Rhizobium leguminosarum* contra a dessecação, mas também contra o estresse durante a nodulação. Salazar *et al*. (2009), por sua vez, inocularam *Azospirillum brasilense* geneticamente modificado, capaz de acumular trealose sob altas concentrações salinas, em plantas de milho. Eles observaram que 85% das plantas de milho inoculadas sobreviveram ao estresse hídrico, além de terem sua biomassa aumentada em 73%. Em outro estudo conduzido por Streeter (2007), foi verificada uma forte correlação entre a concentração de trealose na célula de *Bradyrhizobium japonicum* e a sobrevivência nas sementes, indicando ser uma substância importante para a manutenção da bactéria. Além disso, durante o processo de embebição, as sementes liberam compostos para o meio que podem inibir ou até mesmo matar as células bacterianas. Nesse sentido, o uso de substâncias que neutralizam esses compostos pode ser vantajoso, destacando-se a trealose (Deaker *et al*., 2004). Com isso, uma sugestão, não avaliada neste estudo, é verificar o efeito do tratamento de sementes com trealose em plantas submetidas a déficit hídrico, como sendo uma perspectiva futura para a continuação da pesquisa.

A massa de nódulos está relacionada com a simbiose que acontece entre a planta e a bactéria, e um aumento na massa de nódulos geralmente indica uma simbiose mais eficaz, a planta para suprir a necessidade de nitrogênio para a cultura, deve mostrar no campo, no estádio reprodutivo, entre 15 e 30 nódulos por planta ou entre 100 e 200 mg de massa nodular por planta (Vargas *et al*., 1982), No entanto a avaliação realizada 30 dias após a semeadura (DAS), durante o estágio vegetativo, demonstrou que os resultados obtidos (Figura 7B) sustentaram uma nodulação eficaz,

evidenciando que a presença de trealose não prejudicou a simbiose entre a planta e seu hospedeiro, mas que o período avaliado não foi suficiente para gerar alterações na massa de nódulos na associação entre trealose, fungicida e inoculante, o que pode estar relacionado a um efeito tardio, já que o número de nódulos se destacou (Figura 7A).

2.5 CONCLUSÕES

Em sementes tratadas com o osmoprotetor e avaliadas quanto ao estabelecimento inicial de plantas, é possível perceber que há um efeito positivo nas plantas e permite uma redução nos efeitos ocasionados pelo déficit hídrico assim, conferindo uma maior tolerância.

A associação de F6 na maior concentração, fungicida e inoculante gera maior formação de nódulos e sugerindo uma melhoria na fixação biológica do nitrogênio.

REFERÊNCIAS

ABDELAAL, W. M.; EL-SHARKAWY, H. M.; ABDEL-LATIF, M. T. **Oxidative stress in plants: mechanisms and mitigation strategies**. Journal of Plant Physiology, v. 246, p. 124-136, 2020.

AHN, J.H.; PARK, K.W.; PARK, S.K. **Effects of seed priming on the germination and seedling growth of Chinese cabbage**. Horticulture, Environment, and Biotechnology, v. 52, n. 4, p. 430-434, 2011.

AKRAM, N.A.; WASEEM, M.; AMEEN, R. et al. **O pré-tratamento com trealose induz tolerância à seca em plantas de rabanete (*Raphanus sativus* L.): algumas características fisiobioquímicas importantes**. Planta Acta Physiol, v. 38, p. 3, 2016.

ALI, Q. et al. **Foliar spray of Fe-Asp confers better drought tolerance in sunflower as compared with FeSO4: Yield traits, osmotic adjustment, and antioxidative defense mechanisms**. Biomolecules, v. 10, p. 1217, 2020.

ALI, Q.; ASHRAF, M. **Induction of drought tolerance in maize (*Zea mays* L.) due to exogenous application of trehalose: Growth, Photosynthesis, Water Relations and Oxidative Defence Mechanism**. Journal of Agronomy and Crop Science, v. 197, p. 258-271, 2011.

AVONCE, N. et al. **Trehalose metabolism and glucose sensing in plants**. Biochemical Society Transactions, v. 33, p. 276-279, 2005.

BHAGWAT, A.A. et al. **Further studies on the role of cyclic β-glucans in symbiosis: an ndvC mutant of Bradyrhizobium japonicum synthesizes cyclodecakis-(1-3)-β-glucosyl**, 1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes. Brasília**, DF: SNAD/DNDV/CLAV, 2009.

BURTON, J.C. **Monitoring Quality in Legume Inoculants and Preinoculated Seed**. The Nitragin Co., Milwaukee, p. 308-325, 1978.

CHEN, T.H.H.; MURATA, N. **Enhancement of tolerance of abiotic stress by metabolic engineering of betaines and other compatible solutes**. Current Opinion in Plant Biology, v. 5, n. 3, pp. 250-257, 2002.

DEAKER, R.; ROUGHLEY, R.J.; KENNEDY, I.R. **Legume seed inoculation technology – a review**. Soil Biology & Biochemistry, v. 36, n. 8, p. 1275-1288, 2004.

ELBEIN, A.D. et al. **New insights on trehalose: a multifunctional molecule**. Glycobiology, v. 13, p. 17r-27r, 2003.

EL-ESAWI, M. A.; ALARAIDH, I. A.; ALSAHLI, A. A.; ALAMRI, S. A.; ALI, H. M.; ALAYAFI, A. A. **Bacillus firmus (SW5) augments salt tolerance in soybean (*Glycine max* L.) by modulating root system architecture, antioxidant defense**

systems, and stress-responsive genes expression. Plant Physiology and Biochemistry, v. 132, p. 375-384, 2018.

EL-ESAWI, M.A. et al. **Overexpression of AtWRKY30 transcription factor enhances heat and drought stress tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.)**. Genes, v. 10, p. 163, 2019.

EL-ESAWI, M.A. et al. **Serratia liquefaciens KM4 improves salt stress tolerance in maize by regulating redox potential, ion homeostasis, leaf gas exchange and stress-related gene expression**. Antioxidants, v. 9, p. 43, 2020.

EL-ESAWI, M.A. et al. **Serratia marcescens BM1 enhances cadmium stress tolerance and phytoremediation potential of soybean through modulation of osmolytes, leaf gas exchange, antioxidant machinery, and stress-responsive genes expression**. Antioxidants, v. 9, p. 43, 2020.

EL-ESAWI, M.A.; ALAYAFI, A.A. **Overexpression of rice Rab7 gene improves drought and heat tolerance and increases grain yield in rice (*Oryza sativa* L.)**. Genes, v. 10, p. 56, 2019.

FARIAS-RODRIGUEZ, R. et al. **The accumulation of trehalose in nodules of several cultivars of common bean (*Phaseolus vulgaris*) and its correlation with resistance to drought stress**. Physiologia Plantarum, v. 102, p. 353-359, 1998.

FERREIRA, T.; RASBAND, W. **ImageJ** User Guide-IJ1.46r, 2012.

GARG, A.K. et al. **Trehalose accumulation in rice plants confers high tolerance levels to different abiotic stresses**. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, v. 99, p. 15898-15903, 2002.

GARG, N.; SINGLA, P. **Stimulation of nitrogen fixation and trehalose biosynthesis by naringenin (Nar) and arbuscular mycorrhiza (AM) in chickpea under salinity stress**. Plant Growth Regulation, v. 80, p. 5-22, 2016.

GODDIJN, O.J.M.; VAN DUN, K. **Trehalose metabolism in plants**. Trends in Plant Science, v. 4, p. 315-319, 1999.

HUSSAIN, M. et al. **Improving drought tolerance by exogenous application of glycinebetaine and salicylic acid in sunflower**. Journal of Agronomy and Crop Science, v. 194, p. 193-199, 2008.

IBRAHIM, H.A.; ABDELLATIF, Y.M.R. **Effect of maltose and trehalose on growth, yield and some biochemical components of wheat plant under water stress**. Annals of Agricultural Sciences (Cairo), v. 61, p. 267-274, 2016.

IMRAN, M. et al. **Molybdenum supply alleviates the cadmium toxicity in fragrant rice by modulating oxidative stress and antioxidant gene expression**. Biomolecules, v. 10, p. 1582, 2020.

JOHN, R. et al. **Trealose: Metabolismo e Papel na Sinalização de Estresse em Plantas**. In: SARWAT, M.; AHMAD, A.; ABDIN, M.; IBRAHIM, M. (Eds.). Sinalização de estresse em plantas: perspectiva genômica e proteômica, Volume 2. Cham: Springer, 2017.

KRZYZANOWSKI, F.C. **Desafios tecnológicos para produção de semente de soja na região tropical brasileira.** In: WORLD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE, 7.; INTERNATIONAL SOYBEAN PROCESSING AND UTILIZATION CONFERENCE, 4.; CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 3., 2004, Foz do Iguaçu. Anais... Londrina: Embrapa Soja, 2004. p. 1324-1335.

LI, H.W. et al. **A superexpressão do gene da trealose-6-fosfato sintase OsTPS1 aumenta a tolerância ao estresse abiótico no arroz**. Planta, v. 234, p. 1007-1018, 2011.

LI, L.; STADEN, J.; JÄGER, A.K. **Effects of plant growth regulators on the antioxidant system in seedlings of two maize cultivars subjected to water stress**. Plant Growth Regulation, v. 25, p. 81-87, 1998.

LUNN, J.E. et al. **Sugar-induced increases in trehalose 6-phosphate are correlated with redox activation of ADPglucose pyrophosphorylase and higher rates of starch synthesis in *Arabidopsis thaliana***. Biochemical Journal, v. 397, p. 139-148, 2006.

MAGUIRE, J.A. **Speed of germination: aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor**. Crop Science, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.

McINTYRE, H.J. et al. **Trehalose biosynthesis in Rhizobium leguminosarum bv. trifolii and its role in desiccation tolerance**. Applied and Environmental Microbiology, v. 73, p. 3984-3992, 2007.

MUNNS, R.; TESTER, M. **Mechanisms of salinity tolerance**. Annual Review of Plant Biology, v. 59, p. 651-681, 2008.

NAVEED, M. et al. **Mitigation of nickel toxicity and growth promotion in sesame through the application of a bacterial endophyte and zeolite in nickel contaminated soil**. International Journal of Environmental Research and Public Health, v. 17, p. 8859, 2020.

NOUNJAN, N.; THEERAKULPISUT, P. **Effects of exogenous proline and trehalose on physiological responses in rice seedlings during salt-stress and after recovery**. Plant, Soil & Environment, v. 58, p. 309-315, 2012.

PALTA, J.A. et al. **Remobilization of carbon and nitrogen in wheat as influenced by postanthesis water deficits**. Crop Science, v. 34, n. 1, p. 118-124, jan./fev. 1994.

PELLNY, T.K. et al. **Genetic modification of photosynthesis with E. coli genes for trehalose synthesis**. Plant Biotechnology Journal, v. 2, p. 71-82, 2004.

PIEDADE, G. N. **Principal Component Analysis for Identification of Superior Castor Bean Hybrids**. Journal of Agricultural Science, v. 11, n. 9, 2019.

RAZZAQ, M. et al. **Alleviation of chromium toxicity by trehalose supplementation in *Zea mays* through regulating plant biochemistry and metal uptake**. Arabian Journal of Chemistry, v. 17, p. 105505, 2024.

RENCHER, A.C.; CHRISTENSEN, W.F. **Methods of Multivariate Analysis**. Toronto: John Wiley & Sons, Inc., 2002.

SALAZAR, J.R. et al. **Trehalose accumulation in Azospirillum brasilense improves drought tolerance and biomass in maize plants**. FEMS Microbiology Letters, v. 296, p. 52-59, 2009.

SHAFIQ, S.; AKRAM, N.A.; ASHRAF, M. **Does exogenously-applied trehalose alter oxidative defense system in the edible part of radish (*Raphanus sativus* L.) under water-deficit conditions?** Scientia Horticulturae, v. 185, p. 68-75, 2015.

SHAHBAZ, M. et al. **Foliar-applied trehalose modulates growth mineral nutrition, photosynthetic ability, and oxidative defense system of rice (*Oryza sativa* L.) under saline stress**. Journal of Plant Nutrition, v. 40, p. 584-599, 2017.

STREETER, J.G. **Factors affecting the survival of Bradyrhizobium applied in liquid cultures to soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] seeds.** Journal of Applied Microbiology, Oxon, v. 103, n. 4, pp. 1282-1290, out. 2007.

STREETER, J.G.; GOMEZ, M.L. **Three enzymes for trehalose synthesis in Bradyrhizobium cultured bacteria and in bacteroids from soybean nodules**. Applied and Environmental Microbiology, v. 72, p. 4250-4255, 2006.

SUÁREZ, R. et al. **Improvement of drought tolerance and grain yield in common bean by overexpressing trehalose-6-phosphate synthase in rhizobia**. Molecular Plant-Microbe Interactions, v. 21, n. 7, pp. 958–966, 2008.

TÜRKAN, I.; DEMIRAL, T. **Recent developments in understanding salinity tolerance**. Environmental and Experimental Botany, v. 67, pp. 2-9, 2009.

VALLADARES, G.S. et al. **Análise dos componentes principais e métodos**. Revista Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, v. 32, n. 1, pp. 285-296, 2008.

VARGAS, M.A.T.; PERES, J.R.R.; SUHET, A.R. **Adubação nitrogenada, inoculação e épocas de calagem para a soja em um solo sob cerrado**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 17, pp. 1127-1132, 1982.

WINGLER, A. **The function of trehalose biosynthesis in plants**. Phytochemistry, v. 60, n. 5, pp. 437-440, 2002.

ZAFAR-UL-HYE, M. et al. **Effect of cadmium-tolerant rhizobacteria on growth attributes and chlorophyll contents of bitter gourd under cadmium toxicity**. Plants, v. 9, p. 1386, 2020.

ZEID, I.M. **Trehalose as osmoprotectant for maize under salinity-induced stress**. Research Journal of Agricultural and Biological Sciences, v. 5, pp. 613-622, 2009.

ZIPPER, S. C.; QIU, J.; KUCHARIK, C. J. **Drought effects on US maize and soybean production: spatiotemporal patterns and historical changes**. Environmental Research Letters, v. 11, n. 9, p. 1-12, 2016.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo demonstrou que a aplicação de trealose como osmoprotetor tem um efeito positivo sobre a germinação de sementes de soja sob condições de déficit hídrico. A análise dos resultados mostrou que as sementes tratadas com trealose apresentaram taxas de germinação significativamente maiores quando comparadas a testemunha, evidenciando o potencial deste composto na mitigação do estresse hídrico. No entanto, requer estudos futuros, como análises moleculares e bioquímicas a fim de compreender melhor seu efeito quando a semente é tratada com esse osmoprotetor.

Em termos práticos, os resultados obtidos sugerem que a utilização de trealose pode ser uma ferramenta viável para produtores enfrentando problemas de disponibilidade hídrica, especialmente em regiões sujeitas a períodos de seca. Sua adoção pode contribuir para maior resiliência das lavouras de soja, melhorando a produtividade em situações adversas.

REFERÊNCIAS

ABDUL JALEEL, C.; MANIVANNAN, P.; KISHOREKUMAR, A.; SANKAR, B.; GOPI, R.; SOMASUNDARAM, R.; PANNEERSELVAM, R. **Alterations in osmoregulations, antioxidant enzymes and indole alkaloid levels in Catharanthus roseus exposed to water deficit**. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, v. 59, p. 150-157, 2007.

ACOSTA-PERES, R. T.; PEREIRA, C. E.; CARVALHO, M. A. C.; OLIVEIRA, J. A.; ZUFFO, A. M. **Potassium phosphite action on growth promotion, ion uptake and nutrition efficiency of corn hybrids under tropical conditions**. Journal of Plant Nutrition, v. 43, n. 20, p. 3081-3092, 2020.

AHN, J. H.; PARK, K. W.; PARK, S. K. **Effects of seed priming on the germination and seedling growth of Chinese cabbage**. Horticulture, Environment, and Biotechnology, v. 52, n. 4, p. 430-434, 2011.

AKRAM, N. A.; NOREEN, S.; NOREEN, T.; ASHRAF, M. **Exogenous application of trehalose alters growth, physiology and nutrient composition in radish (Raphanus sativus L.) plants under water-deficit conditions**. Revista Brasileira de Botânica, v. 38, p. 431-439, 2015.

AKRAM, N. A.; NOREEN, S.; NOREEN, T.; ASHRAF, M. **Exogenous application of trehalose alters growth, physiology and nutrient composition in radish (*Raphanus sativus* L.) plants under water-deficit conditions**. Rev. Bras. Bot., v. 38, p. 431-439, 2015.

AKRAM, N. A.; WASEEM, M.; AMEEN, R.; et al. **O pré-tratamento com trealose induz tolerância à seca em plantas de rabanete (*Raphanus sativus* L.): algumas características fisio bioquímicas importantes**. Acta Physiol. Plant., v. 38, n. 3, 2016.

ALBRECHT, L. P.; et al. **Biorregulador na composição química e na produtividade de grãos de soja**. Revista Ciência Agronômica, v. 43, p. 774-782, 2012.

ALI, Q.; ASHRAF, M. **Induction of drought tolerance in maize (*Zea mays* L.) due to exogenous application of trehalose: Growth, Photosynthesis, Water Relations and Oxidative Defence Mechanism**. Journal of Agronomy and Crop Science, v. 197, p. 258-271, 2011.

ALMEIDA, A. M.; CARDOSO, L. A.; SANTOS, D. M.; TORNÉ, J. M.; FEVEREIRO, P. S. **Trehalose and its applications in plant biotechnology**. In Vitro Cellular & Development Biology, v. 43, p. 167-177, 2007.

ALMEIDA, A. M.; VILLALOBOS, E.; ARAÚJO, S. S.; LEYMAN, B.; VAN DIJCK, P.; ALFARO-CARDOSO, L.; FEVEREIRO, P. S.; TORNE, J. M.; SANTOS, D. M. **Transformation of tobacco with an Arabidopsis thaliana gene involved in trehalose biosynthesis increases tolerance to several abiotic stresses**. Euphytica, v. 146, p. 165-176, 2005.

ARAÚJO, S. S.; PAPARELLA, S.; DONDI, D.; BENTIVOGLIO, A.; CARBONERA, D.; BALESTRAZZI, A. **Physical methods for seed invigoration: Advantages and challenges in seed technology**. Frontiers in Plant Science, v. 6, p. 106, 2010.

ARAÚJO, S. S.; PAPARELLA, S.; DONDI, D.; BENTIVOGLIO, A.; CARBONERA, D.; BALESTRAZZI, A. **Physical methods for seed invigoration: Advantages and challenges in seed technology**. Frontiers in Plant Science, v. 10, p. 107, 2019.

ASAF, S.; LATIF KHAN, M. A.; KHAN, Q. M. A.; IMRAN, Q. M.; YUN, B. W.; LEE, I. J. **Osmoprotective functions conferred to soybean plants via inoculation with Sphingomonas sp. LK11 and exogenous trehalose**. Microbiological Research, v. 205, p. 135-145, 2017.

ASHRAF, M.; FOOLAD, M. R. **Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance**. Environmental and Experimental Botany, v. 59, n. 2, p. 206-216, 2007.

ÁVILA, M. R.; et al. **Bioregulator application, agronomic efficiency, and quality of soybean seeds**. Scientia Agricola, v. 65, p. 604-612, 2008.

BAE, H. et al. **Exogenous trehalose alters Arabidopsis transcripts involved in cell wall modification, abiotic stress, nitrogen metabolism, and plant defense**. Physiologia Plantarum, v. 125, n. 1, p. 114-126, 2005.

BEWLEY, J. D. et al. **Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy.** 3. ed. New York: Springer, 2013. 408 p.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination**. Development, germination and growth. v. 1, Berlim: Springer Verlag, 1978. 306 p.

BORNHOFEN, E. et al. **Épocas de semeadura e desempenho qualitativo de sementes de soja**. Pesquisa Agropecuária Tropical, Goiânia, v. 45, n. 1, 2015.

BRACCINI, A. L.; REIS, M. S.; SEDIYAMA, C. S.; SEDIYAMA, T.; ROCHA, V. S. **Influência do potencial hídrico induzido por polietilenoglicol na qualidade fisiológica de sementes de soja**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 33, n. 9, p. 1451-1459, 1998.

BRADFORD, K. J. **Water relations in seed germination**. In: KIGEL, J.; GALILI, J. Seed development and germination. New York: Marcel Dekker, 1995. 853 p.

BRAGA, L. F.; SOUSA, M. P.; BRAGA, J. F.; SÁ, M. E. **Efeito da disponibilidade hídrica do substrato na qualidade fisiológica de sementes de feijão**. Revista Brasileira de Sementes, Brasília, v. 21, n. 2, p. 95-102, 1999.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2012. 590 p.

CASILLAS, V. J. C.; LONDONO, I. J.; GUERRERO, A. H.; BUITRAGO, G. L. **Análisis cuantitativo de la aplicacion de cuatro bioestimulantes em el cultivo de rábano (*Raphanus sativus* L.).** Acta Agronômica, Colombia, v. 36, n. 2, p. 185-195, 1986.

CASTRO, P. R. C.; VIEIRA, E. L. **Aplicações de reguladores vegetais na agricultura tropical**. Guaíba: Agropecuária, 2001. 132 p.

CÉSAR, M. L.; SILVA, A. C.; LOPES, E. M. G.; FERREIRA, V. F. **Effects of biostimulants on the physiological quality of soybean seeds**. Journal of Seed Science, v. 40, n. 3, p. 278-285, 2018.

CHAVARRIA, G.; SANTOS, H. P. **Soybean seed vigor and field performance: A review**. Acta Agronômica, v. 61, n. 3, p. 299-308, 2012.

CHAVES FILHO, J. T.; SERAPHIN, E. S. **Alteração no potencial osmótico e teor de carboidratos solúveis em plantas jovens de lobeira (*Solanum lycocarpum* St.-Hil.) em resposta ao estresse hídrico**. Revista Brasileira de Botânica, São Paulo, v. 24, n. 2, p. 199-204, jun. 2001.

COELHO, D. L. M.; AGOSTINI, E. A. T.; GUABERTO, L. M.; NETO, N. B. M.; CUSTÓDIO, C. C. **Estresse hídrico com diferentes osmóticos em sementes de feijão e expressão diferencial de proteínas durante a germinação**. Acta Scientiarum. Agronomy, Maringá, v. 32, n. 3, p. 491-499, 2010.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos.** Brasília: CONAB, 2024.

CORTINA, C.; CULIANEZ-MACIA, F. A. **Tomato abiotic stress enhanced tolerance by trehalose biosynthesis**. Plant Science, v. 169, p. 75-82, 2005.

COSTA, P. R.; CUSTÓDIO, C. C.; MACHADO NETO, N. B.; MARUBAVASHI, O. M. **Estresse hídrico induzido por manitol em sementes de soja de diferentes tamanhos**. Revista Brasileira de Sementes, v. 26, p. 105-113, 2004.

DABADIA, A. C. A. **Uso de bioestimulante na assimilação do nitrato e nos caracteres agronômicos em feijoeiro**. Cultura Agronômica, Ilha Solteira, v. 24, n. 4, p. 321-332, 2015.

DESCLAUX, D.; HUYNH, T. T.; ROUMET, P. **Identification of traits related to germination under adverse environmental conditions in lentil**. Seed Science Research, v. 10, n. 1, p. 127-136, 2000.

DESCLAUX, D.; ROUMET, P. **Impact of drought stress on the phenology of two soybean (*Glycine max* L. Merr.) cultivars**. Field Crops Research, v. 46, n. 1-3, p. 61-70, 1996.

DOSS, B. D.; ASHLEY, D. A.; BENNET, O. L. **Effect of soil moisture regime on root distribution of warm season forage species**. Agronomy Journal, v. 52, n. 10, p. 569-572, 1960.

DRENNAN, P. M.; SMITH, M. T.; GOLDSWORTHY, D.; VAN STADEN, J. **The occurrence of dehydrin-like proteins in seeds of Acer saccharinum during the loss of desiccation tolerance**. Journal of Plant Physiology, v. 142, n. 6, p. 696-700, 1993.

DUCATTI, K. R. **Vigor de sementes de soja: estudos fisiológicos e moleculares relacionados ao déficit hídrico**. 2018. 147 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Agricultura) - Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2018.

DUMAN, J. G.; WISNIEWSKI, M. J.; GRIFFITH, M.; KAO, M. H.; YOU, M. **The role of antifreeze proteins in the freezing tolerance of plants**. Annual Review of Plant Biology, v. 62, p. 403-437, 2011.

EL-BASHITI, T.; HAMAMCI, H.; ÖKTEM, H. A.; YÜCEL, M. **Biochemical analysis of trehalose and its metabolizing enzymes in wheat under abiotic stress conditions**. Plant Science, v. 169, p. 47-54, 2005.

ELBEIN, A. D. **The metabolism of α, α-trehalose**. Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry, v. 30, p. 227-256, 1974.

ELBEIN, A. D.; PAN, Y. T.; PASTUSZAK, I.; CARROLL, D. **New insights on trehalose: a multifunctional molecule**. Glycobiology, v. 13, p. 17r-27r, 2003.

EMBRAPA. **A soja no Brasil: produção, melhoramento genético, aspectos nutricionais e benefícios para a saúde**. EMBRAPA, 2021.

FARIAS, J. R. B. et al. **Ecofisiologia da soja**. Londrina: Embrapa CNPSO, 2007. 9 p. (Circular Técnica, n. 48).

FEOFILOVA, E. P.; USOV, A. I.; MYSYAKINA, I. S.; KOCHKINA, G. A. **Trehalose: chemical structure, biological functions**. Microbiology, v. 83, p. 184-194, 2014.

FERNANDEZ, O.; BÉTHENCOURT, L.; QUERO, A.; SANGWAN, R. S.; CLÉMENT, C. **Trehalose and plant stress responses: friend or foe?** Trends in Plant Science, v. 15, p. 409-417, 2010.

FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: ARTMED, 2004. 323 p.

FILIPPOU, P. et al. **Proline and reactive oxygen/nitrogen species metabolism is involved in the tolerant response of the invasive plant species Ailanthus altissima to drought and salinity**. Environmental and Experimental Botany, v. 97, p. 1-10, 2014.

FINCH-SAVAGE, W. E.; BASSEL, G. W. **Seed vigour and crop establishment: Extending performance beyond adaptation**. Journal of Experimental Botany, v. 67, n. 3, p. 567-591, 2016.

FIRMANO, R. S.; KUWAHARA, F. A.; SOUZA, G. M. **Relação entre adubação fosfatada e deficiência hídrica em soja**. Ciência Rural, v. 39, n. 7, p. 1967-1973, 2009.

FORD, C. W.; WILSON, J. R. **Changes in levels of solutes during osmotic adjustment to water stress in leaves of four tropical pasture species**. Australian Journal of Plant Physiology, v. 8, n. 1, p. 77-91, jan. 1981.

FRANÇA-NETO, J. B.; HENNING, A. A. **Qualidades fisiológica e sanitária de sementes de soja**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1984. 39 p. (EMBRAPA-CNPSo. Circular Técnica, 9).

GALINSKI, E. A. **Osmoadaptation in bacteria**. Advances in Microbial Physiology, v. 37, p. 272-328, 1995.

GARCIA, A. B. et al. **Effects of osmoprotectants upon NaCl stress in rice**. Plant Physiology, v. 115, n. 1, p. 159-169, 1997.

GARCIA, S. H.; ROZZETTO, D. S.; COIMBRA, J. L. M.; GUIDOLIN, A. F. **Simulação de estresse hídrico em feijão pela diminuição do potencial osmótico**. Revista de Ciências Agroveterinárias, v. 11, n. 1, p. 35-41, 2012.

GARG, A. K. et al. **Trehalose accumulation in rice plants confers high tolerance levels to different abiotic stresses**. Proceedings of the National Academy of Sciences, v. 99, p. 15898-15903, 2002.

GIBSON, L. R.; MULLEN, R. E. **Soybean seed quality reductions by high day and night temperature**. Crop Science, v. 36, n. 6, p. 1615-1619, 1996.

HARE, P. D.; CRESS, W. A.; VAN STADEN, J. **Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress.** Plant, Cell & Environment, v. 21, n. 6, p. 535-553, 1998.

HIRAKURI, M. H.; LAZZAROTTO, J. J. **O agronegócio da soja nos contextos mundial e brasileiro**. Documentos Embrapa, n. 349, 2014.

HÖFS, A.; SCHUCH, L. O. B.; PESKE, S. T.; BARROS, A. C. S. A. **Emergência e crescimento de plântulas de arroz em resposta à qualidade fisiológica de sementes**. Revista Brasileira de Sementes, v. 26, n. 1, p. 92-97, 2004.

HONG-BO, S.; CHU, L. Y.; JALEEL, C. A.; ZHAO, C. X. W**ater deficit stress-induced anatomical changes in higher plants**. Comptes Rendus Biologies, v. 331, n. 3, p. 215-225, 2008.

HU, M.; WIATRAK, P. **Effect of planting date on soybean growth, yield, and grain quality: review.** Agronomy Journal, v. 104, n. 3, p. 785-790, 2012.

IBRAHIM, H. A.; ABDELLATIF, Y. M. R. **Effect of maltose and trehalose on growth, yield and some biochemical components of wheat plant under water stress**. Annals of Agricultural Sciences, v. 61, p. 267-274, 2016.

ILHAN, S.; OZDEMIR, F.; BOR, M. **Contribution of trehalose biosynthetic pathway to drought stress tolerance of *Capparis ovata* Desf**. Plant Biology, v. 17, n. 2, p. 402–407, 2015.

ITURRIAGA, G. et al. **Trehalose metabolism: from osmoprotection to signaling.** International Journal of Molecular Sciences, v. 10, n. 9, p. 3793-3810, set. 2009.

JAIN, M. **Emerging role of metabolic pathways in abiotic stress tolerance**. Journal of Plant Biochemistry and Physiology, v. 1, n. 108, p. 10.4172, 2013.

KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara, 2012.

KLAHOLD, C. A. et al. **Resposta da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) à ação de bioestimulante**. Acta Scientiarum Agronomy, v. 28, p. 179-185, 2006.

KOLCHINSKI, E. M.; SCHUCH, L. O. B.; PESKE, S. T. **Vigor de sementes e competição intraespecífica em soja**. Ciência Rural, v. 35, n. 6, p. 1248-1256, 2005.

KRAMER, P. J. **Water Relations of Plants and Soils**. New York: Academic Press, 1995. 495 p.

KRZYZANOWSKI, F. C. **Desafios tecnológicos para produção de semente de soja na região tropical brasileira**. In: WORLD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE, 7.; INTERNATIONAL SOYBEAN PROCESSING AND UTILIZATION CONFERENCE, 4.; CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 3., 2004, Foz do Iguaçu. Proceedings... Londrina: Embrapa Soybean, 2004. p. 1324-1335.

KURZ, M.; MONTERMANN, C.; GALINSKI, E. A. A ***Pseudomonas stutzeri* surprise: production of the compatible osmolyte hydroxyectoine**. In: Abstracts PT015. Annual Conference of the Association for General and Applied Microbiology, p. 195, VAAM, Osnabrück, Germany, 2008.

LANA, A. M. Q. et al. **Aplicação de reguladores de crescimento na cultura do feijoeiro**. Bioscience Journal, v. 25, n. 1, p. 13-20, 2009.

LANG, F. **Mechanisms and significance of cell volume regulation**. Journal of the American College of Nutrition, v. 26, n. sup5, p. 613S-623S, 2007.

LAWLES, K. et al. **Effect of delayed emergence on corn grain yields**. Journal of Plant Nutrition, v. 35, n. 3, p. 480-496, 2012.

LEVITT, J. **Response of Plants to Environmental Stress II: Water Relations, Salt and Other Stresses**. New York: Academic Press, 1980. 606 p.

LIGTERINK, W.; JOOSEN, R. V. L.; HILHORST, H. W. M. **Unravelling the complex trait of seed quality: using natural variation through a combination of physiology, genetics and -omics technologies**. Seed Science Research, v. 22, n. SUPPL. 1, 2012.

LIU, L. et al. **Comparison of next-generation sequencing systems**. BioMed Research International, v. 2012, 2012.

LIU, M.; CHIEN, C.; LIN, T. **Constitutive components and induced gene expression are involved in the desiccation tolerance of *Selaginella tamariscina***. Plant and Cell Physiology, v. 49, n. 4, p. 653-663, 2008.

LÓPEZ, M. et al. **Trehalose and trehalase in root nodules of Medicago truncatula and *Phaseolus vulgaris* in response to salt stress**. Physiologia Plantarum, v. 134, n. 4, p. 575-582, 2008.

LUNN, J. E. et al. **Trehalose metabolism in plants**. The Plant Journal, v. 79, p. 544-567, 2014.

LUO, Y. et al. **Exogenously-supplied trehalose provides better protection for D1 protein in winter wheat under heat stress**. Russian Journal of Plant Physiology, v. 65, p. 115-122, 2018.

MACHADO NETO, N. B. et al. **Deficiência hídrica induzida por diferentes agentes osmóticos na germinação e vigor de sementes de feijão**. Revista Brasileira de Sementes, v. 28, p. 142-148, 2006.

MACHADO NETO, N. B. et al. **Water stress induced by mannitol and sodium chloride in soybean cultivars**. Brazilian Archives of Biology and Technology, v. 47, p. 521-529, 2004.

MACHADO, R. F. **Desempenho de aveia-branca (*Avena sativa* L.) em função do vigor de sementes e população de plantas**. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Sementes) – Curso de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2002.

MAGUIRE, J. A. **Speed of germination: aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor**. Crop Science, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.

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

MARENCO, R. A.; LOPES, N. F. F**isiologia vegetal: fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral**. Viçosa: UFV, 2005. 451 p.

MARIANI, L.; FERRANTE, A**. Agronomic management for enhancing plant tolerance to abiotic stresses: drought, salinity, hypoxia, and lodging**. Horticulturae, v. 52, 2017.

MATHEWS, S.; POWELL, A. A. **Environmental and physiological constraints on field performance of seeds**. HortScience, v. 21, n. 5, p. 1125-1128, 1986.

MCQUEEN, R. E. **World population growth, distribution and demographics and their implications on food production**. Canadian Journal of Animal Science, v. 80, n. 2, p. 229-234, 2000.

MERTZ-HENNING, L. M. et al. **Effect of water deficit-induced at vegetative and reproductive stages on protein and oil content in soybean grains**. Agronomy, v. 8, n. 1, p. 3, 2018.

MEYER, R. F.; BOYER, J. S. **Osmoregulation, solute distribution, and growth in soybean seedlings having low water potentials**. Planta, v. 151, n. 5, p. 482-489, maio 1981.

MIKUSINSKI, O. M. **Testes de embebição e germinação em sementes de *Ipomoea aristolochiaefolia***. Revista Brasileira de Sementes, v. 9, n. 3, p. 103-108, 1987.

MONTEIRO, J. E. B. A. **Soja: do plantio à colheita**. Fundação de Apoio à Pesquisa Agropecuária de Mato Grosso, 2002.

MORGAN, J. M. **Osmoregulation and water stress in higher plants**. Annual Review of Plant Physiology, Palo Alto, v. 35, p. 299-319, jun. 1984.

MOTERLE, L. M. et al. **Efeito da aplicação de biorregulador no desempenho agronômico e produtividade da soja**. Acta Scientiarum. Agronomy, v. 30, p. 701-709, 2008.

MOTERLE, L. M.; SCAPIM, C. A. **Influência do estresse hídrico sobre o desempenho fisiológico de sementes de híbridos simples de milho-pipoca**. Ciência e Agrotecnologia, v. 32, p. 1810-1817, 2008.

MOUSAVI-DERAZMAHALLEH, M. et al. **Adapting legume crops to climate change using genomic approaches.** Plant Cell Environment Journal, v. 42, p. 6-19, 2019.

MULEY, A. B. et al. **Gamma radiation degradation of chitosan for application in growth promotion and induction of stress tolerance in potato (*Solanum tuberosum* L.).** Carbohydrate Polymers, v. 210, p. 289–301, 2019.

MULLER, J.; BOLLER, T.; WIEMKEN, A. **Pools of non-structural carbohydrates in soybean root nodules during water stress**. Physiologia Plantarum, v. 98, p. 723–730, 1996.

NOAA, National Oceanic and Atmospheric Administration. **Cold and Warm Episodes by Season**. National Weather Service. Climate Prediction Center. 2016.

NÓBREGA, L. H. P. et al. **Deficiência na germinação de sementes de soja**. Revista Brasileira de Sementes, Brasília, v. 20, n. 1, p. 126-13, jan./abr. 1998.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. **International Rules for Seed Testing**. Zürich: ISTA, 2015.

OECD/FAO, **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, OECD-FAO Agricultural Outlook, OECD Publishing, Paris, 2015.

PALTA, J. A. et al. **Remobilization of carbon and nitrogen in wheat as influenced by postanthesis water deficits**. Crop Science, Madison, v. 34, n. 1, p. 118-124, jan./fev. 1994.

PARIDA, A. K. et al. **Differential responses of the enzymes involved in proline biosynthesis and degradation in drought tolerant and sensitive cotton genotypes during drought stress and recovery**. Acta Physiologiae Plantarum, v. 30, n. 5, p. 619-627, 2008.

PARMAR, M. T.; MOORE, R. P. **Carbavax 6000, mannitol and sodium chloride for simulating drought conditions in germination of corn (*Zea mays* L.) of strong and weak vigor**. Agronomy Journal, v. 60, n. 30, p. 192-195, 1968.

PAUL, M. J. et al. **Differential Role for Trehalose Metabolism in Salt-Stressed Maize**. Plant Physiology, v. 169, p. 1072–1089, 2015.

PBMC. **Contribuição do Grupo ao Primeiro Relatório de Avaliação Nacional do Painel Brasileiro de Mudanças Climáticas**. Sumário Executivo do GT2. Rio de Janeiro, Brasil: PBMC, 2013. 28 p.

PEREIRA, J. W. L. et al. **Mudanças bioquímicas em genótipos de amendoim submetidos a déficit hídrico moderado.** Revista Ciência Agronômica, Fortaleza, v. 43, n. 4, p. 766-773, 2012.

PIMENTEL, C. **Relações hídrica em dois híbridos de milho sob dois ciclos de deficiência hídrica**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 34, n. 11, p. 2021-2027, nov. 1998.

POLTRONIERI, P. et al. **Molecular mechanisms in plant abiotic stress response**. Ratar. Povrt. / Field Veg. Crop Res., v. 48, p. 15-24, 2011.

QUIÑONES, B.; DULLA, G.; LINDOW, S. E. **Quorum sensing regulates exopoly saccharide production, motility, and virulence in Pseudomonas syringae**. Molecular Plant-Microbe Interactions, v. 18, p. 682–693, 2005.

REGUERA, M.; PELEG, Z.; BLUMWALD, E. **Targeting metabolic pathways for genetic engineering abiotic stress-tolerance in crops.** Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Gene Regulatory Mechanisms, v. 1819, n. 2, p. 186-194, 2012.

RODRIGUES, L. A. et al**. Avaliação fisiológica de sementes de arroz submetidas a doses de bioestimulante.** Revista Nucleus, Ituverava, v. 12, n. 1, 2015.

ROSER, B. **Trehalose, a new approach to premium dried foods**. Trends in Food Science & Technology, v. 2, p. 166–169, 1991.

SÁ, M. E. **Relações entre qualidade fisiológica e disponibilidade hídrica e desempenho de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill)**. 1987. 147 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1987.

SANTOS, M. P. de A. **Déficit hídrico em soja com tipo de crescimento semideterminado para a região do MATOPIBA**. 2018. 77 f. Dissertação (Mestre em Produção Vegetal) – Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, 2018.

SARMENTO, E. C. S. et al. **Water deficit on germination and vigour in seeds of the jambu**. Bioscience Journal, v. 35, n. 4, p. 1013–1021, 2019.

SATOH-NAGASAWA, N. et al. **A trehalose metabolic enzyme controls inflorescence architecture in maize**. Nature, v. 441, n. 7090, p. 227–230, 2006.

SCHEEREN, B. **Vigor de sementes de soja e produtividade**. 2002. 45 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2002.

SCHUCH, L. O. B. et al. **Crescimento em laboratório de plântulas de aveia-preta (*Avena strigosa Schreb*.) em função do vigor das sementes**. Revista Brasileira de Sementes, v. 21, n. 1, p. 229-234, 1999.

SCHUCH, L. O. B.; LIN, S. S. **Efeito do envelhecimento rápido sobre o desempenho de sementes e plantas de trigo.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 17, n. 8, p. 1163-1170, 1982.

SHAHBAZ, M. et al. **Does proline application ameliorate adverse effects of salt stress on growth, ions and photosynthetic ability of eggplant (*Solanum melongena* L.)?.** Scientia Horticulturae, v. 164, p. 507-511, 2013.

SHEFFIELD, J.; WOOD, E. F.; RODERICK, M. L. **Little change in global drought over the past 60 years**. Nature, v. 491, n. 7424, p. 435–438, 2012.

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

SOARES, M. M. et al. **Estresse hídrico e salino em sementes de soja classificadas em diferentes tamanhos. Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 45, n. 4, p. 370-378, 2015.

SOUZA, T. M. A. de et al. **Cowpea growth and production under different levels of available water and soil cover**. International Journal of Current Research, v. 8, p. 39122-39126, 2016.

STEINER, F. et al. **Resposta fisiológica de genótipos de soja ao déficit hídrico em diferentes estádios fenológicos**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 53, n. 6, p. 793-802, jun. 2018.

STONE, L. F.; MOREIRA, J. A. A. **Efeito do estresse hídrico na produção de matéria seca de arroz em duas épocas de semeadura**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 25, n. 3, p. 471-481, mar. 1990.TAIZ, L.; ZEIGER, E. F. Fisiologia vegetal. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 848 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. F. **Fisiologia vegetal**. 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918 p.

TANG, B. et al. **Invertebrate trehalose-6-phosphate synthase gene: genetic architecture, biochemistry, physiological function, and potential applications**. Frontiers in physiology, v. 9, p. 30, 2018.

TEKRONY, D. M.; EGLI, D. B. **Relationship of seed vigor to crop yield: A review**. Crop Science, v. 31, p. 816-822, 1991.

TIWARI, J. K. et al. **Effect of salt stress on cucumber: Na+–K+ ratio, osmolyte concentration, phenols and chlorophyll content**. Acta Physiologiae Plantarum, v. 32, n. 1, p. 103-114, 2010.

TURNER, N. C. **Adaptation to water deficits: A changing perspective.** Australian Journal of Plant Physiology, Melbourne, v. 13, n. 1, p. 175-190, jan. 1986.

TURNER, N. C. **Further progress in crop water relations**. In: SPARKS, D. L. (Ed.). Advances in agronomy. New York: Academic Press, 1997. p. 293-337.

ULLAH, H. et al. **Growth, yield and silicon uptake of rice (Oryza sativa) as influenced by dose and timing of silicon application under water-deficit stress**. Archives of agronomy and soil science, v. 64, n. 3, p. 318–330, 2018.

VAN DIE, J.; VILLAS-BOAS, S.; GARCIA, J. L. **Rhizosphere bacteria and fungi associated with soybean under different soil management practices**. Brazilian Journal of Microbiology, v. 45, n. 3, p. 787-794, 2014.

VANZOLINI, S.; CARVALHO, N. M. **Efeito do vigor de sementes de soja sobre o seu desempenho em campo.** Revista Brasileira de Sementes, v. 24, n. 1, p. 33-41, 2002.

WANG, S.; OUYANG, K.; WANG, K. **Genome-Wide Identification, Evolution, and Expression Analysis of TPS and TPP Gene Families in *Brachypodium distachyon***. Plants, v. 8, n. 10, p. 362, 2019.

WINGLER, A. **The function of trehalose biosynthesis in plants**. Phytochemistry, v. 60, n. 5, p. 437-440, 2002.

YEO, E. T. et al. **Genetic engineering of drought resistant potato plants by introduction of the trehalose-6 phosphate synthase (TPS1) gene from *Saccharomyces cerevisiae***. Molecules and Cells, v. 10, p. 263–268, 2000.

ZEID, I. M. **Trehalose as osmoprotectant for maize under salinity-induced stress**. Res. J. Agric. Biol. Sci. 5, p. 613–622, 2009.

ZHANG, J.; LIU, J.; YANG, C.; DU, S.; YANG, W. **Photosynthetic performance of soybean plants to water deficit under high and low light intensity**. South African Journal of Botany, v. 105, p. 279-287, 2016.

ZHAO, D. Q. et al. **Exogenous trehalose confers high temperature stress tolerance to herbaceous peony by enhancing antioxidant systems, activating photosynthesis, and protecting cell structure**. Cell Stress Chaperones, v. 24, p. 247–257, 2019.

ZHOU, M. L. et al. **Trehalose Metabolism-Related Genes in Maize**. J. Plant Growth Regul., v. 33, p. 256–271, 2014.