



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



VANESSA DO ROSÁRIO ROSA

**AÇÃO DE BIOESTIMULANTES NA MITIGAÇÃO DO ESTRESSE POR
DEFICIÊNCIA HÍDRICA EM SOJA**

Botucatu

2020

VANESSA DO ROSÁRIO ROSA

**AÇÃO DE BIOESTIMULANTES NA MITIGAÇÃO DO ESTRESSE POR
DEFICIÊNCIA HÍDRICA EM SOJA**

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

Orientador: Prof. Dr. Marcelo de Almeida Silva

Botucatu

2020

R788a Rosa, Vanessa do Rosário
Ação de bioestimulantes na mitigação do estresse por
deficiência hídrica em soja / Vanessa do Rosário Rosa. --
Botucatu, 2020
101 p. : tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista
(Unesp), Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu
Orientador: Marcelo de Almeida Silva

1. Glycine max (L.) Merrill. 2. Estresse abiótico. 3.
Bioproteção. 4. Trocas gasosas. 5. Atividade
antioxidante.. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca
da Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo
autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA



Câmpus de Botucatu

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: "AÇÃO DE BIOESTIMULANTES NA MITIGAÇÃO DO ESTRESSE POR DEFICIÊNCIA HÍDRICA EM SOJA"

AUTORA: VANESSA DO ROSÁRIO ROSA

ORIENTADOR: MARCELO DE ALMEIDA SILVA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em AGRONOMIA (AGRICULTURA), pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. MARCELO DE ALMEIDA SILVA
Produção e Melhoramento Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu - UNESP


Prof. Dr. JULIANO CARLOS CALONEGO
Produção e Melhoramento Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu - UNESP


Prof. Dr. FERNANDO BROETTO
Química e Bioquímica / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP


Prof. Dr. ADINAN ALVES DA SILVA
Pós-Doutorando - Laboratório de Ecofisiologia e Produtividade Vegetal / Instituto Federal Goiano (videoconferência)


Prof. Dr. FLÁVIO BARCELLOS CARDOSO
Fisiologia Vegetal / Universidade Federal de Viçosa

Botucatu, 28 de fevereiro de 2020.

Aos meus avós maternos, João Cândido Rosa e Abadia Silveira Rosa, que me fizeram sentir amada, e estariam orgulhosos de participar deste momento da minha vida. A minha mãe Tide, por ter me apoiado todos os dias na caminhada para a realização deste sonho.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ser tão maravilhoso e justo.

À doutrina espírita e aos amigos do Centro Espírita Fraternidade de Botucatu pelos conselhos, orientações, ensinamentos e terem me ajudado a encontrar forças nos momentos mais difíceis da minha trajetória durante o doutorado.

À Faculdade de Ciências Agrônômicas, Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal, pela oportunidade de realização do Doutorado e pela infraestrutura disponibilizada.

Ao meu orientador Prof. Dr. Marcelo de Almeida Silva, pela orientação, confiança, liberdade de trabalho durante o doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pela concessão da bolsa de estudos que possibilitou a execução deste trabalho de pesquisa.

À Fertilizantes Heringer pelo apoio financeiro e pela confiança no meu trabalho.

Ao Dr. Flávio Cardoso Barcelos pela amizade, confiança, apoio, paciência e parceria.

Ao Dr. Adinan Alves da Silva pela amizade, apoio, paciência e ensinamentos.

À Anna Luiza Farias dos Santos por todo o companheirismo, amizade, por ter enfrentado todos os momentos intensos e por ter sido essencial em todas as etapas da minha vida durante os últimos anos.

Aos estagiários do Laboratório de Ecofisiologia Aplicada à Agricultura (LECA), que foram fundamentais em todas as etapas do trabalho, e por ter nos ajudado a tornar tudo mais leve.

Aos amigos Ivan Arcanjo, Gabriel Germino, Vicente Silva, Jefferson Oles, Vinícius Ribeiro e Murilo de Souza que além de parceiros no trabalho foram bons amigos.

Para Mariana Sab, Dayane Ribeiro e Jania Santos por serem amigas queridas, que me enchem de orgulho, me inspiram e me ajudam tanto.

Às amigas que Botucatu me presenteou, Estefany Gomes, Jéssica Lima, Benilde Pondeca e Bruna Pires que tornaram toda essa trajetória mais leve. Amo vocês.

Em especial agradeço à Mayara Trombini, que além da amizade incontestável me fez sentir que tinha uma família em Botucatu. Toda minha gratidão a ela.

Para Gabriela Torres e Duanny Capronni, pela amizade, lealdade, apoio e inspiração.

Aos meus tios, minhas tias, primas e padrinho José Carlos Honório pelo apoio nesta etapa.

À minha irmã Valquíria Rosa e ao meu cunhado Bruno Vicente, pelo apoio, conselhos e inspiração.

Às minhas sobrinhas Clara Rosa e Lorena Rosa, que me tornam uma pessoa melhor a cada dia.

À minha mãe Tide Rosa, que foi meu apoio, minha torcida, que se preocupou e fez o possível para eu realizar esse sonho.

RESUMO

A soja possui grande importância no mercado mundial, e para atender a sua crescente demanda é preciso aumentar a produtividade, que tem se tornado um desafio em condições de ausência de chuva. Para contornar os efeitos negativos do déficit hídrico, tem-se adotado práticas agrícolas com a aplicação de bioestimulantes como os compostos por ácidos fúlvicos e extrato da alga marinha *Ascophyllum nodosum* (L.), que atuam na melhoria do desenvolvimento das plantas em condições estressantes. Neste estudo, objetivou-se compreender como ácidos fúlvicos e extrato da alga marinha *Ascophyllum nodosum* (L.) atuam em conjunto nos mecanismos fisiológicos e bioquímicos das plantas e possibilitando a mitigação dos efeitos negativos gerados pelo estresse, e ainda determinar qual formulação e dose do bioestimulante tem melhor efeito sobre o desenvolvimento de plantas de soja submetidas ao déficit hídrico. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, em vasos contendo 10 kg de solo sob delineamento experimental de blocos casualizados em fatorial duplo com dois fatores adicionais, com cinco repetições e 11 tratamentos constituídos por três formulações do bioestimulante e três doses (0,25; 0,50 e 1,0 kg ha⁻¹), controle com déficit hídrico e controle sem déficit hídrico. As plantas foram submetidas a 50% da capacidade de campo por três dias, em seguida foram reidratadas e receberam a aplicação do bioestimulante, com exceção dos controles. Foram avaliados parâmetros de crescimento, fisiológicos, bioquímicos e os componentes de produtividade. Todos os tratamentos que receberam a aplicação do bioestimulante produziram mais que o controle com déficit hídrico. Nas plantas com aplicação de bioestimulante foram observadas maiores taxas fotossintéticas, mecanismos protetores mais eficientes, maiores atividades de enzimas antioxidativas, percepção do reestabelecimento hídrico mais eficiente e rápida retomada das atividades metabólicas após a suspensão do déficit hídrico. O bioestimulante aumentou a tolerância da soja em condições estressantes e reduziu perdas de produtividade.

Palavras-chaves: *Glycine max* (L.) Merrill. Estresse abiótico. Bioproteção. Efeito antiestresse. Trocas gasosas. Atividade antioxidante.

ABSTRACT

Soy has great importance in the world market, and to meet its growing demand it is necessary to increase productivity, which has become a challenge in conditions of absence of rain. To circumvent the negative effects of the water deficit, agricultural practices have been adopted with the application of biostimulants such as those composed of fulvic acids and extract from the seaweed *Ascophyllum nodosum* (L.), which act in improving the development of plants in stressful conditions. In this study, the objective was to understand how fulvic acids and extract of the seaweed *Ascophyllum nodosum* (L.) act together in the physiological and biochemical mechanisms of plants and enabling the mitigation of the negative effects generated by stress, and also determine which formulation and dose of biostimulant has a better effect on the development of soybean plants submitted to water deficit. The experiment was carried out in a greenhouse, in pots containing 10 kg of soil under a randomized double-block design with two additional factors, with five replications and 11 treatments consisting of three biostimulant formulations and three doses (0.25; 0.50 and 1.0 kg ha⁻¹), control with water deficit and control without water deficit. The plants were submitted to 50% of the field capacity for three days, then they were rehydrated and received the application of the biostimulant, with the exception of the controls. Growth, physiological, biochemical parameters and productivity components were evaluated. All treatments that received the application of the biostimulant produced more than the control with water deficit. In plants with the application of biostimulant, higher photosynthetic rates, more efficient protective mechanisms, greater activities of antioxidative enzymes, perception of more efficient water restoration and faster resumption of metabolic activities were observed after the suspension of water deficit. The biostimulant increased the tolerance of soy under stressful conditions and reduced losses of productivity.

Keywords: *Glycine max* (L.) Merrill. Abiotic stress. Bioprotection. Anti-stress effect. Gas exchange. Antioxidant activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Massa de 100 grãos (A) e produtividade por planta (B) em soja reidratada após a submissão ao déficit hídrico e após a aplicação do bioestimulante, na avaliação pós	43
Figura 2 - Produtividade por planta em soja reidratada após a submissão ao déficit hídrico e após a aplicação do bioestimulante, na avaliação pós	43
Figura 3 - Números de vagens com 1 grãos (A), com 2 grãos (B), com 3 grãos (C) e número de vagens totais (D) em soja reidratada após a submissão ao déficit hídrico e após a aplicação do bioestimulante, na avaliação pós 2	45
Figura 4 - Potencial hídrico foliar em soja nas avaliações pós 1 e pós 2.....	46
Figura 5 - Aspecto visual da parte aérea das plantas de soja após a submissão ao déficit hídrico, na avaliação pós 1.....	47
Figura 6 - Aspecto visual da parte aérea das plantas de soja reidratadas após a submissão ao déficit hídrico e após a aplicação do bioestimulante, na avaliação pós 2.....	47
Figura 7 - Diâmetro do caule (A), massa seca da parte aérea (C) em soja nas avaliações pós 1 e pós 2.....	48
Figura 8 - Volume de raiz (A) e massa seca de raiz (B) em soja reidratada após a submissão ao déficit hídrico e após a aplicação do bioestimulante, na avaliação pós 2.	50
Figura 9 - Área foliar (A), área foliar específica (C) em soja nas avaliações pós 1 e pós 2.....	51
Figura 10 -. Teores de clorofila <i>a</i> (Cl _a) (A), teores de clorofila <i>b</i> (Cl _b) (C), razão clorofila <i>a/b</i> (Cl _a /Cl _b) (E), carotenoides (CAR) (G) em soja nas avaliações em pós 1 e pós 2.....	54
Figura 11- Clorofila total (A), índice SPAD (C) em soja nas avaliações em pós 1 e pós 2.....	56
Figura 12 - Taxa de assimilação de CO ₂ (A) (A), taxa transpiratória (E) (C), condutância estomática (<i>g_s</i>) (E), concentração interna de carbono (C _i) (G) em soja nas avaliações em pós 1 e pós 2.....	59
Figura 13 - Eficiência do uso da água (EUA) (A), eficiência de carboxilação (EC) (C) em soja nas avaliações em pós 1 e pós 2.	61

Figura 14 - Rendimento quântico do fotossistemas II no claro (A), rendimento quântico efetivo do fotossistemas II (C) e taxa de transporte de elétrons (E) em soja nas avaliações em pós 1 e pós 2.	63
Figura 15 - Coeficiente de extinção fotoquímico (A), coeficiente de extinção não fotoquímico (C), rendimento quântico da dissipação regulada (E), rendimento quântico da dissipação não regulada (G) em soja nas avaliações em pós 1 e pós 2.....	66
Figura 16 - Teor de peroxidação lipídica (A) em soja nas avaliações em pós 1 e pós 2.....	68
Figura 17 - Atividade das enzimas superóxido dismutase (A), catalase (C), peroxidase (E) e peroxidase do ascorbato (G) em soja nas avaliações em pós 1 e pós 2.....	71
Figura 18 - Teor de prolina (A), teor de aminoácidos totais (C) em soja nas avaliações em pós 1 e pós 2.....	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição das formulações do bioestimulante FH Attivus®	33
Tabela 2 - Porcentagens dos compostos naturais.....	34
Tabela 3 - Concentrações de macronutriente e micronutriente da alga <i>Ascophyllum nodosum</i>	34

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Y(NO)	Dissipação de energia não regulada
Y(NPQ)	Dissipação de energia regulada
$^1\text{O}_2$	Oxigênio singlete
A	Taxa de assimilação líquida do CO_2
AFE	Área foliar específica
APX	Ascorbato peroxidase
AsA-GSH	Ciclo ascorbato-glutationa
BSA	Albumina sérica bovina
CaCO_3	Carbonato de cálcio
CAT	Catalase
C_i	Concentração interna carbono
CC	Capacidade de campo
DHAR	Desidroascorbato redutase
DMF	Solução de dimetilformamida
DNA	Ácido desoxirribonucleico
E	Taxa transpiratória
EC	Eficiência de carboxilação
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-cético
ERO	Espécies reativas de oxigênio
ETR	Taxa de transporte de elétrons
EUA	Eficiência do uso da água
F	Pulso de saturação
F_0	Fluorescência inicial
$F_{0'}$	Fluorescência mínima do tecido vegetal iluminado
F_m	Fluorescência máxima
$F_{m'}$	Fluorescência máxima em amostra adaptada a luz
F_v	Fluorescência variável

F_v/F_m'	Rendimento quântico potencial do PSII
GPX	Glutathiona peroxidase
GR	Glutathiona redutase
<i>gs</i>	Condutância estomática
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
HO●	Radical hidroxila
IRGA	Analizador de gases a infravermelho
MDA	Malondialdeído
MDAR	Monode-hidroascorbato redutase
NADPH	Fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina
NBT	Azul de p-nitro tetrazólio
NPQ	Extinção não fotoquímica
O ₂ ^{•-}	Radical ânion superóxido
PAR	Radiação fotossinteticamente ativa
PMSF	Fluoreto de fenilmetilsulfônico
POX	Peroxidase
Prxs	Peroxiredoxinas
PSII	Fotossistema 2
PVPP	Polivinilpirrolidona
qP	Centros de reações abertos do PSII
RNA	Ácido ribonucleico
SOD	Superóxido dismutase
TBA	Ácido tio-barbitúrico
TCA	Ácido tricloroacético
ϕ PSII	Rendimentos quânticos efetivos do fluxo linear de elétrons pelo PSII
ψ_w	Potencial hídrico foliar

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	21
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	23
3	MATERIAL E METODOS.....	31
3.1	Condições de cultivo e tratamentos	31
3.2	Delineamento experimental	33
3.3	Análises biométricas	34
3.4	Avaliações fisiológicas	35
3.5	Avaliações bioquímicas	36
3.6	Componentes produtivos	40
3.7	Análises dos dados	40
4	RESULTADOS	42
4.1	Componentes produtivos	42
4.2	Potencial hídrico foliar	45
4.3	Análises biométricas	46
4.4	Pigmentos cloroplastídicos	52
4.5	Trocas gasosas.....	56
4.6	Eficiência do uso da água e de carboxilação.....	60
4.7	Parâmetros de fluorescência da clorofila <i>a</i>	61
4.8	Peroxidação de lipídeos.....	67
4.9	Enzimas do metabolismo antioxidativo.....	68
4.10	Concentração de prolina e aminoácidos	72
5	DISCUSSÃO	74
6	CONCLUSÃO.....	89
	REFERÊNCIAS	91

1 INTRODUÇÃO

As mudanças climáticas têm interferido nos sistemas de produção agrícola, afetando a produtividade e colocando em risco a segurança alimentar mundial. A alteração no regime de chuvas, com a ocorrência de estiagens e veranicos nos locais e épocas de produção das lavouras é o que mais tem afetado a produtividade das culturas. Dentre as diversas culturas afetadas pelo déficit hídrico, a soja merece atenção especial por sua importância econômica no mercado nacional e mundial.

A cultura da soja possui ampla distribuição geográfica no Brasil e no mundo, é cultivada em regiões inaptas ao cultivo, como locais com escassez de chuvas e solo com baixa qualidade. Movimenta a economia mundial, gera diversos empregos e está entre as atividades econômicas que mais cresceram nas últimas décadas. O Brasil tem se consolidado nos últimos anos como o segundo maior produtor mundial, só não ocupa o primeiro lugar devido aos danos gerados por problemas climáticos. Na safra 2019/2020 que está em curso, já se calculam prejuízos devido aos atrasos no plantio, chuvas irregulares e falta de água em diversas regiões do Brasil (CONAB, 2019).

O Brasil é o maior exportador mundial do complexo soja, e a tendência é que a demanda aumente nos próximos anos. A soja é consumida na alimentação humana e animal, matéria prima para diferentes tipos de indústrias, é utilizada para a produção de biodiesel e contribui para a redução do preço da produção de carne. Mas para atender a crescente demanda é necessário aumentar a produtividade, mesmo em condições de deficiência hídrica.

A água é um fator essencial para o crescimento e desenvolvimento das plantas, a sua baixa disponibilidade gera um ambiente de estresse e causa diversos prejuízos, podendo levar a morte do vegetal. O déficit hídrico reduz o crescimento e a absorção de nutrientes, leva ao fechamento estomático com consequente redução das taxas fotossintéticas, resulta em reduções de produtividade através da menor formação e maior abortamento de flores e vagens, e os grãos produzidos são menores. A seca ocasiona na formação de espécies reativas de oxigênio que causam diversos danos, que podem ser irreversíveis.

Para se proteger de situações estressantes as plantas possuem mecanismos antioxidativos de defesa que buscam minimizar os danos gerados pelo déficit hídrico. Tais mecanismos podem ser formados por enzimas ou por antioxidantes não enzimáticos que atuam na eliminação de espécies reativas de oxigênio (EROs), por mecanismos fotoprotetores que dissipam o excesso de energia, ou por alterações morfofisiológicas que ajudam a mitigar o efeito da seca.

Algumas práticas agrícolas podem ser empregadas para tornar as plantas mais tolerantes a situações estressantes, como a aplicação de bioestimulantes nas lavouras. Bioestimulantes são produtos, que aplicados em baixas quantidades, proporcionam melhorias no desenvolvimento das plantas. Podem ser compostos por diversas substâncias como hormônios, ácidos húmicos, ácidos fúlvicos, aminoácidos, vitaminas, algas marinhas, micronutrientes e ácidos ascórbicos.

Bioestimulantes atuam na melhoria da eficiência nutricional, possuem efeito antiestresse, melhoram os mecanismos de defesas da planta, aumentam o crescimento, melhoram as taxas fotossintéticas e aumentam a produtividade das lavouras. Bioestimulantes a base de ácidos fúlvicos e de extrato da alga marinha *Ascophyllum nodosum* (L.) têm sido desenvolvidos com intuito de melhorar o desenvolvimento de plantas cultivadas em condições estressantes.

Ácido fúlvico é um componente das substâncias húmicas que estão presentes na matéria orgânica do solo, atuam no crescimento das plantas, na melhoria da absorção de água e nutrientes, no incremento de atividades metabólicas e no aumento na produção de energia metabólica. O extrato da alga marinha *Ascophyllum nodosum* (L.) favorece a adaptabilidade das plantas às condições de seca, reduz o grau de murcha, retarda a senescência foliar, melhora a condutância estomática das folhas, aumenta os mecanismos de defesa.

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar se diferentes formulações e doses de bioestimulante composto por ácidos fúlvicos e extrato da alga marinha *Ascophyllum nodosum* (L.), quando aplicado na fase reprodutiva, atua na mitigação dos efeitos negativos gerados pelo déficit hídrico em plantas de soja, buscando compreender quais mecanismos fisiológicos, bioquímicos e morfológicos participam do aumento da tolerância da soja sob situação estressante.

2 REVISÃO DE LITERATURA

As mudanças climáticas têm afetado a disponibilidade de recursos hídricos, o que afeta diversos aspectos dos sistemas de produção agrícola no mundo e coloca em risco a segurança alimentar (MOUSAVI-DERAZMAHALLEH et al., 2019). Para manter a produção de alimentos em níveis suficientes para atender as demandas, é preciso explorar áreas inaptas ao cultivo, como regiões de climas secos e solos de baixa qualidade. Além do mais é necessário aumentar o rendimento das culturas em condições de limitada disponibilidade de recursos (ABBERTONI et al., 2015).

Dentre as culturas afetadas pelas mudanças climáticas, a soja merece atenção especial por ter seu potencial produtivo significativamente reduzido sob condições ambientais extremas, como a seca (FAO, 2017; JURAS et al., 2008). Devido a sua ampla distribuição geográfica no mundo, é de fundamental importância à compreensão dos impactos da deficiência hídrica na soja, já que este é o principal responsável pelas quedas de produtividades e qualidade de grãos nesta cultura (MERTZ-HENNING et al., 2018).

A produção da soja está entre as atividades econômicas que mais cresceram nas últimas décadas, se destacando como a principal cultura brasileira entre os cereais. Nas safras 2017/2018 e 2018/2019 o Brasil foi o segundo maior produtor mundial de soja, produzindo apenas 0,11% e 2,44%, respectivamente, a menos que os Estados Unidos (CONAB 2018, 2019). Para que o país se consolidasse como o maior produtor de soja mundial seria necessário apenas que não ocorressem eventos climáticos desfavoráveis, como os veranicos, uma vez a estimativa baseada no cálculo da produtividade média dos últimos cinco anos e de que a área plantada coloca o país na posição de maior produtor mundial (CONAB, 2019).

Na safra 2018/2019 condições climáticas desfavoráveis prejudicaram o desenvolvimento e a produtividade da soja em várias regiões do Brasil. Problemas por veranicos durante as safras geraram reduções de rendimento e atrasos nas colheitas estados do Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, Tocantins, Maranhão e São Paulo (CONAB, 2019). O relatório de dezembro da CONAB (2019) aponta que na região Norte-Nordeste e no Mato Grosso do Sul a estiagem atrasou o plantio das

lavouras e foi necessário o replantio de partes dessas áreas, e que mesmo após o replantio a chuvas continuaram desregulares.

O Brasil é o maior exportador de soja dentre os principais países produtores, compostos também pelos Estados Unidos e Argentina. O complexo soja, formado pela soja em grãos e os seus derivados, representou aproximadamente 14% de toda a exportação brasileira em 2017, gerando um valor de US\$ 30,69 bilhões (CONAB, 2019). As exportações brasileiras nos anos de 2018 e 2019 foram maiores que o esperado. E o acirramento da guerra comercial entre Estados Unidos e China elevou as exportações brasileiras no segundo semestre de 2019, que também teve contribuição da alta do dólar (CONAB, 2019).

A soja é fonte de proteína e óleo vegetal, com teores de 40% e 20% respectivamente, entretanto esses valores podem apresentar alterações em situações de déficit hídrico. O farelo é usado na alimentação humana e animal, sendo importante para garantir o baixo custo de produção de carnes. O óleo extraído da sua semente é usado na alimentação humana, nas indústrias e na produção de biodiesel. Segundo a CONAB (2019) a demanda interna pela soja se mantém elevada devido ao aumento na produção de carnes para exportação e pela mistura do biodiesel que passou de B11 para B12 (porcentagem de mistura de biodiesel na combustível). O consumo de todo o complexo soja irá crescer nos próximos anos, o que torna mais promissor o cenário futuro para o seu cultivo (BEZERRA et al., 2015).

Para atender a crescente demanda do complexo soja é necessário o aumento da produtividade desta cultura. A mudança na época de plantio, cultivares de ciclo curto, o avanço do cultivo em áreas inaptas ao desenvolvimento de plantas (regiões de climas secos, chuvas escassas e solos de baixa qualidade) aliado à escassez e/ou má distribuição de chuvas nas regiões produtoras são desafios no aumento da produtividade da soja. Estresses abióticos afetam negativamente o desenvolvimento das plantas, sendo a falta de água o principal fator limitante de produção da soja em todo o mundo (ANDA et al., 2020; DONG et al., 2019).

Como forma de se adaptarem a situações estressantes, como a seca, as plantas possuem amplo espectro de respostas adaptativas que incluem expressão de genes relacionados ao estresse, modificações fisiológicas, morfológicas e

bioquímicas (SHUKLA et al., 2017). Como as condições ambientais não podem ser controladas, técnicas agrícolas têm sido usadas para minimizarem os danos causados pelos estresses ambientais, como o uso de bioestimulantes que atuam nas respostas das plantas a condições estressantes (MARIANI et al., 2017).

O termo bioestimulante se refere à mistura de produtos a base de hormônios, substâncias húmicas, aminoácidos, vitaminas, algas marinhas e micronutrientes que tem sido usado nas lavouras com intuito de proteger as plantas, através da melhoria das respostas adaptativas aos estresses ambientais (POVER et al., 2016). São aplicados em baixas quantidades no solo ou na planta, minimizam os efeitos negativos do estresse, promovendo melhorias no crescimento, desenvolvimento e produtividade das culturas principalmente quando submetidas a algum estresse ambiental (BULGARI et al., 2017).

Bioestimulantes promovem aumento da tolerância a condições ambientais, pois melhoram a eficiência nutricional das plantas, aumentam a eficiência dos mecanismos de defesa, das atividades fisiológicas, do uso da água, na síntese de metabolitos essenciais e no crescimento da parte aérea e sistema radicular promovendo maior produtividade e produtos finais com mais qualidade (DU JARDIN et al., 2015).

Quando aplicados nas plantas, os bioestimulantes melhoram a nutrição pelo aumento na absorção devido ao crescimento das raízes e incremento da corrente transpiratória e quando aplicados ao solo, tornam os nutrientes mais disponíveis as plantas (BULGARI et al., 2015). No entanto, não são considerados fertilizantes, pois não possuem quantidades suficientes de nutrientes para atender as demandas nutritivas das plantas, e sim para ativação metabólica de processos fisiológicos.

Existem bioestimulantes de diversas categorias, entre elas a dos derivados de substâncias húmicas, e extratos de algas marinhas (BULGARI et al., 2019). Bioestimulantes compostos por extrato da alga marinha *Ascophyllum nodosum* e ácidos fúlvicos têm sido desenvolvidos com intuito de melhorar o desenvolvimento e produtividade de plantas em condições estressantes.

Extratos da alga marinha, como a *Ascophyllum nodosum* (L.), têm sido amplamente usados com bioestimulante na produção agrícola por promoverem o

crescimento de plantas, aumentarem a absorção de nutrientes e tolerância a situações estressantes (ALI et al., 2016; POVERO et al., 2016). No solo melhoram a aeração, fixação de nutrientes e troca catiônica, e na planta melhoram o crescimento e desenvolvimento devido aos efeitos antiestresse (BULGARI et al., 2019).

Bioestimulantes a base da alga *Ascophyllum nodosum* aumentam a adaptabilidade das plantas às condições de seca, pois retardam a senescência foliar, melhoram a condutância estomática das folhas, regulam a temperatura foliar, aumentam os mecanismos de defesa a espécies reativas de oxigênio (ROS), a fototolerância, atividade fotossintética, o teor de clorofilas, absorção de nutrientes, reduzem fotoinibição do PSII, a peroxidação lipídica e danos oxidativos aos tecidos (MARTYNENKO et al., 2016; SHUKLA et al., 2017).

Substâncias húmicas são constituintes naturais da matéria orgânica do solo, resultantes da decomposição de resíduos vegetais, animais e de microorganismos. Atuam no crescimento e na melhoria de nutrição das plantas por aumentar a captação de nutrientes e a capacidade de troca catiônica dos solos. Nas raízes estimulam as H⁺ATPases das membranas plasmáticas, aumentando a importação de nutrientes, e geram o afrouxamento da parede celular induzindo a crescimento (CANELLAS et al., 2014).

O ácido fúlvico é uma substância húmica que tem sido amplamente usado como bioestimulantes. Apresenta baixo peso molecular, alta quantidade de compostos fenólicos e de grupos carboxílicos e baixa quantidade de estruturas aromáticas o que lhe confere melhor solubilidade em água e maior capacidade de troca catiônica. Promove crescimento das raízes e parte aérea, atua no aumento da absorção de íons, respiração, fotossíntese, teor de clorofila e a produção de ATP (CALVO et al., 2014).

Plantas submetidas ao déficit hídrico acumulam ácido abscísico (ABA), que atua na regulação da abertura estomática, representando umas das primeiras respostas à seca (CHAVES et al., 2009). A menor abertura do estômato é fundamental para evitar perdas excessivas de água, principalmente em condições de sua baixa disponibilidade no solo, resultando na manutenção do potencial hídrico

da planta. A aplicação de bioestimulantes ativou vias de produção de ABA, que conferiram tolerância à seca (SHUKLA et al., 2018).

No entanto o fechamento estomático reduz as taxas transpiratórias, causando aumento da temperatura das folhas. Se a temperatura atingir um limiar acima do ótimo para a planta, afeta fotossistemas, atividades metabólicas e reduz a assimilação de carbono (EMBIALE et al., 2016; SHUKLA et al., 2018). Martynenko et al. (2016) afirmaram que a aplicação de bioestimulantes melhorou a tolerância à seca das plantas de soja pela regulação da temperatura das folhas, por melhorar a condutância estomática.

A menor condutância estomática durante o déficit hídrico reduz influxo de CO₂ para o sítio de carboxilação da ribulose 1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase (RUBISCO), reduzindo a atividade do ciclo de Calvin e, conseqüentemente, a regeneração de aceptores de elétrons (OSAKABE et al., 2014). Estresses que limitam a fixação de CO₂ provocam o excesso de energia nos fotossistemas e podem causar danos permanentes ao aparato fotossintético, e para isso são necessários mecanismos eficientes que dissipem o excesso de energia.

O excesso de energia faz com que as cadeias transportadoras de elétrons, tanto da fotossíntese quanto da respiração, gerem o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ERO), perturbando a homeostase celular e ocasionado um ambiente oxidativo nas células (DAHALL et al., 2015; PYNGROPE et al., 2013; ZHANG e al., 2016). O acúmulo das ERO, como o peróxido de hidrogênio (H₂O₂), o radical ânion superóxido (O₂^{•-}) o radical hidroxila (HO●) e o oxigênio singleto (¹O₂), resulta em danos oxidativos a estruturas celulares como as proteínas, moléculas de RNA, DNA, lipídeos, membranas, pigmentos fotossintéticos e ativação da morte celular programada (CHOUDHURY et al., 2016; PANDEY et al., 2016).

As ERO possuem a capacidade de atravessar membranas e se difundirem entre os compartimentos, causando danos às membranas através da peroxidação lipídica (TIAN et al., 2016). Danos oxidativos aos lipídeos das membranas são caracterizados pela produção de um composto denominado malondialdeído (MDA), que é um produto da peroxidação lipídica (DONG et al., 2019). Bioestimulantes atuam na expressão de peroxidases da parede celular, melhorando sua integridade

sob condições de estresse, pois reduzem os níveis de malondialdeído (MDA), derivados da peroxidação lipídica (WANG et al., 2016; SAEGER et al., 2019).

Para proteger contra os danos oxidativos, as plantas possuem mecanismos de defesa antioxidativos enzimáticos ou não, que podem ou não atuar em conjunto, e que realizam a eliminação das ERO e manutenção da homeostase celular (CHOUDHURY et al., 2016; PANDEY et al., 2016). O mecanismo enzimático é formado por enzimas como superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1), catalase (CAT, EC 1.11.1.6), glutaciona peroxidase (GPX, EC 1.11.1.9), peroxidase (POX, EC 1.11.1.7) e peroxiredoxinas (Prxs, EC 1.11.1.15), que catalisam a degradação de ERO e pelas enzimas do ciclo ascorbato-glutaciona (AsA-GSH), como a ascorbato peroxidase (APX, EC 1.1.11.1), monode-hidroascorbato redutase (MDAR, EC 1.6.5.4), desidroascorbato redutase (DHAR, EC 1.8.5.1) e glutaciona redutase (GR, EC 1.8.1.7), que regeneram antioxidantes solúveis (GRATÃO et al., 2005; MITTLER et al., 2004; SILVA et al., 2012; YOU; CHAN, 2015).

O mecanismo não enzimático pode ser encontrado em diversos compartimentos, atuam diretamente na eliminação de ERO, ou na redução dos substratos das enzimas antioxidantes (CAVERZAN et al., 2016). Os componentes não enzimáticos são moléculas de baixo peso molecular e doadoras de elétrons quando estão na sua forma reduzida, formados pelos compostos ascorbato (Asc) monodesidroascorbato (MDHA), glutaciona reduzida (GSH), carotenos, α -tocoferol e poliaminas (GIL; TUTEJA, 2010; GRATÃO et al., 2005; MITTLER et al., 2004).

A manutenção de uma elevada capacidade antioxidante para a eliminação das ERO tem sido associada ao aumento da tolerância das plantas a uma ampla gama de estresses ambientais (MISHRA et al., 2012; CAVERZAN et al., 2016). A aplicação de bioestimulantes aumenta a capacidade das plantas de eliminar espécies reativas de oxigênio (ERO), sugerindo aumento na tolerância das plantas à seca (SHUKLA et al., 2017). Plantas de *Paspalum vaginatum* a aplicação de bioestimulantes a redução das ERO foi associada ao aumento na atividade de enzimas antioxidantes e maior produção de compostos não antioxidantes (SANTANIELLO et al., 2017).

Segundo Fang et al. (2015), plantas sobre déficit hídrico podem apresentar acúmulo de algumas moléculas osmoprotetoras, como prolina e aminoácidos, permitindo a manutenção da pressão de turgor. O acúmulo de solutos em células vegetais resulta em diminuição do potencial osmótico celular e, portanto, na manutenção da absorção de água e da pressão de turgescência celular, que são considerados mecanismos chaves que permitem às plantas manterem maiores taxas fotossintética, abertura estomática, e expansão celular em condições de deficiência hídrica (ANNUNZIATA et al. 2017; SANDERS; ARNDT, 2016). Os bioestimulantes aumentam os níveis de moléculas osmoprotetoras, como prolina, aminoácidos livres, proteínas, carboidratos, pigmentos e várias enzimas (YAKHIN et al., 2017). Carvalho et al. (2018) afirmaram que aplicação de bioestimulante aumenta a produção de prolina em plantas submetidas ao déficit hídrico.

Períodos de seca reduzem a altura, o índice de área foliar e o crescimento das plantas devido à inibição do alongamento celular causado pela baixa turgescência da célula, e também pelo fechamento estomático que gera redução na intensidade da fotossíntese e, conseqüentemente, menor formação de fotoassimilados (CATUCHI et al., 2011; HATZIG et al., 2014). A aplicação de bioestimulante aumenta o crescimento das plantas pela maior biossíntese protéica (BULGARI et al., 2017).

A disponibilidade hídrica é importante durante todo o desenvolvimento da soja (SILVA et al., 2015). Contudo, à medida que a planta se desenvolve, a necessidade de água vai aumentando, chegando ao máximo no estágio reprodutivo (floração R1-R2, frutificação R3-R4, e enchimento de grãos R5-R6), que são os estádios mais sensíveis à seca e mais propensos a reduções de produtividade (OYA et al., 2004; MONTOYA et al., 2017). A escassez de água na fase reprodutiva induz menor número e tamanho de vagens e grãos, menor peso de sementes, senescência foliar, e encurtamento do ciclo de vida da planta o que pode prejudicar o enchimento de grãos (MANAVALAN et al., 2009).

Diversos bioestimulantes têm atuado na melhoria do desenvolvimento, crescimento e produtividade de plantas de soja cultivadas em condições de deficiência hídrica. Pouco se conhece sobre efeitos fisiológicos, bioquímicos e morfológicos de bioestimulantes compostos por extrato da alga marinha *Ascophyllum nodosum* e ácidos fúlvicos na recuperação de planta que foram submetidas ao déficit hídrico.

Bioestimulantes compostos por extrato da alga marinha *Ascophyllum nodosum* e ácidos fúlvicos têm sido elaborados com intuito de melhorar o desenvolvimento e a produtividade de plantas em condições estressantes. Analisar a atuação em conjunto destes compostos na recuperação de plantas de soja submetidas ao déficit hídrico é importante para compreender os mecanismos de mitigação aos efeitos negativos gerados na planta.

3 MATERIAL E METODOS

3.1 Condições de cultivo e tratamentos

O experimento foi conduzido em casa de vegetação com sistema de monitoramento e controle de temperatura e umidade entre os meses de janeiro e maio de 2019, na Faculdade de Ciências Agrônômicas da Universidade Estadual Paulista (UNESP), em Botucatu (22°51'S, 48°26'W e 786 m acima do nível do mar), Estado de São Paulo, Brasil.

As sementes de soja foram previamente inoculadas e tratadas com fungicida e inseticida. Posteriormente oito sementes de soja foram semeadas em vasos com 35 cm de altura, 34 cm de diâmetro superior e 25 cm de diâmetro inferior, contendo 10 kg de solo, com posterior desbaste de plantas e mantendo apenas quatro plantas por vaso. A correção do pH e nutrição do solo foram feitas com base na análise de solo.

A variedade de soja usada foi a 5D621-IPRO, pertencente ao grupo de maturação 6.2, de hábito de crescimento indeterminado, arquitetura semiereta, bom engalhamento, flor roxa e vagem marrom clara. Essa variedade possui a tecnologia intacta PR2PRO que confere proteção a principais lagartas da soja (lagarta da soja, falsa medideira, das maçãs e broca das axilas), potencial aumento de produtividade e tolerância ao glifosato.

O experimento consistiu na indução prévia de plantas de soja ao déficit hídrico, e após a reidratação das plantas, a aplicação de bioestimulante. Os tratamentos consistiam em controle sem déficit hídrico e sem bioestimulante, controle com déficit hídrico e sem bioestimulante, e tratamentos com deficit hídrico e aplicação de diferentes doses e formulações do bioestimulante. O déficit hídrico foi implantado nas plantas na fase reprodutiva, entre os estádios R2 (florescimento pleno) e R3 (início da frutificação), apenas o controle sem déficit hídrico foi mantido a 100% da CC.

Para a indução ao déficit hídrico a irrigação foi suspensa e a massa dos vasos monitorada ao longo do dia para atingir a massa referente à capacidade de campo (CC) de 50%. As plantas induzidas ao déficit hídrico foram mantidas nessa CC por três dias, quando apresentaram murchas intensas nas folhas, sintomas que indicam

deficiência hídrica, e foram feitas as primeiras avaliações. Em seguida foram reidratadas (100% da CV), e após algumas horas foi aplicado o bioestimulante. Após dois dias de reidratadas foram reavaliadas, para analisar a capacidade de recuperação das plantas com e sem a aplicação o bioestimulante. Após esse período, os vasos foram mantidos em condições normais de CC (100%) até as plantas atingirem o estágio R8 (maturação plena).

Na primeira avaliação, após o terceiro dia de déficit hídrico foram realizadas as avaliações de potencial hídrico foliar, trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a*, diâmetro do caule, coletas de folhas para área foliar e massa seca, coletas de discos para pigmentos fotossintéticos, coleta e congelamento (em nitrogênio líquido) de amostras de folhas para enzimas antioxidantes, teor de peroxidação lipídica, prolina e aminoácidos totais. Esta avaliação foi denominada de pós 1, quando as plantas estavam sob déficit hídrico, porém sem aplicação de bioestimulante.

Algumas horas após a reidratação das plantas sob déficit hídrico ocorreu à aplicação das formulações do bioestimulante em diferentes dosagens nos respectivos tratamentos. Os controles (com déficit e sem déficit hídrico) não receberam a aplicação de bioestimulante. Após dois dias da aplicação do bioestimulante nos tratamentos foram realizadas as avaliações de potencial hídrico foliar, trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a*, diâmetro do caule, coletas de folhas para área foliar e massa seca, massa seca e volume de raiz, coletas de discos para pigmentos fotossintéticos, coleta e congelamento (nitrogênio líquido) de amostras de folhas para enzimas antioxidantes, teor de peroxidação lipídica, prolina e aminoácidos totais. Esta avaliação foi denominada de pós 2, quando as plantas sob déficit hídrico já estavam reidratadas e havia a aplicação de bioestimulante nos respectivos tratamentos.

Ao completar a maturidade fisiológica, o número de vagens com 1, 2 e 3 grãos, número total de vagens, a massa de 100 grãos e produção foram avaliados por planta. Portanto, esta avaliação se referiu aos componentes produtivos das plantas com aplicação de bioestimulante após a indução do déficit hídrico.

As caldas para aplicação foliar foram preparadas através da diluição de 100 gramas de cada formulação do produto em quantidade de água proporcional à

aplicação de 1 kg do produto por ha, considerando calda de 100 litros por ha. As demais dosagens foram preparadas por diluição. Foi usado o pulverizador manual de compressão de 1,5 L com controle de volume de calda aplicada e pressão constante.

3.2 Delineamento experimental

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com quatro repetições e 11 tratamentos. As 4 repetições foram usadas para as avaliações não destrutivas antes e depois da indução do déficit hídrico e aplicação do bioestimulante. As análises destrutivas (área foliar, peso da parte aérea, volume de raízes e peso de raízes) foram feitas em uma repetição extra, considerando cada uma das quatro plantas do vaso como uma repetição.

Os tratamentos da avaliação em pós 1 foram compostos de 10 tratamentos (T1 a T10) com indução de déficit hídrico e um tratamento sem deficiência hídrica (controle não estressado). Tratamentos foram compostos por dois controles, três formulações do bioestimulante em três dosagens diferentes: formulação 1 (1; 0,5 e 0,25 kg ha⁻¹; T1, T2 e T3, respectivamente), formulação 2 (1; 0,5 e 0,25 kg ha⁻¹; T4, T5 e T6, respectivamente), formulação 3 (1; 0,5 e 0,25 kg ha⁻¹; T7, T8 e T9, respectivamente), controle com déficit hídrico (T10), e controle sem déficit hídrico (T11). As formulações do bioestimulante diferem entre si na porcentagem dos compostos naturais, ácidos fúlvicos e nutrientes (Tabela 1). As porcentagens dos compostos naturais estão expressas na Tabela 2, e as concentrações de macro e micronutrientes da alga *Ascophyllum nodosum* na Tabela 3.

Tabela 1 - Composição das formulações do bioestimulante.

	Nutrientes - %									Compostos naturais - % <i>Ascophyllum nodosum</i> + ácidos fúlvicos
	N	Mg	S	B	Cu	Fe	Mn	Mo	Zn	
Formulação 1	4	1	6	0.1	0.07	0.052	0.1	0.12	0.2	14
Formulação 2	2	1	3.6	0.1	0.04	0.05	0.1	0.1	0.2	15
Formulação 3	1	0	1.1	0	0	0	0	0	0	21

Fonte: Fertilizantes Heringer.

Tabela 2 - Porcentagens dos compostos naturais.

<i>Ascophyllum nodosum</i>				Ácidos fúlvicos		
Umidade - %	Compostos naturais - %			Macronutrientes - %		Ácidos Fúlvicos - %
	Derivados de ácidos alginicos	Manitol	Betainas	K ₂ O	S	
2 - 8	< 10	4 - 7	0,1	10,5	6	80 +/- 5

Fonte: Fertilizantes Heringer.

Tabela 3 - Concentrações de macro e micronutrientes da alga *Ascophyllum nodosum*

	Macronutrientes - %						Micronutrientes – mg kg ⁻¹					
	N	P	S	K ₂ O	Ca	Mg	Cu	Fe	Mg	Zn	Bo	Mo
<i>Ascophyllum nodosum</i>	1 -1,5	0,02 – 0,05	1 - 9	19 – 21	1,5 – 1,0	0,5 – 0,9	1 - 6	50 - 200	5 - 12	10 - 100	20 - 100	1 - 5

Fonte: Fertilizantes Heringer.

3.3 Análises biométricas

As análises biométricas foram realizadas após três dias de deficit hídrico e após dois dias de reidratação. Os parâmetros avaliados foram: diâmetro do caule, área foliar, área foliar específica, comprimento, volume e massa seca de raiz, massa seca de caule e folhas e massa seca da parte aérea.

O diâmetro do caule foi determinado utilizando um paquímetro digital (MeterMall, 150 mm e leitura de 0,1 mm, Marysville, OH, EUA), as medições foram feitas na altura do primeiro nó da planta. A área foliar foi determinada através de um medidor de área foliar (LI-COR Biosciences Inc., LI-3100C, Lincoln, NE, EUA) em todas as folhas da planta. A área foliar específica foi calculada pela razão entre a área foliar e a massa seca de todas as folhas da planta.

O volume de raiz foi medido pelo deslocamento de água provocado pela introdução das raízes em uma proveta graduada (BASSO, 1999). O comprimento das raízes foi feito com uma fita métrica. Raízes, caule e folhas foram colocados em

estufa de secagem por circulação forçada de ar (Fanem, 330/5, São Paulo, SP, Brasil) a 72°C até atingir a massa seca constante e em seguidas pesadas separadamente em balança de precisão (Bel Photonics do Brasil E. C. Ltda, M214Ai, Osasco, SP, Brasil). A massa seca da parte aérea foi determinado pela soma da massa seca das folhas e do caule.

3.4 Avaliações fisiológicas

As avaliações fisiológicas foram realizadas quando as plantas estavam sob déficit hídrico por três dias e sem a aplicação do bioestimulante (pós 1) e após dois dias da reidratação e aplicação do bioestimulante (pós 2).

3.4.1 Potencial hídrico foliar

O potencial hídrico foliar (ψ_w) foi avaliado após três dias de deficit hídrico e após dois dias da reidratação às 12 horas em folhas completamente expandidas do sétimo trifólio a partir do ápice com auxílio de câmara de pressão do tipo Scholander (Soil Moisture Equipment Corporation, 3005, Santa Barbara, CA, EUA) (SCHOLANDER et al., 1965).

3.4.2 Índice SPAD

A estimativa do conteúdo de clorofila foi obtida por meio do índice SPAD, empregando o clorofilômetro portátil (SPAD-502, Konica Minolta Corporation, Osaka, Japão). Esse índice foi obtido da média de três leituras realizadas na base, no meio e na ponta de folhas completamente expandidas.

3.4.3 Trocas gasosas

A taxa de assimilação líquida do CO₂ (A), condutância estomática (g_s), taxa transpiratória (E) e a concentração interna carbono (C_i) foram realizadas em folhas completamente expandidas do oitavo trifólio a partir do ápice foliar, com analisador de gases a infravermelho (IRGA) (LI-COR Biosciences Inc., LI-6400xt, Lincoln, NE,

EUA). As medições foram realizadas entre 08:00 e 12:00 horas da manhã, utilizando radiação fotossinteticamente ativa (*PAR*) constante ($1000 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$), concentração atmosf\u00e9rica de CO_2 , temperatura e umidade ambiente. A efici\u00eancia do uso da \u00e1gua (EUA) foi calculada pela raz\u00e3o A/E e a efici\u00eancia de carboxila\u00e7\u00e3o (EC) pela raz\u00e3o A/C_i .

3.4.4 Par\u00e2metros de fluoresc\u00eancia da clorofila *a*

As vari\u00e1veis relacionadas \u00e0 fluoresc\u00eancia da clorofila *a* foram obtidas na mesma \u00e1rea da folha e hor\u00e1rio em que foram realizadas as medidas das trocas gasosas, com aux\u00edlio de fluor\u00f4metro acoplado ao IRGA. As vari\u00e1veis obtidas foram: fluoresc\u00eancia inicial (F_0); fluoresc\u00eancia m\u00e1xima (F_m); fluoresc\u00eancia vari\u00e1vel (F_v diferen\u00e7a entre F_0 e F_m) e rendimento qu\u00e2ntico potencial do PSII (F_v/F_m') (GENTY et al., 1989).

As vari\u00e1veis da fase lenta de indu\u00e7\u00e3o da fluoresc\u00eancia, fluoresc\u00eancia em amostra adaptada a luz antes do pulso de satura\u00e7\u00e3o (F) e fluoresc\u00eancia m\u00e1xima em amostra adaptada a luz (F_m'), foram obtidas sequencialmente com a aplica\u00e7\u00e3o de um pulso de luz act\u00ednia saturante ($>3000 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Os par\u00e2metros de fluoresc\u00eancia m\u00ednima do tecido vegetal iluminado (F_0') (OXBOROUGH; BAKER, 1997) e estimativa de centros de rea\u00e7\u00f5es abertos do PSII (qP) (KRAMER et al., 2004) foram calculados a partir de F e F_m' .

Os rendimentos qu\u00e2nticos efetivos do fluxo linear de el\u00e9trons pelo PSII (ϕPSII), da dissipaa\u00e7\u00e3o de energia regulada ($Y(\text{NPQ})$) e da dissipaa\u00e7\u00e3o de energia n\u00e3o regulada ($Y(\text{NO})$) foram calculados de acordo com Genty et al. (1989). O ϕPSII foi utilizado ainda para estimar a taxa aparente de transporte de el\u00e9trons (ETR) (BILGER et al., 1995). O coeficiente de extin\u00e7\u00e3o fotoqu\u00edmico foi calculado como $qP = (F_m' - F_s) / (F_m' - F_0')$, e o de extin\u00e7\u00e3o n\u00e3o fotoqu\u00edmico por $\text{NPQ} = (F_m - F_m') / F_m'$.

3.5 An\u00e1lises bioqu\u00edmicas

3.5.1 Pigmentos cloroplast\u00eddicos

Teores de pigmentos (clorofilas *a*, *b*, razão clorofila *a/b* e carotenoides) foram determinados em 2 discos foliares de 6 mm de diâmetro retirados de folhas completamente expandidas do oitavo trifólio a partir do ápice, e imersos em solução de dimetilformamida (DMF) saturado com carbonato de cálcio (CaCO₃) por 24 horas. Em seguida, a absorvância das amostras foi determinada no espectrofotômetro (Shimadzu, UV-2700, Kyoto, Japão) nos comprimentos de onda de 665, 649 e 480 nm (WELLBURN, 1994). O cálculo das concentrações das clorofilas *a*, *b* e carotenoides foi baseado em metodologia descrita por Wellburn (1994).

3.5.2 Enzimas do metabolismo antioxidativo

A atividade das enzimas dismutase do superóxido (SOD), catalase (CAT), peroxidases (POX) e peroxidase do ascorbato (APX) foi determinada para avaliar os mecanismos de defesa das plantas de soja submetidas aos tratamentos. Amostras de 300 mg de folhas expandidas foram maceradas em nitrogênio líquido e adicionadas a um meio de homogeneização. O meio é constituído de tampão fosfato de potássio 0,1 M, pH 6,8, ácido etilenodiamino tetra-cético (EDTA) 0,1 mM, fluoreto de fenilmetilsulfônico (PMSF) 1 mM e polivinilpirrolidona (PVPP) 1% (p/v) para as enzimas SOD, CAT, POX e APX. Em seguida, os homogeneizados foram centrifugados em centrífuga refrigerada (Hettich, Universal 320R, Tuttlingen, Alemanha) a 12.000 g a 4°C por 15 minutos e os sobrenadantes utilizados como extrato bruto de enzima.

3.5.3 Atividade da SOD

Alíquota de 50 µL de extrato bruto foi adicionado a 2.950 µL de meio de reação constituído de tampão fosfato de sódio 50 mM (pH 7,8) contendo metionina 13 mM, azul de p-nitro tetrazólio (NBT) 75 µM, EDTA 0,1mM e riboflavina 2µM. A reação foi realizada em câmara com luz fluorescente de 15 W a 25 °C por 10 minutos. Em seguida, a iluminação foi interrompida e a absorvância da formazana azul resultante da fotorredução do NBT foi determinada em espectrofotômetro a 560 nm (Shimadzu, UV-2700, Kyoto, Japão) O branco da reação consistiu da mistura entre amostra vegetal e meio de reação mantida no escuro nas mesmas condições

de temperatura e tempo. Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima necessária para inibir em 50% a fotoredução do NBT. O resultado foi expresso em $U \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ proteína.

3.5.4 Atividade da CAT

Alíquota de 50 μL de extrato bruto foi adicionado a 950 μmL de meio de reação contendo tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,0) e H_2O_2 12,5 mM (HAVIR; MCHALE, 1987). A absorbância foi obtida em espectrofotômetro (Shimadzu, UV-2700, Kyoto, Japão) no comprimento de onda de 240 nm após 1 minuto. A atividade enzimática foi determinada pela utilização da absorbância e do coeficiente de absorvidade de $36 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ e o resultado expresso em $\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ proteína.

3.5.5 Atividade da POX

Alíquota de 100 μL de extrato bruto foi adicionado a 4900 μL do meio de reação constituído de tampão fosfato de potássio 25 mM (pH 6,8), pirogalol 20 mM e H_2O_2 20 mM (KAR; MISHRA, 1976). A produção de purpurogalina foi determinada pela medida da absorbância espectrofotômetro (Shimadzu, UV-2700, Kyoto, Japão) no comprimento de onda de 420 nm, a 25°C . A atividade enzimática foi calculada utilizando-se a absorbância e o coeficiente de extinção molar de $2,47 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (CHANCE; MAEHLEY, 1955) e expressa em $\mu\text{mol de purpurogalina min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ proteína.

3.5.6 Atividade da APX

Alíquota de 100 μL de extrato bruto foi adicionado a 900 μL do meio de reação contendo tampão fosfato de potássio 0,05M (pH 7,0), ácido ascórbico 0,8 Mm e H_2O_2 1,0 Mm (NAKANO; ASADA, 1981). A atividade enzimática foi determinada pela medida da absorbância espectrofotômetro (Shimadzu, UV-2700, Kyoto, Japão) no comprimento de onda de 290 nm a 25°C considerando o coeficiente de extinção

molar de $2,8 \text{ Mm}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. O resultado foi expresso em μmol de ácido ascórbico $\text{min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ proteína.

3.5.7 Concentração de proteínas

As determinações das proteínas totais das folhas foram realizadas pelo método de Bradford (1976). Em tubo de ensaio foram adicionados $125 \mu\text{L}$ de cada tipo de extrato enzimático e $375 \mu\text{L}$ de água. Desta diluição foram retirados $50 \mu\text{L}$ e adicionados a $950 \mu\text{L}$ do reagente de Bradford. A leitura foi realizada em espectrofotômetro (Shimadzu, UV-2700, Kyoto, Japão) no comprimento de onda 595 nm . A concentração de proteína total foi calculada a partir da curva padrão obtida com leituras de solução contendo $5, 10, 20, 40$ e $60 \mu\text{g}$ de albumina sérica bovina (BSA). O espectrofotômetro foi zerado com o branco contendo água no lugar da amostra.

3.5.8 Peroxidação de lipídeos

Amostras de 250 mg de folhas expandidas foram maceradas em nitrogênio líquido, homogeneizadas em 3 mL de ácido tricloroacético (TCA) 1% e 20% de polivinilpirrolidona (PVPP) 1% (p/v), e em seguida foram centrifugadas (Hettich, Universal 320R, Tuttlingen, Alemanha) a 12000 g , a 4°C , por 20 minutos (GOMES-JUNIOR et al., 2006). Alíquotas de $500 \mu\text{L}$ dos sobrenadantes foram adicionadas a $1500 \mu\text{L}$ de solução de ácido tio-barbitúrico (TBA) $0,5\%$ em TCA 20% e incubadas em banho seco a 90°C . Após 20 min , a reação foi paralisada em banho de gelo por 10 minutos, os tubos centrifugados a 3000 g por 10 min e as absorvâncias determinadas a 532 e 600 nm em espectrofotômetro (Shimadzu, UV-2700, Kyoto, Japão). A concentração do complexo aldeído malônico-TBA foi estimada utilizando-se a absorvância e coeficiente de absorvância de $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (HEATH; PACKER, 1968).

3.5.9 Prolina

Para determinação da prolina, 100 mg de tecido foliar foram homogeneizadas em 2 mL de ácido sulfossalicílico 3% (p/v), e centrifugada refrigerada (Hettich, Universal 320R, Tuttlingen, Alemanha) a 6300 g por 10 min. Amostras de 100 µL do extrato foram adicionados a 200 µL de solução ácida de ninhidrina (1,25 g de ninhidrina, 30 mL de ácido acético glacial e 20 mL de ácido fosfórico 6M) e a mistura foi incubada a 100 °C por 1 hora. A reação foi paralisada em banho de gelo e a absorbância do sobrenadante foi medida em espectrofotômetro (Shimadzu, UV-2700, Kyoto, Japão) no comprimento de onda de 520 nm. As absorbâncias foram comparadas à curva-padrão de prolina (0 a 100 µg mL⁻¹) (BATES, 1973) e os resultados expressos em µmol prolina g⁻¹ MF⁻¹.

3.5.10 Aminoácidos totais

A determinação dos aminoácidos totais foi feita através de 20 mg de tecido foliar, que foi homogeneizada em tampão citrato de sódio 0,2 M (pH 5,0), ninhidrina 5%, cianeto de potássio 0,002 M e etanol 60% (v/v) para extração dos aminoácidos totais. A absorbância foi analisada em espectrofotômetro (Shimadzu, UV-2700, Kyoto, Japão) no comprimento de onda de 570 nm e os resultados comparados com curva padrão de glicina (0,1-1,0 µmoles mL⁻¹) (YEMM; COCKING, 1955). Os resultados foram expressos em µmol g⁻¹ MF⁻¹.

3.6 Componentes produtivos

Os componentes produtivos avaliados ao final do estágio R8 foram: número de vagens com uma, duas e três grãos; número de grãos e de vagens por planta; peso de 100 grãos, e peso de grãos por planta.

3.7 Análises dos dados

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de fatorial duplo com dois fatores adicionais, sendo posteriormente aplicado o teste de médias do método Scott-Knott a 5% de probabilidade ($p < 0.05$), utilizando o software RBio: Biometria do R (BHERING, 2017). Os fatores adicionais (controle com e sem déficit

hídrico) foram comparados aos demais tratamentos através do teste de médias Dunnet, considerando 5% de probabilidade ($p < 0.05$), no software RBio: Biometria do R (BHERING, 2017).

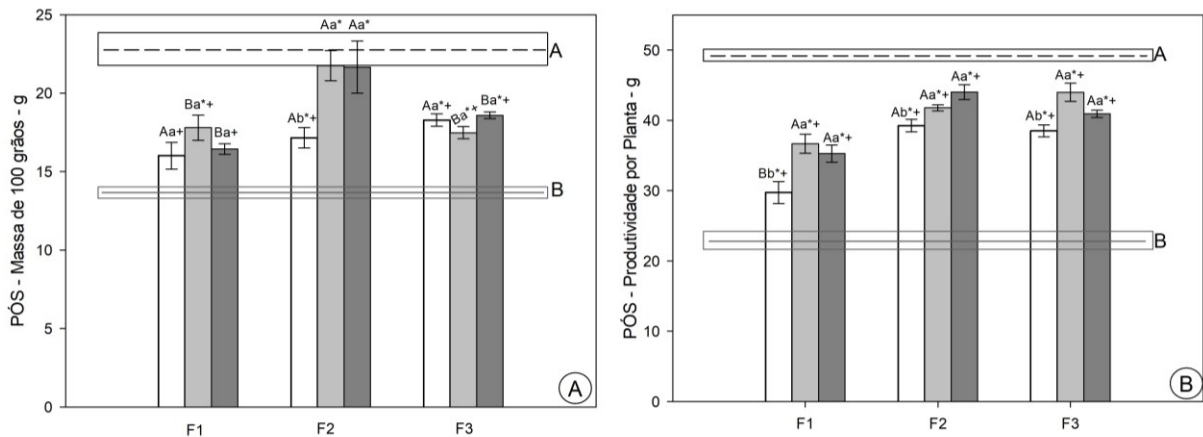
4 RESULTADOS

4.1 Componentes produtivos

O peso de 100 grãos não diferiu entre as doses das formulações 1 e 3, e sob a formulação 2 o menor valor foi encontrado na maior dose (Figura 1A). A dose de 1,0 kg ha⁻¹ não apresentou variações no peso de 100 grãos entre as formulações, e nas demais doses a formulação 2 promoveu os maiores valores. Os controles diferiram entre si, com valores 66,95% maiores para o controle sem déficit hídrico. Todos os tratamentos com aplicação de bioestimulante apresentaram valores menores que o controle sem déficit hídrico, porém as menores doses da formulação 2 resultaram em valores significativamente iguais a este controle. Os tratamentos com aplicação de bioestimulante tiveram valores de 25,4% a 59,1% maiores que o controle com déficit hídrico, exceto a maior e a menor dose da formulação 1 apresentaram valores semelhantes a esse controle.

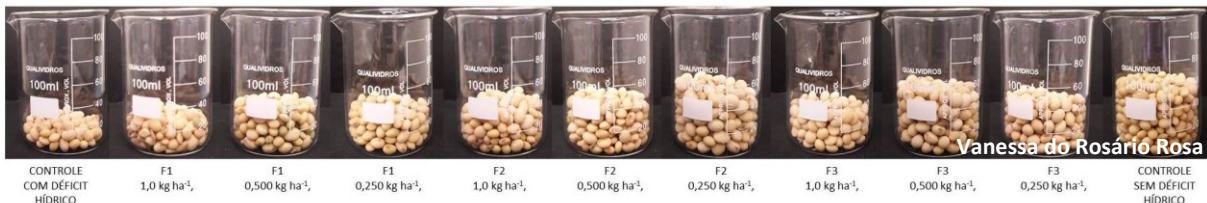
A dose de 1,0 kg ha⁻¹ de todas as formulações registraram produtividades de 6,3% a 23,3% menores que as demais doses (Figura 1B e Figura 2). Na maior dose das formulações, os menores valores de produtividade foram observados sob a formulação 1, e as demais doses não mostraram diferenças entre as formulações. O controle sem déficit hídrico teve produtividade por planta 114,9% maior que o controle com déficit hídrico. Todos os tratamentos com aplicação de bioestimulante foram diferentes dos controles, porém, os valores foram sempre menores que o controle sem déficit hídrico e de 29,64% a 91,93% maiores que o controle com déficit hídrico.

Figura 1 - Massa de 100 grãos (A) e produtividade por planta (B) em soja reidratada após a submissão ao déficit hídrico e após a aplicação do bioestimulante, na avaliação pós.



Os tratamentos F1, F2 e F3 representam as três formulações de bioestimulante FH Attivus® aplicadas nas doses de 1,0 kg ha⁻¹ (barra branca), 0,5 kg ha⁻¹ (barra cinza claro) e 0,25 kg ha⁻¹ (barra cinza escuro), os fatores adicionais estão representados pela linha horizontal contínua (controle com déficit hídrico) e pela linha horizontal tracejada (controle sem déficit hídrico). Letras maiúsculas nas barras comparam as mesmas doses em diferentes formulações, letras minúsculas nas barras comparam as mesmas formulações em diferentes doses pelo teste de Scott e Knott a 5% de probabilidade. O contorno das linhas dos controles (fatores adicionais) representa o erro padrão da média, e as letras maiúsculas comparam os controles pelo teste de Scott e Knott a 5% de probabilidade. Os asteriscos e a cruz em cada barra indicam diferenças com os tratamentos representados pela linha contínua e pela linha tracejada, respectivamente, por meio do teste de Dunnett a 5% de probabilidade. Barras representam o erro padrão da média (n=4).

Figura 2 - Produtividade por planta em soja reidratada após a submissão ao déficit hídrico e após a aplicação do bioestimulante, na avaliação pós.



Os tratamentos F1, F2 e F3 representam as três formulações de bioestimulante FH Attivus® aplicadas nas doses de 1,0 kg ha⁻¹, 0,5 kg ha⁻¹ e 0,25 kg ha⁻¹. Os fatores adicionais estão representados pelo controle com déficit hídrico e pelo controle sem déficit hídrico.

O número de vagens com um grão não variou entre as doses para as formulações 1 e 3, para a formulação 2 a maior dose registrou os maiores valores (Figura 3A). A dose de 1,0 kg ha⁻¹ apresentou valores decrescentes de vagens com um grão entre as formulações 2, 1 e 3, a dose de 0,5 kg ha⁻¹ foi menor na formulação 1 e não houve diferenças entre as doses na formulação 3. O controle sem déficit hídrico se manteve 41,4% maior que o controle com déficit hídrico. A maior e menor dose da formulação 1, todas as doses da formulação 2 e as menores

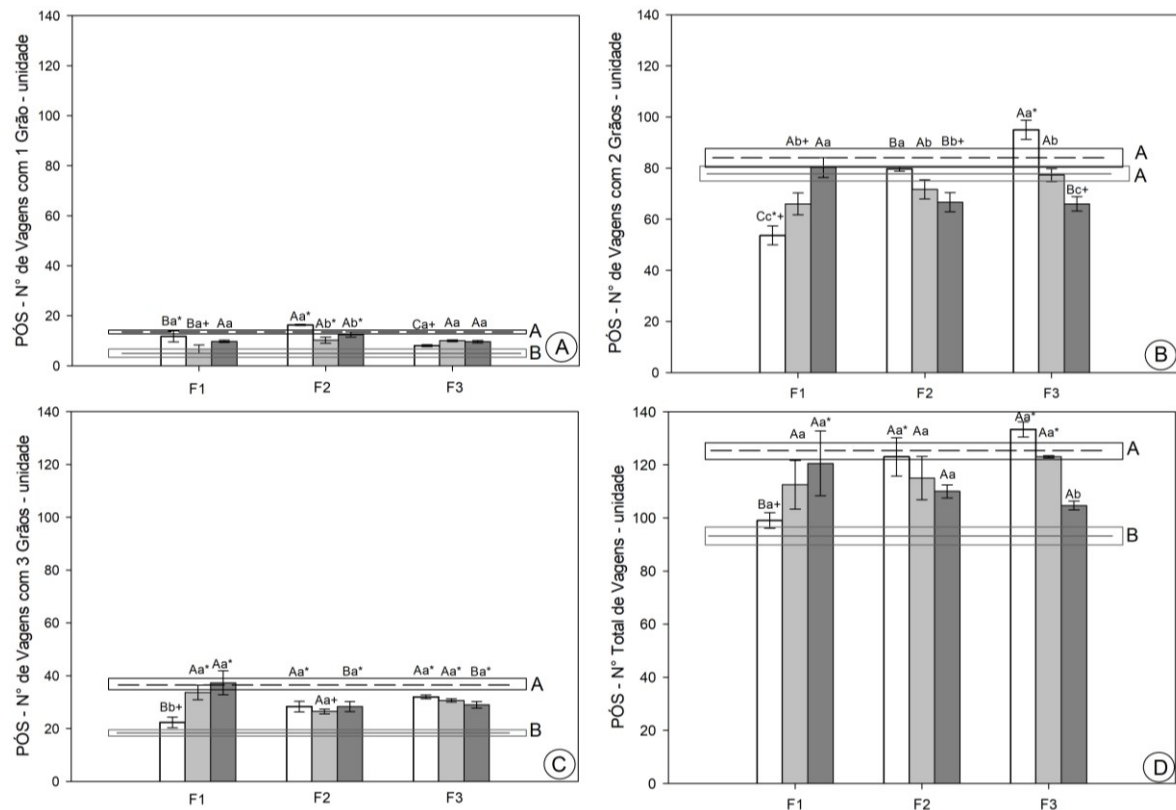
doses da formulação 3 foram semelhantes ao do controle sem déficit hídrico. Na formulação 1 as menores doses e todas as doses da formulação 3, apesar de maiores, foram significativamente iguais ao controle com déficit hídrico.

As vagens com dois grãos na formulação 1 foram decrescentes da menor para maior dose, crescente da menor para maior dose na formulação 3 e os maiores valores da formulação 2 ocorreram na maior dose (Figura 3B). A dose de $1,0 \text{ kg ha}^{-1}$ foi menor na formulação 1, seguidos pela 2 e 3, não havendo diferenças entre as formulações para a dose de $0,5 \text{ kg ha}^{-1}$, e na dose de $0,25 \text{ kg ha}^{-1}$ da formulação 1 ocorreram os maiores valores. O controle sem déficit hídrico não diferiu do controle com déficit hídrico. A menor dose da formulação 1 e as duas maiores doses das formulações 1 e 2 foram semelhantes ao controle sem déficit hídrico. Todas as doses da formulação 2 e as menores doses da formulação 1 e 3 foram semelhantes do controle com déficit hídrico.

As vagens com três grãos na formulação 1 foi maior na menor dose, e não se obteve diferenças entre as doses nas formulações 2 e 3 (Figura 3C). Nas doses de $1,0 \text{ kg ha}^{-1}$ e $0,25 \text{ kg ha}^{-1}$, os menores e maiores valores, respectivamente, foram registrados na formulação 1, e não se registrou diferenças entre as formulações para a dose de $0,5 \text{ kg ha}^{-1}$. O controle sem déficit hídrico se manteve 98,28% maiores que o controle com déficit hídrico. Entre os tratamentos com aplicação de bioestimulante apenas a maior dose da formulação 1 e a dose mediana da formulação 2 foram diferentes da controle sem déficit hídrico, e semelhantes ao controle com déficit hídrico.

O número total de vagens não alterou entre as doses para as formulações 1 e 2, e foi menor na dose de $0,25 \text{ kg ha}^{-1}$ na formulação 3 (Figura 3D). A maior dose da formulação 1 foi a menor, e não houve diferenças entre as formulações para as demais doses. O número de vagens do controle sem déficit hídrico foi 34,3% maior que o do controle com déficit hídrico. As menores doses da formulação 1 e todas as doses das formulações 2 e 3 foram iguais ao controle sem déficit hídrico. O número de vagens das maiores doses da formulação 1, as menores da formulação 2 e a menor da formulação 3 registraram resultados semelhantes ao controle com déficit hídrico.

Figura 3 - Números de vagens com 1 grãos (A), com 2 grãos (B), com 3 grãos (C) e número de vagens totais (D) em soja reidratada após a submissão ao déficit hídrico e após a aplicação do bioestimulante, na avaliação pós 2.



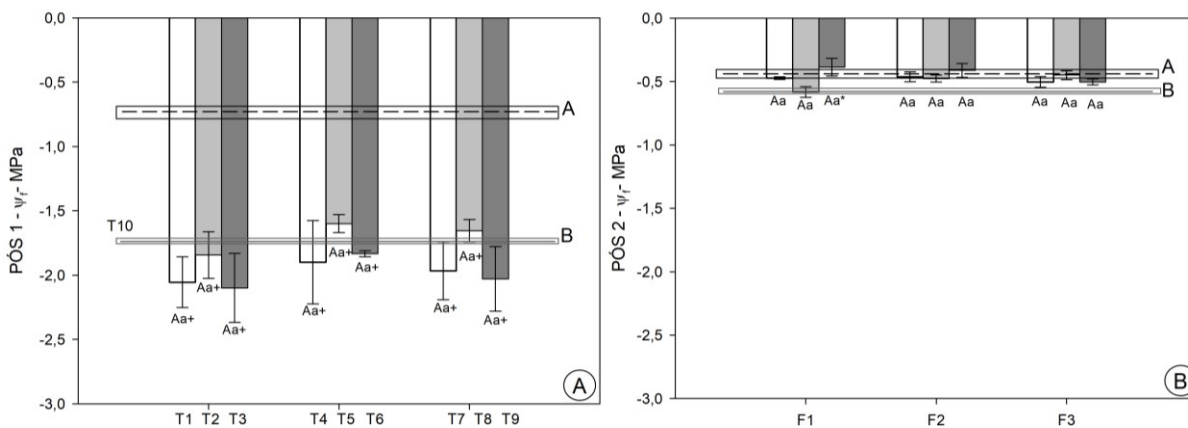
Os tratamentos F1, F2 e F3 representam as três formulações de bioestimulante FH Attivus® aplicadas nas doses de $1,0 \text{ kg ha}^{-1}$ (barra branca), $0,5 \text{ kg ha}^{-1}$ (barra cinza claro) e $0,25 \text{ kg ha}^{-1}$ (barra cinza escuro), os fatores adicionais estão representados pela linha horizontal contínua (controle com déficit hídrico) e pela linha horizontal tracejada (controle sem déficit hídrico). Letras maiúsculas nas barras comparam as mesmas doses em diferentes formulações, letras minúsculas nas barras comparam as mesmas formulações em diferentes doses pelo teste de Scott e Knott a 5% de probabilidade. O contorno das linhas dos controles (fatores adicionais) representa o erro padrão da média, e as letras maiúsculas comparam os controles pelo teste de Scott e Knott a 5% de probabilidade. Os asteriscos e a cruz em cada barra indicam diferenças com os tratamentos representados pela linha contínua e pela linha tracejada, respectivamente, por meio do teste de Dunnett a 5% de probabilidade. Barras representam o erro padrão da média ($n=4$).

4.2 Potencial hídrico foliar

Observou-se em pós 1 que todas as plantas submetidas ao déficit hídrico (T1 ao T10) atingiram o potencial hídrico foliar inferior a $-1,5 \text{ MPa}$, e foram verificadas diferenças entre os tratamentos (Figura 4A). O controle sem déficit hídrico foi de 126,02% a 187,67% maior que os demais tratamentos que estavam sob déficit hídrico. Em pós 2, após a reidratação e aplicação das formulações e doses do

bioestimulante, todos os tratamentos apresentaram potencial hídrico foliar maior que -0,6 MPa, e não foram verificadas diferenças entre as doses e as formulações (Figura 4B). Os controles diferiram entre sim, sendo o controle sem déficit hídrico 29,54% maior. Todos os tratamentos retomaram a valores de potencial hídrico semelhante ao controle sem déficit hídrico. O potencial hídrico foliar, em pós 2, na menor dose da formulação 1 foi maior que o controle com déficit hídrico, e o único tratamento que apresentou diferença com este controle.

Figura 4 - Potencial hídrico foliar em soja nas avaliações pós 1 e pós 2.

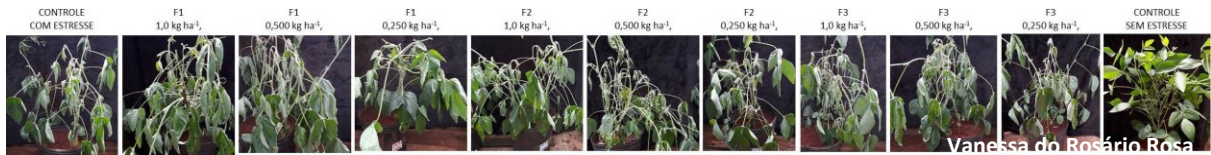


Potencial hídrico foliar (Ψ_f) (A) em soja sob déficit hídrico e sem a aplicação do bioestimulante, na avaliação pós 1: barras e linha contínua representam as plantas sob déficit hídrico (T1 ao T10), a linha tracejada representa o controle sem déficit hídrico. Potencial hídrico foliar (Ψ_f) (B) em soja reidratada após a submissão ao déficit hídrico e após a aplicação do bioestimulante, na avaliação pós 2. Os tratamentos F1, F2 e F3 representam as três formulações de bioestimulante FH Attivus® aplicadas nas doses de 1,0 kg ha⁻¹ (barra branca), 0,5 kg ha⁻¹ (barra cinza claro) e 0,25 kg ha⁻¹ (barra cinza escuro), os fatores adicionais estão representados pela linha horizontal contínua (controle com déficit hídrico) e pela linha horizontal tracejada (controle sem déficit hídrico). Letras maiúsculas nas barras comparam as mesmas doses em diferentes formulações, letras minúsculas nas barras comparam as mesmas formulações em diferentes doses pelo teste de Scott e Knott a 5% de probabilidade. O contorno das linhas dos controles (fatores adicionais) representa o erro padrão da média, e as letras maiúsculas comparam os controles pelo teste de Scott e Knott a 5% de probabilidade. Os asteriscos e a cruz em cada barra indicam diferenças com os tratamentos representados pela linha contínua e pela linha tracejada, respectivamente, por meio do teste de Dunnett a 5% de probabilidade. Barras representam o erro padrão da média (n=4).

4.3 Análises biométricas

Em pós 1 os tratamentos com déficit hídrico apresentaram diferenças visuais com o controle sem déficit hídrico (Figura 5). Após a reidratação e aplicação do bioestimulante, em pós 2, as plantas apresentaram diferentes respostas de crescimento e desenvolvimento entre o controle com déficit hídrico, controle sem déficit hídrico e tratamentos com aplicação do bioestimulante (Figura 6).

Figura 5 - Aspecto visual da parte aérea das plantas de soja após a submissão ao déficit hídrico, na avaliação pós 1.



Os tratamentos F1, F2 e F3 representam as três formulações de bioestimulante aplicadas nas doses de $1,0 \text{ kg ha}^{-1}$, $0,5 \text{ kg ha}^{-1}$ e $0,25 \text{ kg ha}^{-1}$. Os fatores adicionais estão representados pelo controle com déficit hídrico e pelo controle sem déficit hídrico.

Figura 6 - Aspecto visual da parte aérea das plantas de soja reidratadas após a submissão ao déficit hídrico e após a aplicação do bioestimulante, na avaliação pós 2.



Os tratamentos F1, F2 e F3 representam as três formulações de bioestimulante aplicadas nas doses de $1,0 \text{ kg ha}^{-1}$, $0,5 \text{ kg ha}^{-1}$ e $0,25 \text{ kg ha}^{-1}$. Os fatores adicionais estão representados pelo controle com déficit hídrico e pelo controle sem déficit hídrico.

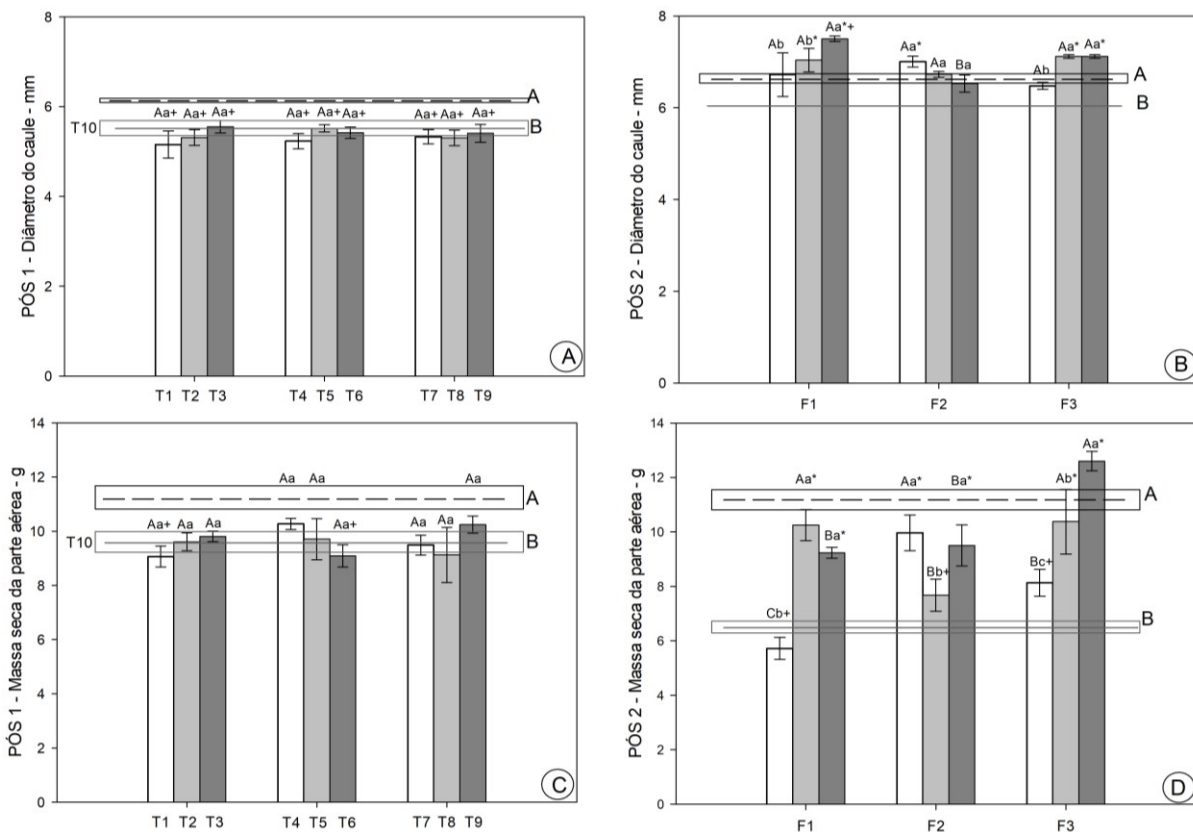
Na avaliação pós 1 não ocorreram diferenças entre os tratamentos submetidos ao déficit hídrico (T1 ao T10) para o diâmetro do caule e massa seca da parte aérea (Figura 7A e 7C). O diâmetro do caule nos tratamentos T3 e T5 foram semelhantes ao controle sem déficit hídrico, e os demais tratamentos foram menores que esse controle. O peso da parte aérea do controle sem déficit hídrico foi diferente dos tratamentos T1, T6 e T10.

O diâmetro do caule na avaliação pós 2 da formulação 1 foi maior na dose de $0,25 \text{ kg ha}^{-1}$, enquanto na formulação 2 não apresentou diferença entre as doses, e na formulação 3 o menor valor foi com a dose de $1,0 \text{ kg ha}^{-1}$ (Figura 7B). Não foram observadas diferenças entre as três formulações para as duas maiores doses, enquanto na menor dose a formulação 2 houve redução do diâmetro do caule. Os controles com e sem déficit hídrico não diferiram entre si. Todos os tratamentos foram semelhantes ao controle sem déficit hídrico, exceto a formulação 1 na menor dose que registrou valor maior. A maior dose da formulação 1, as menores doses da formulação 2 e a menor dose da formulação 3 foram semelhantes ao controle com déficit hídrico.

Na avaliação pós 2, as menores massas secas da parte aérea foram registrados na maior dose das formulações 1 e 3, enquanto na formulação 2 o

menor valor ocorreu na dose de $0,5 \text{ kg ha}^{-1}$ (Figura 7D). Na dosagem de $1,0 \text{ kg ha}^{-1}$ a massa seca foi crescente entre as formulações 1, 3 e 2; para a dose $0,5 \text{ kg ha}^{-1}$ o menor ocorreu formulação 2 e a dose de $0,25 \text{ kg ha}^{-1}$ apresentou foi maior na formulação 3. Entre os controles o sem déficit hídrico apresentou acréscimos de 71,77% em relação ao controle com déficit hídrico. As maiores doses da formulação 1, a maior e a menor dose da formulação 2 e as menores doses da formulação 3 foram semelhantes ao controle sem déficit hídrico. A maior dose das formulações 1 e 3, e a dose intermediária da formulação 2 não diferiram do controle com déficit hídrico.

Figura 7 - Diâmetro do caule (A), massa seca da parte aérea (C) em soja nas avaliações pós 1 e pós 2.



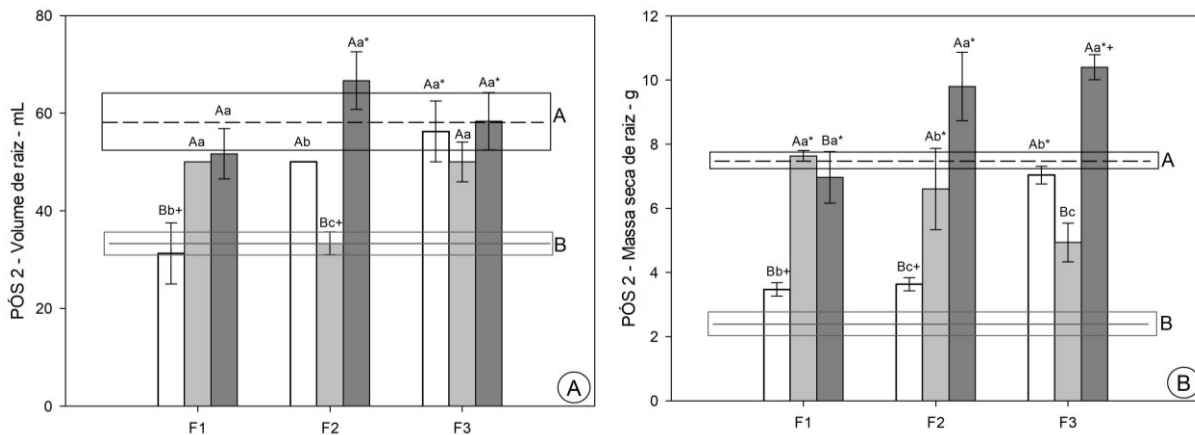
Diâmetro do caule (A), massa seca da parte aérea (C) em soja sob déficit hídrico e sem a aplicação do bioestimulante na avaliação pós 1: barras e linha contínuas representam as plantas sob déficit hídrico (T1 ao T10), a linha tracejada representa o controle sem déficit hídrico. Diâmetro do caule (B) e massa seca da parte aérea (D) em soja reidratada após a submissão ao déficit hídrico e após a aplicação do bioestimulante, na avaliação pós 2. Os tratamentos F1, F2 e F3 representam as três formulações de bioestimulante FH Attivus® aplicadas nas doses de $1,0 \text{ kg ha}^{-1}$ (barra branca), $0,5 \text{ kg ha}^{-1}$ (barra cinza claro) e $0,25 \text{ kg ha}^{-1}$ (barra cinza escuro), os fatores adicionais estão representados pela linha horizontal contínua (controle com déficit hídrico) e pela linha horizontal tracejada (controle sem déficit hídrico). Letras maiúsculas nas barras comparam as mesmas doses em diferentes formulações, letras minúsculas nas barras comparam as mesmas formulações em diferentes doses pelo teste de Scott e Knott a 5% de probabilidade. O contorno das linhas dos controles (fatores

adicionais) representa o erro padrão da média, e as letras maiúsculas comparam os controles pelo teste de Scott e Knott a 5% de probabilidade. Os asteriscos e a cruz em cada barra indicam diferenças com os tratamentos representados pela linha contínua e pela linha tracejada, respectivamente, por meio do teste de Dunnett a 5% de probabilidade. Barras representam o erro padrão da média (n=4).

Os parâmetros relacionados às análises de raízes foram feitos apenas na avaliação pós 2 (Figura 8A e 8B). Para a formulação 1 os maiores volumes de raízes ocorreram nas duas menores doses, enquanto para a formulação 2 a menor dose promoveu os maiores valores, e não ocorreram diferenças entre as doses para a formulação 3. Sob as doses de 1,0 kg ha⁻¹ e de 0,5 kg ha⁻¹ foram observados os menores valores nas formulações 1 e 2, respectivamente, e não houve diferenças da dose de 0,25 kg ha⁻¹ entre as formulações. Os controles foram diferentes entre si, com acréscimos de 75% no controle sem déficit hídrico. As duas menores doses da formulação 1, a maior e a menor dose da formulação 2 e todas as doses na formulação 3 foram semelhantes ao controle sem déficit hídrico. O controle com déficit hídrico foi semelhante a todas as doses na formulação 1, as duas maiores doses da formulação 2 e a dose de 0,5 kg ha⁻¹ da formulação 3.

A massa seca de raiz nas formulações 1 e 2 foi menor na maior dose, e para a formulação 3 a dose de 0,25 kg ha⁻¹ apresentaram-se maiores (Figura 8B). A dose de 1,0 kg ha⁻¹ foi nas formulações 1 e 2, enquanto as doses de 0,5 kg ha⁻¹ e 0,25 kg ha⁻¹ reduziram nas formulações 3 e 1, respectivamente. Os controles diferiram entre si, sendo o controle sem déficit hídrico 212,5% maior. As menores doses das formulações 1 e 2, assim como as maiores doses da formulação 3 não diferiram do controle sem déficit hídrico. A dose de 1,0 kg ha⁻¹ das formulações 1 e 2 e a dose de 0,5 kg ha⁻¹ da formulação 3 foram semelhantes ao controle com déficit hídrico.

Figura 8 - Volume de raiz (A) e massa seca de raiz (B) em soja reidratada após a submissão ao déficit hídrico e após a aplicação do bioestimulante, na avaliação pós 2.



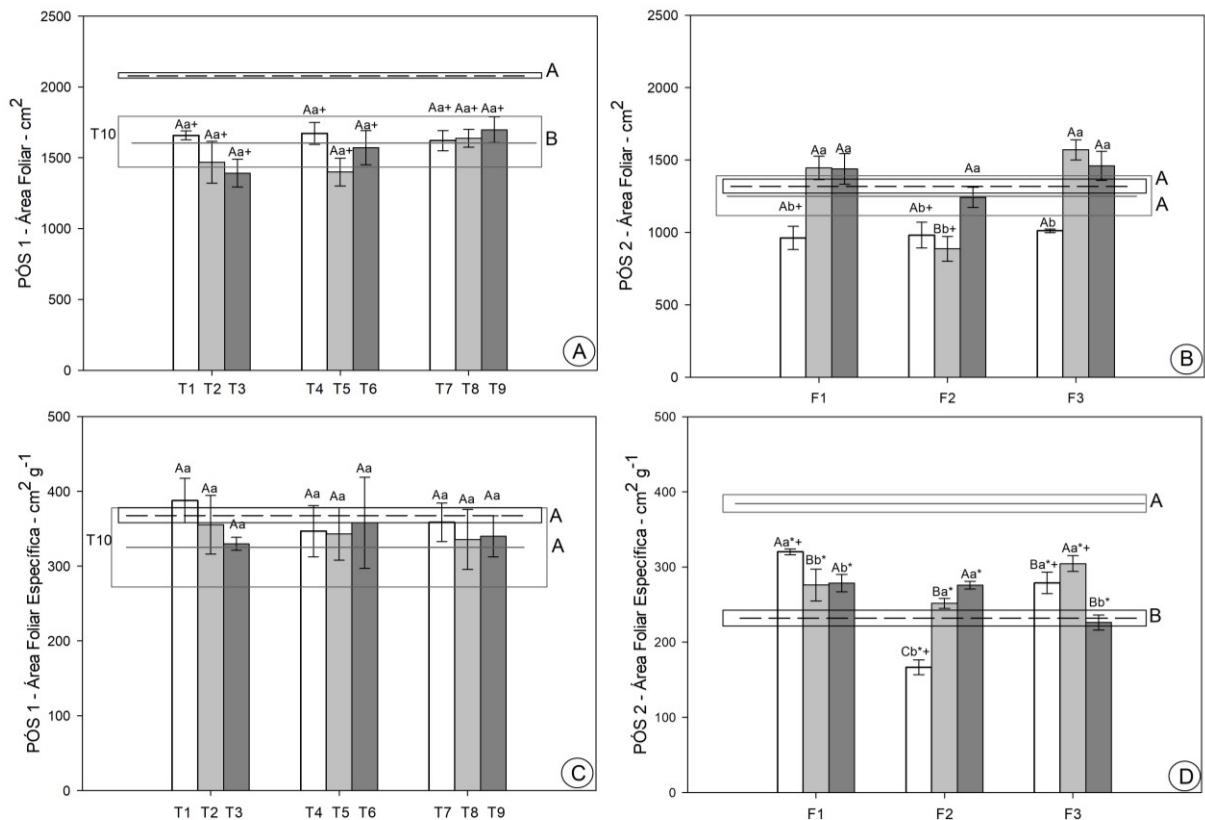
Os tratamentos F1, F2 e F3 representam as três formulações de bioestimulante FH Attivus® aplicadas nas doses de 1,0 kg ha⁻¹ (barra branca), 0,5 kg ha⁻¹ (barra cinza claro) e 0,25 kg ha⁻¹ (barra cinza escuro), os fatores adicionais estão representados pela linha horizontal contínua (controle com déficit hídrico) e pela linha horizontal tracejada (controle sem déficit hídrico). Letras maiúsculas nas barras comparam as mesmas doses em diferentes formulações, letras minúsculas nas barras comparam as mesmas formulações em diferentes doses pelo teste de Scott e Knott a 5% de probabilidade. O contorno das linhas dos controles (fatores adicionais) representa o erro padrão da média, e as letras maiúsculas comparam os controles pelo teste de Scott e Knott a 5% de probabilidade. Os asteriscos e a cruz em cada barra indicam diferenças com os tratamentos representados pela linha contínua e pela linha tracejada, respectivamente, por meio do teste de Dunnett a 5% de probabilidade. Barras representam o erro padrão da média (n=4).

Na avaliação pós 1, a área foliar e a área foliar específica não apresentaram diferenças entre os tratamentos que foram submetidos ao déficit hídrico (T1 ao T10) (Figura 9A e 9C). A área foliar de todos os tratamentos com déficit hídrico foi de 22,82% a 49,84% menor que o controle sem déficit hídrico. Na área foliar específica não ocorreu diferença entre os tratamentos com déficit hídrico e o controle sem déficit hídrico.

Em pós 2, a dose de 1,0 kg ha⁻¹ das formulações 1 e 3 registrou as menores área foliar, e as duas maiores doses da formulação 2 proporcionaram as menores (Figura 9B). Não foram observadas diferenças entre as formulações para as doses de 1,0 kg ha⁻¹ e 0,25 kg ha⁻¹, já com a dose de 0,5 kg ha⁻¹ da formulação 2 ocorreu redução da área foliar. Não houve diferença entre os controles. Todas as doses da formulação 3, a menor dose da formulação 2 e as duas menores da formulação 1 apresentaram-se iguais ao controle sem déficit hídrico. Todos os tratamentos com a aplicação do bioestimulante foram semelhantes ao controle com déficit hídrico.

As menores áreas foliares específicas em pós 2 foram verificados nas doses de 0,5 kg ha⁻¹ e 0,25 kg ha⁻¹ da formulação 1, na maior dose da formulação 2 e na menor dose da formulação 3 (Figura 9D). Os menores valores da dose de 1,0 kg ha⁻¹ ocorreram na formulação 2, os da dose 0,5 kg ha⁻¹ ocorreram nas formulações 1 e 2, e os da dose de 0,25 kg ha⁻¹ na formulação 3. Os controles apresentaram diferenças, em que a área foliar específica no controle com déficit hídrico foi 65,72% maior que o sem déficit hídrico. O controle sem déficit hídrico foi semelhante à menor dose de todas as formulações e à dose de 0,5 kg ha⁻¹ das formulações 1 e 2. Todos os tratamentos com aplicação de bioestimulante apresentaram reduções de 20,21% a 130,95% em relação ao controle com déficit hídrico.

Figura 9 - Área foliar (A), área foliar específica (C) em soja nas avaliações pós 1 e pós 2.



Área foliar (A), área foliar específica (C) em soja sob déficit hídrico e sem a aplicação do bioestimulante na avaliação pós 1: barras e linha contínuas representam as plantas sob déficit hídrico (T1 ao T10), a linha tracejada representa o controle sem déficit hídrico. Área foliar (A), área foliar específica (C) em soja reidratada após a submissão ao déficit hídrico e após a aplicação do bioestimulante, na avaliação pós 2. Os tratamentos F1, F2 e F3 representam as três formulações de bioestimulante FH Attivus® aplicadas nas doses de 1,0 kg ha⁻¹ (barra branca), 0,5 kg ha⁻¹ (barra cinza claro) e 0,25 kg ha⁻¹ (barra cinza escuro), os fatores adicionais estão representados pela linha horizontal contínua (controle com déficit hídrico) e pela linha horizontal tracejada (controle sem déficit hídrico). Letras maiúsculas nas barras comparam as mesmas doses em diferentes formulações, letras minúsculas nas barras comparam as mesmas formulações em diferentes doses pelo teste de Scott e

Knott a 5% de probabilidade. O contorno das linhas dos controles (fatores adicionais) representa o erro padrão da média, e as letras maiúsculas comparam os controles pelo teste de Scott e Knott a 5% de probabilidade. Os asteriscos e a cruz em cada barra indicam diferenças com os tratamentos representados pela linha contínua e pela linha tracejada, respectivamente, por meio do teste de Dunnett a 5% de probabilidade. Barras representam o erro padrão da média ($n=4$).

4.4 Pigmentos cloroplastídicos

Em relação aos pigmentos fotossintéticos de teores de clorofila *a* (Figura 10A) e carotenoides (Figura 10G) na avaliação pós 1, não houve diferenças entre os tratamentos submetidos ao déficit hídrico (T1 ao T10) e com o controle sem déficit hídrico. Os teores de clorofila *b* (Figura 10C) e razão clorofila *a/b* (Figura 10E) foram menores nos tratamentos com déficit hídrico (T1 ao T10). Os teores de clorofila *b* foram 38,68% a 95,95% maiores no controle sem déficit hídrico do que nos tratamentos com déficit hídrico, enquanto os teores de carotenoides foram menores.

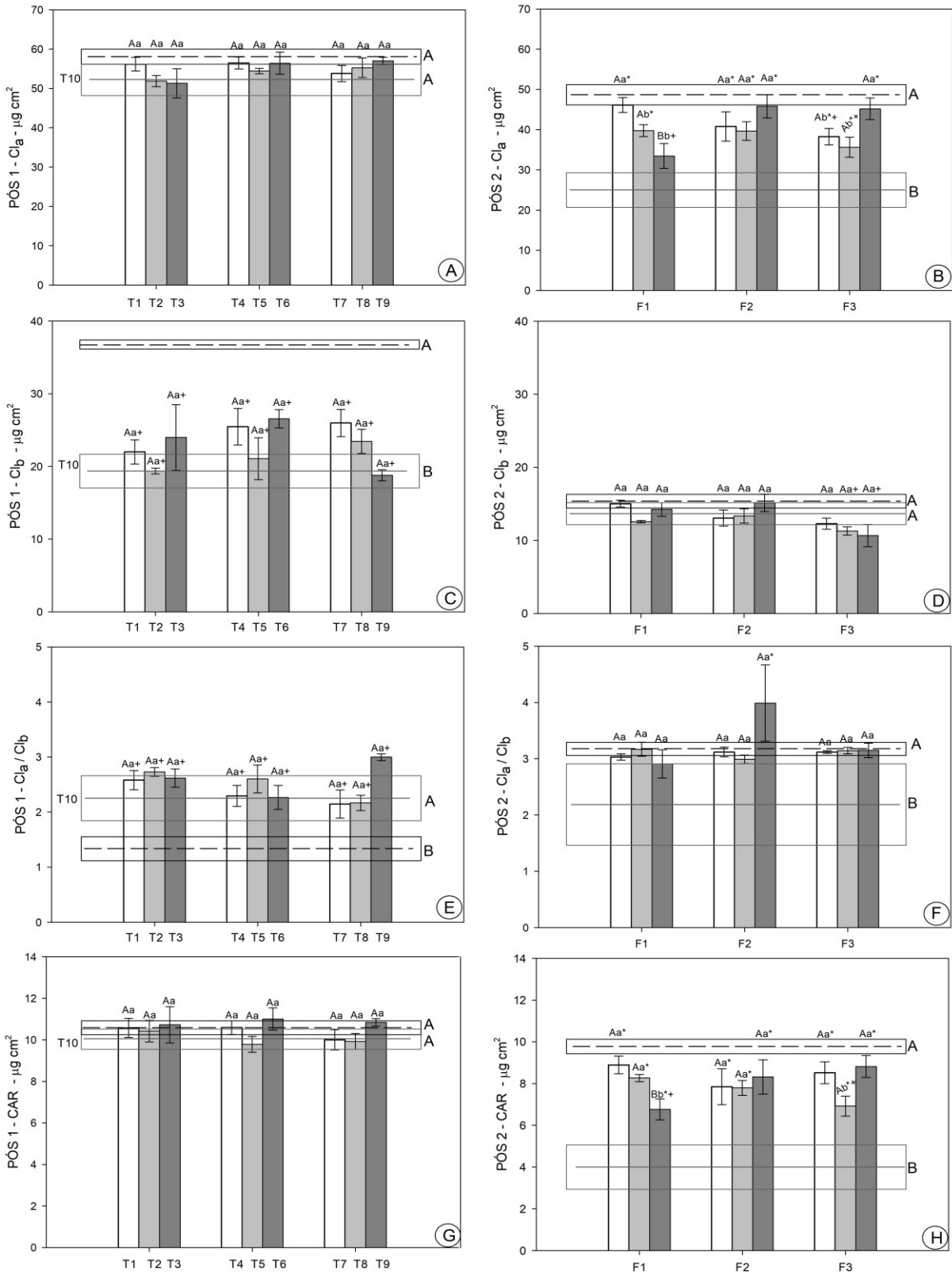
Os teores de clorofila *a* na avaliação pós 2 não diferiram entre as doses para a formulação 2, e ocorreu acréscimos nas doses de 1,0 kg ha⁻¹ e 0,25 kg ha⁻¹ das formulações 1 e 3, respectivamente (Figura 10B). A dose de 0,25 kg ha⁻¹ da formulação 1 reduziu a clorofila *a*, enquanto as doses de 1,0 kg ha⁻¹ e 0,5 kg ha⁻¹ foram iguais entre as formulações. O controle sem déficit hídrico foi 94,95% maior, quando comparado com o controle com déficit hídrico. Todas as doses da formulação 2, as duas maiores doses da formulação 1 e a menor dose da formulação 3 mostraram respostas semelhantes ao controle sem déficit hídrico. Apenas a menor dose da formulação 1 não diferiu do controle com déficit hídrico.

Os teores de clorofila *b* e a razão clorofila *a/b* (Figura 10D e 10F) não diferiram entre as formulações e doses na avaliação pós 2. Nos teores de clorofila *b* não ocorreram diferenças entre os controles, já para razão clorofila *a/b* o controle sem déficit hídrico foi maior. Houve diferença nos teores de clorofila *b* entre controle sem déficit hídrico e as duas menores doses da formulação 3. Para a razão clorofila *a/b* todos os tratamentos foram semelhantes a ambos os controles, exceto a menor dose da formulação 2 que apresentou-se maior que o controle com déficit hídrico.

Os teores de carotenoides reduziram sob as doses 0,25 kg ha⁻¹ e 0,5 kg ha⁻¹ das formulações 1 e 3, respectivamente, e não ocorreram diferenças entre as doses da formulação 2 (Figura 10H). Não houve diferenças nos teores de carotenoides entre as duas maiores doses de todas as formulações, e a dose de 0,25 kg ha⁻¹ da

formulação 1 registrou decréscimos. Entre os controles ocorreram diferenças, sendo o teor de carotenoides no controle sem déficit hídrico 144,86% maior que o com déficit hídrico. Todos os tratamentos com aplicação de bioestimulante proporcionaram teores de carotenoides de 69,42% a 122,8% maiores que o controle com déficit hídrico, e apenas a menor dose da formulação 1 e a dose intermediária da formulação 3 os valores foram significativamente menores que o controle sem déficit hídrico.

Figura 10 - Teores de clorofila a (Cl_a) (A), teores de clorofila b (Cl_b) (C), razão clorofila a/b (Cl_a/Cl_b) (E), carotenoides (CAR) (G) em soja nas avaliações em pós 1 e pós 2.



Teores de clorofila *a* (Cl_a) (A), teores de clorofila *b* (Cl_b) (C), razão clorofila *a/b* (Cl_a/Cl_b) (E), carotenoides (CAR) (G) em soja sob déficit hídrico e sem a aplicação do bioestimulante na avaliação pós 1: barras e linha contínuas representam as plantas sob déficit hídrico (T1 ao T10), a linha tracejada representa o controle sem déficit hídrico. Teores de clorofila *a* (B), teores de clorofila *b* (D), razão clorofila *a/b* (F) e carotenoides (H) em soja reidratada após a submissão ao déficit hídrico e após a aplicação do bioestimulante, na avaliação pós 2. Os tratamentos F1, F2 e F3 representam as três formulações de bioestimulante FH Attivus® aplicadas nas doses de 1,0 kg ha⁻¹ (barra branca), 0,5 kg ha⁻¹ (barra cinza claro) e 0,25 kg ha⁻¹ (barra cinza escuro), os fatores adicionais estão representados pela linha horizontal contínua (controle com déficit hídrico) e pela linha horizontal tracejada (controle sem déficit hídrico). Letras maiúsculas nas barras comparam as mesmas doses em diferentes formulações, letras minúsculas nas barras comparam as mesmas formulações em diferentes doses pelo teste de Scott e Knott a 5% de probabilidade. O contorno das linhas dos controles (fatores adicionais) representa o erro padrão da média, e as letras maiúsculas comparam os controles pelo teste de Scott e Knott a 5% de probabilidade. Os asteriscos e a cruz em cada barra indicam diferenças com os tratamentos representados pela linha contínua e pela linha tracejada, respectivamente, por meio do teste de Dunnett a 5% de probabilidade. Barras representam o erro padrão da média (n=4).

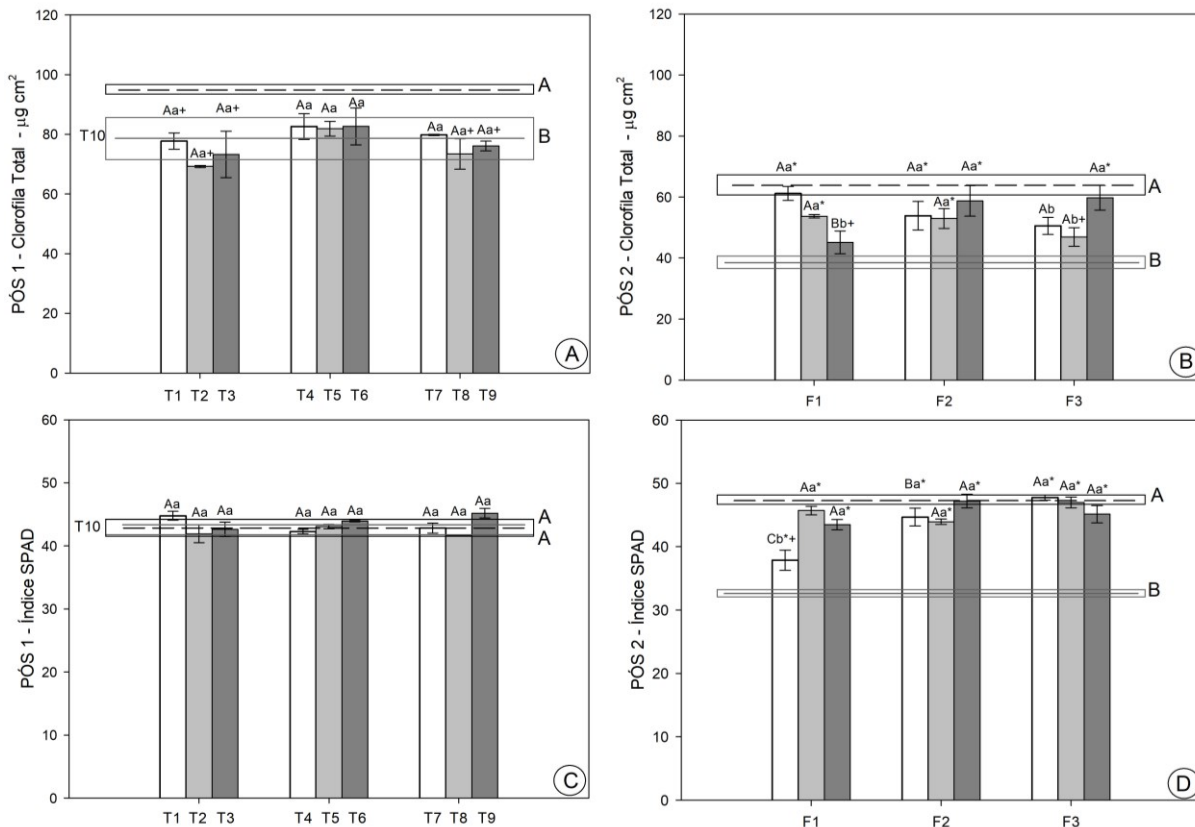
Os tratamentos foram submetidos ao déficit hídrico em pós 1 (T1 a T10) não apresentaram diferenças para clorofila total e índice SPAD (Figura 11A e 11C). Quanto aos valores de índice SPAD, todos os tratamentos submetidos ao déficit hídrico foram semelhantes ao controle sem déficit hídrico, já os teores de clorofila total nos tratamentos T4, T5, T6 e T7 foram iguais ao controle sem déficit hídrico.

Na avaliação em pós 2, os teores de clorofila total não diferiram entre as doses da formulação 2, enquanto na formulação 1 foi menor na dose de 0,25 kg ha⁻¹, e na formulação 3 foram menores nas duas maiores doses (Figura 11B). Não houve diferenças entre as duas maiores doses das três formulações, já a menor dose da formulação 1 reduziu a clorofila total. O controle com déficit hídrico foi 65,77% menor que o controle sem déficit. Todas as doses da formulação 2, as duas maiores doses da formulação 1 e a menor e maior dose da formulação 3 foram semelhantes ao controle sem déficit hídrico. A menor dose da formulação 1 e as duas maiores doses da formulação 3 apresentaram valores de clorofila total semelhantes ao controle com déficit hídrico.

O índice SPAD na avaliação pós 2 não diferiu entre as doses das formulações 2 e 3, e a maior dose da formulação 1 registrou reduções (Figura 11D). Não foram observadas diferenças entre as doses de 0,5 kg ha⁻¹ e 0,25 kg ha⁻¹ das três formulações, e maiores valores sob a dose 1,0 kg ha⁻¹ da formulação 3 foram observados. O controle com déficit hídrico apresentou-se 45,31% menor que o controle sem déficit hídrico. Todos os valores de índice SPAD foram maiores sob os

tratamentos com aplicação de bioestimulante do que o controle com déficit hídrico, e apenas o tratamento referente à maior dose da formulação 1 apresentou valor menor do que o controle sem déficit hídrico.

Figura 11 - Clorofila total (A), índice SPAD (C) em soja nas avaliações em pós 1 e pós 2.



Clorofila total (A), índice SPAD (C) em soja sob déficit hídrico e sem a aplicação do bioestimulante, na avaliação pós 1: barras e linha contínua representam as plantas sob déficit hídrico (T1 ao T10), a linha tracejada representa o controle sem déficit hídrico. Clorofila total (B) e índice SPAD (D) em soja reidratada após a submissão ao déficit hídrico e após a aplicação do bioestimulante, na avaliação pós 2. Os tratamentos F1, F2 e F3 representam as três formulações de bioestimulante FH Attivus® aplicadas nas doses de $1,0 \text{ kg ha}^{-1}$ (barra branca), $0,5 \text{ kg ha}^{-1}$ (barra cinza claro) e $0,25 \text{ kg ha}^{-1}$ (barra cinza escuro), os fatores adicionais estão representados pela linha horizontal contínua (controle com déficit hídrico) e pela linha horizontal tracejada (controle sem déficit hídrico). Letras maiúsculas nas barras comparam as mesmas doses em diferentes formulações, letras minúsculas nas barras comparam as mesmas formulações em diferentes doses pelo teste de Scott e Knott a 5% de probabilidade. O contorno das linhas dos controles (fatores adicionais) representa o erro padrão da média, e as letras maiúsculas comparam os controles pelo teste de Scott e Knott a 5% de probabilidade. Os asteriscos e a cruz em cada barra indicam diferenças com os tratamentos representados pela linha contínua e pela linha tracejada, respectivamente, por meio do teste de Dunnett a 5% de probabilidade. Barras representam o erro padrão da média ($n=4$).

4.5 Trocas gasosas

Na avaliação em pós 1 não foram verificadas diferenças entre assimilação de CO₂ (*A*), transpiração (*E*), condutância estomática (*gs*) e concentração interna de carbono (*C_i*) entre os tratamentos com déficit hídrico (T1 a T10) (Figuras 12A, 12C, 12E e 12F). Todos os tratamentos submetidos ao déficit hídrico apresentaram diferenças quando comparados ao controle sem déficit hídrico, sendo que os parâmetros de *A*, *E* e *gs* apresentaram valores menores e o *C_i* valores maiores que o controle sem déficit hídrico.

Em pós 2, não houve diferenças entre *A* com a aplicação das doses da formulação 1, e a menor dose das formulações 2 e 3 aumentaram (Figura 12B). A menor dose das três formulações do bioestimulante proporcionou valores semelhantes de *A*, já a dose de 1,0 kg ha⁻¹ da formulação 2 obteve menores valores. O controle sem déficit hídrico apresentou-se 55,17% maior que o controle com déficit hídrico. Todas as doses das formulações 1 e 3 e a menor dose da formulação 2 promoveram em valores de *A* semelhantes ao controle sem déficit hídrico. Apenas a *A* observada na maior dose da formulação 2 não diferiu do controle com déficit hídrico.

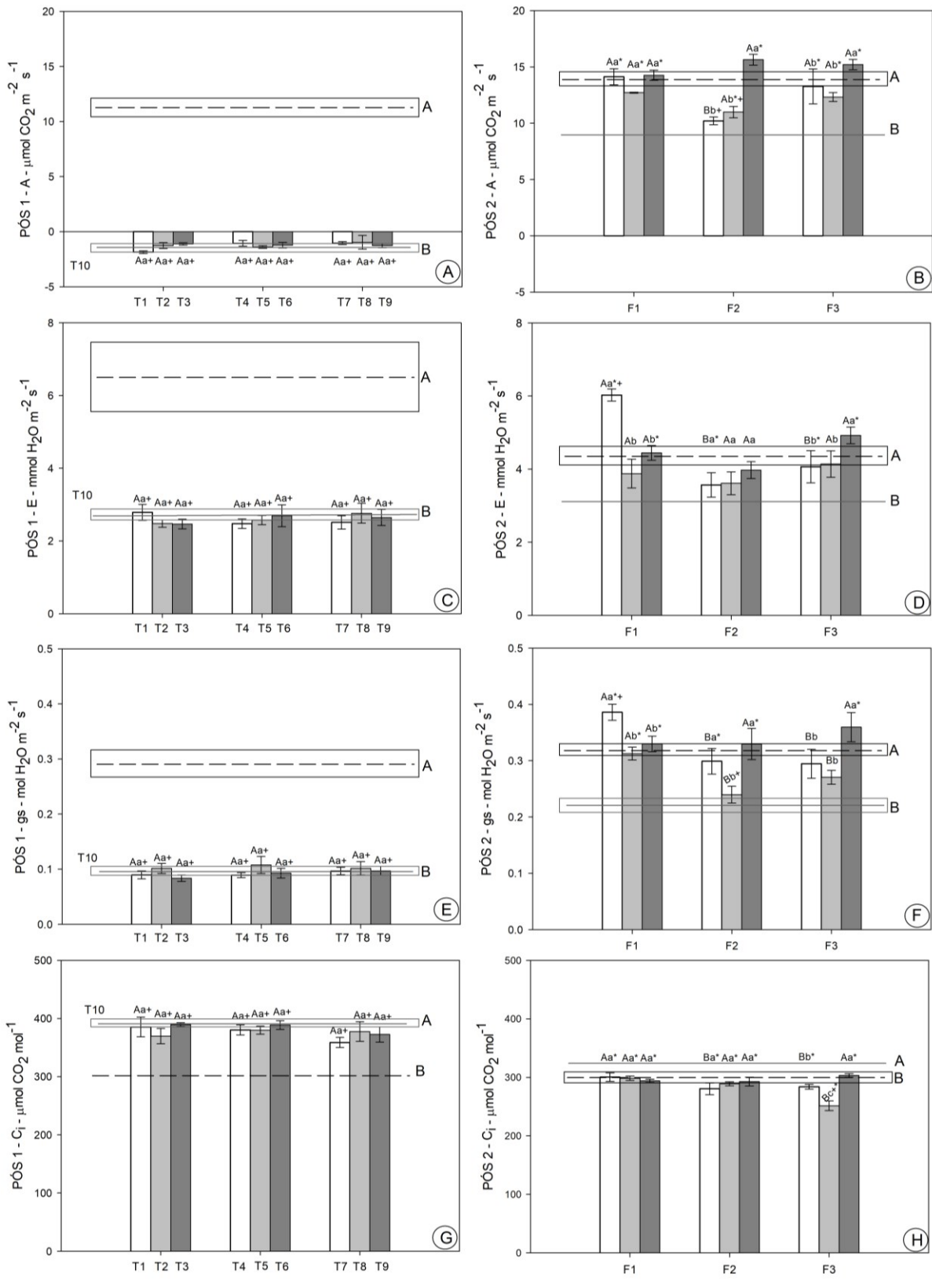
A *E* em pós 2 foi maiores sob as doses 1,0 kg ha⁻¹ e 0,25 kg ha⁻¹ das formulações 1 e 3, respectivamente, e na formulação 2 não foram verificadas diferenças entre as doses (Figura 12D). Sob a menor dose não foram verificadas diferenças entre as formulações, já a aplicação da maior dose da formulação 1 promoveu a maior *E*. O controle sem déficit hídrico apresentou-se 39,61% maior que o controle com déficit hídrico. Dos tratamentos com aplicação de bioestimulante, apenas a maior dose da formulação 1 resultou em *E* superior que o controle sem déficit hídrico. A dose 0,5 kg ha⁻¹ de todas as formulações e a menor dose da formulação 2 resultaram em valores iguais ao controle com déficit hídrico.

Em pós 2 na formulação 1 a maior *gs* foi observado com na dose 1,0 kg ha⁻¹, na formulação 2 foram nas doses de 1,0 kg ha⁻¹ e 0,25 kg ha⁻¹ e na menor dose da formulação 3 (Figura 12F). As dose de 1,0 kg ha⁻¹ e 0,5 kg ha⁻¹ foram maiores na formulação 1, e na dose 0,25 kg ha⁻¹ de todas as formulações não foram encontradas diferenças entre os valores de *gs*. No controle sem déficit hídrico a *gs*

foi 45% maior que no controle com déficit hídrico. A dose 1,0 kg ha⁻¹ da formulação 1 resultou em maior *gs* que o controle sem déficit hídrico, enquanto a dose 0,5 kg ha⁻¹ da formulação 2 em menor. A dose 0,5 kg ha⁻¹ da formulação 2 e as duas maiores doses da formulação 3 conferiram *gs* semelhante ao controle com déficit hídrico.

A *C_i* não diferiu entre as doses das formulações 1 e 2, já a menor dose da formulação 3 resultou no maior valor (Figura 12H). A dose 1,0 kg ha⁻¹ da formulação 1 resultou em maior *C_i*, enquanto a dose 0,5 kg ha⁻¹ obteve o menor *C_i* na formulação 3 e a dose 0,25 kg ha⁻¹ de todas as formulações foram semelhantes. O controle com déficit hídrico foi 8% superior ao do controle sem déficit hídrico. Todos os tratamentos com aplicação de bioestimulante apresentaram-se de 7,34% a 29,45% superiores do controle com déficit hídrico, e apenas o tratamento com a dose 0,5 kg ha⁻¹ da formulação 3 não diferiu do controle sem déficit hídrico.

Figura 12 - Taxa de assimilação de CO₂ (A) (A), taxa transpiratória (E) (C), condutância estomática (gs) (E), concentração interna de carbono (C_i) (G) em soja nas avaliações em pós 1 e pós 2.



Taxa de assimilação de CO₂ (A) (A), taxa transpiratória (E) (C), condutância estomática (gs) (E), concentração interna de carbono (C_i) (G) em soja sob déficit hídrico e sem a aplicação do bioestimulante, na avaliação pós 1: barras e linha contínua representam as plantas sob déficit hídrico (T1 ao T10), a linha tracejada representa o controle sem déficit hídrico. Taxa de assimilação de CO₂ (A) (B), taxa transpiratória (E) (D), condutância estomática (gs) (F), concentração interna de carbono (C_i) (H) em soja reidratada após a submissão ao déficit hídrico e após a aplicação do bioestimulante, na avaliação pós 2 Os tratamentos F1, F2 e F3 representam as três formulações de bioestimulante FH Attivus® aplicadas nas doses de 1,0 kg ha⁻¹ (barra branca), 0,5 kg ha⁻¹ (barra cinza claro) e 0,25 kg ha⁻¹ (barra cinza escuro), os fatores adicionais estão representados pela linha horizontal contínua (controle com déficit hídrico) e pela linha horizontal tracejada (controle sem déficit hídrico). Letras maiúsculas nas barras comparam as mesmas doses em diferentes formulações, letras minúsculas nas barras comparam as mesmas formulações em diferentes doses pelo teste de Scott e Knott a 5% de probabilidade. O contorno das linhas dos controles (fatores adicionais) representa o erro padrão da média, e as letras maiúsculas comparam os controles pelo teste de Scott e Knott a 5% de probabilidade. Os asteriscos e a cruz em cada barra indicam diferenças com os tratamentos representados pela linha contínua e pela linha tracejada, respectivamente, por meio do teste de Dunnett a 5% de probabilidade. Barras representam o erro padrão da média (n=4).

4.6 Eficiência do uso da água e de carboxilação

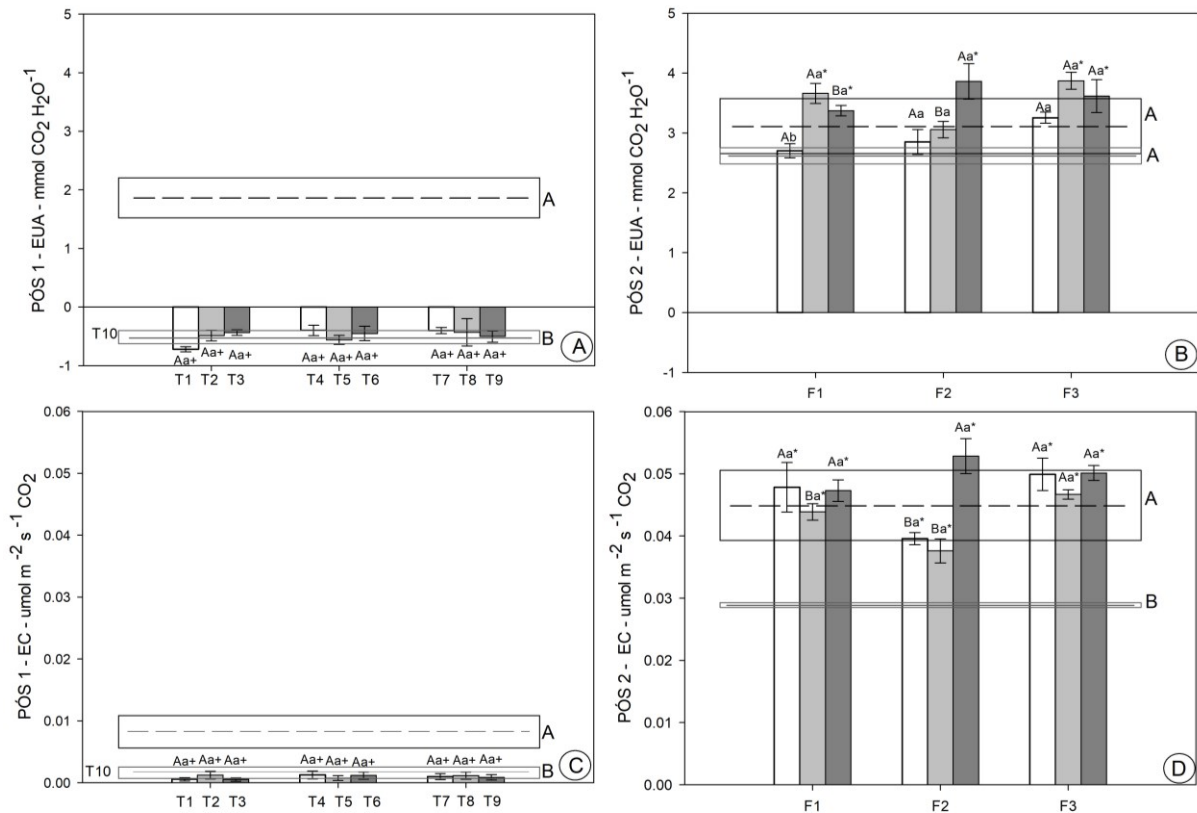
A eficiência do uso da água (EUA) e a eficiência de carboxilação (EC), em pós 1, não apresentaram diferenças entre os tratamentos que foram submetidos ao déficit hídrico (T1 a T10) (Figura 13A e 13C). Todos os tratamentos com déficit hídrico foram menores que o controle sem déficit hídrico. A EUA registrou valores negativos.

Na avaliação em pós 2 não foram verificadas diferenças na EUA sob as doses das formulações 2 e 3, já a dose 1,0 kg ha⁻¹ da formulação 1 foi a menor entre as demais (Figura 13B). A EUA não diferiu com a maior dose das três formulações, no entanto sob as doses 0,5 kg ha⁻¹ e 0,25 kg ha⁻¹ foram verificados os menores valores de EUA nas formulações 2 e 1, respectivamente. Não houve diferenças significativas entre o controle com déficit hídrico e o sem déficit hídrico. A EUA foi semelhante entre todos os tratamentos com aplicação de bioestimulante e o controle sem déficit hídrico, assim como com a maior dose de todas as formulações e a dose intermediária da formulação 2 foram iguais ao controle com déficit hídrico.

A EC não apresentou diferenças entre as doses para nenhuma das formulações na avaliação em pós 2 (Figura 13D). A dose de 1,0 kg ha⁻¹ da formulação 2 reduziu, e a dose 0,5 kg ha⁻¹ da formulação 3 resultou na maior EC, e na dose de 0,25 kg ha⁻¹ não registrou diferenças entre as doses. A EC foi maior em 57,14% no controle sem déficit hídrico do que no controle com déficit hídrico. Todos os tratamentos com aplicação de bioestimulante resultaram em EC de 32,14% a

85,71% maiores do que o controle com déficit hídrico, e apenas a menor dose da formulação 1 resultou em valores maiores que o controle sem déficit hídrico.

Figura 13 - Eficiência do uso da água (EUA) (A), eficiência de carboxilação (EC) (C) em soja nas avaliações em pós 1 e pós 2.



Eficiência do uso da água (EUA) (A), eficiência de carboxilação (EC) (C) em soja sob déficit hídrico e sem a aplicação do bioestimulante, na avaliação pós 1: barras e linha contínua representam as plantas sob déficit hídrico (T1 ao T10), a linha tracejada representa o controle sem déficit hídrico. Eficiência do uso da água (EUA) (B) e eficiência de carboxilação (EC) (D) em soja reidratada após a submissão ao déficit hídrico e após a aplicação do bioestimulante, na avaliação pós 2. Os tratamentos F1, F2 e F3 representam as três formulações de bioestimulante FH Attivus® aplicadas nas doses de 1,0 kg ha⁻¹ (barra branca), 0,5 kg ha⁻¹ (barra cinza claro) e 0,25 kg ha⁻¹ (barra cinza escuro), os fatores adicionais estão representados pela linha horizontal contínua (controle com déficit hídrico) e pela linha horizontal tracejada (controle sem déficit hídrico). Letras maiúsculas nas barras comparam as mesmas doses em diferentes formulações, letras minúsculas nas barras comparam as mesmas formulações em diferentes doses pelo teste de Scott e Knott a 5% de probabilidade. O contorno das linhas dos controles (fatores adicionais) representa o erro padrão da média, e as letras maiúsculas comparam os controles pelo teste de Scott e Knott a 5% de probabilidade. Os asteriscos e a cruz em cada barra indicam diferenças com os tratamentos representados pela linha contínua e pela linha tracejada, respectivamente, por meio do teste de Dunnett a 5% de probabilidade. Barras representam o erro padrão da média (n=4).

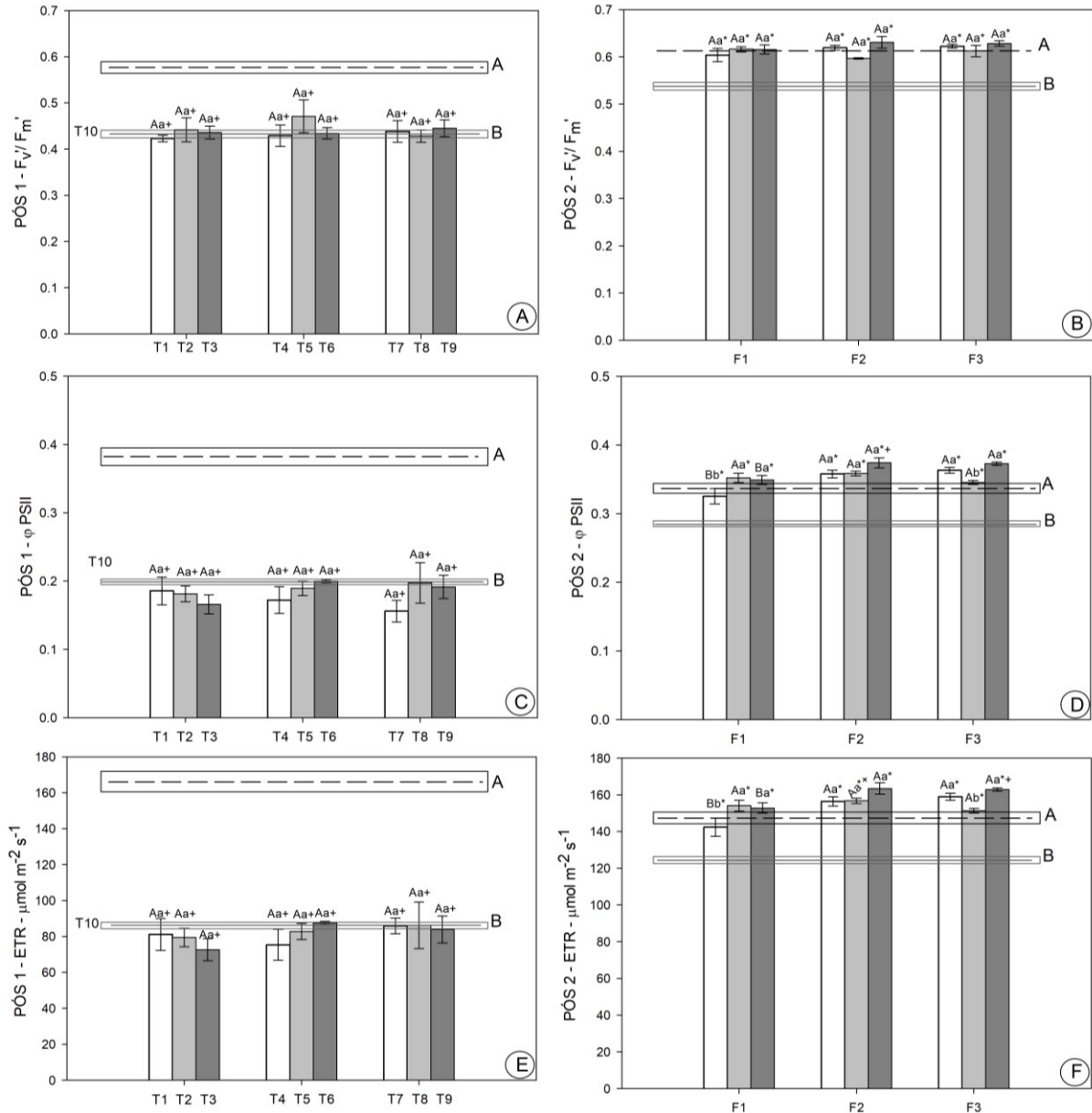
4.7 Parâmetros de fluorescência da clorofila a

Na avaliação em pós 1 os parâmetros de fluorescência da clorofila *a*, rendimento quântico do fotossistemas II no claro (Fv'/Fm'), rendimento quântico efetivo do fotossistemas II ($\phi PSII$), taxa de transporte de elétrons (ETR) (Figura 14A, 14C e 14E) não apresentaram diferenças entre os tratamentos submetidos ao déficit hídrico (T1 a T10). O controle sem déficit hídrico permaneceu maior que os demais tratamentos.

O Fv'/Fm' apresentou-se semelhantes em pós 2 para os tratamentos com aplicação de bioestimulante, sem diferenças entre doses e formulações (Figura 14B). O controle sem déficit hídrico permaneceu 15% maior que o controle com déficit hídrico. O Fv'/Fm' retomaram a valores semelhantes ao do controle sem déficit hídrico após a aplicação do bioestimulante, e todos estes tratamento foram maiores de 12,45% a 18,86% que o controle com déficit hídrico. Na variável Fv'/Fm' todos os tratamentos com aplicação de bioestimulante foram diferentes do controle sem déficit hídrico, exceto a dose 0,5 kg ha⁻¹ da formulação 3 que apresentou valores semelhantes a esse controle.

As doses 1,0 kg ha⁻¹ e 0,5 kg ha⁻¹, respectivamente, das formulações 1 e 3, promoveram reduções de $\phi PSII$ e ETR , e não ocorreram diferenças entre as doses da formulação 2 (Figura 14D e 14F). Não houve diferenças na dose de 0,5 kg ha⁻¹ das formulações, e menores valores das doses 1,0 kg ha⁻¹ e 0,25 kg ha⁻¹ foram observados na formulação 1. Houve diferenças entre os controles de ambas variáveis, sendo que o controle sem déficit hídrico apresentou valores aproximadamente 18% maiores que o com déficit hídrico. Todos os tratamentos com aplicação de bioestimulante resultaram em $\phi PSII$ e ETR maiores de 14% a 32% que o controle com déficit hídrico. Para $\phi PSII$ todas as doses das formulações 1 e 3 e as duas maiores doses da formulação 2 retomaram a valores semelhante ao controle sem déficit hídrico, e todos os tratamentos com bioestimulante resultaram em valores maiores que o controle com déficit hídrico. Os valores de ETR não diferiram do controle sem déficit hídrico sob todas as doses da formulação 1, na maior e na menor dose da formulação 2 e sob as duas maiores doses da formulação 3, e todos os tratamentos com bioestimulante foram superiores que o controle com déficit hídrico.

Figura 14 - Rendimento quântico do fotossistemas II no claro (A), rendimento quântico efetivo do fotossistemas II (C) e taxa de transporte de elétrons (E) em soja nas avaliações em pós 1 e pós 2.



Rendimento quântico do fotossistemas II no claro (A), rendimento quântico efetivo do fotossistemas II (C) e taxa de transporte de elétrons (E) em soja sob déficit hídrico e sem a aplicação do bioestimulante, na avaliação pós 1: barras e linha contínua representam as plantas sob déficit hídrico (T1 ao T10), a linha tracejada representa o controle sem déficit hídrico. Rendimento quântico do fotossistemas II no claro (B), rendimento quântico efetivo do fotossistemas II (D) e taxa de transporte de elétrons (F) em soja reidratada após a submissão ao déficit hídrico e após a aplicação do bioestimulante, na avaliação pós 2. Os tratamentos F1, F2 e F3 representam as três formulações de bioestimulante FH Attivus® aplicadas nas doses de 1,0 kg ha⁻¹ (barra branca), 0,5 kg ha⁻¹ (barra cinza claro) e 0,25 kg ha⁻¹ (barra cinza escuro), os fatores adicionais estão representados pela linha horizontal contínua (controle com déficit hídrico) e pela linha horizontal tracejada (controle sem déficit hídrico). Letras maiúsculas nas barras comparam as mesmas doses em diferentes formulações, letras

minúsculas nas barras comparam as mesmas formulações em diferentes doses pelo teste de Scott e Knott a 5% de probabilidade. O contorno das linhas dos controles (fatores adicionais) representa o erro padrão da média, e as letras maiúsculas comparam os controles pelo teste de Scott e Knott a 5% de probabilidade. Os asteriscos e a cruz em cada barra indicam diferenças com os tratamentos representados pela linha contínua e pela linha tracejada, respectivamente, por meio do teste de Dunnett a 5% de probabilidade. Barras representam o erro padrão da média ($n=4$).

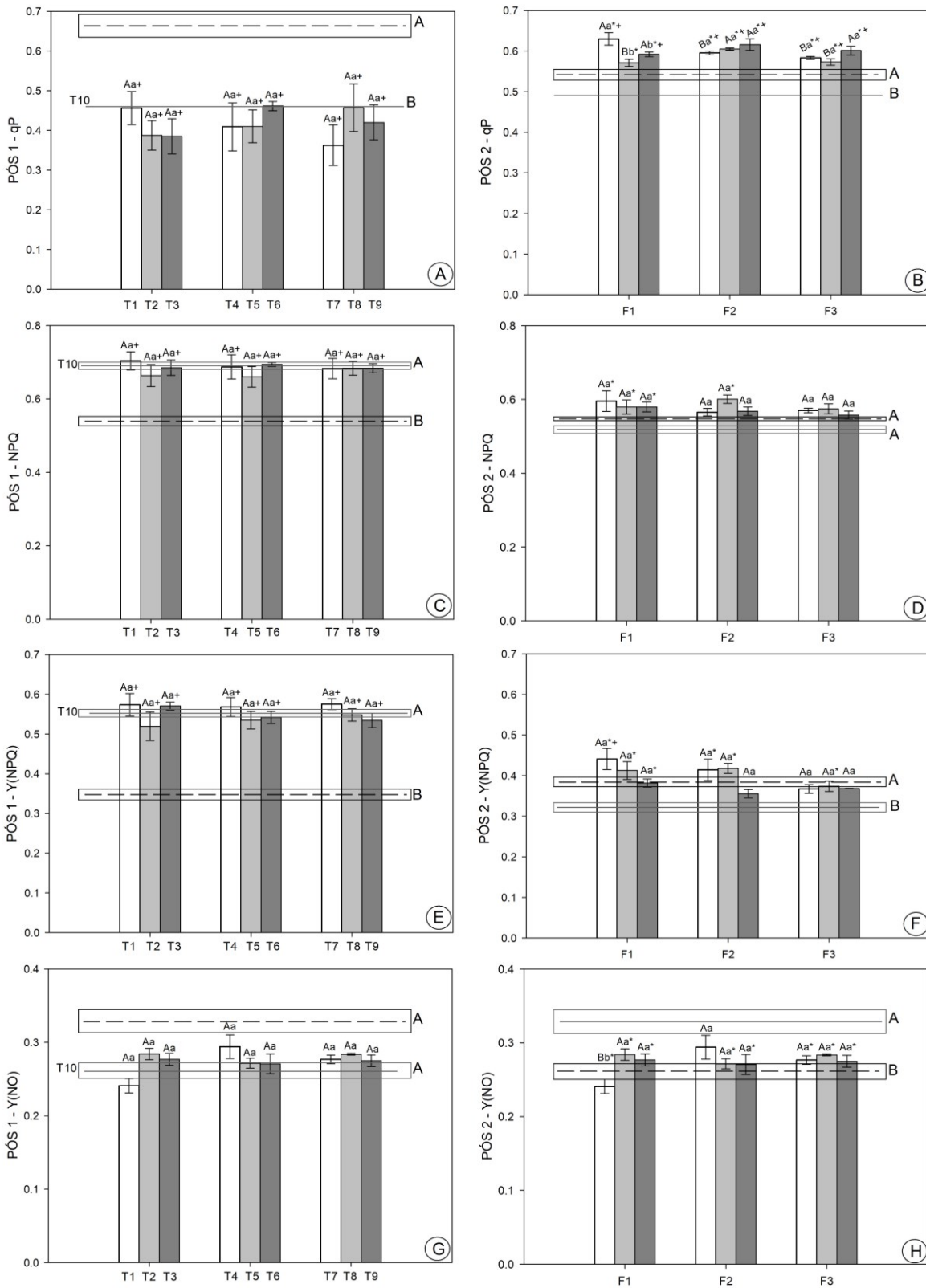
Em pós 1 não foram observadas diferenças nos parâmetros de coeficiente de extinção fotoquímica (qP), coeficiente de extinção não fotoquímico (NPQ) e rendimento quântico da dissipação não regulada ($Y(NPQ)$) nas plantas de soja sob déficit hídrico (Figura 15A, 15C e 15E). Por outro lado, estas variáveis apresentaram diferenças em relação ao controle sem déficit hídrico. O rendimento quântico da dissipação não regulada ($Y(NO)$) (Figura 15G) não diferiu entre os tratamentos com déficit hídrico, e também não apresentou diferenças destes tratamentos com o controle sem déficit hídrico.

Após a aplicação do bioestimulante não houve diferenças nos valores de qP entre as doses das formulações 2 e 3, e na formulação 1 o maior valor foi observado na maior dose (Figura 15B). O controle sem déficit hídrico foi superior em 10,20% que o controle com déficit hídrico. Todos os tratamentos com aplicação de bioestimulante resultaram em qP maiores de 16,3% a 24,5% que o controle com déficit hídrico, e apenas a dose $0,5 \text{ kg ha}^{-1}$ da formulação 1 equiparou o valor ao do controle sem déficit hídrico, enquanto as demais doses resultaram em valores superiores.

Em pós 2 o NPQ e $Y(NPQ)$ não diferiram entre as doses nas formulações, e entre as formulações para as doses (Figura 15D e 15F). Em NPQ os controles não diferiram entre si, e em $Y(NPQ)$ o controle sem déficit hídrico foi maior que o com déficit hídrico. O NPQ dos tratamentos com bioestimulante foram semelhantes ao controle sem déficit hídrico, a maior e menor dose da formulação 2 e todas as doses da formulação 3 não resultaram em diferenças com o controle com déficit hídrico. Em relação a $Y(NPQ)$, apenas a maior dose da formulação 1 apresentou valores maiores que o controle sem déficit hídrico, os demais tratamentos com bioestimulante foram semelhantes a este controle. A menor dose da formulação 2 e a maior e menor dose da formulação 3 foram semelhantes ao controle com déficit hídrico.

A formulação 1 na sua maior dose registrou decréscimo de 37,08% de Y(NO), enquanto as demais formulações não indicaram diferenças entre as doses (Figura 15H). A maior dose apresentou o menor valor na formulação 1, e as demais doses não diferiram entre as formulações. Y(NO) foi maior em 26,53% no controle com déficit hídrico do que no controle sem déficit hídrico. Todos os tratamentos com bioestimulante foram semelhantes ao controle sem déficit hídrico. Apenas a maior dose da formulação 2 registrou valores semelhantes ao controle com déficit hídrico, os demais tratamentos apresentaram valores inferiores a este controle.

Figura 15 - Coeficiente de extinção fotoquímico (A), coeficiente de extinção não fotoquímico (C), rendimento quântico da dissipação regulada (E), rendimento quântico da dissipação não regulada (G) em soja nas avaliações em pós 1 e pós 2.

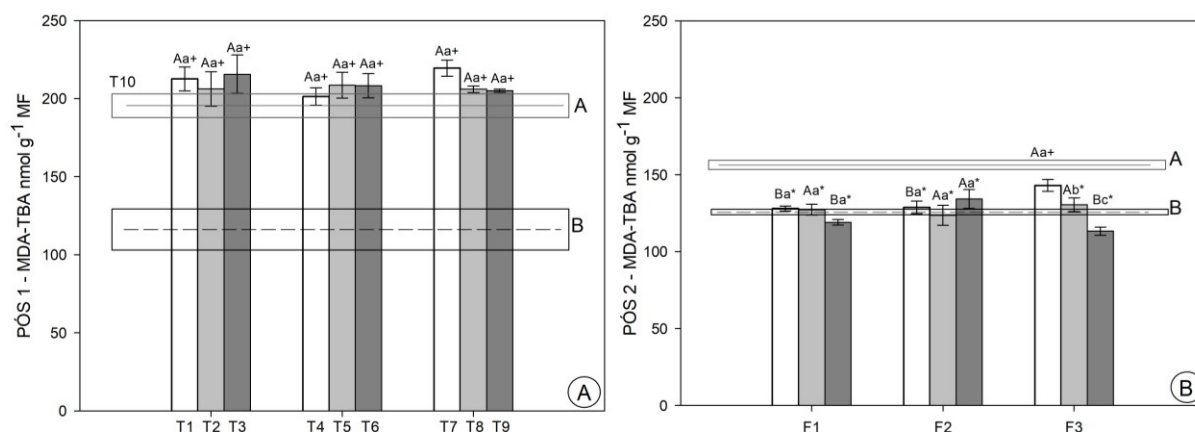


Coeficiente de extinção fotoquímico (A), coeficiente de extinção não fotoquímico (C), rendimento quântico da dissipação regulada (E), rendimento quântico da dissipação não regulada (G) em soja sob déficit hídrico e sem a aplicação do bioestimulante, na avaliação pós 1: barras e linha contínua representam as plantas sob déficit hídrico (T1 ao T10), a linha tracejada representa o controle sem déficit hídrico. Coeficiente de extinção fotoquímico (B), coeficiente de extinção não fotoquímico (D), rendimento quântico da dissipação regulada (F) e rendimento quântico da dissipação não regulada (H) em soja reidratada após a submissão ao déficit hídrico e após a aplicação do bioestimulante, na avaliação pós 2. Os tratamentos F1, F2 e F3 representam as três formulações de bioestimulante FH Attivus® aplicadas nas doses de 1,0 kg ha⁻¹ (barra branca), 0,5 kg ha⁻¹ (barra cinza claro) e 0,25 kg ha⁻¹ (barra cinza escuro), os fatores adicionais estão representados pela linha horizontal contínua (controle com déficit hídrico) e pela linha horizontal tracejada (controle sem déficit hídrico). Letras maiúsculas nas barras comparam as mesmas doses em diferentes formulações, letras minúsculas nas barras comparam as mesmas formulações em diferentes doses pelo teste de Scott e Knott a 5% de probabilidade. O contorno das linhas dos controles (fatores adicionais) representa o erro padrão da média, e as letras maiúsculas comparam os controles pelo teste de Scott e Knott a 5% de probabilidade. Os asteriscos e a cruz em cada barra indicam diferenças com os tratamentos representados pela linha contínua e pela linha tracejada, respectivamente, por meio do teste de Dunnett a 5% de probabilidade. Barras representam o erro padrão da média (n=4).

4.8 Peroxidação de lipídeos

Em pós 1, o teor de peroxidação lipídica (MDA) não apresentou diferenças entre os tratamentos submetidos ao déficit hídrico (T1 a T10), e foram de 68,25% a 88,61% maiores que o controle sem déficit hídrico (Figura 16A).

Na avaliação em pós 2 o MDA não apresentou variações sob as doses das formulações 1 e 2, mas na formulação 3 os menores valores ocorreram nas duas menores doses (Figura 16B). A dose 1,0 kg ha⁻¹ registrou os maiores valores na formulação 3, a dose de 0,5 kg ha⁻¹ não diferiu entre as formulações, e a dose 0,25 kg ha⁻¹ foi maior na formulação 2. O controle sem déficit hídrico mostrou valores 24,27% inferiores de MDA que o controle com déficit. Todos os tratamentos com aplicação de bioestimulante apresentaram valores semelhantes ao do controle sem déficit hídrico e de 9,3% a 38,05% menores ao do controle com déficit hídrico, exceto a maior dose da formulação 3 que registrou valores maiores que o controle sem déficit hídrico e semelhantes ao controle com déficit hídrico.

Figura 16 - Teor de peroxidação lipídica (A) em soja nas avaliações em pós 1 e pós 2.

Teor de peroxidação lipídica (A) em soja sob déficit hídrico e sem a aplicação do bioestimulante, na avaliação pós 1: barras e linha contínua representam as plantas sob déficit hídrico (T1 ao T10), a linha tracejada representa o controle sem déficit hídrico. Teor de peroxidação lipídica (B) em soja reidratada após a submissão ao déficit hídrico e após a aplicação do bioestimulante, na avaliação pós 2. Os tratamentos F1, F2 e F3 representam as três formulações de bioestimulante FH Attivus® aplicadas nas doses de 1,0 kg ha⁻¹ (barra branca), 0,5 kg ha⁻¹ (barra cinza claro) e 0,25 kg ha⁻¹ (barra cinza escuro), os fatores adicionais estão representados pela linha horizontal contínua (controle com déficit hídrico) e pela linha horizontal tracejada (controle sem déficit hídrico). Letras maiúsculas nas barras comparam as mesmas doses em diferentes formulações, letras minúsculas nas barras comparam as mesmas formulações em diferentes doses pelo teste de Scott e Knott a 5% de probabilidade. O contorno das linhas dos controles (fatores adicionais) representa o erro padrão da média, e as letras maiúsculas comparam os controles pelo teste de Scott e Knott a 5% de probabilidade. Os asteriscos e a cruz em cada barra indicam diferenças com os tratamentos representados pela linha contínua e pela linha tracejada, respectivamente, por meio do teste de Dunnett a 5% de probabilidade. Barras representam o erro padrão da média (n=4).

4.9 Enzimas do metabolismo antioxidativo

Na avaliação em pós 1 a atividade das enzimas antioxidativas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POX) e peroxidase do ascorbato (APX) não diferiu entre os tratamentos estressados (T1 a T10) e nestes tratamentos se registrou aumento de valores quando comparados ao controle sem déficit hídrico (Figura 17A, 17C, 17E e 17G).

A atividade da enzima SOD foi maior sob as doses de 0,5 kg ha⁻¹ e 0,25 kg ha⁻¹ das formulações 1 e 2, respectivamente, e as doses da formulação 3 não resultaram em variações (Figura 17B). Nas duas maiores doses a formulação 1 registrou aumento na atividade de SOD, já na menor dose não houve diferenças entre as formulações. A atividade desta enzima foi maior 57,47% no controle com déficit hídrico quando comparado ao controle sem déficit hídrico. Todos os tratamentos que possuíam a aplicação do bioestimulante foram significativamente

maiores que ambos os controles, com acréscimos de 21,9% a 62,04% em relação ao controle com déficit hídrico e de 91,95% a 155,17 % em relação ao sem déficit hídrico.

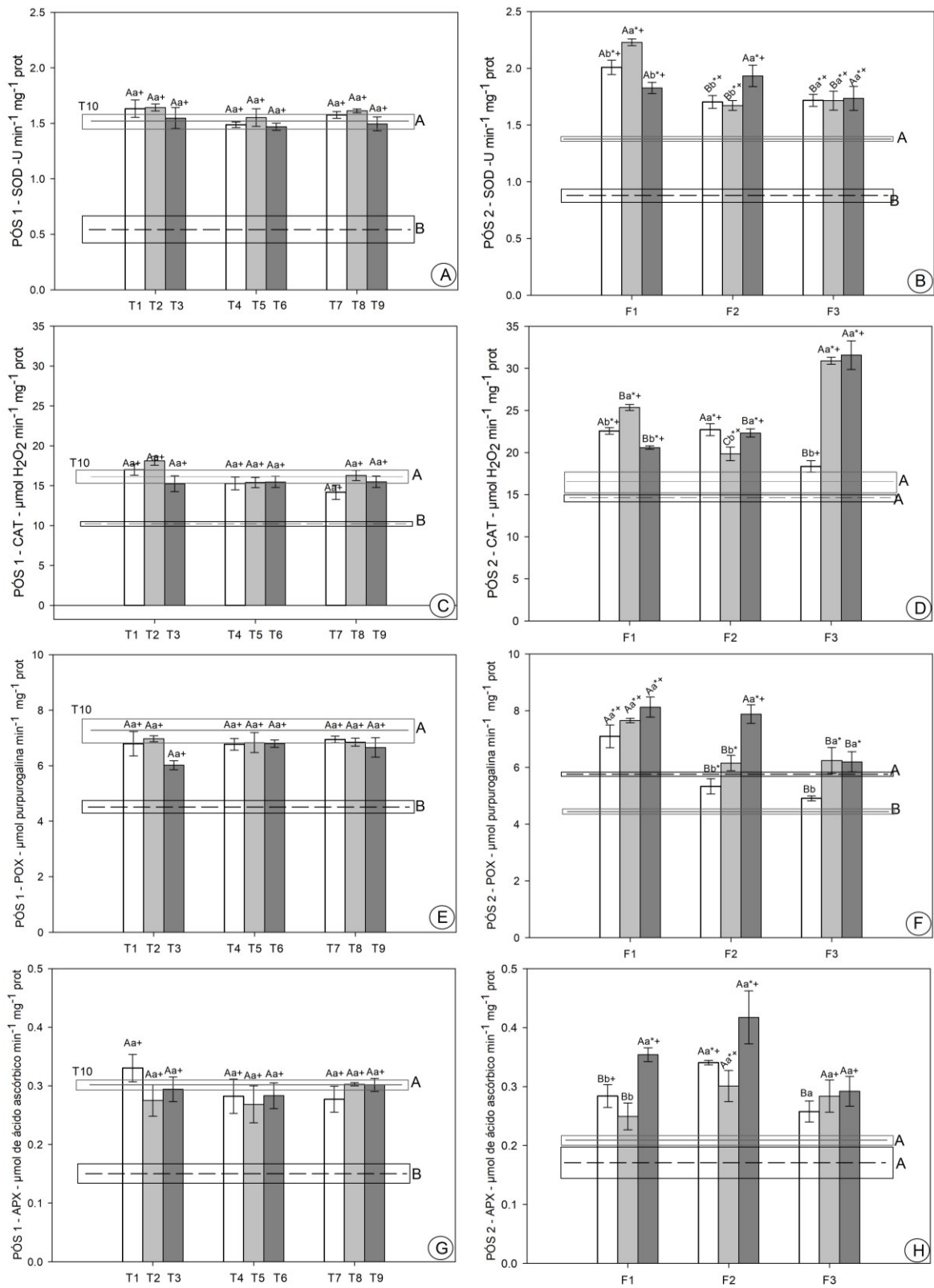
Sob a formulação 1 a maior atividade da enzima CAT foi verificada na dose de $0,5 \text{ kg ha}^{-1}$, enquanto na formulação 2 os maiores valores ocorreram nas doses de $1,0 \text{ kg ha}^{-1}$ e $0,25 \text{ kg ha}^{-1}$, e na formulação 3 os maiores valores foram observados nas duas menores doses (Figura 17D). A maior dose apresentou os maiores valores nas formulações 1 e 2, e as duas menores doses apresentaram maiores valores na formulação 3. O controle com déficit hídrico e o sem déficit hídrico não diferiram entre si. Todos os tratamentos foram significativamente maiores que ambos os controles, exceto a maior dose da formulação 3 que apesar de maior não registrou diferenças significativas. Os tratamentos com bioestimulante aumentaram com de 20,46% a 53,91% em relação ao controle com déficit hídrico e de 36,26% a 74,10 % em relação ao sem déficit hídrico

Na enzima POX não se verificaram diferenças entre as doses da formulação 1, enquanto para a formulação 2 o maior valor de atividade ocorreu na menor dose, e as duas menores doses da formulação 3 resultaram nos maiores valores (Figura 17F). Para todas as maiores doses de bioestimulante a formulação 1 registrou os maiores valores, e para a menor dose a formulação 3 apresentou os menores valores. Entre os controles, sem déficit hídrico expressou 29,5% maior atividade da enzima. Com exceção da maior dose da formulação 3, os demais tratamentos com aplicação de bioestimulante apresentaram maiores valores de atividade da enzima POX quando comparados ao controle com déficit hídrico. Todas as doses da formulação 3 e as duas maiores doses da formulação 2 tiveram valores semelhantes ao controle sem déficit hídrico.

A atividade da enzima APX foi maior na dose de $0,25 \text{ kg ha}^{-1}$ da formulação 1, e nas demais formulações não houve variações entre as doses (Figura 17H). Para a dose de $1,0 \text{ kg ha}^{-1}$ o maior valor ocorreu na formulação 2, para a dose de $0,5 \text{ kg ha}^{-1}$ os maiores valores foram verificados nas formulações 2 e 3, e para a menor dose não houve diferenças entre as formulações. Entre o controle com déficit hídrico e o sem déficit hídrico não houve diferenças significativas. A dose de $0,5 \text{ kg ha}^{-1}$ na

formulação 1 e a dose de $1,0 \text{ kg ha}^{-1}$ na formulação 3 apresentaram resultados semelhantes ao controle sem déficit hídrico. Todas as doses da formulação 3 e as duas maiores doses da formulação 1 não diferiram do controle com déficit hídrico.

Figura 17 - Atividade das enzimas superóxido dismutase (A), catalase (C), peroxidase (E) e peroxidase do ascorbato (G) em soja nas avaliações em pós 1 e pós 2.



Atividade das enzimas superóxido dismutase (A), catalase (C), peroxidase (E) e peroxidase do ascorbato (G) em soja sob déficit hídrico e sem a aplicação do bioestimulante, na avaliação pós 1: barras e linha contínua representam as plantas sob déficit hídrico (T1 ao T10), a linha tracejada representa o controle sem déficit hídrico. Superóxido dismutase(B), catalase (D), peroxidase (F) e peroxidase do ascorbato (H) em soja reidratada após a submissão ao déficit hídrico e após a aplicação do bioestimulante, na avaliação pós 2 Os tratamentos F1, F2 e F3 representam as três formulações de bioestimulante FH Attivus® aplicadas nas doses de 1,0 kg ha⁻¹ (barra branca), 0,5 kg ha⁻¹ (barra cinza claro) e 0,25 kg ha⁻¹ (barra cinza escuro), os fatores adicionais estão representados pela linha horizontal contínua (controle com déficit hídrico) e pela linha horizontal tracejada (controle sem déficit hídrico). Letras maiúsculas nas barras comparam as mesmas doses em diferentes formulações, letras minúsculas nas barras comparam as mesmas formulações em diferentes doses pelo teste de Scott e Knott a 5% de probabilidade. O contorno das linhas dos controles (fatores adicionais) representa o erro padrão da média, e as letras maiúsculas comparam os controles pelo teste de Scott e Knott a 5% de probabilidade. Os asteriscos e a cruz em cada barra indicam diferenças com os tratamentos representados pela linha contínua e pela linha tracejada, respectivamente, por meio do teste de Dunnett a 5% de probabilidade. Barras representam o erro padrão da média (n=4).

4.10 Concentração de prolina e aminoácidos

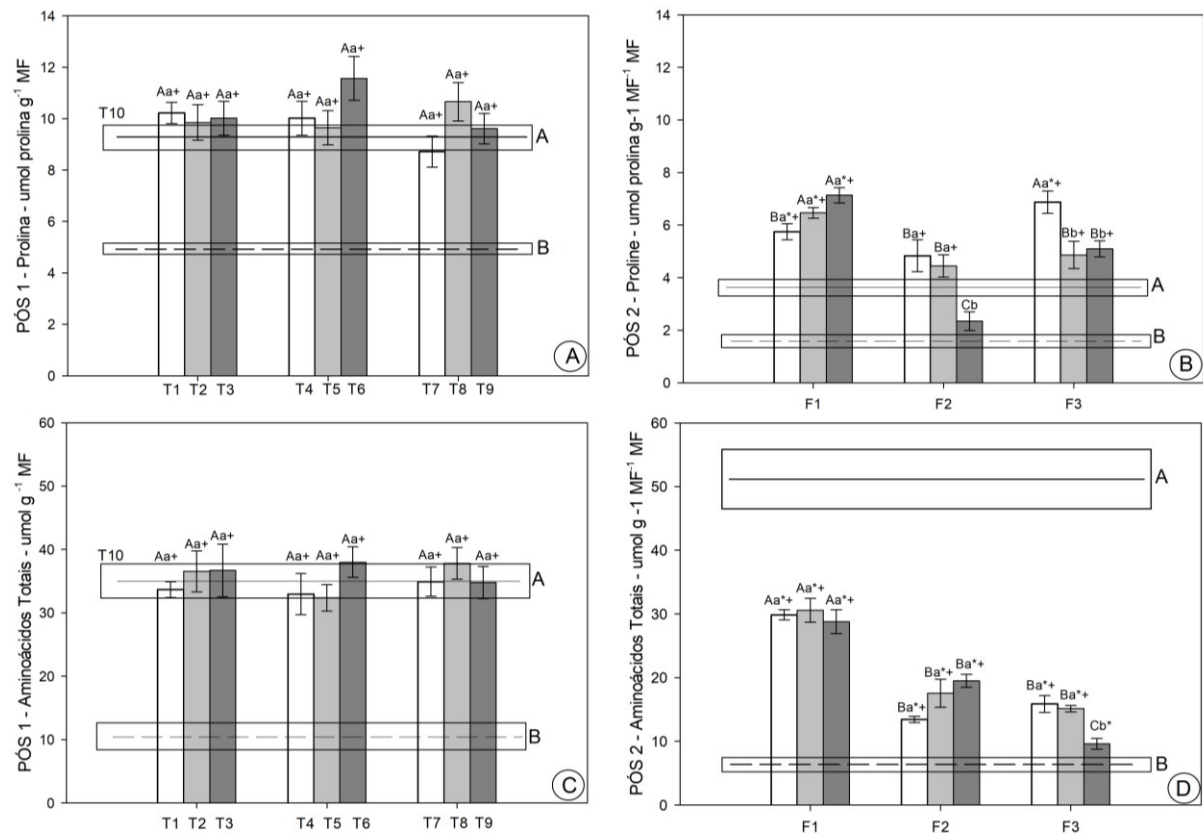
Em pós 1 os teores de prolina e aminoácidos não apresentaram diferenças entre os tratamentos com deficit hídrico (T1 a T10), e todos estes tratamentos foram maiores que o controle sem déficit hídrico (Figura 18A e 18C).

Na avaliação em pós 2 de prolina a formulação 1 não apresentou diferenças entre as doses, à formulação 2 reduziu na menor dose e a formulação 3 apresentou acréscimos na maior dose (Figura 18B). A dose de 1,0 kg ha⁻¹ foi na maior na formulação 3, e as demais doses registraram maiores valores na formulação 1. O controle com déficit hídrico foi 126,2% maior que o controle sem déficit hídrico. Foi observado em todos os tratamentos com aplicação de bioestimulante, com exceção do menor dose da formulação 2, valores de 46,25% a 345,62% maiores que o controle sem déficit hídrico. Todas as doses da formulação 2 e as duas menores doses da formulação 3 foram semelhantes ao controle com déficit hídrico.

Na avaliação em pós 2 os níveis de aminoácidos totais nas formulações 1 e 2 não apresentaram variações entre as doses, já a formulação 3 registrou reduziu na menor dose (Figura 18D). Para todas as doses, os maiores valores foram encontrados na formulação 1. Ocorreu diferença entre os controles, com acréscimos de 709,9% no controle com déficit hídrico. Todos os tratamentos com aplicação de bioestimulante foram de 67,45% a 433,22% menores que o controle com déficit

hídrico. Tais tratamentos também foram de 112,5% a 383,7% maiores que controle sem déficit hídrico, com exceção da menor dose da formulação 3 que não diferiu deste controle.

Figura 18 - Teor de prolina (A), teor de aminoácidos totais (C) em soja nas avaliações em pós 1 e pós 2.



Teor de prolina (A), teor de aminoácidos totais (C) em soja sob déficit hídrico e sem a aplicação do bioestimulante, na avaliação pós 1: barras e linha contínua representam as plantas sob déficit hídrico (T1 ao T10), a linha tracejada representa o controle sem déficit hídrico. Teor de prolina (B), teor de aminoácidos totais (D) em soja reidratada após a submissão ao déficit hídrico e após a aplicação do bioestimulante, na avaliação pós 2. Os tratamentos F1, F2 e F3 representam as três formulações de bioestimulante FH Attivus® aplicadas nas doses de 1,0 kg ha⁻¹ (barra branca), 0,5 kg ha⁻¹ (barra cinza claro) e 0,25 kg ha⁻¹ (barra cinza escuro), os fatores adicionais estão representados pela linha horizontal contínua (controle com déficit hídrico) e pela linha horizontal tracejada (controle sem déficit hídrico). Letras maiúsculas nas barras comparam as mesmas doses em diferentes formulações, letras minúsculas nas barras comparam as mesmas formulações em diferentes doses pelo teste de Scott e Knott a 5% de probabilidade. O contorno das linhas dos controles (fatores adicionais) representa o erro padrão da média, e as letras maiúsculas comparam os controles pelo teste de Scott e Knott a 5% de probabilidade. Os asteriscos e a cruz em cada barra indicam diferenças com os tratamentos representados pela linha contínua e pela linha tracejada, respectivamente, por meio do teste de Dunnett a 5% de probabilidade. Barras representam o erro padrão da média (n=4).

5 DISCUSSÃO

O bioestimulante conferiu às plantas submetidas ao déficit hídrico maior eficiência fotossintética com conseqüente aumento na produção e remobilização de fotoassimilados, resultando em maior massa de 100 grãos. O déficit hídrico em algum período da fase reprodutiva da planta, pela limitação de recursos energéticos, reduz o período para a formação de vagens e enchimento de grãos, causa abortamento e afeta a produtividade da planta (CHOI et al., 2016; ANDA et al., 2020), o que justifica o menor peso de 100 grãos, e vagens com 1, 3 e vagens totais no controle com déficit hídrico.

Os tratamentos com o bioestimulante obtiveram número total de vagens semelhantes ou até maiores que o controle sem déficit hídrico, evidenciando que o produto manteve o período de formação de vagens semelhante ao do controle sem déficit hídrico, contribuindo para a produtividade da planta. A produtividade final da planta é dependente da remobilização dos produtos fotossintéticos para a formação de vagens e enchimento de grãos (WIJEWARDANA et al., 2018).

A menor produtividade do controle com déficit hídrico em relação aos demais tratamentos ocorreu em função da menor produção de fotoassimilados, associada ao maior gasto energético com mecanismos de proteção contra o estresse. Isso reduz a quantidade de recursos para a formação de flores e enchimento de grãos, resultando em menor produtividade (AKRAN et al., 2019). Os tratamentos submetidos ao déficit hídrico e que receberam a aplicação do bioestimulante apresentaram produtividades superiores ao do controle com déficit hídrico, indicando que o produto foi eficaz em auxiliar as plantas de soja a evitar os efeitos negativos da seca.

As formulações testadas do bioestimulante são constituídas por compostos naturais que contêm extrato da alga *Ascophyllum nodosum* (L.), ácidos fúlvicos e diferentes concentrações de macro e micronutrientes, que são suficientes apenas para a ativação metabólica da planta. A composição da alga marinha e do ácido fúlvico no bioestimulante atuam melhorando a eficiência no uso de recursos como água e nutrientes, gerando alterações fisiológicas e bioquímicas que resultam em

maior tolerância a situações estressantes, neutralizando os efeitos do déficit hídrico e gerando acréscimos de produtividade (VAN OOSTEN et al., 2017).

As três formulações apresentaram aumentos de produtividade em relação ao controle com déficit hídrico, indicando que as diferentes concentrações de nutrientes e compostos naturais não interferiram na eficácia de cada formulação em mitigar os efeitos negativos da seca nessa característica. A maior porcentagem de compostos naturais (21%) da formulação 3 foi suficiente para suprir a baixa concentração de nutrientes no incremento final da produtividade da soja sob deficiência hídrica. De acordo com Bulgari et al. (2019), a atividade bioestimulante não depende exclusivamente dos nutrientes que constituem o produto. No entanto quando se associa na formulação compostos naturais e nutrientes, como ocorre nas formulações 1 e 2, a ativação metabólica ocorre de forma mais eficiente, retomando mais rapidamente o status hídrico adequado da planta, o que minimiza os efeitos do déficit hídrico.

As plantas de soja submetidas ao déficit hídrico atingiram valores de potencial hídrico próximos a -1,5 MPa, que segundo Oosterhuis et al. (1985), é um valor crítico e leva à desidratação severa aos tecidos vegetais. Situações de deficiência hídrica severa nas plantas acarretam em prejuízos metabólicos e em reduções de produtividade (ZHANG et al., 2016).

Em pós 2, as plantas com aplicação de bioestimulante retomaram o potencial hídrico semelhante ao do controle sem déficit hídrico, exceto o controle com déficit hídrico, indicando que todas as formulações atuaram eficientemente na restauração do status hídrico adequado. Bioestimulantes estimulam nas plantas estratégias que permitem a manutenção parcial do seu crescimento e desenvolvimento em condições de deficiência hídrica (HASANUZZANAN et al., 2017).

Durante a seca, o acúmulo de moléculas osmoprotetoras atua no ajustamento osmótico celular e reduz o potencial hídrico da planta, mantendo a absorção de água do solo e garantindo assim, continuidade dos processos metabólicos e de crescimento (FANGE et al., 2015; SANDRES; ARNDT, 2016), o que justifica o aumento de prolina e aminoácidos nos tratamentos submetidos ao déficit hídrico em pós 1.

A aplicação de bioestimulante proporcionou maiores valores de prolina em alguns tratamentos, indicando aumento a tolerância à seca, pois o acúmulo dessas moléculas confere maior capacidade da planta de tolerar e se recuperar do déficit hídrico, por atuarem no ajustamento osmótico e como doadoras de elétrons alternativos para a cadeia de transporte de elétrons mitocondriais (WOODROW et al., 2017). A aplicação de bioestimulante a base de extrato de algas também aumentou o teor de prolina em *Arabidopsis thaliana* (SAEGER et al., 2019) e em feijão (CARVALHO et al., 2018), submetidos ao déficit hídrico.

O menor diâmetro do caule nos tratamentos submetidos ao déficit hídrico em pós 1 ocorreu devido a dificuldade da planta em absorver água em solos com baixo potencial hídrico e pela dificuldade em repor a água perdida do xilema para os tecidos mais próximos (folhas, vagens e grãos) (WANG et al., 2017). Para retomar a eficiente absorção de água em solos secos as plantas adotam alguns mecanismos de proteção, como o ajustamento osmótico, observado nas plantas que receberam o bioestimulante, que auxilia no reestabelecimento do diâmetro do caule. Tais tratamentos obtiveram diâmetros semelhantes ou maiores que o controle sem déficit hídrico, indicando normalização da absorção de água e reposição hídrica no xilema. Apesar da reidratação, o controle com déficit hídrico não atingiu valores de diâmetro do caule semelhantes ao do controle sem déficit hídrico, devido à dificuldade da planta estressada em recuperar a capacidade de absorção de água em um período curto de reestabelecimento hídrico.

A seca é o principal fator abiótico que afeta o crescimento vegetativo das plantas, pois as células vegetais perdem a pressão de turgor celular em intensidades suficientes para interromper o crescimento regular (SANTANIELLO et al., 2017; VAN OOSTEN et al., 2017). Os danos gerados por qualquer tipo de estresse dependem da frequência, intensidade e duração da exposição da planta ao fator estressante. Nesse caso, a duração de três dias de deficiência hídrica não foram suficientes para gerar alterações na massa seca total da planta entre todos os tratamentos. Porém a deficiência hídrica resulta em um custo de adequação para as plantas, uma vez que a energia que seria destinada ao crescimento são direcionados para mecanismos protetores (BECHTOLD; FIELD, 2018), gerando em prejuízos posteriores as plantas, como o não reestabelecimento do crescimento.

O controle com déficit hídrico demandou uma quantidade de recursos energéticos significativos para as plantas se adaptarem ao estresse, e o curto período de reidratação não foi suficiente para estas plantas recuperarem o crescimento vegetativo em pós 2, representado pelo peso seco total. Apesar de terem sido submetidas ao mesmo nível de déficit hídrico, a maior parte das plantas que receberam o bioestimulante apresentou massa seca semelhante ao controle sem déficit hídrico, indicando que houve a recuperação dos recursos energéticos investidos na adaptação ao estresse. De fato, bioestimulantes com ácido fúlvico e *Ascophyllum nodosum* estimulam o crescimento das plantas e a adaptação ao estresse (ROUPHAEL et al. 2017, SAEGGER et al., 2019).

As plantas mais adaptadas a situações estressantes apresentam sistemas radiculares mais robustos, que permitem maior exploração do solo e conseqüentemente melhor absorção de água e nutrientes (FENTA et al., 2014). As menores doses das formulações conferiram sistemas radiculares mais volumosos, aumentando assim a tolerância ao déficit hídrico. É sabido que ácidos fúlvicos e extrato de algas marinhas estimulam o crescimento radicular, o que melhora a absorção de água e nutrientes e, por conseguinte, aumentam a tolerância à seca (DI STASIO et al., 2018; TREVISAN et al., 2010). O controle com déficit hídrico, mesmo após a reidratação, apresentou menores volumes e peso seco de raízes, o que pode ser atribuído à baixa eficiência em se recuperar da redução na fotossíntese, da baixa expansão celular e elevada alocação de recursos energéticos para mecanismos protetores durante condições de deficiência hídrica (AKRAN et al., 2019; BECHTOLD; FIELD, 2018).

Menores sistemas radiculares não são capazes de absorver água e nutrientes em quantidades adequadas para manter o crescimento ideal da planta, e nem de repor a água perdida via transpiração pela parte aérea (FENTA et al., 2014). Em deficiência hídrica, como mecanismo de proteção à perda excessiva de água via transpiração, a planta reduz a área foliar, no entanto gera redução de área fotossintetizante e na produção de fotoassimilados, afetando diretamente a produtividade da planta (DEVI et al., 2015). Como o sistema radicular das plantas que receberam o bioestimulante estava mais robusto, estas conseguiram manter a

fotossíntese atuando de forma eficiente, minimizando assim danos no crescimento vegetativo e na produtividade.

Em pós 1 as plantas submetidas ao déficit hídrico registraram reduções de área foliar, o que representa um mecanismo de conservação de água por reduzir a área transpirante da planta, no entanto a área fotossintetizante também é reduzida. Segundo Devi et al., (2015), a área foliar da planta é proporcional a área fotossintetizante e ao rendimento da cultura. Em pós 2, a aplicação do bioestimulante nas duas menores doses da formulação 1, na menor dose da formulação 2 e em todas as doses da formulação 3 proporcionou valores de área foliar semelhantes ao controle sem déficit hídrico, recuperando nestas plantas a área foliar necessária para o reestabelecimento da fotossíntese e minimizando as perdas em produtividade. Aplicação de bioestimulante à base de extrato de algas aumentou a área foliar de tomate em condições de déficit hídrico (OANCEA et al., 2013).

A área foliar específica (AFE) expressa a razão entre a área foliar e massa seca da folha, refletindo a alocação de biomassa por unidade de área foliar. A produção de fotoassimilados pela fotossíntese é responsável pelo acúmulo de massa seca na planta, então menores valores de AFE estão relacionados à alta capacidade fotossintética (DAI et al., 2015). Assim, em pós 2 o bioestimulante aumentou a capacidade fotossintética da soja, visto que os tratamentos que receberam o produto apresentaram os menores valores de AFE. A menor produção de fotoassimilados reduziu o peso seco total das folhas, gerando altos valores de AFE e refletindo a baixa eficiência do aparato fotossintético em condições de seca (MAO et al., 2014).

A manutenção da eficiência fotossintética nas plantas é dependente da concentração dos pigmentos fotossintéticos responsáveis pela absorção da energia luminosa usada na etapa fotoquímica da fotossíntese. Em condições de seca é comum que ocorra degradação dos pigmentos fotossintéticos como alternativa de reduzir a absorção de energia luminosa, e assim evitar maiores danos causados pelo excesso de elétrons livres. Neste sentido, em pós 1, o tempo de indução a seca (três dias) não foi suficiente para alterar os teores de clorofila *a* nos tratamentos com déficit hídrico. Porém os teores de clorofila *b*, razão clorofila *a/b* e clorofila total

reduziram nos tratamentos com deficiência hídrica, em relação ao controle sem déficit hídrico.

No entanto, após o reestabelecimento de água os pigmentos proporcionam aumento na atividade fotossintética (SHUKLA et al., 2017). Em pós 2, o controle com déficit hídrico manteve menores valores de razão clorofila *a/b*, teor de clorofila *a*, clorofila total e índice SPAD, refletindo a baixa eficiência em se recuperar dos danos causados pela seca na estrutura dos cloroplastos e na biossíntese da clorofila, prejudicando assim a atividade fotossintética (SAEIDI; ABODOLI, 2015).

Os tratamentos que receberam o bioestimulante apresentaram níveis de clorofilas superiores aos do controle com déficit hídrico, evidenciando que o produto reestabeleceu os níveis de pigmentos fotossintéticos e conferiu às plantas respostas mais robusta à seca (TALEBI et al., 2013; CARVALHO et al., 2015). Diversos estudos relatam que bioestimulante a base de extrato de algas marinhas pode aumentar o teor de clorofilas totais em plantas estressadas ou não (GOÑI et al., 2018; BULGARI et al., 2019; JITHESH et al., 2019; SAEGER et al., 2019).

Sob deficiência hídrica no solo, a redução de *g_s* nos tratamentos com déficit hídrico ocorreu para evitar perdas excessivas de água via transpiração, no entanto, acarreta no menor influxo de CO₂ para o sítio de carboxilação da RUBISCO, resultando em menores taxas fotossintéticas (CHAVES et al., 2009; OSAKABE et al., 2014; BASU et al., 2016). A redução da *A*, pela baixa geração de fotoassimilados, reduz a produtividade da planta prejudicando a formação de flores, vagens e enchimento de grãos (AKHRAN et al., 2019).

Com a reidratação das plantas, o ideal é que ocorra rapidamente a reabertura estomática e restabelecimento da fotossíntese, respostas que não ocorreram no controle com déficit hídrico, em pós 2. Tal comportamento demonstra baixa eficiência no controle estomático e na percepção da retomada da disponibilidade hídrica no solo, gerando resposta tardia de abertura estomática (LIU et al., 2011; HERNANDEZ-SANTANA et al., 2016). O bioestimulante atuou na melhoria do controle estomático das plantas, aumentando a *g_s* e a retomada mais rápida de processos fisiológicas importantes como *A* e *E*, logo após a reidratação do solo.

Plantas de soja submetidas ao déficit hídrico e tratadas com bioestimulante a base de extrato de algas também apresentaram maiores valores de *gs* após a reidratação.

Em pós 1, apesar da menor *gs*, registrou-se aumentos no *Ci* nos tratamentos com déficit hídrico, e estes valores se mantiveram altos no controle com déficit hídrico em pós 2 indicando a existência de danos bioquímicos e atraso na recuperação das plantas. Com a menor *gs* e o menor influxo de CO₂ seria normal à redução na concentração de *Ci*, mas quando o inverso acontece é sinal que ocorreu redução na eficiência fotoquímica do aparato fotossintético (SANTANIELLO et al., 2017). Em condições de seca, o excesso de energia sobre o aparato fotossintético aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), que causam danos estruturais aos fotossistemas e prejudica a regeneração da enzima RUBISCO, gerando acúmulo de *Ci* pela menor carboxilação do CO₂ (ZHANG et al., 2016; MATHOBO et al., 2017).

A equiparação, em pós 2, dos valores de *Ci* dos tratamentos com bioestimulante ao controle sem déficit hídrico indica que o aparato fotossintético da soja tratada não apresentava danos bioquímicos, e que RUBISCO estava consumindo o CO₂ disponível, tal quais as plantas que não passaram pelo estresse. As plantas que receberam o bioestimulante após a reidratação, durante o período de deficiência hídrica acumularam de *Ci* (dados não mostrados), e após a aplicação reduziram esses valores, diferente do controle com déficit hídrico, evidenciando recuperação do processo fotossintético.

Os menores valores de EC dos tratamentos com déficit hídrico em pós 1, e do controle com déficit hídrico em pós 2 refletem limitações bioquímicas no aparato fotossintético, evidenciados pelo acúmulo de *Ci* (POMPELLE et al., 2010; ZHANG et al., 2016). A menor assimilação de CO₂ provoca o excesso de energia de excitação no fotossistema II (PSII), maior produção de ERO, resultando em prejuízos à atividade de carboxilação da RUBISCO e a produção de fotoassimilados (WIJEWARDANA et al., 2018). Assim, a baixa EC pode estar relacionada à baixa produtividade das plantas do tratamento controle com déficit hídrico. A aplicação do bioestimulante resultou em valores de EC semelhantes ao do controle sem déficit hídrico. Santaniello et al., (2017) relataram que a aplicação do bioestimulante aliviou

os danos gerados pelo déficit hídrico no aparato fotossintético e melhoraram a EC destas plantas.

Em pós 2, a maior g_s e ausência de danos bioquímicos no aparato fotossintético das plantas que receberam o bioestimulante permitiram a retomada da atividade fotossintética, apresentando A maior que ao controle com déficit hídrico e semelhante ao controle sem déficit hídrico em muitos tratamentos. Retomar a capacidade fotossintética confere maior tolerância ao déficit hídrico à planta, uma vez que o reestabelecimento da atividade do ciclo de Calvin, e da cadeia transportadora de elétrons reduz danos oxidativos, além da retomada na produção de fotoassimilados favorecer a produtividade (CHAVES et al., 2009; RIVAS et al., 2016). Bioestimulantes a base de extratos de alga *A. nodosum* já demonstraram efeitos de melhora na eficiência fotossintética de diversas plantas, tais como soja, tomate, gramíneas e *Arabidopsis thaliana*, em situações estressantes (ELANSARY et al. 2017; GONI et al. 2018; SANTANIELLO et al., 2016).

Os baixos valores de A no controle com déficit hídrico, mesmo após a reidratação, indicam que danos bioquímicos ainda persistiam no aparato fotossintético desta planta, prejudicando a atividade de carboxilação da RUBISCO, gerando acúmulo de C_i , baixa atividade fotossintética e, conseqüentemente, menor produtividade. Baixas taxas de carboxilação da RUBISCO reduzem a atividade do ciclo de Calvin, reduzindo a regeneração de aceptores de elétrons, e aumentando a formação de ERO (SHUKLA et al., 2018). Esses dados também ressaltam a baixa eficiência do mecanismo protetor a estresses antioxidantes e de eliminação de ERO.

Em pós 2 a menor concentração de carotenoides no controle com déficit hídrico mesmo após a reidratação, evidencia a baixa capacidade de fotoproteção das plantas nesse tratamento, propiciando maior formação de ERO e danos celulares mais intensos. Os carotenoides atuam como pigmentos fotossintéticos que absorvem energia luminosa, mas também possuem importante papel como constituintes do sistema de defesa antioxidante não enzimático das plantas. Os maiores teores de carotenoides nos tratamentos com bioestimulante indicam maior tolerância ao déficit hídrico, já que estes pigmentos eliminam o excesso de energia luminosa, evitando a ligação de elétrons livres com moléculas de oxigênio e

prevenido à formação de ERO e danos fotooxidativos (HONG-HAI et al., 2016; WANG et al., 2018).

Após a reidratação o ideal é que ocorra a normalização de todas as atividades metabólicas da planta. O reestabelecimento da E é importante para a retomada do equilíbrio térmico das folhas, evitando altas temperaturas internas que podem causar danos irreversíveis (ERGO et al., 2018; SHUKLA et al., 2017). A baixa eficiência na reabertura estomática do controle com déficit hídrico resultou em menores taxas de E , gerando aumentos na temperatura interna da planta, contribuindo para a formação de ERO e com maiores danos bioquímicos.

Plantas tratadas com o bioestimulante apresentaram E superiores aos do controle com déficit hídrico e semelhantes ao do controle sem déficit hídrico, indicando maior equilíbrio térmico das plantas e evidenciando eficiente percepção do potencial hídrico no solo e rápida reabertura estomática (GÓMEZ-BELLOT et al., 2013). De fato, o extrato de alga *A. nodosum* pode atuar na regulação da temperatura das folhas através do aumento na eficiência do controle estomático (MARTYNENKO et al., 2016).

Na avaliação em pós 1 em função da fotossíntese negativa, as plantas submetidas ao déficit hídrico apresentaram valores de EUA negativos e apenas o controle sem déficit hídrico obteve valores positivos. Em deficiência hídrica no solo, as plantas tendem a fechar seus estômatos para evitar perda de água excessiva via transpiração, o que demonstra economia de água e tolerância a condições de seca (FLEXAS, 2016). No entanto o fechamento estomático, que gera aumento na EUA, reduz processos metabólicos importantes com a A e E .

Em pós 2 as maiores taxas de EUA encontradas nas plantas que receberam as menores doses de cada formulação do bioestimulante indicam que maior é a produção de fotoassimilados por unidade de H_2O perdida via E (FLEXAS, 2016). Os altos valores de EUA destes tratamentos indicam eficiente ajuste entre a taxa fotossintética e a transpiração, mantendo o equilíbrio entre a economia de água e produção de fotoassimilados (SANTANIELLO et al., 2017). Nesse sentido, tem sido relatado que bioestimulantes a base de extrato de algas *Ascophyllum* atuam

melhorando a condutância estomática e gerando acréscimos na EUA (SHUKLA et al., 2017; ROUPHAEL; COLLA, 2018).

O rendimento quântico do fotossistema II no escuro (F_v/F_m), taxa de transporte de elétrons (ETR) e rendimento quântico efetivo do fotossistema II ($\Phi PSII$) demonstram as condições do aparato fotossintético e a eficiência da fotossíntese (KALAJI et al., 2016; SNIDER et al., 2014). Em pós 1 a redução desses parâmetros nos tratamentos com deficiência hídrica, em relação ao controle sem déficit hídrico, é comum em condições de seca, pois o excesso de energia resulta em danos fotoinibitórios ao aparato fotossintético e redução na eficiência da fotossíntese (EL-MAGEED et al., 2016).

A fotoinibição ocorre quando a quantidade luz absorvida pelos pigmentos de clorofila se torna excessiva para as exigências fotossintéticas (GUIDI et al., 2019; MURATA et al., 2007). Nessas condições, a menor fotossíntese reduz a regeneração de aceptores de elétrons na fase bioquímica ($NADP^+$ e ADP^+), acumulando na fase fotoquímica elétrons livres, que se ligam a moléculas de oxigênio e geram ERO. Danos fotoinibitórios são causados por ERO e reduzem a eficiência do sistema fotossintético (BUCHNER et al., 2016; LOTFI et al., 2015).

A F_v/F_m e $\Phi PSII$ são parâmetros usados para detectar a fotoinibição nos fotossistemas, através da estimacão da eficiência máxima do PSII e da detecção da perda de função dos centros de reação (KRAUSE; WEIS, 1991; ÖQUIST et al., 1992). Reduções nestes valores ocorrem em função da redução da taxa fotoquímica do PSII, causada por danos nos centros de reação do PSII e pelo aumento na dissipação de energia de excitação (GUIDE et al., 2019).

As plantas com deficiência hídrica reduzem a ETR como estratégia de defesa contra danos fotooxidativos e formação de ERO, e ao mesmo tempo limita a etapa fotoquímica da fotossíntese (GURURANI et al., 2015; TIKKANEN et al., 2014; YAMORI, 2016). O déficit hídrico causa desequilíbrio entre a produção e utilização de elétrons, pois leva ao excesso de energia luminosa no complexo antena, reduzindo a eficiência fotoquímica e gerando danos no centro de reação do fotossistema II (WANG et al., 2018; ZHANG et al., 2011).

Apesar da reidratação, o controle com déficit hídrico manteve valores de F_v/F_m , ETR e $\phi PSII$ menores que os demais tratamentos, indicando que os danos gerados pela seca ao aparato fotossintético ainda persistiam, reduzindo a sua eficiência (KALAJI et al., 2016). Baixos valores destes parâmetros indicam danos estruturais no PSII, maior suscetibilidade a danos fotooxidativos e redução na eficiência fotoquímica das plantas (PINTO et al., 2016).

Nos tratamentos com bioestimulante em pós 2, os valores de F_v/F_m , ETR e $\phi PSII$ semelhantes ou maiores que do controle sem déficit hídrico, indicam a normalização da fase bioquímica da fotossíntese, que volta a atuar na regeneração de aceptores de elétrons ($NADP^+$ e ADP^+) e reduzem formação de ERO (DIAS et al., 2018; STIRBET et al., 2018). Santaniello et al. (2017) relataram que a aplicação de bioestimulante com extrato de algas manteve a eficiência fotoquímica dos fotossistemas e atuou na ativação de mecanismos protetores a danos oxidativos do fotossistema II.

Em pós 1 os coeficientes de extinção fotoquímica (qP) e dissipação de energia não regulada ($Y(NO)$), foram menores nos tratamentos com déficit hídrico, quando comparados ao controle sem déficit hídrico, evidenciando menor desempenho fotossintético destas plantas. Tais parâmetros representam a energia luminosa que é direcionada para a fotossíntese, reflete a fração de energia dissipada na forma de calor e fluorescência e ressaltam a eficiência do mecanismo de proteção (KLUGHAMMER; SCHREIBER, 2008) (CAMPOSTRINI, 1997).

A menor A do controle com déficit hídrico requer menor quantidade de energia luminosa, fato confirmado pelo baixo qP e alto $Y(NO)$. A energia luminosa direcionada para a fase fotoquímica da fotossíntese é representada por qP , e a energia dissipada na forma de calor, que resalta a baixa eficiência do mecanismo protetor da planta, por $Y(NO)$ (CAMPOSTRINI, 1997; KLUGHAMMER; SCHREIBER, 2008). Os altos valores de qP e baixos de $Y(NO)$ nos tratamentos com bioestimulante, em relação ao controle com déficit hídrico, indicam maior direcionamento de energia luminosa para a fase fotoquímica da fotossíntese e maior eficiência no mecanismo protetor destas plantas

O coeficiente de extinção não fotoquímica (NPQ) e a dissipação de energia regulada (Y(NPQ)) representam mecanismos de prevenção à formação de ERO e permitem que o excesso de energia luminosa seja dissipado na forma de calor (BUCHNER et al., 2017; DABROWSKI et al., 2016; HAZRATI et al., 2016; GUIDI et al., 2019). Aumentos destes parâmetros nas plantas submetidas ao déficit hídrico em pós 1 indicam que o aparato fotossintético absorveu energia luminosa em excesso, que desencadeou a ativação destes mecanismos de proteção (ASHRAF; HARRIS, 2013). Quando a energia luminosa absorvida excede a quantidade utilizada pela fotossíntese, ocorre dissipação da energia excedente, para a proteção do aparato fotossintético contra danos devido à excitação excessiva dos centros de reação PSII (RUBAN et al., 2012; SANTANIELLO et al., 2017).

Apesar do reestabelecimento da hidratação das plantas em pós 2, o (Y(NPQ)) do controle com déficit hídrico foi inferior ao do controle sem déficit hídrico, e baseando-se nos baixos valores de ETR, ϕ_{PSII} , nota-se que o mecanismo de dissipação de energia foi afetado, dificultando a planta se proteger do estresse (KLUGHAMMER; SCHREIBER, 2008; TATAGIBA, 2013).

Os tratamentos com aplicação de bioestimulante retomaram a valores semelhantes de (Y(NPQ)) ao do controle sem déficit hídrico, demonstrando eficiente capacidade de dissipar a energia excedente. Maiores valores deste parâmetro indicam manutenção da integridade fotoquímica e capacidade fotossintética em ambientes adversos (KLUGHAMMER; SCHREIBER, 2008) De acordo com Santaniello et al. (2017), *Arabidopsis thaliana* tratada com bioestimulante foi mais eficiente em dissipar o excesso de energia nos centros de reação do PSII.

O excesso de energia nos centros de reação do PSII de plantas em condições estressantes aumenta a produção de ERO, que causam danos oxidativos às membranas celulares elevando assim os teores de malondialdeído (MDA) (CAVERZAN et al., 2016). Em pós 1 os tratamentos com déficit hídrico apresentaram elevados níveis de peroxidação lipídica, indicando danos oxidativos as membranas (AZEVEDO-NETO et al., 2005; DONG et al., 2019). Em pós 2 o controle com déficit hídrico manteve os níveis de MDA elevados mesmo após o reestabelecimento de água, indicando que ainda ocorriam danos oxidativos nas membranas e baixa

eficiência na atividade das enzimas antioxidativas removedoras de ERO (BIN et al., 2010). Altos teores de MDA mesmo após a reidratação indicam baixa eficiência na atividade das enzimas antioxidativas em remover as ERO.

Os tratamentos com aplicação de bioestimulante contribuíram para a redução dos teores de MDA por favorecerem a atividade das enzimas antioxidativas, evitando assim o acúmulo de ERO. A normalização das taxas fotossintéticas também contribuiu para a redução nos teores de MDA, por consumir os elétrons livre que formariam os radicais livres (FURLAN et al., 2016). Saeger et al. (2019) relataram que plantas de soja, tabaco e colza tratadas com bioestimulante a base de extrato de algas apresentaram menores teores de MDA.

A seca intensifica a geração de ERO, que são moléculas causadoras de danos aos constituintes celulares e ao metabolismo das plantas, gerando assim, estresse oxidativo (SHARMA et al., 2012). Em condições estressantes mecanismos de defesas antioxidativas enzimáticas são ativados para regular os níveis tóxicos de ERO (CAVERZAN et al., 2016; MULLINEAUX; BAKER, 2014). O mecanismo de defesa antioxidante enzimático é composto por diversas enzimas, como a SOD, CAT, POX que catalisam a degradação de ERO, e como a APX que regenera antioxidantes solúveis (GRATÃO et al., 2005; MILLER et al., 2010; MITTLER et al., 2002; MITTLER et al., 2004; YOU; CHAN, 2015).

Em pós 1 os tratamentos submetidos ao déficit hídrico apresentaram valores superiores das enzimas SOD, CAT, POX e APX aos do controle sem déficit hídrico, uma vez que a seca elevou a produção de ERO e desencadeou o mecanismo de defesa antioxidativo enzimático. A menor fotossíntese reduz a cadeia de transporte de elétrons fotossintética e intensifica a geração de ERO (MIURA et al., 2013), aumentando os danos causados, confirmados pelos maiores teores de MDA.

Em pós 2, os tratamentos que receberam a aplicação do bioestimulante apresentaram maiores níveis de SOD que ambos os controles, melhorando eficiência do mecanismo de defesa antioxidativo (PANDY et al., 2016). A SOD atua no primeiro passo de eliminação de ERO através da dismutação do $O_2^{\bullet-}$ em O_2 e H_2O_2 , e as demais enzimas (CAT, POX, APX) eliminam as moléculas de H_2O_2 (SHARMA et al., 2012). O equilíbrio da SOD com as enzimas de eliminação de H_2O_2

é crucial para impedir o acúmulo de ERO (CAVERZAN et al., 2016). Plantas não estressadas, por não precisarem gastar energia com mecanismo de defesa, expressam baixa atividade de enzimas antioxidativas, como registrado no controle sem déficit hídrico.

O controle com déficit hídrico apresentou valores semelhantes de CAT ao controle sem déficit hídrico, indicando baixa eficiência desta enzima como mecanismo protetor, pois ainda havia estresse oxidativo ocorrendo, uma vez que o valor de MDA estava alto. O bioestimulante melhorou defesas antioxidativas da soja, pois notam-se valores de CAT maiores que no controle sem déficit hídrico.

A enzima CAT é responsável pela remoção do H_2O_2 , reduzindo-o a 2 moléculas de H_2O , podem ser encontradas em diversos compartimentos, mas ocorrem principalmente nos peroxissomos (CAVERZAN et al., 2016). Aumentos nos teores de CAT podem ser associados a aumentos nos níveis de fotorrespiração, que é um processo que gera H_2O_2 no peroxissomo. A fotorrespiração é um processo importante sob condições de estresses, pois atuam como um dreno de elétrons evitando a formação de ERO e danos fotooxidativos ao aparato fotossintético (CATOLA et al., 2016; RIVAS et al., 2017).

Os tratamentos que receberam a aplicação do bioestimulante obtiveram valores iguais ou superiores a ambos os controles na atividade da enzima POX, que também atua na eliminação do H_2O_2 , e na manutenção do estado redox das células (CAVERZAN et al., 2016).

Uma das principais vias de remoção de ERO nas plantas é o ciclo ascorbato-glutationa (AsA-GSH), composto por diversos compostos antioxidantes e enzimas, entre elas a APX (CAVERZAN et al., 2016). Todos os tratamentos que receberam o bioestimulante apresentaram valores iguais ou superiores de APX ao do controle sem déficit hídrico, demonstrando que o bioestimulante aumentou as defesas enzimáticas da planta. O mesmo tipo de bioestimulante também melhorou a atividade das enzimas antioxidativas em gramíneas e forragens, aumentou a atividade de CAT em feijão (CARVALHO et al., 2018), e as atividades da CAT, SOD e APX em *P. vaginatum* (ELANSARY et al., 2017).

Bradáčová et al. (2016) associaram o efeito protetor gerado por bioestimulante a base de extrato de algas marinhas aos micronutrientes da composição que atuam como cofatores das enzimas antioxidantes. O mesmo tipo de bioestimulante melhorou a atividade das enzimas antioxidativas em gramíneas e forragens (ALLEN et al., 2011), aumentou a atividade de CAT em feijão (CARVALHO et al., 2018), aumentou os níveis de CAT, SOD e APX em *P. vaginatum* (ELANSARY et al., 2017). Van Oosten et al. (2017) notaram que aplicação de bioestimulante com ácidos fúlvicos no arroz aumentou as enzimas antioxidativas que atuam na eliminação de ERO.

6 CONCLUSÃO

Os bioestimulantes a base de extrato da alga *Ascophyllum nodosum* (L.) e ácidos fúlvicos conferiram maior tolerância às plantas de soja ao déficit hídrico por proporcionarem reestabelecimento mais rápido do potencial hídrico celular, ajustamento osmótico, aumento da condutância estomática, da atividade fotossintética, da produção de fotoassimilados, maior eficiência nos mecanismos dissipadores de excesso de energia, que reduziram a geração de ERO, e maior atividade das enzimas antioxidantes.

Todas as doses e formulações do bioestimulante, independente do conteúdo de micronutrientes, atuaram na mitigação os efeitos negativos do déficit hídrico e no incremento de produtividade da soja, evidenciando a eficiência dos produtos constituídos por extrato da alga *Ascophyllum nodosum* e ácidos fúlvicos. A dose de 0,25 kg ha⁻¹ da formulação 2 foi eficiente em alcançar o potencial de benefícios oferecidos pelo bioestimulante.

Bioestimulantes à base de extratos da alga *Ascophyllum nodosum* (L.) e ácidos fúlvicos, aplicados após a indução ao estresse, aumentam a tolerância das plantas ao déficit hídrico.

REFERÊNCIAS

- ABBERTON, M.; BATLEY, J.; BENTLEY, A.; BRYANT, J.; CAI, H.; COCKRAM, J.; YANO, M. Global agricultural intensification during climate change: A role for genomics. **Plant Biotechnology Journal**, v.14, p.1095–1098, 2015. DOI: 10.1111 / pbi.12467
- AKRAN, N. A.; ASHRAF, M.; AL-QURAINY, F. Aminolevulinic acid-induced changes in some key physiological attributes and activities of antioxidant enzymes in sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants under saline regimes. **Scientia Horticulturae**, v.142, p.143–148, 2012. DOI: 10.1016/j.scienta.2012.05.007
- ALLEN, V. G.; POND, K. R.; SAKER, K. E.; FONTENOT, J. P.; BAGLEY, C. P.; IVY, R. L. Tasco: influence of a brown seaweed on antioxidants in forages and livestock - A review. **Journal of Animal Science**, v.79, n.6, p.21-31, 2011. DOI: 10.2527/jas2001.79E-SupplE21x
- ANDA, A.; SOÓS, G.; MENYHÁRT, L.; KUCSERKA, T.; SIMON, B. Yield features of two soybean varieties under different water supplies and field conditions. **Field Crops Research**, v.245, 2020. DOI: /10.1016/j.fcr.2019.107673.
- ANNUNZIATA, M.G.; CIARMIELLO, L.F.; WOODROW, P.; MAXIMOVA, E.; FUGGI, A.; CARILLO, P.; (2017) Durum wheat roots adapt to salinity remodeling the cellular content of nitrogen metabolites and sucrose. **Frontiers in Plant Science**, v.7, 2017. DOI: 10.3389/fpls.2016.02035.
- ASHRAF, M.; HARRIS, P.J.C.; Photosynthesis under stressful environments: An overview. **Photosynthetica**, 2: 163-190; 2013.
- AZEVEDO-NETO, A.D.; PRISCO, J.T.; ENÉAS-FILHO, J.; ABREU, C.E.B.; GOMES-FILHO, E. Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. **Environmental and Experimental Botany**, v.56, p.87-94; 2005.
- BASSO, S.M.S. Caracterização morfológica e fixação biológica de nitrogênio de espécies de *Adesmia* DC e *Lotus* L. 1999. 268p. **Tese (Doutorado)- Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, 1999.
- BASU, S.; RAMEGOWDA, V.; KUMAR, A.; PEREIRA, A. Plant adaptation to drought stress. **F1000 Research**, v.5, 2016. DOI: 10.12688/f1000research.7678.
- BATES, L.S.; WAKLREN, R.P.; TEARE, I.D. Rapid determination of free proline water stress studies. **Plant and Soil**, 39: 205-207, 1973.
- BECHTOLD, U.; FIELD, B. Molecular mechanisms controlling plant growth during abiotic stress. **Journal of Experimental Botany**, v.69,p. 2753–2758, 2018.
- BHERING, L.L. Rbio: A Tool For Biometric And Statistical Analysis Using The R Platform. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.17, p.187-190, 2017.
- BEZERRA, A.R.G.; SEDIYAMA, T.; BORÉM, A.; SOARES, M.M; Importância Econômica. In: Sedyama, T.; Silva, F.; Borém, A. **Soja: do plantio à colheita**, p.9-26; 2015.

- BILGER, W.; SCHREIBER, U.; BOCK, M. Determination of the quantum efficiency of photosystem II and non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in the field. **Oecologia**, v.102, p.425- 432, 1995.
- BIN, T.; SHANG-ZHONG, X.; XI-LING, Z.; YONG-LIAN, Z.; FA-ZHAN, Q. Changes of antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of waterlogging-tolerant and waterlogging-sensitive maize genotypes at seedling stage. **Agricultural Sciences in China**, v.9, p.651-661, 2010.
- BRADÁČOVÁ, K.; WEBER, NF.; MORAD-TALAB, N.; ASIM. M.; IMRAN. M.; WEINMANN, M.; et al. Micronutrients (Zn/Mn), seaweed extracts, and plant growth-promoting bacteria as cold-stress protectants in maize. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**,v.3, p.1 – 19, 2016.
- BUCHNER, O.; ROACH, T.; GERTZEN, J.; SCHENK, S.; KARADAR, M.; STOGGL, W.; MILLER, R.; BERTEL, C.; NEUNER, G.; KRANNER, I. Drought affects the heat-hardening capacity of alpine plants as indicated by changes in xanthophyll cycle pigments; singlet oxygen scavenging; α -tocopherol and plant hormones. **Environmental and Experimental Botany**, v.133, p.159-175, 2016.
- BULGARI, R.; COCETTA, G.; TRIVELLINI, A.; VERNIERI, P.; FERRANTE, A. Biostimulants and crop responses: a review. **Biological Agriculture and Horticulture**, v.31, p.1-17, 2015.
- BULGARI R.; MORGUTTI S.; COCETTA G.; NEGRINI N.; FARRIS S.; CALCANTE A.; SPINARDI A.; FERRARI E.; MIGNANI I.; OBERTI R.; FERRANTE A. Evaluation of borage extracts as potential biostimulant using a phenomic, agronomic, physiological, and biochemical approach. **Frontiers in Plant Science**, v.8, 2017. DOI: 10.3389/fpls.2017.00935
- BULGARI, R.; FRANZONI, G.; FERRANTE, A. Biostimulants application in horticultural crops under abiotic stress conditions. **Agronomy**, v.9, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/agronomy9060306>.
- CALVO, P.; NELSON, L.; KLOEPPER, J.W. Agricultural uses of plant biostimulants. **Plant and Soil**, v.383, p.3–41, 2014. DOI:10.1007/s11104-014-2131-8.
- CAMPOSTRINI, E. Fluorescência da clorofila a: considerações teóricas e aplicações práticas, <http://www.uenf.br/Uenf/Downloads/CENTRO pdf> (accessed 20.03.2010).
- CANELLAS, L.P.; OLIVARES, F.L.; AGUIAR, N.O.; JONES, D.L.; NEBBIOSO, A.; MAZZEI. P.; PICCOLO. A. Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture. **Scientia Horticulturae**, v.196, p.15-27, 2015.
- CARILLO P. GABA shunt in durum wheat. **Frontiers of Plant Science**, v.9, 2018. DOI:10.3389/fpls.2018.00100.
- CARVALHO, J.F.C.; CRUSIOL, L.G.T.; PERINI, L.J.; et al. Phenotyping soybeans for drought responses using remote sensing techniques and non-destructive physiological analysis. **Global Science and Technology**, v.8, p.1-16, 2015.
- CARVALHO, M. E. A.; DE CAMARGO, E.; CASTRO, P. R.; GAZIOLA, S. A.; AZEVEDO, R. A. Is seaweed extract an elicitor compound? Changing proline

content in drought-stressed bean plants. **Comunicata Scientiae**, v.2, p.292-297, 2018. DOI: 10.14295/CS.v9i2.2134

CATOLA, S.; MARINO, G.; EMILIANI, E.; HUSEYNOVA, T.; MUSAYEV, M.; AKPAROV, Z.; MASERTI, B.E. Physiological and metabolomic analysis of *Punica granatum* (L.) under drought stress. **Planta**, v.243, p.441- 449, 2016.

CATUCHI, T.A.; VÍTOLO, H.F.; BERTOLLI, S.C.; SOUZA, G.M. Tolerance to water deficiency between two soybean cultivars: transgenic versus conventional. **Ciência Rural**, v.41, p.373-378, 2011.

CAVERZAN, A.; CASASSOLA, A.; BRAMMER, S.P. Reactive oxygen species and antioxidant enzymes involved in plant tolerance to stress. In: Shanker AK, Shanker C. Abiotic and biotic stress in plants - Recent advances and future perspectives. **InTech**, p.463-80, 2016.

CHAVES, M.M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annals of Botany**, v.103, p.551-560, 2009.

CHANCE, B.; MAEHLEY, A.C. Assay of catalases and peroxidases. **Methods in Enzymology**, v. 2: 764-775, 1955.

CHOI, DH.; BAN, HY.; SEO, BS.; LEE, KJ.; LEE, BW. Phenology and seed yield performance of determinate soybean cultivars grown at elevated temperatures in a temperate region. **PLoS One**, p. 1-18 , 2016. DOI:10.1371/journal.pone.0165977.

CHOUDHURY, F.K.; RIVERO, R.M.; BLUMWALD, E.; MITTLER, R. Reactive oxygen species; abiotic stress and stress combination. **The Plant Journal**, v. 5, 2016. DOI: 10. 1111/tpj.13299.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO- **CONAB**. Acompanhamento da Safra Brasileira grãos Safra 2018/2019, agosto/2019. Brasília, 2019. 20 p. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 05 de setembro de 2019.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO- **CONAB**. Perspectivas para Agropecuária Safra 2018/2019. Brasília, 2018. 20 p. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 05 de setembro de 2019.

DABROWSKI, P.; BACZEWSKA, A.H.; PAWLUSKIEWICZ, B.; PAUNOV, M.; ALEXANTROV, V.; GOLTSEV, V.; KALAJI, M.H. Prompt chlorophyll a fluorescence as a rapid tool for diagnostic changes in PSII structure inhibited by salt stress in Perennial ryegrass. **Journal of Photochemistry and Photobiology**, v.157, p.22-31, 2016.

DAHAL, K.; MARTYN, G.D.; VANLERBERGHE, G.C. Improved photosynthetic performance during severe drought in *Nicotiana tabacum* overexpressing a nonenergy conserving respiratory electron sink. **New Phytologist**, v.208, p.382-395, 2015.

DAI, J.; LI, W.;TANG, W.; ZHANG, D.; LI, Z.; LU, H.; ENEJI, A.E.;DONG, H. Manipulation of dry matter accumulation and partitioning with plant density in relation to yield stability of cotton under intensive management. **Field Crops Research Journal**, v.180, p.207–215, 2015.

DEVI, M.J.; TALIERCIO, E.W.; SINCLAIS, T.R.; Leaf expansion of soybean subjected to high and low atmospheric vapour pressure deficits. **Journal of Experimental Botany**, v.66, p.1845–1850, 2015.

DI STASIO, E.; VAN OOSTEN, M. J.; SILLETTI, S.; RAIMONDI, G.; DELL'AVERSANA, E.; CARILLO, P.; et al. *Ascophyllum nodosum*-based algal extracts act as enhancers of growth, fruit quality, and adaptation to stress in salinized tomato plants. **Journal of Applied Phycology**, v.30, p.2675–2686, 2018. DOI: 10.1007/s10811-018-1439-9.

DONG, S.; WANG, W.; JIANG, Y.; MA, Z.; YAN, C.; LIU, L.; CUI, G. Antioxidant and proteomic analysis of soybean response to drought during soybean flowering. **Ekoloji**, v.28, p.2041-2052, 2019.

DU JARDIN, P. Plant biostimulants: definition, concept, main categories and regulation. **Scientia Horticulturae**, v.196, p.3-14, 2015.

ELANSARY, H.O.; YESSOUFOU, K.; ABDEL-HAMID, A.M.E.; EL-ESAWI, M.A.; ALI, H.M.; ELSHIKH, M.S. Seaweed extracts enhance Salam turfgrass performance during prolonged irrigation intervals and saline shock. **Frontiers in Plant Science**, v.8, 2017. DOI: 10.3389/fpls.2017.00830.

EL-MAGEED, T.A.A.; SEMIDA, W.M.; MOHAMED, G.F.; RADY, M.M. Combined effect of foliar-applied salicylic acid and deficit irrigation on physiological–anatomical responses; and yield of squash plants under saline soil. **South African Journal of Botany**, v.106 p.8-16, 2016.

EMBIALE, A.M.; HUSSEIN, A.; HUSEN, S.; SAHILE, K.; MOHAMMED. Differential sensitivity of *Pisumsativum* L. cultivars to water-deficit stress: changes in growth, water status, chlorophyll fluorescence and gas exchange attributes. **Journal of Agronomy**, v.15: p.47- 57, 2016.

EMBRAPA SOJA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja, Tecnologias de Produção de Soja – Paraná 2004. Londrina: Embrapa Soja, 218p, 2003.

ERGO, V.V.; LASCANO, R.; VEJA, C.R.C., PAROL, R.; CARRERA, C.S. CARRERA. Heat and water stressed field-grown soybean: A multivariate study on the relationship between physiological-biochemical traits and yield. **Environmental and Experimental Botany**, v.148, p.1 – 11, 2018. Doi: 10.1016/j.envexpbot.2017.12.023.

FANG, Y.; XIONG, L. General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v.72, p.673–689, 2015.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **FAOSTAT**, Production 2017. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>> Acesso em: 10/01/2020.

FENTA, B.A.; BEEBE, S.E.; KUNERT, K.J.; BURRIDGE, J.D.; BARLOW, K.M.; LYNCH, J.P.; FOYER, C.H. Field phenotyping of soybean roots for drought stress tolerance. **Agronomy**, v.4: p.418-435, 2014.

FLEXAS, J. Genetic improvement of leaf photosynthesis and intrinsic water use efficiency in C3 plants: Why so much little success? **Frontiers in Plant Science**, v.251, p.155-161, 2016.

FURLAN, A.; BIANUCCI, E.; TORDABLE, M.C.; KLEINERT, A.; VALENTINE, A. Dynamic responses of photosynthesis and the antioxidant system during a drought and rehydration cycle in peanut plants. **Functional Plant Biology**, v.43, p.337-345, 2016.

GENTY, B.; BRIANTAIS, J.M.; BAKER, N.R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 990, p.87-92, 1989.

GOMES-JUNIOR, R. A.; MOLDES, C. A.; DELITE, F. S.; POMPEU, G. B.; GRATÃO P.L. MAZZAFERA P.; LEA P. J., AZEVEDO, R. A. Antioxidant metabolism of coffee cell suspension cultures in response to cadmium. **Chemosphere**, v.65, p.1330-1337, 2006.

GÓMEZ-BELLOT, M.J.; ÁLVAREZ, S.; BANON, S.; ORTUNO, M.F.; SÁNCHEZ-BLANCO, M.J. Physiological mechanisms involved in the recovery of euonymus and laurustinus subjected to saline waters. **Agricultural Water Management**, v.128, p.131-139, 2013.

GOÑI, O.; QUILLE, P.; O'CONNELL, S. *Ascophyllum nodosum* extract biostimulants and their role in enhancing tolerance to drought stress in tomato plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.126, p.63–73, 2018.

GRATÃO, P.L.; POLLE, A.; LEA, P.J.; AZEVEDO, R.A. Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. **Functional Plant Biology**, v.32, p.481-494, 2005. DOI: 10.1071/FP05016.

GUIDI, L.O.; PICCOLO, E.; LANDI M. Chlorophyll fluorescence, photoinhibition and abiotic stress: does it make any difference the fact to be a C3 or C4 species? **Frontiers in Plant Science**, v.10, 2019.

GURURANI, M.A.; VENKATESH, J.; TRAN, L.S.P. Regulation of photosynthesis during abiotic stress-induced photoinhibition. **Molecular Plant**, v.8 p.1304-1320, 2015.

HASANUZZANAN, M.; NAHAR, K.; ANEE, T.I.; FUJITA, A.M. Glutathione in plants: biosynthesis and physiological role in environmental stress tolerance. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v.23, p.249–268, 2017.

HATZIG, S.; ZAHARIA, L.I.; ABRAMS, S.; HOHMANN, M.; LEGOAHEC, L.; BOUCHEREAU, A.; NESI, N.; SNOWDON, R.J. Early osmotic adjustment responses in drought resistant and drought-sensitive oilseed rape. **Journal of Integrative Plant Biology**, v.56, p.797-809, 2014.

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

HAZRATI, S.; TAHMASEBI-SARVESTANE, Z.; MODARRES-SANAVY, S.A.M.; MOKHTASSE-BIDGOLI, A.; NICOLA, S. Effects of water stress and light intensity

on chlorophyll fluorescence parameters and pigments of *Aloe vera* L. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.106, p.141-148, 2016.

HEATH, R.L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplast: I- Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.125, p.189-198, 1968.

HERNANDEZ-SANTANA, V.; FERNÁNDEZ, J.E.; RODRIGUEZ-DOMINGUEZ, C.M.; ROMERO, R.; DIAZ-ESPEJO, A. The dynamics of radial sap flux density reflects changes in stomatal conductance in response to soil and air water deficit. **Agricultural and Forest Meteorology**, v.219, p.92-101, 2016.

HONG-HAI, L.; MEROPE, T.M.; YA-LI, Z.; WANG-FENG, Z. Combining gas exchange and chlorophyll a fluorescence measurements to analyze the photosynthetic activity of drip-irrigated cotton under different soil water deficits. **Journal of Integrative Agriculture**, v.15, p.1256-1266, 2016.

JURAS, L.A.G.M. Aquecimento global e mudanças climáticas: uma introdução. **Plenarium**, v.5, p.34-46, 2008.

KALAJI, M.H.; JAJOO, A.; OUKARROUM, A.; Et al. Chlorophyll a fluorescence as a tool to monitor physiological status of plants under abiotic stress conditions. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.38, 2016.

KAR, M.; MISHRA, D. Catalase; peroxidase; and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant Physiology**, v.57, p.315-319, 1976.

KLUGHAMMER, C.; SCHREIBER, U. Complementary PS II quantum yields calculated from simple fluorescence parameters measured by PAM fluorometry and the Saturation Pulse method. **Heinz Walz GmbH**, v.1, p.27-35, 2008.

KRAMER, D.M.; AVENSON, T.J.; EDWARDS, G.E. Dynamic flexibility in the light reactions of photosynthesis governed by both electron and proton transfer reactions. **Trends in Plant Science**, v.9, p.349-57, 2004.

KRAUSE, G. H.; WEIS, E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. **Plant Physiology Plant Molecular Biology**, v.42, p.313-349, 1991. DOI: 10.1146/annurev.pp.42.060191.001525.

LIU, C.; LIU, Y.; GUI, K.; FAN, D.; LI, G.; ZHENG, Y.; YU, L.; YANG R. Effect of drought on pigments; osmotic adjustment and antioxidant enzymes in six woody plant species in karst habitats of southwestern China. **Environmental and Experimental Botany**, v.71, p.174-183, 2011.

LOTFI, R.; PESSARAKLI, M.; GHARAVI-KOUCHEBAGH, P.; KHOSHVAGHTI, H. Physiological responses of *Brassica napus* to fulvic acid under water stress: Chlorophyll a fluorescence and antioxidant enzyme activity. **The Crop Journal**, v.3, p.434-439, 2015.

MOUSAVI-DERAZMAHALLEH, M.; BAYER, P.E.; HANE, J.K.; VALLIYODAN, B.; NGUYEN, H.T.; NELSON, M.N.; ERSKINE, W.; VARSHNEY, R.K.; PAPA, R.; EDWARDS, D. Adapting legume crops to climate change using genomic approaches. **Plant Cell Environment Journal**, v.42, p.6-19, 2019.

- MANAVALAN, L.P.; GUTTIKONDA, S.K.; TRAN, L.S.P.; NGUYEN, H.T. Physiological and Molecular Approaches to Improve Drought Resistance in Soybean. **Plant and Cell Physiology**, v.50, p.1260-1276, 2009.
- MAO, L.; ZHANG, L.; ZHAO, X.; LIU, S.; VAN DER WERF, W.; ZHANG, S.; SPIERTZ, H.; LI, Z. Crop growth: light utilization and yield of relay intercropped cotton as affected by plant density and a plant growth regulator. **Field Crops Research Journal**, v.155, p.67–76, 2014.
- MARIANI, L.; FERRANTE, A. Agronomic Management for Enhancing Plant Tolerance to Abiotic Stresses—Drought, Salinity, Hypoxia, and Lodging. **Horticulturae**, v. 52, 2017.
- MARTYNENKO A.; SHOTTON K.; ASTATKIE T.; PETRASH G.; FOWLER C.; NEILY W.; CRITCHLEY AT. Thermal imaging of soybean response to drought stress: the effect of *Ascophyllum nodosum* seaweed extract. **Springerplus**, v.5, 2016.
- MATHOBO, R.; MARAIS, D.; STEYN, J.M. The effect of drought stress on yield; leaf gaseous exchange and chlorophyll fluorescence of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Agricultural Water Management**, v.80, p.118-125, 2017.
- 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.
- MILLER, G.; SUZUKI, N., CIFTCI-YILMAZ, S., AND MITTLER, R. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. **Plant, Cell & Environment Journal**, v.33, p.453–467, 2010. DOI: 10.1111/j.1365-3040.2009.02041.x
- MISHRA, P.; BHOOMIKA, K.; DUBEY, R.S. Differential responses of antioxidative defense system to prolonged salinity stress in salt-tolerant and salt-sensitive Indica rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. **Protoplasma**, v.250, p.3-19, 2012.
- MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v.7, p.405–410, 2002. DOI: 10.1016/S1360-1385(02)02312-9.
- MITTLER, R.; VANDERAUWERA, S.; GOLLERY, M.; VAN BREUSEGEM, F. Reactive oxygen gene network of plants. **Trends Plant Science**, v.9, p.490–498, 2004. DOI: 10.1016/j. tplants.2004.08.009.
- MIURA, K.; FURUMOTO, T. Cold signaling and cold response in plants. **International Journal of Molecular Sciences**, v.14, p.5312–5337, 2013. DOI: 10.3390/ijms14035312.
- MONTOYA, F.; GARCÍA, C.; PINTOS, F.; OTERO, A., Effects of irrigation regime on the growth and yield of irrigated soybean in temperate humid climatic conditions. **Agric. Agricultural Water Management**, v.193, p.30–45, 2017.
- MULLINEAUX, P.M.; BAKER, N.R. Oxidative stress: antagonistic signaling for acclimation or cell death. **Plant Physiology**, v.154, p.521-525, 2010. DOI: 10.1104/pp.110.161406.

MURATA, N.; TAKAHASHI, S.; NISHIYAMA, S.; ALLAKHVERDIEV, S.I. Photoinhibition of photosystem II under environmental stress. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.767, p.414–421, 2007. DOI: 10.1016/j.bbabi.2006.11.019

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant Cell Physiology**, v.22, p.867-880, 1981.

OANCEA, F.; VELEA, S.; MINCEA, C.; ILIE, L. Micro-algae based plant biostimulant and its effect on water stressed tomato plants. **Biofertilizers for Sustainable Agriculture and Environment**, p.104–117, 2013.

OOSTERHUIS, D.M.; WALKER, S.; EASTHAM, J. Soybean leaflet movements as an indicator of crop water stress. **Crop Science**, v.25, p.1101-1106, 1985.

ÖQUIST, G.; CHOW, W.S.; ANDERSON, J.M. Photoinhibition of photosynthesis represents a mechanism for the long-term regulation of photosystem II. **Planta**, v.186, p.450–460, 1992. DOI: 10.1007/BF00195327

OSAKABE, Y.; OSAKABE, K.; SHINOZAKI, K.; TRAN, L.S. Response of plants to water stress. **Frontiers in Plant Science**, v.5, 2014. DOI: 10.3389/fpls.2014.00086.

OXBOROUGH, K.; BAKER, N.R. Resolving chlorophyll a fluorescence images of photosynthetic efficiency into photochemical and non-photochemical components: calculation of qP and F_{v}/F_m without measuring F . **Photosynthesis Research**, v.54, p.135-142, 1997.

OYA, T.; NEPOMUCENO, A.L.; NEUMAIER, N.; FARIAS, J.R.B.; TOBITA, S.; ITO, O. Drought Tolerance Characteristics of Brazilian Soybean Cultivars: Evaluation and characterization of drought tolerance of various Brazilian soybean cultivars in the field. **Plant Production Science**, v.7, p.129-137, 2004.

PANDY, P.; SRIVASTAVA, K.; RAJPOOT, R.; RANI, A.; PANDEY, A.K.; DUBEY, R.S. Water deficit and aluminum interactive effects on generation of reactive oxygen species and responses of antioxidative enzymes in the seedlings of two rice cultivars differing in stress tolerance. **Environmental Science and Pollution Research**, v.23, p. 516-1528, 2016.

PINTO, E.P.P.; MOUTINHO, P.; RODRIGUES, L. Perguntas e respostas sobre aquecimento global. **IPAM**, 2010.

POMPELLE, M.F.; BARATA-LUÍS, R.; VITORINO, H.S.; GONÇALVES, E.R.; ROLIM, E.V.; SANTOS, M.G.; ALMEIDA-CORTEZ, J.S.; FERREIRA, V.M.; Lemos EE; Endres L. Photosynthesis; photoprotection and antioxidant activity of purging nut under drought deficit and recovery. **Biomass and Bioenergy**, v.34, p.1207-1215, 2010.

POVERO, G.; MEJIA, J. F.; DI TOMMASO, D.; PIAGGESI, A.; WARRIOR, P. A systematic approach to discover and characterize natural plant biostimulants. **Frontiers in Plant Science**, v.7, 2016. DOI: 10.3389/fpls.2016.00435.

PYNGROPE, S.; BHOMIKA, K.; DUBEY, R.S. Reactive oxygen species; ascorbate-glutathione pool; and enzymes of their metabolism in drought-sensitive

and tolerant indica rice (*Oryza sativa* L.) seedlings subjected to progressing levels of water deficit. **Protoplasma**, v.250, p.585-600, 2013.

RIVAS, R.; FALCÃO, H.M.; RIBEIRO, R.V.; MACHADO, E.C.; PIMENTEL, C.; SANTOS, M.G. Drought tolerance in cowpea species is driven by less sensitivity of leaf gas exchange to water deficit and rapid recovery of photosynthesis after rehydration. **South African Journal of Botany**, v.103, p.101–107, 2016.

RIVAS, R.; FROSI, G.; RAMOS, D.G.; PEREIRA, S.; BENKO-ISEPPON, A.M.; SANTOS, M.G. Photosynthetic limitation and mechanisms of photoprotection under drought and recovery of *Calotropis procera*, an evergreen C3 from arid regions. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.118, p.589–599, 2017.

ROUPHAEL, Y.; DE MICCO, V.; ARENA, C.; RAIMONDI, G.; COLLA, G.; DE PASCALE, S. Effect of *Ecklonia maxima* seaweed extract on yield, mineral composition, gas exchange, and leaf anatomy of zucchini squash grown under saline conditions. **Journal of Applied Phycology**, v.29, p.459–470, 2017.

ROUPHAEL, Y.; COLLA, G. Synergistic biostimulatory action: Designing the next generation of plant biostimulants for sustainable agriculture. **Frontiers in Plant Science**, 2018, v.9, 2018.

RUBAN, A.V.; JOHNSON, M.P.; DUFFY, C.D. The photoprotective molecular switch in the photosystem II antenna. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1817, p.167–181, 2012. DOI: 10.1016/j.bbabi.2011.04.007.

SAEGER, J.D.; PRAET, S.V.; VEREECKE, D.; PARK, J.; JACQUES, S.; HAN, T.; DEPUYDT, S. Toward the molecular understanding of the action mechanism of *Ascophyllum nodosum* extracts on plants. **Journal of Applied Phycology**, 2019. DOI: 10.1007/s10811-019-01903-9. 2019

SAEIDI, M.; ABDOLI, M. Effect of drought stress during grain filling on yield and its components, gas exchange variables and some physiological traits of wheat cultivars. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v.17 p.893-898, 2015.

SANDERS, G.J.; ARNDT, S.K. Osmotic Adjustment Under Drought Conditions. In **Plant Responder to Drought Stress**, Cap. 8, p.199-229. 2016.

SANTANIELLO, A.; SCARTAZZA, A.; GRESTA, F.; LORETI, E.; BIASONE, A.; DI TOMMASO, D.; PIAGGESI, A.; PERATA, P. *Ascophyllum nodosum* Seaweed Extract Alleviates Drought Stress in Arabidopsis by Affecting Photosynthetic Performance and Related Gene Expression. **Frontiers in Plant Science**, v.8, p.1362. DOI=10.3389/fpls.2017.01362. 2017.

SHARMA, H.S.S.; FLEMING, C.; SELBY, C.; RAO, J.R.; MARTIN, T. Plant biostimulants: a review on the processing of macroalgae and use of extracts for crop management to reduce abiotic and biotic stresses. **Journal of Applied Phycology**, v.26, p.465–490, 2018.

SHARMA, P.; JHA, A.B.; DUBEY, R.S.; PESSARAKLI, M. Reactive oxygen species; oxidative damage; and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany**, 2012. DOI:10.1155/2012/21703; 2012.

SHUKLA, P.S.; SHOTTON, K.; NORMAN, E.; NEILY, W.; CRITCHLEY, A.T.; PRITHIVIRAJ, B.; Seaweed extract improve drought tolerance of soybean by regulating stress-response genes. **AOB Plants**, v.10, 2018. DOI:10.1093/aobpla/plx051.

SHUKLA, P.S.; SHOTTON, K.; NORMAN, E.; NEILY, W.; CRITCHLEY, A.T.; PRITHIVIRAJ, B.; Seaweed extract improve drought tolerance of soybean by regulating stress-response genes. **AOB Plants**, v.10, 2017. doi: 10.1093/aobpla/plx051.

SILVA, F.A.; SEDIYAMA, T.; BORÉM, A. Importância Econômica. In: Soja: do plantio à colheita. **Editores UFV**, p. 55-65. 2015.

SNIDER, J.L.; COLLINS, G.D.; WHITAKER, J.; PERRY, C.D.; CHASTAIN, D.R. Electron transport through photosystem II is not limited by a wide range of water deficit conditions in field-grown *Gossypium hirsutum*. **Journal Agronomy & Crop Science**, v.200, p.77–82, 2014.

SCHOLANDER, P.F.; HAMMEL, H.T.; BRADSTREET, E.D.; HEMINGSEN, E.A. Sap pressure in vascular plants. **Science**, v.148, p. 339-345, 1965.

TALEBI, R.; ENSAFI, M.H.; BAGHEBANI, N.; KARAMI, E.; MOHAMMADI, K. Physiological responses of chickpea (*Cicer arietinum*) genotypes to drought stress. **Environmental and Experimental Biology**, v.11, p.9-15, 2013.

TATAGIBA, S.D. Fotossíntese; metabolismo antioxidativo e respotas de defesa de plantas de arroz infectadas por *Microdochium oryzae* e supridas com silício. 126f. Tese (doutorado); Universidade Federal de Viçosa. 2013.

TIAN, S.; WANG, X.; LI, P.; WANG, H.; JI, H.; XIE, .J; QIU, Q.; SHEN, D.; DON, H. Plant aquaporin AtPIP1 apoplastic H₂O₂ induction to disease immunity pathways. **Plant Physiology**, v.171, p.1635-1650, 2016.

TREVISAN, S.; FRANCIOSO, O.; QUAGGIOTTI, S.; NARDI, S. Humic substances biological activity at the plant-soil interface: From environmental aspects to molecular factors. **Plant Signaling & Behavior**, v.5, p.635–643, 2010.

VAN OOSTEN, M.J.; PEPE, O.; DE PASCALE, S.; SILLETTI, S.; MAGGIO, A. The role of biostimulants and bioeffectors as alleviators of abiotic stress in crop plants. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v.4, 2017.

WANG, X.; CAI, X.; XU, C.; WANG, Q.; DAI, S. Drought-responsive mechanisms in plant leaves revealed by proteomics. **International Journal of Molecular Sciences**, v.18, 2016. DOI: 10.3390/ijms17101706

WANG, S.; K. ZHUANG, S.; ZHANG, M.; YANG, F.; Q. MENG. Overexpression of a Tomato carotenoid ϵ -hydroxylase gene (SILUT1) improved the drought tolerance of transgenic Tobacco. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.70, p.235-245, 2018.

WANG, X.; MENG, Z.; CHANG, X.; DENG, Z.; LI, Y.; LV, M. Determination of a suitable indicator of tomato water content based on stem diameter variation. **Scientia Horticulturae**, v.215, p.142-148, 2017.

WELLBURN, A.R. The spectral determination of chlorophylls *a* and *b*; as well as total carotenoids; using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal of Plant Physiology**, v.144, p.307-313; 1994.

WIJEWARDANA, C.; REDDY, K.R.; ALSAJRI, F.A.; IRBY, J.T.; KRUTZ, J.; GOLDEN, B. Quantifying soil moisture deficit effects on soybean yield and yield component distribution patterns. **Irrigation Science**, v.36, p.241–255, 2018.

WOODROW, P.; CIARMIELLO, L.F.; ANNUNZIATA, M.G.; PACIFICO, S.; IANNUZZI, F.; MIRTO, A.; D'AMELIA, L.; DELL'AVERSANA, E.; PICCOLELLA, S.; FUGGI, A.; CARILLO, P. Durum wheat seedling responses to simultaneous high light and salinity involve a fine reconfiguration of amino acids and carbohydrate metabolism. **Physiologia Plantarum**, v.159, p.290–312, 2017.

YAKHIN, O.; LUBYANOV, A. A.; YAKHIN, I. A.; BROWN, P. Biostimulants in plant science: a global perspective. **Frontiers in Plant Science**, v.7, 2017. DOI: 10.3389/fpls.2016.02049.

YAMORI, W. Photosynthetic response to fluctuating environments and photoprotective strategies under abiotic stress. **Journal of Plant Research**, v.129, p. 379-95, 2016.

YEMM; E.W.; COCKING; E C. The determination of amino acids with ninhydrin. **Analyst**, v.80; p.209-213; 1955.

YOU, J.; CHAN, Z. ROS regulation during abiotic stress responses in crop plants. **Frontiers in Plant Science**, v.6 , 2015. DOI: 10.3389/fpls.2015.01092.

YU, X.; YUAN, F.; FU, X.; ZHU, D. Profiling and relationship of water-soluble sugar and protein compositions in soybean seeds. **Food Chemistry**, v.196, p.776-782, 2016.

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.

ZHANG, Z.; JIA, Y.; GAO, H.; ZHANG, L.; LI, H.; MENG, Q. Characterization of PSI recovery after chilling-induced photoinhibition in cucumber (*Cucumis sativus* L.) leaves. **Planta**, v.234, p.883–889, 2011.