

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**CÁLCIO, CITOCININA, DÉFICIT HÍDRICO E SOMBREAMENTO NA
FIXAÇÃO DE ESTRUTURAS REPRODUTIVAS DE SOJA**

SAMUEL LUIZ FIOREZE

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

BOTUCATU – SP

Agosto - 2013

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**CÁLCIO, CITOCININA, DÉFICIT HÍDRICO E SOMBREAMENTO NA
FIXAÇÃO DE ESTRUTURAS REPRODUTIVAS DE SOJA**

SAMUEL LUIZ FIOREZE

Orientador: Prof. Dr. João Domingos Rodrigues

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

BOTUCATU – SP

Agosto - 2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

F518c Fioreze, Samuel Luiz, 1985-
Cálcio, citocinina, déficit hídrico e sombreamento na fixação de estruturas reprodutivas de soja / Samuel Luiz Fioreze. - Botucatu : [s.n.], 2013
ix, 104 f. : tabs., grafs., fots. color.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu, 2013
Orientador: João Domingos Rodrigues
Inclui bibliografia

1. Plantas - Reprodução. 2. Soja - Produção. 3. Cálcio - Efeito fisiológico. 4. Hormônios vegetais. 5. Fotossíntese. 6. Irrigação com déficit hídrico. I. Rodrigues, João Domingos. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrômicas. III. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS

CAMPUS DE BOTUCATU

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

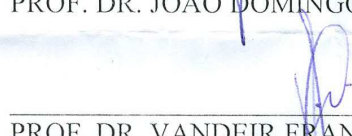
TÍTULO: "CÁLCIO, CITOCININA, DÉFICIT HÍDRICO E SOMBREAMENTO NA
FIXAÇÃO DE ESTRUTURAS REPRODUTIVAS DE SOJA "

ALUNO: SAMUEL LUIZ FIOREZE

ORIENTADOR: PROF. DR. JOÃO DOMINGOS RODRIGUES

Aprovado pela Comissão Examinadora



PROF. DR. JOÃO DOMINGOS RODRIGUES

PROF. DR. VANDEIR FRANCISCO GUIMARÃES

PROFª DRª ELIZABETH ORIKA ONO

PROFª DRª TATIANE MARIA RODRIGUES

PROF. DR. MARCELO DE ALMEIDA SILVA

Data da Realização: 02 de agosto de 2013.

E mais uma vez eu digo... “O tempo retorna”...

Ao amor de uma vida inteira...

Ao meu presente de Deus, meu tesouro precioso...

À minha esposa, amiga e companheira de todas as horas...

Ana Carolina da Costa Lara Fioreze...

DEDICO.

*À Deus, a força nos momentos difíceis, a paz nos momentos de
desespero, a esperança ao acordar todos os dias...*

OFEREÇO.

AGRADECIMENTOS

À Deus pela vida, pelo trabalho e por mostrar todos os dias o verdadeiro caminho.

Aos meus pais, Adelmo Luiz Fioreze e Anna Maria Fioreze pela vida, pela educação, pelas orações, pelos exemplos e pelos esforços incessantes para a conclusão dos meus estudos.

Ao meu orientador e amigo Prof. Dr. João Domingos Rodrigues pelos cinco anos de convivência, pela oportunidade, pela experiência, pelos conselhos e pelo incentivo em todas as horas.

À Faculdade de Ciências Agrônômicas – UNESP/Botucatu, por me acolher como aluno neste período de Pós Graduação.

À CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - pela concessão da bolsa de estudos.

A todos os professores do Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal da Faculdade de Ciências Agrônômicas – UNESP/ Botucatu pela atenção e ensinamentos.

Aos queridos funcionários do Departamento Produção e Melhoramento Vegetal, UNESP/ Botucatu, em especial à Verinha, Lana, Valéria e Amanda, pelos bons momentos e boas risadas!

Aos funcionários de campo do Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal, UNESP/ Botucatu, Célio, Casemiro, Cido, Camargo, Mateus e ao Fio pela disponibilidade e ajuda na condução dos experimentos.

Aos amigos e colegas de Pós-Graduação, Laércio, Laerte, Gustavo e Flávio pelo apoio moral e prático na implantação e condução dos experimentos.

Aos valentes estagiários João Paulo (Perninha/Moreno I), André (Camarão/Moreno II), Luis Fernando (Girimum) e Marcelo (Amarildo), pela ajuda, amizade e pelas muitas gargalhadas no decorrer dos experimentos.

À minha esposa, e às vezes estagiária, Ana Carolina, pela ajuda, pelo apoio e pela paciência nos momentos difíceis.

Às colegas Amanda e Essione, pelo auxílio nos momentos de pane do bom e velho IRGA Li 6200.

A todos que participaram deste trabalho de forma direta ou indireta.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	VII
LISTA DE FIGURAS	X
RESUMO	1
SUMMARY	4
1 INTRODUÇÃO	6
2 REVISÃO DE LITERATURA	9
2.1 Componentes da produção e produtividade da cultura da soja	9
2.2 Fatores que afetam o desenvolvimento de estruturas reprodutivas	10
2.2.1 Idade, posição e vascularização de flores	12
2.2.2 Metabolismo de carboidratos.....	16
2.2.3 Balanço hormonal e o desenvolvimento reprodutivo de plantas.....	18
2.2.4 Cálcio e o desenvolvimento reprodutivo de plantas.....	22
2.2.5 Interação entre fatores que afetam o desenvolvimento reprodutivo de plantas..	25
3 MATERIAL DE MÉTODOS	26
3.1 Experimento 1: Aspectos anatômicos do desenvolvimento de flores de soja	26
3.1.1 Localização do experimento	26
3.1.2 Tratamentos e delineamento experimental	27
3.1.3 Instalação e condução do experimento	27
3.1.4 Avaliações	28
3.2 Experimento 2: Comportamento produtivo da soja em função de épocas de aplicação de cálcio e citocinina	30
3.2.1 Localização do experimento	30
3.2.2 Tratamentos e delineamento experimental	31
3.2.3 Instalação e condução do experimento	32
3.2.4 Avaliações	35
3.3 Experimento 3: Comportamento produtivo da soja em função da aplicação de cálcio e citocinina sob estresse ambiental.....	38
3.3.1 Localização do experimento	38
3.3.2 Tratamentos e delineamento experimental	38
3.3.3 Instalação e condução do experimento	38
3.3.4 Avaliações	41

3.4 Análise dos dados	44
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
4.1 Experimento 1: Aspectos anatômicos do desenvolvimento de flores de soja	45
4.2 Experimento 2: Comportamento produtivo da soja em função de épocas de aplicação de cálcio e citocinina	51
4.2.1 Índice SPAD e trocas gasosas	51
4.2.2 Componentes da produção e produtividade	55
4.3 Experimento 3: Comportamento produtivo da soja em função da aplicação de cálcio e citocinina sob estresse ambiental	64
4.3.1 Conteúdo relativo de água (CRA)	64
4.3.2 Trocas gasosas	68
4.3.3 Tolerância protoplasmática foliar e índice SPAD	76
4.3.4 Estimativa da expansão de tecidos jovens	80
4.3.5 Componentes da produção e produção por planta	82
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	88
6 CONCLUSÕES	90
REFERÊNCIAS	92

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características morfológicas das cultivares de soja utilizadas no estudo dos aspectos anatômicos do desenvolvimento de flores. Botucatu (SP), 2011.....	27
Tabela 2. Atributos físico-químicos do solo experimental determinados pelo Laboratório de Relação Solo-Planta do Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal UNESP-FCA. Botucatu (SP), 2011.....	28
Tabela 3. Atributos físico-químicos do solo nas duas áreas experimentais, determinados pelo Laboratório de Relação Solo-Planta do Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal da UNESP-FCA. Botucatu (SP), 2011.....	33
Tabela 4. Caracterização morfológica de plantas de soja nas duas áreas experimentais no estágio V12 de desenvolvimento. Botucatu (SP), 2011.	34
Tabela 5. Atributos físico-químicos do solo experimental determinados pelo Laboratório de Relação Solo-Planta do Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal da UNESP-FCA. Botucatu (SP), 2012.....	39
Tabela 6. Resumo da análise de variância conjunta (valores de F) para índice SPAD, assimilação líquida de carbono, transpiração, condutância estomática, eficiência de uso da água e concentração interna de CO ₂ em plantas de soja BRS 245 RR em função de estádios fenológicos de aplicação de cálcio, citocinina e cálcio + citocinina. Botucatu (SP), 2012. 52	
Tabela 7. Comparação de médias para índice SPAD, assimilação líquida de carbono, transpiração, condutância estomática, eficiência de uso da água e concentração interna de CO ₂ em função da aplicação de cálcio e citocinina em diferentes estádios fenológicos da plantas de soja BRS 245 RR. Botucatu (SP), 2012.	54
Tabela 8. Resumo da análise de variância individual (valores de F) na área experimental 1 para componentes da produção e produtividade da cultura de soja BRS 245 RR em função de estádios fenológicos de aplicação e da aplicação de cálcio, citocinina e cálcio + citocinina. Botucatu (SP), 2012.....	56
Tabela 9. Resumo da análise de variância individual (valores de F) na área experimental 2, para componentes da produção e produtividade da cultura de soja BRS 245 RR em função de estádios fenológicos de aplicação e da aplicação cálcio, citocinina e cálcio + citocinina. Botucatu (SP), 2012.....	57

Tabela 10. Comparação de médias para porcentagem da produção nos terços inferior e superior de plantas de soja BRS 245 RR em função de estádios fenológicos de aplicação e da aplicação de cálcio, citocinina e cálcio + citocinina na área experimental 1. Botucatu (SP), 2012.....	58
Tabela 11. Comparação de médias para componentes de produção de plantas de soja BRS 245 RR em função de estádios fenológicos de aplicação e da aplicação de cálcio, citocinina e cálcio + citocinina na área experimental 2. Botucatu (SP), 2012.....	59
Tabela 12. Comparação de médias para número de vagens no terço médio de plantas (NVMED) e desdobramento da interação entre estádios fenológicos de aplicação e da aplicação de cálcio, citocinina e cálcio + citocinina para produtividade da cultura de soja BRS 245 RR na área experimental 2. Botucatu (SP), 2012.	60
Tabela 13. Resumo da análise de variância (valores de F) para os valores de conteúdo relativo de água nas folhas em plantas de soja BRS 245 RR em função do estresse ambiental e da aplicação de cálcio, citocinina e cálcio + citocinina no estádio R2. Botucatu (SP), 2012.....	64
Tabela 14. Comparação de médias para valores de conteúdo relativo de água nas folhas em plantas de soja BRS 245 RR em função do efeito isolado do estresse ambiental e da aplicação de cálcio, citocinina e cálcio + citocinina no estádio R2. Botucatu (SP), 2012..	65
Tabela 15. Comparação de médias de conteúdo relativo de água nas folhas aos 4 DAA em plantas de soja BRS 245 RR para o desdobramento do efeito do estresse ambiental e da aplicação de cálcio, citocinina e cálcio + citocinina no estádio R2. Botucatu (SP), 2012..	66
Tabela 16. Resumo da análise de variância (valores de F) para os valores de taxa de assimilação líquida de carbono, taxa de transpiração, eficiência do uso da água, condutância estomática, concentração interna de CO ₂ e temperatura de folhas de plantas de soja BRS 245 RR em função do estresse ambiental e da aplicação de cálcio, citocinina e cálcio + citocinina no estádio R2. Botucatu (SP), 2012.....	69
Tabela 17. Comparação de médias para valores de taxa de assimilação líquida de carbono, taxa de transpiração, eficiência do uso da água, condutância estomática, concentração interna de CO ₂ e temperatura de folhas de plantas de soja BRS 245 RR para o efeito do estresse ambiental no estádio R2. Botucatu (SP), 2012.	71
Tabela 18. Comparação de médias para valores de taxa de transpiração de folhas de plantas de soja BRS 245 RR aos 14 dias após a aplicação de cálcio, citocinina e cálcio + citocinina no estádio R2. Botucatu (SP), 2012.....	74

Tabela 19. Comparação de médias de taxa de assimilação líquida de carbono, taxa de transpiração e concentração interna de carbono aos 12 DAA em plantas de soja BRS 245 RR para o desdobramento do efeito do estresse ambiental e da aplicação de cálcio, citocinina e cálcio + citocinina no estádio R2. Botucatu (SP), 2012.	75
Tabela 20. Resumo da análise de variância (valores de F) para os valores de índice SPAD, condutividade livre (CL) e condutividade total (CT) de folhas de plantas de soja BRS 245 RR em função do estresse ambiental e da aplicação de cálcio, citocinina e cálcio + citocinina no estádio R2. Botucatu (SP), 2012.....	76
Tabela 21. Comparação de médias para valores de índice SPAD e condutividade total de folhas de plantas de soja BRS 245 RR após o período de recuperação do estresse ambiental no estádio R2. Botucatu (SP), 2012.....	77
Tabela 22. Comparação de médias para valores de condutividade livre de folhas em plantas de soja BRS 245 RR para o desdobramento do efeito do estresse ambiental e da aplicação de cálcio, citocinina e cálcio + citocinina no estádio R2. Botucatu (SP), 2012..	78
Tabela 23. Resumo da análise de variância (valores de F) para variáveis relacionadas com a estimativa da expansão em tecidos jovens de plantas de soja BRS 245 RR em função do estresse ambiental e da aplicação de cálcio, citocinina e cálcio + citocinina no estádio R2. Botucatu (SP), 2012.....	80
Tabela 24. Comparação de médias para variáveis relacionadas com a estimativa da expansão em tecidos jovens de plantas de soja BRS 245 RR para o efeito do estresse ambiental no estádio R2. Botucatu (SP), 2012.....	81
Tabela 25. Comparação de médias de massa foliar específica em plantas de soja BRS 245 RR para o desdobramento do efeito do estresse ambiental e da aplicação de cálcio, citocinina e cálcio + citocinina no estádio R2. Botucatu (SP), 2012.	82
Tabela 26. Resumo da análise de variância (valores de F) para componentes de produção e produção de grãos em plantas de soja BRS 245 RR em função do estresse ambiental e da aplicação de cálcio, citocinina e cálcio + citocinina no estádio R2. Botucatu (SP), 2012..	83
Tabela 27. Comparação de médias para componentes de produção e produção de grãos em plantas de soja BRS 245 RR para o efeito do estresse ambiental no estádio R2. Botucatu (SP), 2012.....	84
Tabela 28. Comparação de médias de porcentagem da produção no terço inferior de plantas de soja BRS 245 RR para o desdobramento do efeito do estresse ambiental e da aplicação de cálcio, citocinina e cálcio + citocinina no estádio R2. Botucatu (SP), 2012..	86

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Ilustração dos estádios de desenvolvimento de flores de soja para o estudo dos aspectos anatômicos do desenvolvimento de flores. Fase de botão floral (a), flor com pétalas visíveis (b), flor totalmente aberta (c) e flor senescente, sete dias após a fase de botão floral (d). Botucatu (SP), 2011. 29
- Figura 2.** Valores médios de temperatura e valores acumulados de chuva para o período de condução dos experimentos de campo. Botucatu (SP), 2012. Exp.1: experimento 1; Exp.2: experimento 2. 31
- Figura 3.** Características ambientais das duas áreas de cultivo [área 1 (a, c, e) e área 2 (b, d, f)] dentro do período de avaliação de cada época. Botucatu (SP), 2012. FFFA: fluxo de fótons fotossinteticamente ativos..... 36
- Figura 4.** Características ambientais determinadas para a comparação entre tratamento controle x sombreamento (a, b, c) e controle x déficit hídrico (d). Botucatu (SP), 2012. FFFA: fluxo de fótons fotossinteticamente ativos..... 41
- Figura 5.** Genótipo CD 202: Botão floral (1º estágio) em corte longitudinal mostrando a região do estigma e estames durante a formação dos grãos de pólen (A); Genótipo CD 206: Botão floral (2º estágio) em corte longitudinal (B); Genótipo CD205: Botão floral (2º estágio), com detalhe da região do estigma com a presença de grãos de pólen e formação do tubo polínico (C-D). Genótipo CD202: Botão floral (1º estágio) com aspecto geral do óvulo (E). Genótipo CD224: Aspecto geral da semente (3º estágio), notar a presença do embrião em formação (F). (an= antera; eb= embrião; es= estilete; et= estigma; gp= grão de pólen; mg= megagametófito; ov= óvulo; se= semente; tp= tubo polínico). Botucatu (SP), 2011. 47
- Figura 6.** Genótipo CD202: Botão floral em corte transversal e longitudinal da região de inserção da flor no racemo, respectivamente, apresentado protoxilema (A-B); Flor (6º estágio) em corte longitudinal destacando a presença de metaxilema (C-D). (fv= feixe vascular; px= protoxilema). Botucatu (SP), 2011. 49

RESUMO

A eficiência na fixação de estruturas reprodutivas apresenta efeitos diretos sobre a expressão do potencial produtivo da cultura da soja, podendo ser afetada por fatores endógenos de caráter anatômico, nutricional ou fisiológico; ou exógenos relacionados ao ambiente de cultivo. O presente trabalho teve como objetivos (i) caracterizar o tecido vascular e o momento da fecundação de flores em genótipos de soja; estudar os efeitos da aplicação isolada ou combinada de cálcio e citocinina durante os estádios iniciais do desenvolvimento reprodutivo de plantas no comportamento produtivo da cultura da soja e (iii) verificar a existência de interações, em nível fisiológico e produtivo, entre a aplicação de cálcio e citocinina, com a ocorrência de estresse por deficiência hídrica e de luminosidade. Foram conduzidos três experimentos no período entre 2010 e 2012, nas dependências da Faculdade de Ciências Agronômicas (FCA/UNESP), Campus de Botucatu (SP). O primeiro experimento foi implantado em

cultivo protegido, onde o tecido vascular e o momento da polinização e da fecundação de flores em oito genótipos de soja foram estudados, desde a fase de botão floral até a fase de flor senescente, em delineamento de blocos casualizados com quatro repetições. O segundo experimento foi conduzido em delineamento de blocos casualizados em esquema fatorial 3 x 3 com testemunha, repetido duas vezes a campo. Os fatores foram formados pela aplicação de cálcio (Ca), citocinina (CK) e Ca + CK, realizada nos estádios fenológicos Vn, R1 e R2 do desenvolvimento da cultura, com quatro repetições. Foram avaliados o índice SPAD e as trocas gasosas das plantas no período de zero aos 12 dias após a aplicação em cada estádio. Ao final do ciclo da cultura foram determinados os componentes da produção nos estratos inferior, médio e superior do dossel das plantas e a produtividade da cultura. O terceiro experimento foi conduzido em cultivo protegido, em delineamento de blocos casualizados em esquema de parcelas subdivididas. As parcelas foram formadas por um ambiente sem estresse e pela imposição de estresse por déficit hídrico e por sombreamento com duração de 12 dias a partir do estádio R2. As sub-parcelas foram formadas pela aplicação de Ca, CK e Ca + CK no estádio R2, além de um controle sem aplicação, com quatro repetições. Foram avaliados o conteúdo relativo de água nas folhas e as trocas gasosas de plantas durante a fase de estresse. Ao final do período de estresse determinou-se a tolerância protoplasmática foliar e a estimativa do crescimento em tecidos jovens. No final do ciclo da cultura foram determinados os componentes da produção por estrato de dossel das plantas e o rendimento de grãos por planta. Foi verificado que xilema é pouco desenvolvido em flores durante as fases de polinização e fecundação. O baixo desenvolvimento do floema em flores no momento da fecundação pode limitar o transporte de nutrientes como o Ca, o qual é determinante para a fecundação e desenvolvimento inicial do embrião. A aplicação de Ca e CK em condições de campo não afetou o índice SPAD e as trocas gasosas de plantas de soja, tampouco os componentes da produção e a produtividade da cultura, independente da época de aplicação. Em condição de estresse, a aplicação de Ca e CK proporcionou efeitos significativos em nível de evitamento e tolerância nas fases iniciais de déficit hídrico, contudo, estes efeitos não se refletiram na fixação de vagens e na produção de grãos na planta. Embora o desenvolvimento anatômico de flores de soja possa ser um fator limitante para o transporte de Ca em embriões recém formados, a nutrição suplementar com Ca, além da aplicação de CK via aplicação foliar, não resultou em aumento na quantidade de vagens fixadas por planta, mesmo em ambiente estressante. Assim, o comportamento de

plantas submetidas à aplicação de Ca e CK precisa de mais estudos, principalmente, em termos de tecnologia de aplicação e condições ambientais específicas.

Palavras-chave: *Glycine max* (L.) Merrill, vagens, xilema, cálcio, citocinina, fotossíntese.

CALCIUM, CYTOKININ, DROUGHT AND SHADE IN POD SETTING OF SOYBEAN

Botucatu, 2013. 104p. Tese (Doutorado em Agronomia/Agricultura) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: SAMUEL LUIZ FIOREZE

Adviser: JOÃO DOMINGOS RODRIGUES

SUMMARY

The efficiency of the reproductive units fixation has direct effects on the soybean yield potential. It can be affected by endogenous factors such as anatomical, physiological, and nutritional, or exogenous related to the growth environment. The objectives of this work was (i) to study the vascular development and the fecundation time of flowers in soybean genotypes; (ii) to study the effects of isolated calcium application or combined application of calcium and cytokinin during the initial stages of reproductive development of the plants in the productive response of soybean; and (iii) to verify the physiological and productive interactions between calcium and cytokinin applications under drought and light stresses. Three experiments were carried out from 2010 to 2012, at the Faculdade de Ciências Agronômicas (FCA/UNESP), Botucatu, São Paulo State, Brazil. The first experiment was grown in a greenhouse. The vascular tissue and the pollination and fertilization time of the flowers from eight soybean genotypes were studied from flower bud stage to bloom senescent stage. The experimental design was a randomized blocks with four replications. The experimental design of the second experiment was a randomized block design in a 3x3+1 factorial with four replications, replicated twice under field conditions. The treatments consisted of isolated calcium (Ca) application, isolated cytokinin (CK) application, and combined application of Ca and CK, applied at the Vn, R1 e R2 stages of the crop development. SPAD index and gas exchange were determined in the period between zero and 12 day after application, in each stage. At the maturity, yield and yield components were determined in the three canopy extract of the plants. The third experiment was grown in a greenhouse and the experimental design was a split-plot design with four replications. The plots were consisted of different conditions during R2 stage (no stress condition, drought and shading stress for 12 days) and the subplots were consisted of calcium and cytokinin applications, isolated or

combined. Relative water content and gas exchange were determined during the stress period. Protoplasmic tolerance and young tissues growing were estimated at the end of the stress period. At the maturity, yield and yield components were determined in the three canopy extract of the plants. The xylem maturity occurs in the late stages of the flower development in soybean, after the pollination. In this stage, the embryo is starting its development. The low development of the phloem in the flower at the fertilization time may limit the transport of nutrients such as Ca, which is crucial for fertilization and early embryo development. Calcium and cytokinin applications did not affect the SPAD index and gas exchange as well yield and yield components of soybean under field conditions, regardless the application stage. Under stress conditions, calcium and cytokinin applications increased the plant tolerance, at least at the beginning of the stress period. However, these effects did not reflect in the pod setting and yield of the plants. Although the anatomical development of soybean flowers might be a limiting factor for calcium transport in young embryos, additional calcium or cytokinin, sprayed at the reproductive stage, did not affect the pod set in soybean, even under a stressed condition. Therefore, the response of the plants treated with Ca and CK needs further studies in terms of application technology and environmental conditions.

Key words: *Glycine max* (L.) Merrill, Pods, xylem, calcium, cytokinin, photosynthesis.

1 INTRODUÇÃO

A cultura da soja atingiu 131 anos de presença no Brasil em 2013. A exploração da oleaginosa iniciou-se no sul do país e hoje já é encontrada nos mais diferentes ambientes, retratado pelo avanço do cultivo em áreas de Cerrado nas últimas décadas. O explosivo crescimento da produção de soja no Brasil, de quase 260 vezes no transcorrer de apenas quatro décadas, determinou uma cadeia de mudanças sem precedentes na história do País (EMBRAPA, 2004). Atualmente, a cultura da soja ocupa lugar de destaque no cenário agrícola mundial, sendo a principal espécie cultivada no Brasil, responsável pelos elevados valores do PIB agrícola, o qual representa 25% do PIB do país (IBGE, 2012).

A produtividade de grãos da cultura da soja aumentou de forma significativa nas últimas décadas, em função do aumento dos investimentos em nível de técnicas de cultivos, maquinários e materiais genéticos superiores. Nos últimos dez anos, pode-se observar tendência de estagnação, com aumentos pouco significativos da

produtividade (CONAB, 2013). Embora apresente elevado potencial produtivo, determinado geneticamente, grande parte deste potencial não é verificado nas condições atuais de cultivo da soja (DYBING, 1994). Este é um dos grandes desafios para o aumento nos índices de produtividade da cultura, considerando-se a crescente demanda para a produção de alimentos frente ao aumento do consumo mundial.

A produtividade da cultura da soja é determinada basicamente pelo número de grãos por planta e pelo peso médio de grãos (JIANG e EGLI, 1993). Desta forma, o aumento nos índices de produtividade estará relacionado a melhorias nessas características. O potencial genético para produção de grãos na cultura é verificado em função da grande quantidade de flores produzidas (DYBING, 1994), sendo estas, vagens e grãos em potencial. Contudo, grande parte destas flores não chegam a formar vagens produtivas, sendo abortadas nas fases iniciais do desenvolvimento. Mesmo cultivares que apresentam elevado número de flores fixadas no início do período reprodutivo apresentam peso médio de grãos reduzido, não alterando a produtividade final (FAGERIA et al., 2006). Desta forma, a identificação dos fatores relacionados à expressão do potencial produtivo é de grande importância para que incrementos em produtividade sejam alcançados.

Muitos estudos têm sido conduzidos com o objetivo de identificar as características envolvidas com a regulação da expressão do potencial produtivo da soja. Contudo, a natureza e a magnitude das interações ainda são pouco elucidadas. Entre as principais características estudadas estão a capacidade de síntese e utilização de assimilados, absorção e distribuição de nutrientes e o balanço entre hormônios promotores e inibidores do crescimento. Além disso, o desenvolvimento vascular nas estruturas reprodutivas parece ser um fator determinante para o sucesso do seu desenvolvimento, o qual provavelmente apresenta elevada correlação com as demais características. O restrito desenvolvimento vascular em estruturas reprodutivas pode ser um fator limitante para o transporte de assimilados e nutrientes, principalmente, aqueles com baixa mobilidade nos vasos do floema. A diferenciação destes tecidos, contudo, é controlada através do balanço hormonal da planta, que por sua vez pode variar em função de limitações impostas ao metabolismo, em situações de estresse ambiental, ou mesmo em função da disponibilidade de assimilados para o desenvolvimento dos grãos.

O desenvolvimento vascular de estruturas reprodutivas da soja tem sido estudado apenas em nível de eixo do racemo, sendo que o desenvolvimento vascular

de flores individuais e sua conexão vascular, principalmente, na forma de xilema, é pouco estudado. Considerando que nutrientes determinantes para a fecundação e o desenvolvimento inicial de embriões, como o cálcio, tem seu movimento limitado em rotas simplásticas, o desenvolvimento do xilema e estabelecimento de conexões entre a flor e o racemo são de grande importância para a nutrição dessas estruturas, principalmente, em condições de limitações ambientais. É conhecido que a citocinina desempenha funções importantes no metabolismo fotossintético e em processos de divisão e diferenciação celular, podendo ser um fator determinante para o desenvolvimento vascular em flores de soja.

Para melhor entender o desenvolvimento vascular de flores de soja e das interações entre citocinina e cálcio em condições ambientais desfavoráveis, o presente trabalho teve por objetivos (i) caracterizar o tecido vascular e o momento da fecundação de flores em genótipos de soja; (ii) estudar os efeitos da aplicação isolada ou combinada de cálcio e citocinina durante os estádios iniciais do desenvolvimento reprodutivo de plantas no comportamento produtivo da cultura da soja e (iii) verificar a existência de interações, em nível fisiológico e produtivo, entre a aplicação de cálcio e citocinina, com a ocorrência de estresse por deficiência hídrica e de luminosidade.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Componentes da produção e produtividade da cultura da soja

O rendimento de grãos na cultura da soja é definido através da relação entre três principais componentes: número de vagens por planta ou por área, número de grãos por vagem e o peso médio de grãos. O número de vagens é determinado pelo balanço entre a produção de flores por planta e a proporção destas que se desenvolvem em vagens. O número de flores por planta, por sua vez, é determinado pelo número de flores por nó e pelo número de nós por planta (JIANG e EGLI, 1993). Os componentes da produção não afetam a produtividade de uma cultura de maneira isolada, mas sim, de maneira conjunta. A produtividade é, portanto, resultante da interação de todos os seus componentes. Em muitos casos, o aumento em um dos componentes resulta na diminuição de outro, implicando em dificuldades no aumento da produtividade (FAGERIA et al., 2006).

O estudo dos componentes da produção de culturas é de grande interesse para o aumento da produtividade, pois permite o conhecimento fisiológico das bases da produção, que podem ser utilizados para a seleção de materiais genéticos superiores ou para o desenvolvimento de práticas de cultivo. Este conhecimento tem sido aprimorado nos últimos anos pela utilização de análise de correlação entre componentes da produção e a produtividade (FAGERIA et al., 2006). O fenômeno da grande produção de flores pela soja e sua capacidade de produzi-las após iniciado o processo de enchimento de grãos definem a existência de um elevado potencial reprodutivo da cultura, contudo, este potencial não é refletido no rendimento final da cultura (DYBING, 1994).

O potencial produtivo de uma cultura é definido como a produtividade obtida em condições de cultivo onde se busca eliminar os fatores que limitam o desenvolvimento das plantas, como deficiências nutricionais, pragas, doenças, plantas invasoras e excesso ou falta de água durante todo o ciclo da cultura (EVANS, 1993a). A produtividade potencial da cultura da soja é determinada por fatores genéticos. Além disso, fatores externos limitantes, que atuam em algum momento durante o ciclo da cultura, também influenciam na produtividade (HEIFFIG, 2002). Apesar da soja apresentar um elevado potencial de rendimento de grãos, parte deste potencial é perdido em função do abortamento e da abscisão de estruturas reprodutivas (flores, vagens e grãos), como reflexo da interação com o ambiente e da competição entre os órgãos por assimilados durante o ciclo de desenvolvimento (NAVARRO JUNIOR e COSTA, 2002).

No estudo dos fatores que regulam a produção de grãos de soja, muita ênfase tem sido dada para o período de enchimento de grãos, quando o tamanho do grão é determinado (DYBING, 1994). Por sua vez, menos entendidos são os fatores que atuam durante a floração quando o número potencial de vagens por planta e de grãos por legume é, em grande parte, determinado (McBLAIN e HUME, 1981).

2.2 Fatores que afetam o desenvolvimento de estruturas reprodutivas

A ocorrência de abortamento de grandes quantidades de flores e vagens é comumente observada na cultura da soja (DYBING et al., 1986). A fase reprodutiva é caracterizada pela ocorrência de intensa divisão celular em óvulos jovens e marcada pela rápida expansão de vagens (LIU et al., 2004a). Em condições normais de cultivo, a porcentagem de vagens fixadas varia de 20 a 40% (JIANG e EGLI, 1993), sendo

esta característica negativamente afetada pelas condições de estresse ambiental. A ocorrência de abortamento é verificada mesmo em flores polinizadas e fecundadas, no entanto, flores com tendência ao abortamento apresentam crescimento mais lento do que aquelas que se desenvolvem em vagens (HUFF e DYBING, 1980).

A fixação de grãos é determinada pelo número de óvulos por flor, pela frequência de embriões abortados e pelo número de vagens por planta (TISCHNER et al., 2003). Vários estudos demonstram a base genética do abortamento de órgãos durante o desenvolvimento de sementes. O baixo nível de fecundidade em algumas espécies foi observado em função do abortamento programado geneticamente em embriões jovens (WIENS et al., 1984). De acordo com Tanksley (1993), o número de óvulos e o abortamento de embriões são exemplos de características quantitativas resultantes da interação entre o genótipo e o ambiente de cultivo. Embora exista variabilidade genética para essas características, todos os materiais de soja conhecidos, com exceção de alguns mutantes (deficientes em ABA) apresentam algum nível de abortamento de flores e vagens.

Numerosos estudos têm apontado dois principais fatores envolvidos no controle da abscisão de estruturas reprodutivas na cultura da soja, a disponibilidade de fotoassimilados e nutrientes (principalmente, o cálcio) e a concentração endógena de alguns hormônios vegetais, como o ácido abscísico e a citocinina (LIU et al., 2004a). Todas essas características são altamente influenciadas pelas condições do ambiente de cultivo, sendo que o foco de grande parte dos estudos de fixação de estruturas reprodutivas está relacionado à indução de déficit hídrico no período da antese. Contudo, o abortamento de estruturas reprodutivas pode ser observado em várias condições adversas de ambiente, como em ocorrência de altas temperaturas ou em cultivo sob baixa intensidade luminosa (sombreamento).

O estágio de transição entre a fase de divisão e a fase de diferenciação e expansão celular é considerado como o estágio mais crítico para o desenvolvimento de flores e vagens jovens em condições de estresse (WESTGATE e PETERSON, 1993). Este estágio corresponde a três dias após a antese, quando a divisão celular está em plena atividade em óvulos jovens. A ocorrência de estresses ambientais, como o déficit hídrico neste período, pode acarretar em decréscimo no desenvolvimento de vagens pela inibição da divisão e expansão celular, levando ao abortamento (LIU et al., 2004a).

Observa-se, portanto, que a soja apresenta um enorme potencial para produção de flores, que podem ser emitidas por longos períodos. Contudo, em condições de campo, este potencial não se reflete em produtividade, sendo que o reflexo positivo desta característica é verificado em termos de plasticidade produtiva, onde o abortamento de estruturas em fases iniciais do florescimento é compensado pela emissão tardia de flores, principalmente, em cultivares de hábito indeterminado de crescimento. Vários estudos buscam o entendimento dos fatores que limitam o potencial produtivo da cultura da soja, tendo em vista que em condições onde o número de vagens ou de grãos é aumentado, em função do melhoramento genético ou práticas de cultivo, tem-se redução no peso médio de grãos e, como reflexo, a produtividade final não é alterada (NAVARRO JUNIOR e COSTA, 2002). Existem, portanto, fatores endógenos que possivelmente regulam a produtividade da cultura, sejam através do número de grãos produzidos ou através do acúmulo de biomassa nos mesmos. Resultados apontam que esta regulação pode ocorrer em nível de metabolismo de carboidratos, nutricional, hormonal ou mesmo pela interação entre esses fatores, que parece ser a mais provável, resultando em uma maior dificuldade no entendimento, quando comparado ao estudo dos fatores isolados.

2.2.1 Idade, posição e vascularização de flores

Analisando-se o desenvolvimento vegetal, de forma geral, observa-se que a capacidade de desenvolvimento de um determinado tecido está relacionada com sua capacidade de competir por assimilados e nutrientes com outros drenos que se desenvolvem no mesmo período. Esta capacidade de competição está, na grande maioria das vezes, relacionada com a variação temporal no desenvolvimento, sendo que órgãos emitidos precocemente apresentam maior probabilidade de se desenvolver de forma satisfatória. Um exemplo típico deste comportamento é a emissão e o desenvolvimento de afilhos em cereais, onde afilhos emitidos tardiamente apresentam baixa capacidade competitiva, com elevada tendência de abortamento (FIOREZE e RODRIGUES, 2012).

Flores de soja podem ser emitidas por períodos superiores a 50 dias (DYBING, 1994; ZHENG et al., 2002; EGLI e BRUENING, 2005, 2006). Contudo, normalmente, mais de 50% das vagens viáveis são produzidas antes da metade inicial deste período (EGLI e BRUENING, 2005, 2006). Mesmo dentro de um racemo específico, o florescimento pode ocorrer em intervalos de até 30 dias (EGLI e BRUENING 2006). A

época em que as flores de soja são emitidas é, portanto, fator determinante para o seu desenvolvimento, sendo que a competição por fotoassimilados entre flores emitidas tardiamente e vagens em fase inicial de desenvolvimento, que apresentam rápida expansão, é determinante para o abortamento de flores emitidas tardiamente (HUFF e DYBING, 1980; EGLI e BRUENING, 2002a, b).

Egli e Bruening (2006) observaram que, para cultivares com hábito de crescimento determinado ou indeterminado, a maior proporção de vagens formadas, com pelo menos um grão bem desenvolvido, é resultante das primeiras flores a se desenvolverem em condições de ausência de restrição ambiental, sendo que flores emitidas tardiamente apresentaram baixa probabilidade de desenvolvimento. Elevados índices de produtividade em feijão mungo (*Vigna radiata*) estão relacionados com a capacidade de genótipos em produzir uma elevada quantidade de flores em um curto espaço de tempo, após o início do florescimento, enquanto genótipos com baixos índices de produtividade apresentam longos períodos de florescimento (FAKIR et al., 2011). Quando flores são emitidas em posições distais de racemos nos nós superiores de uma planta de soja, os nós do terço médio já apresentam vagens com sementes em pleno desenvolvimento com uma maior força de dreno (EGLI e BRUENING, 2006).

Com base neste comportamento, ideótipos de planta para elevadas produtividades deveriam apresentar florescimento uniforme para evitar a competição entre flores emitidas de forma precoce e tardia, aliada a uma elevada capacidade vascular, fisiológica e nutricional para formar grãos com elevado acúmulo de biomassa, resultando em maiores produtividades. Deve-se lembrar, contudo, que períodos longos de florescimento em cultivares de soja são de grande interesse para regiões de cultivo com ocorrência de estresse ambiental, sendo uma característica determinante para a manutenção do potencial produtivo das plantas nessas condições. Contudo, deve-se lembrar que a quantidade de vagens ou grãos produzidos pela planta não são fatores determinantes para a produtividade, sendo que a plasticidade produtiva resulta em uma relação quase sempre inversa entre número de grãos e peso médio de grãos, com índices de produtividade constantes.

Estudos anatômicos do desenvolvimento de flores em plantas leguminosas demonstram que a fixação de flores varia em função da posição em que a mesma se encontra no racemo da planta, sendo que flores de posições proximais do racemo apresentam maior probabilidade de desenvolvimento do que flores de posições distais.

Wiebold e Panciera (1990) observaram que o desenvolvimento vascular, tanto do floema quanto do xilema varia em função do tempo e da posição das flores na planta, sendo que posições distais da planta ou do racemo apresentam menor vascularização e, por consequência, menores chances de desenvolvimento. De acordo com os resultados dos autores, a retirada de flores emitidas inicialmente promove melhor desenvolvimento vascular em flores de posições menos favorecidas. Mondal et al. (2011) estudaram o efeito da retirada de flores em posições basais em racemos de feijão mungo (*Vigna radiata*) sobre o desenvolvimento de flores em posições distais. Os resultados demonstram que a vascularização da raquis do racemo, em termos de xilema e floema, é pouco desenvolvida na região distal, quando as flores proximais se desenvolvem. Neste caso, a probabilidade de fixação de flores nas posições 1, 2, 3, 4 e 5 foi de 71, 70, 54, 23 e 8%, respectivamente, sendo que flores superiores não se desenvolveram. Contudo, os autores observaram que a retirada das flores proximais promoveu melhorias na vascularização distal da raquis, levando ao desenvolvimento de vagens nessas posições.

Estudando a dinâmica de florescimento e desenvolvimento de vagens em nós de plantas de soja com isolamento do floema, Egli e Bruening (2002a) verificaram que a utilização de uma grande quantidade de assimilados por vagens em rápido crescimento inicial, oriundas de flores fecundadas precocemente, é fator determinante para o abortamento de flores emitidas tardiamente. Os autores comentam ainda que o sincronismo no florescimento pode limitar a competição entre vagens precoces e tardias emitidas em uma planta. Faquir et al. (2011) relatam ainda que, grandes quantidades de flores são abortadas quando sua emissão ocorre tardiamente, sendo que essas flores não recebem fotoassimilados suficientes, pela baixa vascularização e pela competição com flores mais velhas e vagens em desenvolvimento. Estes resultados deixam claro que o controle do desenvolvimento de flores pode ocorrer através da vascularização dos tecidos, a qual possivelmente seja regulada pelo balanço hormonal, em resposta a fatores fisiológicos, nutricionais ou pela interação destes com o ambiente externo. Esta característica, possivelmente, seja determinada geneticamente e regulada hormonalmente, em resposta a processos endógenos e exógenos.

É válido ressaltar que muitos trabalhos relacionados com o estudo vascular em estruturas reprodutivas apresentam como foco a raquis do racemo, a qual apresenta variações comprovadas na literatura. Contudo, menos estudada é a vascularização entre a raquis e as estruturas reprodutivas individuais, a qual também é

determinante para o sucesso do desenvolvimento de flores. Somado a isso, dentro destes trabalhos, grande enfoque tem sido dado para o desenvolvimento do floema, o qual é determinante para o movimento de assimilados e de uma grande proporção de nutrientes minerais.

O movimento de solutos no floema é um processo ativo, conforme descrito pela teoria do fluxo de massa por pressão (NOBEL, 1991), enquanto o movimento por fluxo de massa no xilema é físico e altamente dependente do fluxo transpiratório de um determinado tecido. Deve-se lembrar ainda, que alguns nutrientes minerais determinantes para a fecundação e o desenvolvimento inicial do embrião em sementes, como cálcio e boro, se movimentam basicamente pelo xilema (EPSTEIN e BLOOM, 2006), sendo que a ausência deste tipo de vaso implica no movimento apoplástico dos nutrientes pelos espaços intercelulares. Por fim, deve-se lembrar que o processo de desenvolvimento e maturação do xilema, é mais lento do que o das células do floema, pois depende da diferenciação e do processo de acúmulo de parede celular secundária e morte celular programada (CUTLER et al., 2011).

Analisando os resultados observados para estudos sobre a vascularização e a idade e posição de flores em leguminosas e seus efeitos sobre a fixação dessas estruturas, parece haver uma clara relação entre fatores fisiológicos e anatômicos, que resultam no desenvolvimento ou não dessas estruturas. Considerando-se que uma determinada planta apresenta potencial produtivo determinado geneticamente, o qual pode ser alcançado através de um maior número de grãos com peso reduzido ou por um número menor de grãos com peso superior, pode-se observar a seguinte situação: na ausência de limitações ambientais no início do período reprodutivo, a planta inicia seu florescimento sendo que a quantidade de flores que irão se desenvolver em vagens produtivas irá depender do estado de disponibilidade de assimilados e nutrientes no período. Quando a quantidade de vagens em início de desenvolvimento se aproxima do potencial máximo de suprimento pela planta, a competição entre drenos é determinante para a ocorrência de falhas no desenvolvimento de flores emitidas tardiamente. É possível que, no momento em que uma quantidade determinada de flores seja fecundada, o equilíbrio metabólico interno da planta promova alterações no balanço hormonal em regiões específicas da planta, seja em nós distantes ou mesmo em posições distais de um racemo que teve as flores proximais fecundadas. Esta teoria poderia explicar o fato do maior desenvolvimento vascular e disponibilidade de assimilados para flores em posições pouco favorecidas da planta, ser

aumentada em situações de falhas no desenvolvimento inicial das primeiras flores emitidas.

2.2.2 Metabolismo de carboidratos

Elevadas produtividades em culturas são determinadas pela habilidade das plantas em produzir altos níveis de fotoassimilados e/ou particionar grandes proporções de carboidratos de maneira eficiente para os órgãos de interesse econômico (FAGERIA et al., 2006). No período de floração há aumento de atividade fotossintética das folhas, que possivelmente seja induzido pela necessidade de se atingir nível crítico de carboidratos nas folhas próximas ao dreno para que ocorra a polinização e o desenvolvimento do embrião (WARDLAW, 1990; MARSCHNER, 1995). Para a vagem de uma leguminosa, como a soja, o trifólio que se desenvolve junto a ela terá a maior participação para o seu enchimento (DAVIES, 1995).

A habilidade intrínseca do endosperma de sementes em atrair assimilados é um dos fatores fisiológicos mais importantes para o rendimento de grãos em cereais, podendo ser uma das maiores limitações para o aumento da produtividade. O período crítico de formação do grão, entre a antese e o início do acúmulo linear de matéria seca determina sua capacidade de dreno, bem como a sua duração e taxa de crescimento, sendo crucial para a determinação da produtividade da cultura. Nesta fase, que dura uma ou duas semanas, as células do endosperma e os proplastídeos, que serão utilizados para o acúmulo de amido na fase de enchimento estão sendo formadas (FAGERIA et al., 2006).

Fatores limitantes para a produção de matéria seca ou para as taxas de fotossíntese podem estar associados com a capacidade da fonte ou do dreno. A redução na demanda de carboidratos pelos tecidos dreno leva à redução na taxa de assimilação nos tecidos fonte (FAGERIA et al., 2006). É conhecido que a produtividade de várias culturas, como o trigo (AZCON-BIETO, 1983), por exemplo, é afetada por limitações na força de drenos de assimilados (GEIGER et al., 1995), a qual resulta em acúmulo de carboidratos nas células das folhas provocando inibição por *feedback* do ciclo de Calvin, através da indisponibilidade de Pi (fosfato inorgânico) para a regeneração do ciclo (SHARKEY, 1990). Para a cultura da soja, contudo, esta limitação fotossintética não é observada, visto que para esta espécie, os carboidratos são acumulados nas folhas na forma de amido

(POTTER e BREEN, 1980), sendo que o Pi está prontamente disponível, neste caso, para a regeneração do ciclo de Calvin.

Vários estudos indicam que a produtividade da cultura da soja é limitada pela capacidade de fonte de assimilados no início da fase reprodutiva. A restrição da fonte por curtos períodos entre as fases R1 e R5 pode causar sérias reduções na produtividade, principalmente, em resposta ao menor número de vagens (FAGERIA et al., 2006). Desta forma, qualquer fator ambiental que afete a atividade fotossintética neste estágio, como temperaturas altas e estresse hídrico, afetará o desenvolvimento do embrião no fruto e, conseqüentemente, reduzirá drasticamente a produtividade (KRAMER e BOYER, 1995). Estresses ambientais, como altas temperaturas e déficit hídrico podem resultar em perdas por abortamento de vagens de grãos, sendo importantes para simular a dinâmica de fixação de vagens e grãos e definir os efeitos genéticos e ambientais em cada componente da produção. A ocorrência de limitações em algum fator do ambiente de cultivo pode levar a limitações na divisão celular, alongamento ou acréscimo de matéria seca (enchimento de grãos) de grãos em formação, dependendo da época de ocorrência (FAGERIA et al., 2006).

Conforme discutido anteriormente, os dois principais fatores envolvidos no controle da abscisão de estruturas reprodutivas na cultura da soja são a disponibilidade de fotoassimilados e nutrientes e o balanço hormonal (LIU et al., 2004a). Brun e Bets (1984) demonstraram que a fixação de flores é determinada pela quantidade de fotoassimilados disponíveis, que é menor em flores com maior tendência à abscisão, sendo que flores e frutos da posição proximal afetam o desenvolvimento daqueles da posição distal. Faquir et al. (2011) relatam ainda que grandes quantidades de flores são abortadas quando sua emissão ocorre tardiamente, sendo que essas flores não recebem fotoassimilados suficientes, pela baixa vascularização e pela competição com flores mais velhas e vagens em desenvolvimento.

A avaliação de plantas em condição de cultivo sem restrições ambientais demonstra que o suprimento de fotoassimilados durante o florescimento e o desenvolvimento inicial de vagens é de extrema importância para a fixação de vagens (LIU et al., 2004b). Alterações na taxa de assimilação de carbono em condições de estresse ambiental podem resultar em elevada taxa de abscisão de estruturas reprodutivas. Kokubun et al. (2001) verificaram que flores em posições basais do racemo de plantas de soja apresentaram elevada porcentagem de fixação, a qual tende à zero em flores posicionadas

em posições apicais do racemo, em condições ambientais sem estresse. Contudo, os autores observaram redução na porcentagem de vagens fixadas em flores da porção basal do racemo, quando as plantas foram submetidas ao déficit hídrico no período pré antese (-8 a 3 DAA). Os autores observaram ainda, que a redução na fixação de vagens não é um efeito de falhas no processo de polinização e sim, da baixa disponibilidade de assimilados para o processo de fecundação ou mesmo para embriões em início de desenvolvimento. Liu et al. (2004b) sugerem que a baixa disponibilidade de fotoassimilados em folhas, juntamente com a diminuição da capacidade de utilização de sacarose por vagens em desenvolvimento, resulta em decréscimo no fluxo de carboidratos das folhas para as vagens. Esse comportamento, aliado à diminuição da taxa de conversão de hexoses para sacarose em vagens são fatores potenciais que atuam na abscisão de estruturas reprodutivas na cultura da soja sob déficit hídrico.

A disponibilidade de assimilados é, portanto, fator essencial para o desenvolvimento inicial de estruturas reprodutivas, sendo fator determinante para a fixação de vagens em soja, de modo que limitações fotossintéticas neste período resultam em falhas significativas no processo. Em condições ambientais sem ocorrência de estresse, o abortamento de estruturas emitidas tardiamente parece estar mais relacionado com a competição entre flores e vagens em desenvolvimento, dentro de um racemo e entre racemos, do que com as taxas fotossintéticas *per se*. Seria possível, portanto, que essa competição fosse diminuída em materiais com florescimento de plantas sincronizado.

2.2.3 Balanço hormonal e o desenvolvimento reprodutivo de plantas

O balanço hormonal é determinante para o desenvolvimento reprodutivo de plantas, sendo que os grupos hormonais mais importantes para o processo são as citocininas (CK), auxinas (Ax), giberelinas (GA) e o ácido abscísico (ABA). Em condições normais de desenvolvimento, um pico de atividade de CK é observado logo após a antese, seguido de picos de GA e Ax e, finalmente, um pico de atividade de ABA (MARSCHNER, 1995). Os efeitos da CK são determinantes para o processo de divisão celular, característico da primeira fase do desenvolvimento de sementes, sendo o período mais crítico do desenvolvimento do embrião. Em seguida, a atividade de GA e Ax está relacionada com o alongamento celular, que determina o tamanho do embrião, que apresentará aumento na concentração de ABA na fase de enchimento de grãos, cujo papel

envolve o direcionamento de assimilados e a inibição da viviparidade (SUSUKI et al., 2000; KOKUBUM e HONDA, 2000; HESS et al., 2002). Entre os quatro grupos hormonais citados, a CK e o ABA são considerados os mais determinantes para o desenvolvimento reprodutivo, em condições normais e de estresse ambiental.

Elevadas concentrações de ABA em tecidos durante fases iniciais do desenvolvimento de estruturas reprodutivas podem inibir a divisão celular e afetar o desenvolvimento do embrião (WANG et al., 2001). Concentrações elevadas de ácido abscísico durante os primeiros estádios de desenvolvimento do embrião inibem a divisão celular além de provocar distúrbios no metabolismo de carboidratos (relação entre sacarose e hexoses), possivelmente pela redução da expressão de genes envolvidos com a atividade da enzima invertase ácida (ANDERSEN et al., 2002). Liu et al. (2003) sugerem que a elevação nos níveis endógenos de ácido abscísico em flores e vagens de soja no estágio crítico do desenvolvimento (3-5 DAA) pode inibir a divisão celular em óvulos e vagens jovens, causando paralisação da expansão e resultando na abscisão de estruturas reprodutivas. Os autores observaram aumento de até seis vezes na concentração de ABA em flores durante a indução de déficit hídrico.

O ABA possui três mecanismos pelo qual pode afetar o desenvolvimento reprodutivo de plantas durante o período de estresse. O primeiro mecanismo estaria relacionado com a inibição da divisão celular do embrião, resultando em abortamento ou redução na força de dreno da semente (MORGAN, 1980; MAMBELLI e SETTER, 1998). O segundo mecanismo está relacionado com o decréscimo nas taxas fotossintéticas de plantas, em resposta ao fechamento estomático, reduzindo a disponibilidade de assimilados (ZINSELMEIER et al., 1999). Por fim, o ABA pode afetar o metabolismo de carboidratos dentro do ovário em desenvolvimento, afetando processos enzimáticos envolvidos com o uso de carboidratos (TROUVERIE et al., 2003).

A atividade de CK está relacionada com diversos processos do desenvolvimento vegetal e de respostas ao ambiente de cultivo, como o controle da senescência foliar, desenvolvimento de cloroplastos e síntese de clorofila, regulação da divisão celular e da força de dreno de tecidos (HUTCHISON e KIEBER, 2002). Evidências sugerem que a CK é responsável por estabelecer o potencial de força de dreno nos estádios iniciais do desenvolvimento reprodutivo (CARLSON et al., 1987; DIETRICH et al., 1995). Estudos demonstram que a aplicação exógena de CK na forma de 6-benzilaminopurina (BAP) em racemos individuais ou no fluxo transpiratório de plantas de

soja resulta em redução no abortamento de flores de soja em condições de bom suprimento hídrico (CARLSON et al., 1987; PETERSON et al., 1990; CHO et al., 2002). Contudo, a ocorrência de déficit hídrico resulta em redução na concentração de CK em folhas de tomate (PILLAY e BEYL, 1990), arroz (YANG et al., 2002) e trigo (YANG et al., 2003), associado ao abortamento de estruturas reprodutivas.

O desenvolvimento de vagens férteis na cultura da soja apresenta relação positiva com a atividade fotossintética no período de antese e relação negativa com os teores de ABA nos tecidos reprodutivos, conforme demonstrado por Liu et al. (2004), em condições de déficit hídrico ou aplicação exógena de ABA em plantas irrigadas. Existe relação positiva entre a concentração endógena de CK em tecidos reprodutivos e o desenvolvimento de vagens (KOKUBUN e HONDA, 2000). Liu et al. (2004) observaram que a aplicação de CK (BA) exógena promoveu efeitos semelhantes em plantas irrigadas, com aumento de 60% na fixação de vagens. De acordo com os resultados de Liu et al. (2004), valores de assimilação de carbono acima de um nível crítico não se refletem em termos de número de vagens produzidas, sendo que esta característica estaria mais associada com o balanço hormonal do que com a disponibilidade de assimilados acima de um determinado valor.

Níveis de citocinina em amostras da seiva do xilema de lichia (*Litchi chinensis*) aumentaram de maneira significativa desde os 30 dias antes da antese até o período de florescimento pleno, evidenciando sua ação no desenvolvimento inicial de flores e embriões fecundados (CHEN, 1990). Nonokawa et al. (2007) estudaram a relação entre a concentração endógena de CK e AX (ácido indolilacético - IAA) em flores de diferentes posições do racemo, bem como os efeitos da aplicação exógena dos hormônios vegetais em diferentes fases do desenvolvimento de flores. Os autores observaram pico de concentração de IAA entre -3 e 3 dias após a antese (DAA) de flores, enquanto para CK o pico ocorreu entre 6-12 DAA. Os autores verificaram ainda que, flores de posições basais apresentaram maiores concentrações de CK e menores concentrações de IAA, quando comparadas com flores distais. Aplicações de CK entre 0-7 DAA promoveram aumento na porcentagem de vagens fixadas, enquanto a aplicação de IAA no mesmo período resultou na redução nestes valores.

Nagel et al. (2001) observaram aumento no número de vagens, grãos e na produção de plantas de soja tratadas com BAP, aplicada diretamente no fluxo do xilema de plantas, em casa de vegetação. No entanto, este comportamento não foi

observado em condições de campo, possivelmente, em função de condições de luminosidade e de temperatura, podendo suprimir o efeito da aplicação de BA. Esses resultados, segundo os autores, suportam a hipótese de que a disponibilidade de citocinina limita o potencial produtivo em alguns genótipos de soja.

Yashima et al. (2005) observaram aumento no número de vagens por nó reprodutivo em função da aplicação localizada de BAP em racemos de plantas de soja com alta relação fonte/dreno, simulada pela retirada de racemos em nós da planta. Os autores sugerem que a aplicação de citocinina exógena pode refletir em aumento na taxa de assimilação de carbono e em melhorias na translocação de fotoassimilados das folhas para as flores e vagens. Juntamente com o aumento na translocação de assimilados é possível que o transporte de nutrientes específicos como o cálcio seja também aumentado, devido ao estímulo provocado pela citocinina na divisão e diferenciação celular. De acordo com Atkins e Pigeaire (1993), a fixação de flores e vagens em função do aumento dos níveis endógenos de citocinina parece estar associada com o aumento do desenvolvimento vascular de estruturas ligadas às estruturas reprodutivas.

Os efeitos da aplicação exógena de CK na fixação de estruturas reprodutivas em plantas de soja são evidentes em condições controladas, em casa de vegetação (KOKUBUN e HONDA, 2000; NAGEL et al., 2001; LIU et al., 2004a). Contudo, a grande dificuldade em termos práticos é a reprodução destes efeitos em condições de campo, conforme verificado por Nagel et al. (2001), para que este efeito possa ser aproveitado como técnica de cultivo para aumentar os índices produtivos da cultura. Passos et al. (2008) verificaram aumento no número de vagens por planta, peso de grãos e na produtividade final da cultura da soja em função da aplicação foliar de cinetina no estágio R3, caracterizado pelo início do desenvolvimento de vagens (FEHR e CAVINESS, 1977). Contudo, os resultados deste tipo de trabalho, com resultados significativos ou não, ainda são escassos.

Os resultados observados na literatura levantam a hipótese de que quando a quantidade de vagens fixadas atinge um valor determinado geneticamente, em termos de capacidade de enchimento, fatores hormonais internos promovem o controle da fixação de novas estruturas, independente da atividade fotossintética. Esta sinalização para a regulação da quantidade de vagens fixadas possivelmente envolve as concentrações de ABA e CK. Se esta hipótese estiver correta, durante o desenvolvimento reprodutivo de plantas de soja, as primeiras vagens a iniciarem seu desenvolvimento devem apresentar

altas concentrações de CK e baixas concentrações de ABA. Conforme o potencial de fixação de vagens atinge valores próximos ao máximo, estabelecido geneticamente, é possível que esta relação hormonal se inverta, resultando em abscisão de flores e vagens emitidas tardiamente. Este controle hormonal da fixação pode envolver processos de divisão celular de óvulos recém fecundados, bem como, a diferenciação vascular em flores, que é comprovadamente inferior em estruturas emitidas tardiamente.

Conforme descrito anteriormente, a produtividade da cultura da soja não é limitada pela capacidade de utilização de assimilados no período reprodutivo (POTTER e BREEN, 1980), ou seja, pela força de drenos. Contudo, valores de assimilação de carbono acima de um nível crítico não se refletem em termos de número de vagens produzidas para a cultura da soja (LIU et al., 2004). Analisando-se as duas linhas de forma conjunta, não se deve desconsiderar a hipótese de que em altos valores de assimilação líquida de carbono, que foram medidos em horários pontuais por Liu et al. (2004), a ausência de correlação entre assimilação e quantidade de vagens produzidas pode estar relacionada a deficiências no processo de translocação, principalmente, em estruturas emitidas tardiamente, com baixo desenvolvimento vascular.

2.2.4 Cálcio e o desenvolvimento reprodutivo de plantas

Pesquisas recentes dos mecanismos de fertilização em plantas superiores têm apontado para a importância da participação do cálcio na fertilização de flores, devido aos seus efeitos pleiotrópicos, envolvendo a atração, a comunicação a curtas distâncias, a fusão celular e a sinalização (GE et al., 2007). Como um componente estrutural, muitas funções são relatadas pela sua capacidade de coordenação, através das quais o cálcio promove ligações intermoleculares estáveis, predominantemente em paredes celulares e membranas plasmáticas (MARCHNER, 1995). Existem muitas evidências de que o cálcio age como um mensageiro em muitos processos metabólicos relacionados com o crescimento e desenvolvimento de plantas, como a divisão, diferenciação, polaridade e alongamento celular, fotomorfogênese, defesa e resposta da planta a estresses bióticos e abióticos (REDDY, 2001).

O processo de alongamento do tubo polínico é regulado pelo influxo de vários íons, principalmente, cálcio e prótons (H^+), sendo que o cálcio é o mais conhecido por sua necessidade, sendo componente essencial para a formação do tubo polínico. Vários

modelos demonstram que o fluxo intracelular de cálcio e H^+ , além do fluxo extracelular destes e de outros íons como o potássio e o cloro governam o crescimento do tubo polínico (KRICHEVSKY et al., 2007). O crescimento do tubo polínico ocorre em resposta primária a uma alta concentração de cálcio na região apical do tubo polínico, o qual decai expressivamente poucos micrometros desta região, sendo um ponto localizado de alta concentração (GE et al., 2007). Os mesmos autores descrevem que na sequência do processo inicial de reprodução, o primeiro evento celular observado após a fusão de gametas é o aumento na concentração citossólica de cálcio, seguindo-se de aumento na taxa de divisão celular.

O cálcio é absorvido da solução do solo pelas raízes e distribuído ao caule via xilema (EPSTEIN e BLOOM, 2006), sendo que sua mobilidade em vasos do floema, em termos de redistribuição é extremamente baixa (WRITE e BROADLEY, 2003). A deficiência de cálcio em tecidos vegetais ocorre em virtude da não ocorrência de remobilização a partir de tecidos mais velhos, forçando o desenvolvimento imediato de tecidos para o suprimento imediato de cálcio via xilema o qual é altamente dependente do fluxo transpiratório, que é baixo em tecidos jovens (WRITE e BROADLEY, 2003). O fluxo de cálcio para estruturas reprodutivas, em fases críticas do desenvolvimento segue o fluxo transpiratório via xilema, sendo que a diferenciação vascular e a taxa de movimento de solutos no xilema é fator determinante para o acúmulo de cálcio nessas estruturas (GRUSAK e POMPER, 1999). White (2001) sugere que o cálcio pode atravessar o simplasto das células na forma de quelatos, sem afetar a concentração de cálcio no citoplasma.

A concentração de cálcio em estruturas reprodutivas de *Phaseolus vulgaris* é máxima nas primeiras fases de desenvolvimento, decrescendo em seguida (QUINTANA et al., 1996). Este comportamento pode estar associado à participação do cálcio nas divisões celulares iniciais, até a fase em que se verifica apenas a expansão celular e o acúmulo de assimilados nos grãos, quando o cálcio é menos utilizado. Grusak et al. (1999) observaram que o acúmulo de cálcio em vagens de feijão foi menor quando as mesmas foram submetidas à condição de alta umidade relativa do ar, quando as taxas de transpiração são menores.

Em virtude de seu papel determinante no desenvolvimento e na sinalização celular em plantas, o cálcio tem sido alvo de muitos estudos, buscando-se aumentar o potencial produtivo de plantas. Neste caso, aplicações foliares no período de

florescimento são estudadas a fim de buscar maiores quantidades de vagens fixadas, reduzindo o abortamento de flores. Contudo, até o momento não existem comprovações de que a abscisão de flores e vagens esteja associada à baixa disponibilidade de cálcio. Em muitos trabalhos, a comparação de resultados fica prejudicada, em função de materiais genéticos utilizados, formas de aplicação, fonte de cálcio utilizada, condições ambientais, entre outros. De forma geral, pode-se identificar na literatura trabalhos de pesquisa básica, onde mecanismos e processos específicos são estudados e trabalhos aplicados, com avaliações generalizadas e pouco aprofundadas, o que distancia os dois tipos de pesquisa.

Quintana et al. (1999) observaram que a aplicação via solo de fertilizantes contendo cálcio não resultou em incrementos na produção de grãos de feijão e tampouco no acúmulo de cálcio em vagens, quando os fertilizantes foram aplicados uma semana antes da antese. Este comportamento pode ser explicado pela baixa vascularização de flores, principalmente, com relação à maturação do xilema, o que poderia prejudicar o movimento de cálcio para os órgãos reprodutivos. Portanto, o aumento no fornecimento de cálcio para flores em desenvolvimento deve incorporar aplicações de formas solúveis de cálcio via foliar com o objetivo de atingir diretamente o desenvolvimento de flores.

Sevá e Jorge (1981) estudaram o comportamento produtivo de plantas de soja em função da aplicação foliar de cálcio durante o período reprodutivo de plantas cultivadas em vaso e observaram efeitos significativos em termos de número de vagens e peso de grãos para aplicações no início do período reprodutivo. Bevilaqua et al. (2002), estudaram o efeito da aplicação de cloreto de cálcio em conjunto com borato de sódio nas fases de botão floral, florescimento pleno e início da formação de vagens de plantas de duas cultivares de soja em casa de vegetação e verificaram aumento no número de vagens, de grãos e peso de grãos por planta em uma das cultivares. Contudo, neste caso, não se pode definir se o efeito observado é da aplicação de cálcio ou de boro, sendo que a aplicação isolada de ambos não foi testada. Além disso, a ausência de resultados para uma das cultivares limita a generalização de qualquer conclusão.

Arantes et al. (2009) estudaram o efeito da aplicação isolada de cálcio e boro durante o desenvolvimento reprodutivo da soja em condição de campo, sendo que nenhum dos componentes da produção da cultura foi afetado. Plantas de feijão cultivadas a campo e tratadas com cálcio foliar no estágio de floração plena não apresentaram variações nos componentes de produção e na produtividade (SILVA et al., 2006).

Observa-se, portanto, que existe tendência de resultados positivos para aplicações foliares de cálcio na fase reprodutiva de plantas em condições de vaso, as quais, em diversos aspectos, se diferem das condições de cultivo a campo. Estes resultados, além de escassos, não apresentam correlação com resultados de campo, onde os resultados são igualmente escassos. A inconsistência nos resultados observados sugere que respostas à aplicação foliar de cálcio podem ocorrer em ambientes específicos, principalmente, em situações de estresse ambiental, onde o transporte do nutriente para estruturas reprodutivas pode ser afetado por limitações no fluxo de água no xilema da planta.

2.2.5 Interação entre fatores que afetam o desenvolvimento reprodutivo de plantas

Analisando o conjunto de informações levantadas, é possível dizer que o potencial produtivo da soja, que é definido geneticamente, é controlado por uma série de fatores endógenos. Em condições normais de cultivo, sem ocorrência de estresse ambiental, a associação entre fatores resulta em uma série de efeitos em cascata. Se a assimilação de carbono não é limitada ambientalmente, é possível que o controle do desenvolvimento de estruturas reprodutivas seja controlado a nível hormonal (balanço CK/ABA), que resultará em efeitos diretos no desenvolvimento vascular e na divisão celular de flores recém fecundadas e vagens em desenvolvimento. Desta forma, tanto o potencial de transporte de água, assimilados e nutrientes (diferenciação vascular), quanto à força de dreno (divisões celulares do embrião) serão afetados, de forma positiva ou negativa, sendo determinante para a fixação ou não de estruturas.

É possível que uma maior eficiência produtiva possa ser alcançada através da manipulação, genética ou agrônômica, de aspectos do desenvolvimento da planta relacionados com o metabolismo fotossintético, balanço hormonal e fornecimento de nutrientes. O estudo integrado dos fatores descritos pode resultar em informações preciosas sobre o comportamento produtivo de plantas de soja e suas interações com o ambiente de cultivo. Desta forma, é possível buscar maior sincronismo no desenvolvimento reprodutivo de plantas, ou mesmo aumentar a probabilidade de flores menos favorecidas de se desenvolver de forma satisfatória.

3 MATERIAL DE MÉTODOS

Para explorar de maneira satisfatória os objetivos propostos foram implantados três experimentos no período entre os anos de 2010 e 2012.

3.1 Experimento 1: Aspectos anatômicos do desenvolvimento de flores de soja

3.1.1 Localização do experimento

O experimento foi instalado em cultivo protegido no Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal da Faculdade de Ciências Agronômicas – UNESP – em Botucatu, utilizando-se Latossolo Vermelho Distroférico de textura média (EMBRAPA, 2006), no período entre novembro de 2010 e março de 2011.

3.1.2 Tratamentos e delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi blocos casualizados com quatro repetições. Os tratamentos constaram de oito cultivares de soja pertencentes ao mesmo banco de germoplasma: CD 202, CD 204, CD 205, CD 206, CD 215, CD 217, CD 221 e CD 224. As principais características morfológicas das cultivares utilizadas são apresentadas na Tabela 1. Cada parcela experimental foi formada por um vaso de amianto com volume de 18 dm³ preenchido com solo corrigido e adubado e cultivado com duas plantas.

Tabela 1. Características morfológicas das cultivares de soja utilizadas no estudo dos aspectos anatômicos do desenvolvimento de flores. Botucatu (SP), 2011.

	GM ¹	Flor	Pubescência	Hilo	MMS ²	Acamamento	DPF ³ (dias)
CD 202	6,4	Branca	Cinza	Marrom	159,0	Mod. Susc.	60
CD 204	7,8	Branca	Cinza	Marrom claro	154,0	Mod. Susc.	69
CD 205	7,8	Branca	Marrom	Marrom	135,0	Mod. Resit.	69
CD 206	6,8	Roxa	Marron	Preto	168,0	Resistente	59
CD 215	5,9	Roxa	Cinza	Preto	151,0	Mod. Resit.	61
CD 217	7,6	Roxa	Marrom	Preto	134,4	Mod. Susc.	67
CD 221	6,4	Branca	Cinza	Marrom claro	160,7	Mod. Resit.	64
CD 224	6,4	Branca	Cinza	Marrom claro	136,7	Mod. Resit.	68

Fonte: Coodetec – Cooperativa central de pesquisa agrícola; ¹Grupo de maturação; ² Massa de mil sementes; ³ Dias para o florescimento.

3.1.3 Instalação e condução do experimento

Antes da implantação do experimento foram determinadas as características físico-químicas do solo experimental (Tabela 2). Os valores apresentados para os atributos químicos do solo foram determinados 40 dias após a operação de calagem e adubação. Foram incorporados ao solo, 0,7 g dm⁻³ de calcário dolomítico (PRNT=96%), 687 mg dm⁻³ de P₂O₅ (super fosfato simples) e 78 mg dm⁻³ de K₂O (cloreto de potássio).

Tabela 2. Atributos físico-químicos do solo experimental determinados pelo Laboratório de Relação Solo-Planta do Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal UNESP-FCA. Botucatu (SP), 2011.

Ca	Mg	K	Al	H + Al	SB	CTC	MO	V	P	pH CaCl
mmolc dm ⁻³						g dm ⁻³		%	mg dm ⁻³	
82	25	7,7	1,0	45,2	114,6	159,84	25	71,7	175	5,3
Areia			Silte					Argila		
g dm ⁻³										
655			56					289		

Antes da semeadura as sementes de soja foram inoculadas com bactérias do gênero *Bradrhizobium*, para efeito de fornecimento de nitrogênio às plantas, e tratadas com fertilizante líquido contendo cobalto e molibdênio, com o objetivo de estimular a formação de nódulos pelas bactérias, além de inseticida (Cruiser® 150 mL 100 kg⁻¹ p.c.) e fungicida (Vitavax-thiran® 300 mL 100 kg⁻¹ p.c.). A semeadura das cultivares de soja foi realizada de maneira escalonada, a fim de sincronizar o período reprodutivo e propiciar a coleta de material vegetal nas mesmas condições ambientais. Foram semeadas 10 sementes de soja em cada vaso, a uma profundidade de 3 cm, sendo que após os estabelecimento das plantas foi realizado desbaste, deixando-se duas plantas uniformes por vaso.

A irrigação do solo foi realizada por meio de gotejadores instalados em linha, de forma que dois gotejadores fossem distribuídos em cada vaso. O sistema de irrigação foi implantado após a germinação e ligado manualmente sempre que necessário. O manejo de plantas daninhas foi realizado manualmente, sendo que outros métodos de controle fitossanitário não foram necessários.

3.1.4 Avaliações

3.1.4.1 Coleta do material

A coleta de material vegetal foi iniciada no estágio R2 de desenvolvimento da cultura (FEHR e CAVINESS, 1977), que é caracterizado pela floração plena das plantas, em racemos do terço médio. Foram realizadas sete coletas de flores, com intervalos de um dia, iniciando-se na fase de botão floral (Figura 1a) até a fase de flores

com pétalas senescentes (Figura 1d). Para facilitar as coletas, flores da mesma idade foram marcadas com linhas de algodão para identificar a data de coleta, sendo uma cor diferente para cada coleta. Para cada fase de desenvolvimento foram coletadas de quatro a cinco flores por vaso, no terço médio das plantas.

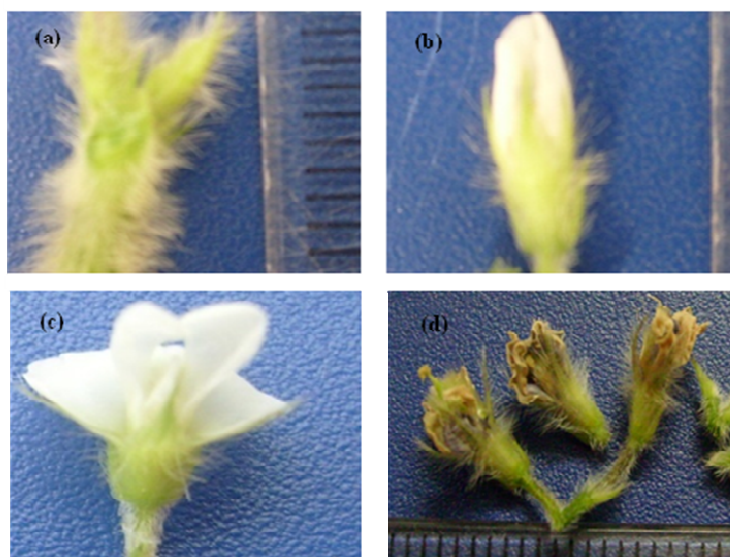


Figura 1. Ilustração dos estádios de desenvolvimento de flores de soja para o estudo dos aspectos anatômicos do desenvolvimento de flores. Fase de botão floral (a), flor com pétalas visíveis (b), flor totalmente aberta (c) e flor senescente, sete dias após a fase de botão floral (d). Botucatu (SP), 2011.

As amostras foram coletadas com auxílio de pinça e bisturi cirúrgico e acondicionadas imediatamente em solução FAA 50 (formaldeído, ácido acético e etanol), conforme proposto por Johansen (1940), por 48 horas. O acondicionamento em solução FAA 50 tem por objetivo paralisar todos os processos vitais dos tecidos, principalmente, os de autólise, mantendo suas características anatômicas originais. Após este período, as amostras foram transferidas para solução de álcool etílico (70%) para armazenagem até a fase de processamento em laboratório.

3.1.4.2 Características anatômicas estudadas

As amostras foram processadas no laboratório de anatomia vegetal da Universidade Estadual de Maringá. Para realização dos cortes anatômicos, o material

coletado foi desidratado, e incluído em resina sintética e os blocos afixados a pequenas peças de madeira para a realização dos cortes em micrótomo rotativo. Para a verificação do desenvolvimento dos feixes vasculares foram realizados cortes seriados nos sentidos transversal e longitudinal das amostras, na região de inserção da flor no racemo. Foram realizados também, cortes da região do estigma para verificar em qual estágio do desenvolvimento da flor em que ocorre a polinização. Cortes da região do ovário das flores foram realizados para determinar o estágio onde a formação do embrião é verificada.

A coloração dos cortes anatômicos foi realizada com azul de toluidina (O'BRIEN et al., 1964) e as lâminas foram montadas em meio resinoso (Permunt). O corante azul de toluidina tem a propriedade de colorir paredes pectocelulósicas de roxo e paredes lignificadas de azul-esverdeado, facilitando a identificação dos diferentes tecidos de interesse. Estas características permitem a avaliação do desenvolvimento e da funcionalidade dos tecidos condutores, através da diferenciação de células e do diâmetro dos feixes vasculares.

3.2 Experimento 2: Comportamento produtivo da soja em função de épocas de aplicação de cálcio e citocinina

3.2.1 Localização do experimento

O experimento foi conduzido em dois locais de cultivo no período entre dezembro de 2011 a abril de 2012, constando-se, portanto, do mesmo experimento, repetido em duas áreas experimentais. Ambos os experimentos foram instalados na área da Fazenda Experimental Lageado, da Faculdade de Ciências Agronômicas, UNESP, em Botucatu (SP). A primeira área de cultivo apresenta solo classificado como Nitossolo Vermelho de textura argilosa (EMBRAPA, 2006), enquanto na segunda área, o solo foi Latossolo Vermelho Distroférrico (EMBRAPA, 2006).

A localização da primeira área experimental está definida pelas coordenadas geográficas: 22°49' Latitude Sul e 48°25' Longitude Oeste de Greenwich, com altitude de 750 metros. A segunda área está definida pelas coordenadas geográficas: 48° 23' de longitude Oeste de Greenwich e 22° 51' de latitude Sul, com altitude de 765 metros. O clima da região é do tipo Cwa, pela classificação de Köppen (1948), caracterizado como subtropical úmido, com precipitação média anual em torno de 1400 mm e temperatura

média do mês mais quente superior a 22°C e a do mês mais frio entre 3 a 18°C. Os valores médios de temperatura e valores acumulados de chuva para o período de condução dos experimentos são apresentados na Figura 2.

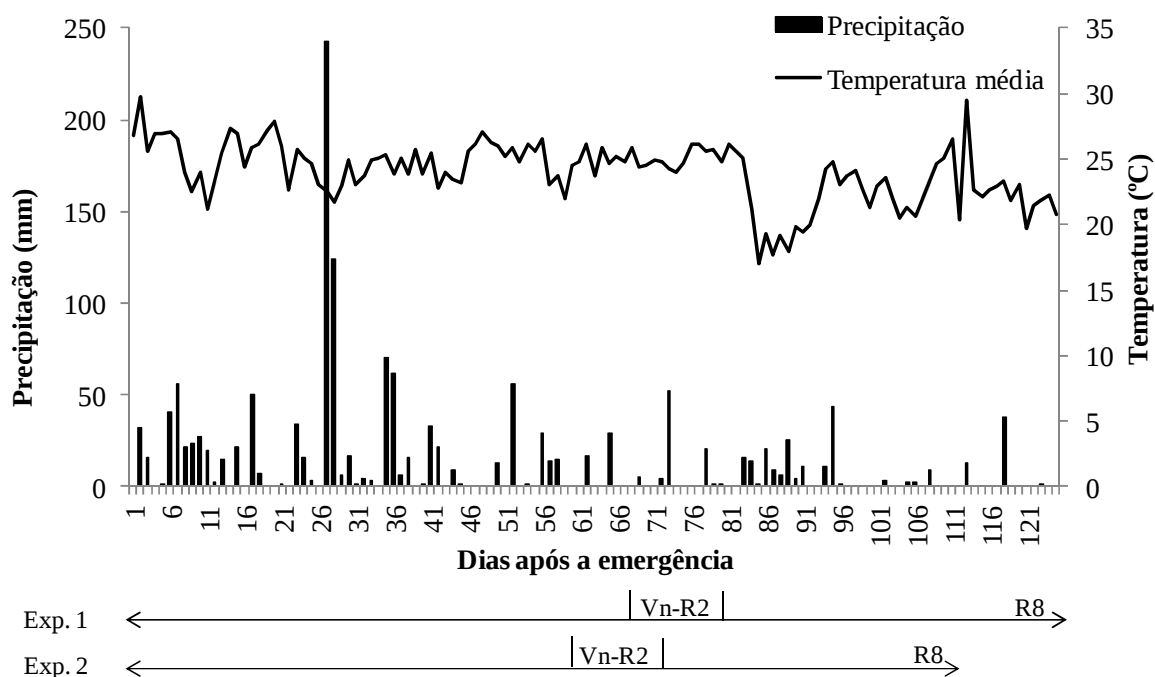


Figura 2. Valores médios de temperatura e valores acumulados de chuva para o período de condução dos experimentos de campo. Botucatu (SP), 2012. Exp.1: experimento 1; Exp.2: experimento 2.

3.2.2 Tratamentos e delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado no experimento foi blocos casualizados em esquema fatorial $3 \times 3 + 1$ com quatro repetições. O primeiro fator foi formado por três estádios fenológicos (Vn, R1 e R2) nas quais os produtos foram aplicados. O segundo fator foi formado pela aplicação de cálcio (Ca), citocinina (CK) e pela mistura de Ca e CK (Ca + CK), além de um controle, sem aplicação, totalizando 40 unidades experimentais. Os estádios fenológicos citados foram determinados por Fehr e Caviness (1977), sendo que o estágio Vn corresponde ao enésimo nó vegetativo no caule principal das plantas, R1 corresponde ao surgimento de uma flor aberta em qualquer nó

sobre a haste principal e o estádio R2 se caracteriza pela ocorrência de flores abertas em um dos dois nós superiores da haste principal com folha completamente desenvolvida.

A cultivar de soja utilizada foi BRS 245 RR que apresenta porte médio e boa adaptabilidade para as condições regionais de cultivo, conforme zoneamento agrícola (KASTER e FARIAS, 2012). A aplicação foliar de cálcio foi realizada através de produto comercial, Stoller Calcio[®], que apresenta 78,6 g L⁻¹ de Ca²⁺ em sua formulação na dose de 3,0 L ha⁻¹ p.c., obtendo-se uma dose de 235,8 g de Ca²⁺ ha⁻¹. O regulador vegetal a base de CK foi o produto comercial X-Cyte[®], com 400 mg L⁻¹ de cinetina em sua formulação, aplicado na dose de 1,0 L ha⁻¹ p.c.

Cada unidade experimental foi formada por cinco linhas de semeadura espaçadas 0,45 m entre si e com seis metros de comprimento, totalizando 13,5 m². Foram descartados 0,5 m em cada extremidade e uma linha de cada lado da parcela para se obter parcela útil de 6,75 m².

3.2.3 Instalação e condução do experimento

O experimento foi implantado em sistema de semeadura direta apresentando como cultura antecessora o sorgo forrageiro na primeira área e o trigo na segunda área. Antes da implantação do experimento foram determinadas as características físico-químicas do solo. Para as duas áreas experimentais foram realizadas coletas de solo na camada de 0,0-20 cm de profundidade, com auxílio de trado calador, para determinação dos atributos químicos e da textura do solo. As análises foram realizadas no Laboratório de Relação Solo-Planta do Departamento Produção e Melhoramento Vegetal da UNESP-FCA e os resultados são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Atributos físico-químicos do solo nas duas áreas experimentais, determinados pelo Laboratório de Relação Solo-Planta do Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal da UNESP-FCA. Botucatu (SP), 2011.

		Ca	Mg	K	Al	H + Al	SB	CTC	MO	V	P	pH CaCl
Ano	Prof. (cm)	mmolc dm ⁻³							g dm ⁻³	%	mg dm ⁻³	
Área 1	0,0-20	38	20	1,3	0,0	32	59	91	30	65	41	5,8
Área 2	0,0-20	51	22	2,7	0,0	40	76	116	39	66	41	5,4
		Areia					Silte			Argila		
							g dm ⁻³					
Área 1		380					200			420		
Área 2		435					103			462		

A dessecação da área foi realizada cinco dias antes da semeadura por meio da aplicação de glifosato (Roundup WG®) na dose de 4,0 kg ha⁻¹ (p.c.). A semeadura da primeira área foi realizada no dia 07 e a da segunda área no dia 19 de dezembro de 2011. A densidade de semeadura foi de 30 sementes por metro, sendo que no estádio VE (FEHR e CAVINESS, 1977) foi realizada contagem do número de plantas, ajustando-se a densidade para 18 plantas por metro, por meio de desbaste. Para as duas áreas experimentais, as sementes receberam tratamento com inseticida (Cruiser® 150 mL 100 kg⁻¹ p.c.) e fungicida (Vitavax-thiran® 300 mL 100 kg⁻¹ p.c.), sendo em seguida inoculadas com bactérias do gênero *Bradrhizobium*, para efeito de fornecimento de nitrogênio às plantas. A semeadura foi realizada a uma profundidade de 3 cm.

Para as duas áreas experimentais, a adubação foi realizada de acordo com as exigências da cultura (SFREDO, 2008), pela aplicação de 300 kg ha⁻¹ do adubo formulado 04-20-20 (NPK), na linha de semeadura. A primeira área experimental apresentava disponibilidade de sistema de irrigação, que foi instalado logo após a semeadura. Para a irrigação da cultura foram utilizados aspersores de baixa vazão Agropolo® modelo NY 25. A frequência de irrigação foi determinada de acordo com o acompanhamento da tensão de água no solo, monitorada através de uma bateria com quatro tensiômetros de mercúrio instalados a 20 cm de profundidade, irrigando-se quando a altura da coluna de mercúrio atingia 40 cm. Durante todo o ciclo da cultura, aplicou-se 150 mm de lâmina d'água no primeiro experimento. Para a segunda área experimental não houve suplementação na disponibilidade hídrica.

O controle fitossanitário iniciado aos 30 dias após a emergência da cultura (DAE) com a aplicação de 3,0 kg ha⁻¹ (p.c.) de glifosato (Roundup WG®), para o controle de plantas daninhas infestantes, 0,2 L ha⁻¹ (p.c.) de Lufenuron (Math®) para o controle de lagartas desfolhadoras e 2,0 L ha⁻¹ de manganês, para evitar deficiências induzidas pela aplicação de glifosato. Aos 50, 75 e 100 DAE foram realizadas aplicações de 0,2 L ha⁻¹ (p.c.) de Tiametoxan+Lambda-cialotrina (Engeu Pleno®) e 0,5 L ha⁻¹ (p.c.) de Azoxistrobina+Ciproconazole (Priori Xtra®), para o controle de percevejos e de doenças foliares, respectivamente.

No estágio V12 de desenvolvimento foram coletadas ao acaso 15 plantas de cada experimento, com o objetivo de determinar e comparar o crescimento das plantas nas duas áreas de cultivo. Foram determinadas a altura de plantas, a área foliar e a massa de matéria seca de folhas e caule. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Caracterização morfológica de plantas de soja nas duas áreas experimentais no estágio V12 de desenvolvimento. Botucatu (SP), 2011.

	ALT ¹ (cm)	AF ² (cm ²)	MSF ³ (g planta ⁻¹)	MSC ⁴ (g planta ⁻¹)
Área 1	105,0	29584,1	91,7	155,9
Área 2	92,5	33240,6	124,1	178,1

¹Altura de plantas; ²Área foliar; ³Matéria seca de folhas; ⁴Matéria seca do caule.

A diferenciação dos tratamentos teve início aos 58 DAE para a primeira área experimental e aos 67 DAE para a segunda área, caracterizando o estágio fenológico V13 (Vn). O estágio R1 das plantas foi atingido aos 66 e 81 DAE para a primeira e segunda área experimental, respectivamente, enquanto o estágio R2 foi atingido aos 74 e 90 DAE para a primeira e segunda área, respectivamente. Ambos os produtos, isolados ou combinados, foram aplicados via pulverização foliar utilizando-se pulverizador de barras com pressão de CO₂ e bicos do tipo leque (110-02) ajustado para um volume de calda de 150 L ha⁻¹. O adjuvante utilizado nas aplicações foi óleo vegetal a 0,5% (Natural'óleo®). As aplicações foram realizadas ao final da tarde, no dia anterior ao início das avaliações, em cada época de aplicação.

3.2.4 Avaliações

As avaliações foram realizadas da mesma forma para os experimentos conduzidos nas duas áreas experimentais.

3.2.4.1 Trocas gasosas

As medidas de trocas gasosas foram realizadas com intervalos de três dias, de 0 aos 12 dias após a aplicação (DAA) dos tratamentos, em cada época. As medidas foram realizadas sempre no folíolo central da terceira folha completamente expandida no ápice da planta. Em cada parcela, os folíolos foram marcados com linhas de algodão coloridas, a fim de padronizar as medidas no período. Foi utilizado medidor portátil de fotossíntese, com sistema fechado, IRGA LI-6200 da LI-COR. As medidas foram realizadas sempre no período entre às 9:00 e 11:00 horas, onde foram obtidos os valores de taxa de assimilação líquida de carbono (A), taxa de transpiração (E), condutância estomática (g_s) e concentração de CO_2 nos espaços intercelulares (C_i). A eficiência no uso de água (EUA) foi obtida pela razão entre os valores de taxa de assimilação líquida de CO_2 e taxa de transpiração das folhas (A/E). Além disso, foram determinadas as características ambientais das duas áreas de cultivo dentro do período de avaliação de cada época, conforme apresentado na Figura 3.

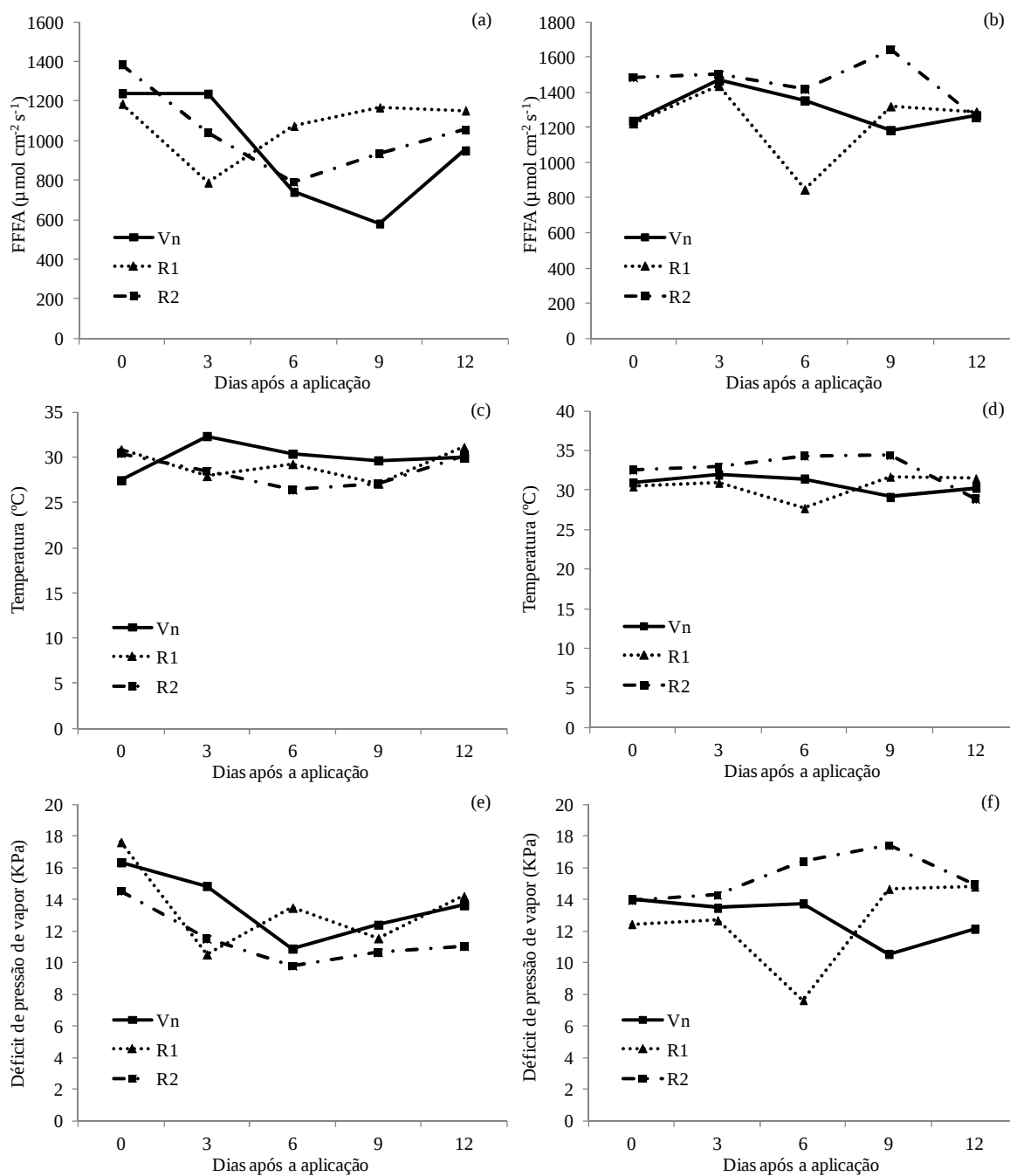


Figura 3. Características ambientais das duas áreas de cultivo [área 1 (a, c, e) e área 2 (b, d, f)] dentro do período de avaliação de cada época. Botucatu (SP), 2012. FFFA: fluxo de fótons fotossinteticamente ativos.

3.2.4.2 Índice SPAD

A determinação do índice SPAD foi realizada com intervalos de três dias, de 0 aos 12 dias após a aplicação dos tratamentos (DAA), em cada época. As medidas foram realizadas sempre no período entre às 9:00 e 11:00 horas, nos três folíolos, da terceira folha completamente expandida no ápice de três plantas, totalizando nove medições por parcela. Foi utilizado o medidor portátil da marca Minolta.

3.2.4.3 Componentes da produção e produtividade

A colheita foi realizada quando as plantas atingiram o estágio R8, que ocorreu aos 125 DAE para o primeiro experimento e aos 112 DAE para o segundo experimento. Os componentes da produção foram determinados em 15 plantas coletadas ao acaso dentro das duas linhas da parcela útil. Após a coleta, determinou-se a altura de inserção da primeira vagem e, em seguida, as plantas foram divididas em terço inferior, médio e superior. Os componentes da produção foram divididos em três grupos, o primeiro relacionado com a fixação de flores, sendo o número total de vagens e o número de vagens nos três terços da planta. O segundo grupo de componentes foi avaliado com base no processo de fecundação de flores determinando-se o número total de vagens chochas, com um grão, dois grãos e três grãos, nos três terços da planta, além da porcentagem de vagens viáveis. Ainda neste grupo foram avaliados o número total de grãos na planta e em cada terço. Por fim, os componentes de produção foram avaliados quanto à massa de grãos, sendo determinada a massa de grãos por planta e a massa de grãos nos três terços.

A colheita da parcela útil foi realizada de forma mecanizada. A produtividade foi determinada pela pesagem dos grãos colhidos, sendo a massa ajustada para 13% de umidade. Após a colheita, determinou-se a umidade de colheita, por meio de determinador portátil e a massa de mil grãos, ajustada para 13% de umidade.

3.3 Experimento 3: Comportamento produtivo da soja em função da aplicação de cálcio e citocinina sob estresse ambiental

3.3.1 Localização do experimento

O experimento foi instalado em cultivo protegido, no Departamento de Horticultura da Faculdade de Ciências Agronômicas – UNESP – em Botucatu, utilizando-se solo experimental do tipo Latossolo Vermelho Distroférico de textura média (EMBRAPA, 2006), no período de janeiro a maio de 2012.

3.3.2 Tratamentos e delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi blocos casualizados, em esquema de parcelas subdivididas com quatro repetições. As parcelas foram formadas por tipos de estresse ambiental (controle, déficit hídrico e baixa luminosidade), enquanto as subparcelas foram formadas pela aplicação de cálcio (Ca), citocinina (CK) e pela aplicação conjunta de Ca e CK (Ca+CK), além de um controle, sem aplicação. Cada unidade experimental foi formada por um vaso de polietileno com volume de 38 dm³ preenchido com solo corrigido e adubado e cultivado com seis plantas de soja. Quatro plantas por vaso foram utilizadas para a coleta de material durante o período de avaliação e o restante para a determinação dos componentes de produção, no final do ciclo da cultura.

3.3.3 Instalação e condução do experimento

Antes da implantação do experimento foram determinadas as características físico-químicas do solo experimental (Tabela 5). O solo experimental foi submetido a operações de calagem e adubação, 45 dias antes da implantação do experimento, onde foram incorporados 0,7 g dm³ de calcário dolomítico (PRNT=96%), 687 mg dm⁻³ de P₂O₅ (super fosfato simples) e 78 mg dm⁻³ de K₂O (cloreto de potássio). Antes da semeadura as sementes de soja foram inoculadas com bactérias do gênero *Bradrhizobium* para efeito de fornecimento de nitrogênio às plantas e tratadas com inseticida (Cruiser[®] 150 mL 100 kg⁻¹ p.c.) e fungicida (Vitavax-thiran[®] 300 mL 100 kg⁻¹ p.c.).

Tabela 5. Atributos físico-químicos do solo experimental determinados pelo Laboratório de Relação Solo-Planta do Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal da UNESP-FCA. Botucatu (SP), 2012.

Ca	Mg	K	Al	H + Al	SB	CTC	MO	V	P	pH CaCl
mmolc dm ⁻³						g dm ⁻³		%	mg dm ⁻³	
34	24	0,3	0,0	23	63	86	19	73	5,0	6,1
Areia				Silte				Argila		
g dm ⁻³										
655				56				289		

A cultivar de soja utilizada foi BRS 245 RR, que apresenta porte médio e boa adaptabilidade para as condições regionais de cultivo, conforme zoneamento agrícola (KASTER e FARIAS, 2012). A semeadura foi realizada no dia 16 de janeiro de 2012. Foram semeadas 12 sementes de soja em cada vaso, a uma profundidade de 3 cm, de modo a formar duas fileiras com três plantas bem distribuídas na área do vaso, após o desbaste. A emergência das plântulas ocorreu quatro dias após a semeadura e o desbaste foi realizado aos quatro dias após a emergência (DAE), quando o solo do vaso foi recoberto com uma camada de feno (capim Tifton), para limitar as perdas de água e o crescimento de plantas invasoras. Em função da baixa capacidade do solo experimental em fornecer nutrientes para as plantas foram realizadas duas adubações de cobertura com uma solução completa de Hogland e Arnon (1950), nos estádios V4 e V8 de desenvolvimento da cultura (FEHR e CAVINESS, 1977).

O controle da umidade do solo foi efetuado por um sistema auto-irrigante de subsuperfície, o qual permite a reposição automática de água, conforme a evapotranspiração do vaso. Um microtubo flexível transparente (dimensões de 1/8" x 1,5 mm) com 0,8 m de comprimento foi conectado à cápsula de cerâmica e ao reservatório de nível constante, o qual foi fixado abaixo do vaso. Esse sistema de irrigação é um aprimoramento do modelo proposto por Montanheiro et al. (1979).

Todas as plantas foram conduzidas sob as mesmas condições de suprimento de água e luz até o estágio R2 de desenvolvimento (FEHR e CAVINESS, 1977), que foi atingido aos 42 DAE. Neste estágio, os tratamentos foram diferenciados, por meio da aplicação dos produtos e pela imposição das formas de estresse ambiental descritas. Após o período de estresse, que teve duração de 12 dias, todos os tratamentos

foram conduzidos sob as mesmas condições de cultivo (suprimento de água e intensidade luminosa) até o final do ciclo da cultura.

A aplicação foliar de cálcio e citocinina, isolada ou combinada, foi realizada através dos mesmos produtos comerciais descritos para o experimento 2. Os produtos foram aplicados via pulverização foliar utilizando-se pulverizador de barras com pressão de CO₂ e bicos do tipo leque (110-02) ajustado para um volume de calda de 150 L ha⁻¹. O adjuvante utilizado nas aplicações foi óleo vegetal a 0,5% (Natural'óleo®), sendo que o tratamento controle recebeu a aplicação de água+adjuvante para uniformizar a superfície de molhamento. A aplicação foi realizada ao final da tarde, no dia anterior ao início das avaliações.

Imediatamente após a aplicação dos produtos descritos, procedeu-se a imposição dos estresses por déficit hídrico e por sombreamento nas plantas. Para a imposição do estresse por sombreamento, as plantas foram recobertas com tela de sombreamento, posicionada a um metro de distância do dossel. A tela de sombreamento utilizada apresenta capacidade de reter 80% da luz incidente na casa de vegetação, conforme determinado com auxílio de sensor de radiação. O déficit hídrico foi imposto às plantas de forma a desenvolver três ciclos de estresse, com duração de quatro dias. No início de cada ciclo, a irrigação foi suspensa até que a taxa de assimilação líquida de carbono pelas plantas atingisse valores próximos a zero, quando a irrigação era retomada e outro ciclo iniciado.

As características ambientais determinadas para cada tratamento (controle, sombreamento e déficit hídrico) foram determinadas durante o período de imposição das formas de estresse e são apresentadas na Figura 4. A coleta de solo para a determinação da umidade gravimétrica foi realizada apenas nas parcelas (independente da subparcela), durante o período de estresse, com intervalos de dois dias, de 0 aos 12 dias após a aplicação dos tratamentos (DAA). O solo foi amostrado em uma profundidade de 0,0-20 cm e acondicionado em latas de alumínio. Em laboratório determinou-se o peso do solo úmido (PU) e após a secagem a 100°C em estufa de circulação forçada de ar por 24 horas, determinou-se o peso do solo seco (PS). A umidade gravimétrica do solo foi definida pela fórmula: $Ug = (PU - PS) / PU \times 100 \%$. As variáveis relacionadas ao ambiente foram determinadas com auxílio de medidor portátil de fotossíntese, IRGA LI-6200 da LI-COR.

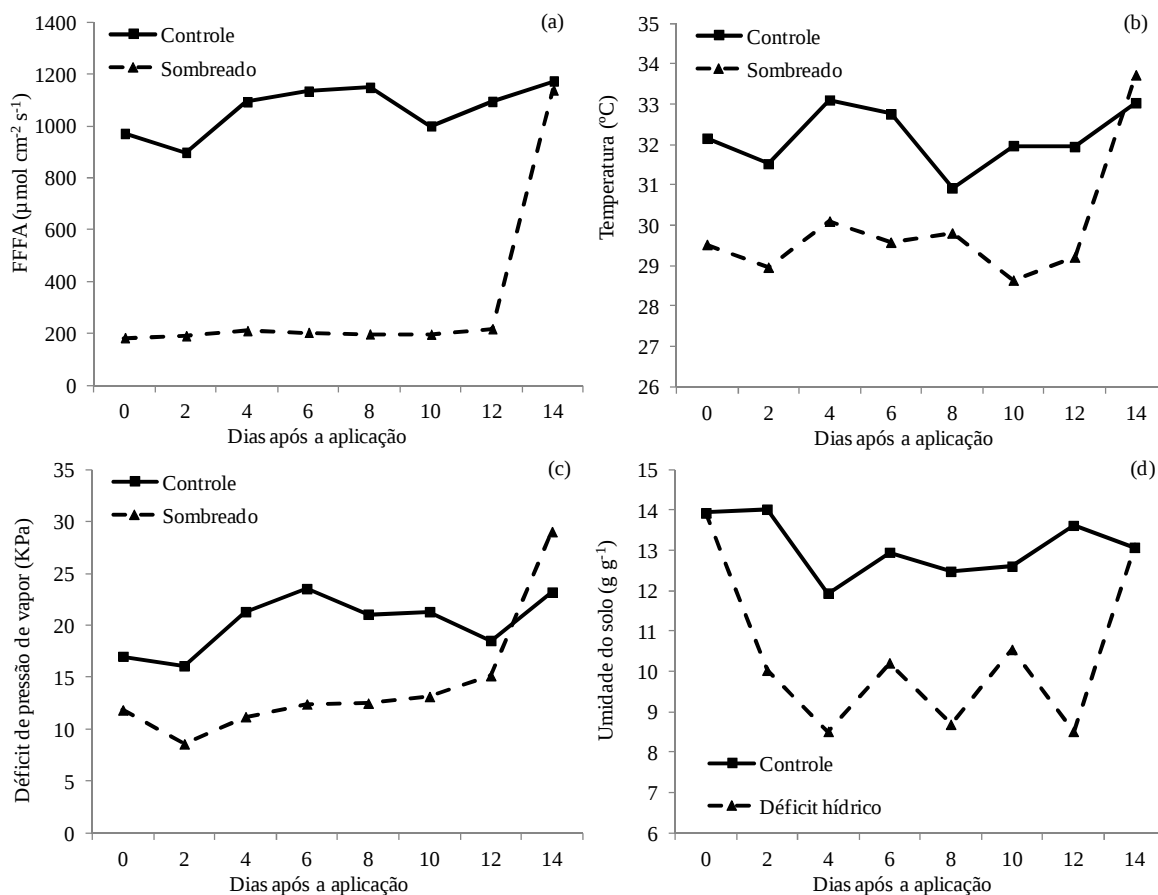


Figura 4. Características ambientais determinadas para a comparação entre tratamento controle x sombreamento (a, b, c) e controle x déficit hídrico (d). Botucatu (SP), 2012. FFFA: fluxo de fótons fotossinteticamente ativos.

3.3.4 Avaliações

3.3.4.1 Conteúdo relativo de água (CRA)

A determinação do CRA foi realizada durante o período de estresse, com intervalos de dois dias, de 0 aos 12 dias após a aplicação dos tratamentos (DAA), antes do nascer do sol, segundo metodologia proposta por Barrs e Weatherley (1962). Foram retirados 10 discos foliares, com 10 mm de diâmetro, em folhas totalmente expandidas, os quais foram imediatamente pesados em balança de precisão (0,001g) para a obtenção de massa fresca dos discos (MF). Em seguida, os discos foram acondicionados em placas de Petri, imersos em água destilada e mantidos a temperatura de 25°C por cinco

horas. Após este período, os discos foram novamente pesados, após a retirada do excesso de água com papel toalha, para a obtenção da massa túrgida (MT). Por fim, os discos foram acondicionados em sacos de papel e submetidos à secagem em estufa de circulação forçada de ar à 65°C, até peso constante, quando se determinou a massa seca dos discos (MS). O CRA foi definido utilizando-se a fórmula: $CRA = (MF - MS) / (MT - MS) \times 100 \%$.

3.3.4.2 Trocas gasosas

As medidas de trocas gasosas foram realizadas durante o período de estresse, com intervalos de dois dias, de 0 aos 12 dias após a aplicação dos tratamentos (DAA). As medidas foram realizadas sempre no folíolo central, terceira folha completamente expandida no ápice da planta. Em cada parcela, os folíolos foram marcados com linhas de algodão coloridas, a fim de padronizar as medidas no período. Foi utilizado medidor portátil de fotossíntese, com sistema fechado, IRGA LI-6200 da LI-COR. As medidas foram realizadas sempre no período entre às 9:00 e 11:00 horas, nas quais foram obtidos os valores de taxa de assimilação líquida de carbono (A), taxa de transpiração (E), condutância estomática (g_s) e concentração de CO_2 nos espaços intercelulares (C_i). A eficiência no uso de água (EUA) foi obtida pela razão entre os valores de taxa de assimilação líquida de CO_2 e a taxa de transpiração das folhas (A/E).

3.3.4.3 Tolerância protoplasmática foliar

A tolerância protoplasmática à dessecação foliar foi avaliada no último dia de estresse, conforme metodologia proposta por Leopold et al. (1981). Foram retirados 10 discos foliares, com 10 mm de diâmetro, em folhas totalmente expandidas e, em seguida, os discos foram lavados duas vezes em água deionizada e acondicionados em tubos de ensaio imersos em 30 mL de água deionizada. Após 24 horas, determinou-se a condutividade elétrica da solução contendo os discos foliares, com auxílio de condutivímetro de bancada, a qual foi denominada de condutividade livre (CL). Em seguida, os tubos de ensaio contendo os discos foram vedados e transferidos para um aparelho banho-maria a 100°C por uma hora. Após o resfriamento da solução, realizou-se uma nova determinação da condutividade elétrica da solução, denominada de condutividade total (CT). A estimativa da tolerância protoplasmática foliar é realizada com

base na liberação de eletrólitos por membranas danificadas por radicais livres em condições de estresse ambiental.

3.3.4.4 Índice SPAD

A determinação do índice SPAD foi realizada no último dia de estresse, no período entre às 9:00 e 11:00 horas, nos três folíolos da terceira folha completamente expandida no ápice de três plantas, totalizando nove medições por parcela experimental.

3.3.4.5 Estimativa da expansão de tecidos jovens

A estimativa da expansão de tecidos jovens foi realizada no último dia de estresse, para verificar a expansão de órgãos que tiveram seu desenvolvimento durante este período. Para tanto, foram coletadas 18 vagens distribuídas nos terços inferior, médio e superior de três plantas por parcela. Em seguida, determinou-se o comprimento médio de vagens e a massa de matéria seca. Foram coletados também os dois trifólios apicais em três plantas por parcela. Após a coleta, determinou-se a área foliar e massa de matéria seca e, com base nestes valores, calculou-se a área foliar específica das amostras.

3.3.4.6 Componentes da produção e produção de grãos por planta

A colheita foi realizada quando as plantas atingiram o estágio R8, que ocorreu aos 119 DAE. Os componentes da produção foram determinados em duas plantas por parcela. A separação das plantas e dos componentes de produção foi realizada seguindo-se a metodologia descrita para o experimento 2. A massa de cem grãos e a produção de grãos por planta foi determinada pela pesagem dos grãos colhidos, sendo a massa ajustada para 13% de umidade.

3.4 Análise dos dados

Para a avaliação dos cortes anatômicos em flores, os resultados foram analisados de forma qualitativa através do estudo de imagens digitais, sendo apresentados na forma de pranchas anatômicas. Para os demais experimentos, os dados foram submetidos à análise de variância e quando detectadas variações significativas, as médias foram contrastadas pelo teste t de Student a 5% de probabilidade. Além disso, para o experimento 2 foi realizada a análise de variância individual para as duas áreas e com base na homogeneidade do quadrado médio do resíduo observado entre as áreas foi realizada a análise conjunta, conforme determinação de Pimentel Gomes (1990).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Experimento 1: Aspectos anatômicos do desenvolvimento de flores de soja

O estudo anatômico do desenvolvimento de flores de soja forneceu informações significativas a respeito dos processos de polinização, formação do embrião e desenvolvimento vascular de flores. Não foram observadas diferenças entre os genótipos estudados com relação às características determinadas, o que indica que estas apresentam baixa variabilidade genética, ao menos para as características estudadas. Conforme observado na Figura 5, a presença de grãos de pólen nos estigmas das flores e o crescimento do tubo polínico são verificados no segundo estágio, com as pétalas das flores ainda fechadas, mas visíveis (Figura 1b). Este resultado mostra o sistema reprodutivo de autofecundação apresentado pela espécie com morfologia floral que favorece a cleistogamia, que é caracterizada pela fecundação de óvulos antes da abertura das flores (BORÉM, 2005). Seguindo-se o desenvolvimento de flores de soja, observa-se a presença

do megagametófito e o início do desenvolvimento do embrião das sementes para a segunda (pétalas visíveis) e terceira coletas (pétalas abertas), respectivamente (Figura 5). Desta forma, pode-se afirmar que a fecundação do óvulo ocorre com as pétalas das flores ainda fechadas, sendo que quando as pétalas se abrem, o embrião já apresenta suas primeiras fases de divisão celular.

Os resultados apresentados na Figura 5 possuem implicações diretas sobre algumas indicações técnicas para a cultura da soja. Em diversos sistemas de cultivo, aplicações foliares de cálcio e boro, de forma isolada ou combinada, são recomendadas para maximizar a fecundação e o desenvolvimento inicial de embriões, aumentando o número de vagens e de grãos por vagem. Esta recomendação se baseia no fato de que ambos os nutrientes possuem papel determinante no alongamento do tubo polínico e que o cálcio é um importante nutriente que atua como sinalizador nos processos de divisão celular, além de ser, juntamente com o boro, um importante componente estrutural da parede celular (REDDY, 2001; GE et al., 2007; KRICHEVSKY et al., 2007). Entretanto, a recomendação da aplicação dos nutrientes citados é para o estágio R2 do desenvolvimento reprodutivo de plantas de soja, caracterizado pelo florescimento pleno, ou seja, flores abertas em todos os nós da planta (FEHR e CAVINES, 1977) em cultivares de hábito determinado de crescimento. Desta forma, observa-se que a aplicação de cálcio e boro é recomendada com base nos seus efeitos sobre eventos do desenvolvimento da flor que já ocorreram na fase em que a aplicação é realizada, sendo que o embasamento para tal indicação pode ser questionado.

O primeiro evento celular observado após a fusão de gametas é o aumento na concentração citossólica de cálcio, o qual está diretamente relacionado com a sinalização e o início das divisões celulares (GE et al., 2007). Contudo, conforme observado na literatura é provável que o cálcio, além da disponibilidade de assimilados e do balanço hormonal, não seja fator limitante para o desenvolvimento de embriões de flores emitidas nos estádios iniciais do desenvolvimento reprodutivo, as quais apresentam maiores probabilidades de fixação em vagens (HUFF e DYBING, 1980; EGLI e BRUENING, 2002a, b). Desta forma, é possível que aplicações foliares de cálcio, de forma isolada ou combinada com boro, possam resultar em efeitos positivos em flores tardias.

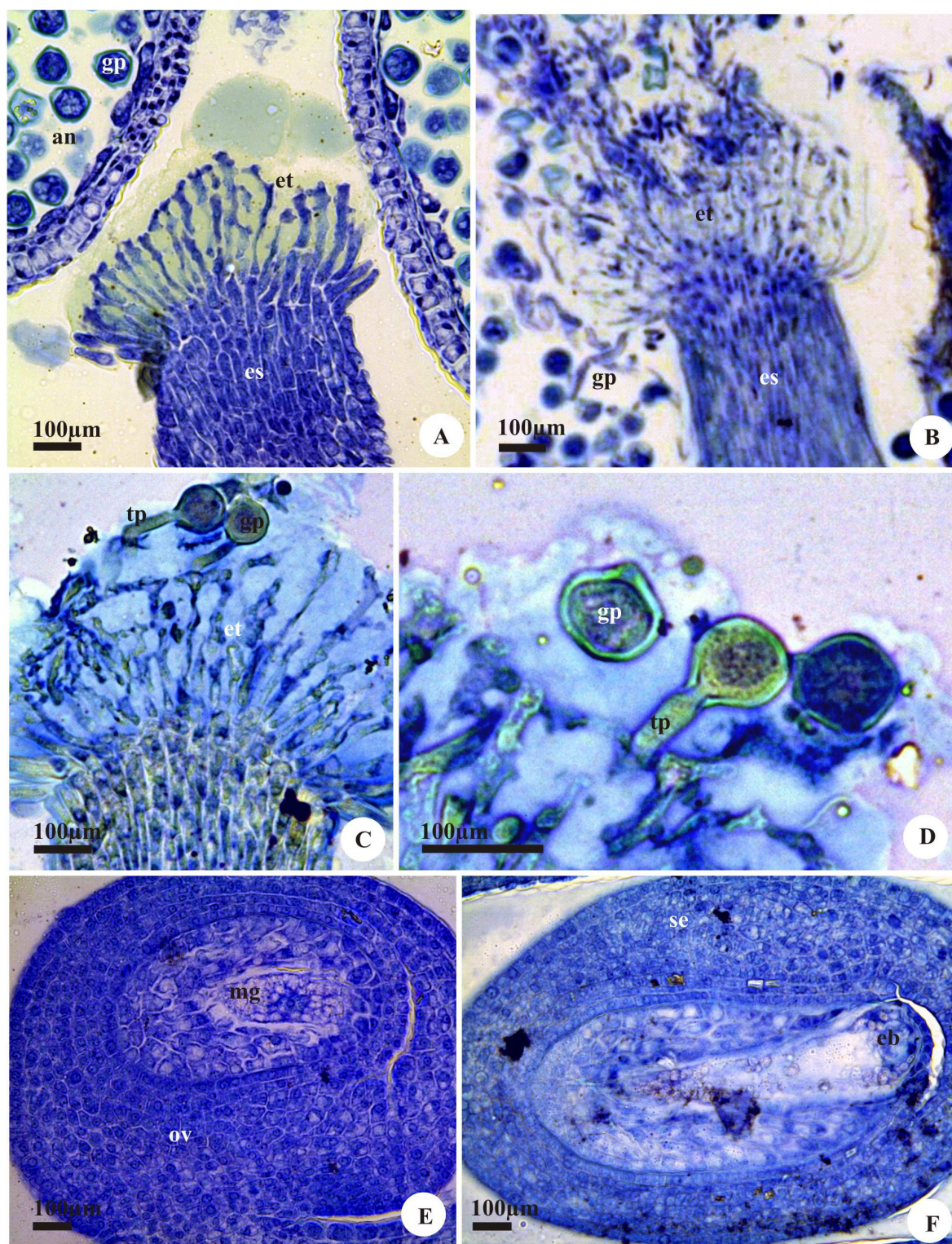


Figura 5. Genótipo CD 202: Botão floral (1º estágio) em corte longitudinal mostrando a região do estigma e estames durante a formação dos grãos de pólen (A); Genótipo CD 206: Botão floral (2º estágio) em corte longitudinal (B); Genótipo CD205: Botão floral (2º estágio), com detalhe da região do estigma com a presença de grãos de pólen e formação do tubo polínico (C-D). Genótipo CD202: Botão floral (1º estágio) com aspecto geral do óvulo (E). Genótipo CD224: Aspecto geral da semente (3º estágio), notar a presença do embrião em formação (F). (an= antera; eb= embrião; es= estilete; et= estigma; gp= grão de pólen; mg= megagametófito; ov= óvulo; se= semente; tp= tubo polínico). Botucatu (SP), 2011.

Conforme descrito anteriormente, o período entre zero e três dias após a fecundação do óvulo é determinante para o desenvolvimento do embrião (WESTGATE e PETERSON, 1993). Além do balanço hormonal, a disponibilidade de assimilados é determinante para o desenvolvimento do embrião, sendo que limitações fotossintéticas neste período resultam em elevados índices de abortamento de flores. Deste modo, quando limitações ambientais ocorrem em fases iniciais do desenvolvimento reprodutivo, os efeitos serão verificados em função da redução no número de vagens por planta ou mesmo do número de grãos por vagens, como resultado de falhas na fecundação ou no desenvolvimento inicial do embrião. Por outro lado, quando limitações ambientais ocorrem após o período crítico de desenvolvimento do embrião, os efeitos são observados através da redução no acúmulo de matéria seca, com baixo índice de abortamento de vagens ou de grãos.

O maior desenvolvimento vascular de flores de soja ocorre visivelmente após as fases de polinização e fecundação (Figura 6). Para todos os genótipos avaliados observa-se que o tecido vascular do pedúnculo está bem desenvolvido nas fases iniciais do desenvolvimento floral. Contudo, a região de ramificação de feixes vasculares do pedúnculo em direção ao ovário está pouco desenvolvida. Para que os vasos do xilema tornem-se ativos é necessário que as células passem do estado metabolicamente ativo para inativo, sendo que este processo pode ser chamado de maturação do xilema, estando associado ao processo de morte celular programada (TAIZ e ZEIGER, 2009). Células imaturas do xilema (protoxilema) necessitam passar pelo processo de deposição de parede celular secundária, resultando na perda de atividade metabólica; lembrando que os vasos do xilema são tecidos de condução sem atividade metabólica (CUTLER et al., 2011).

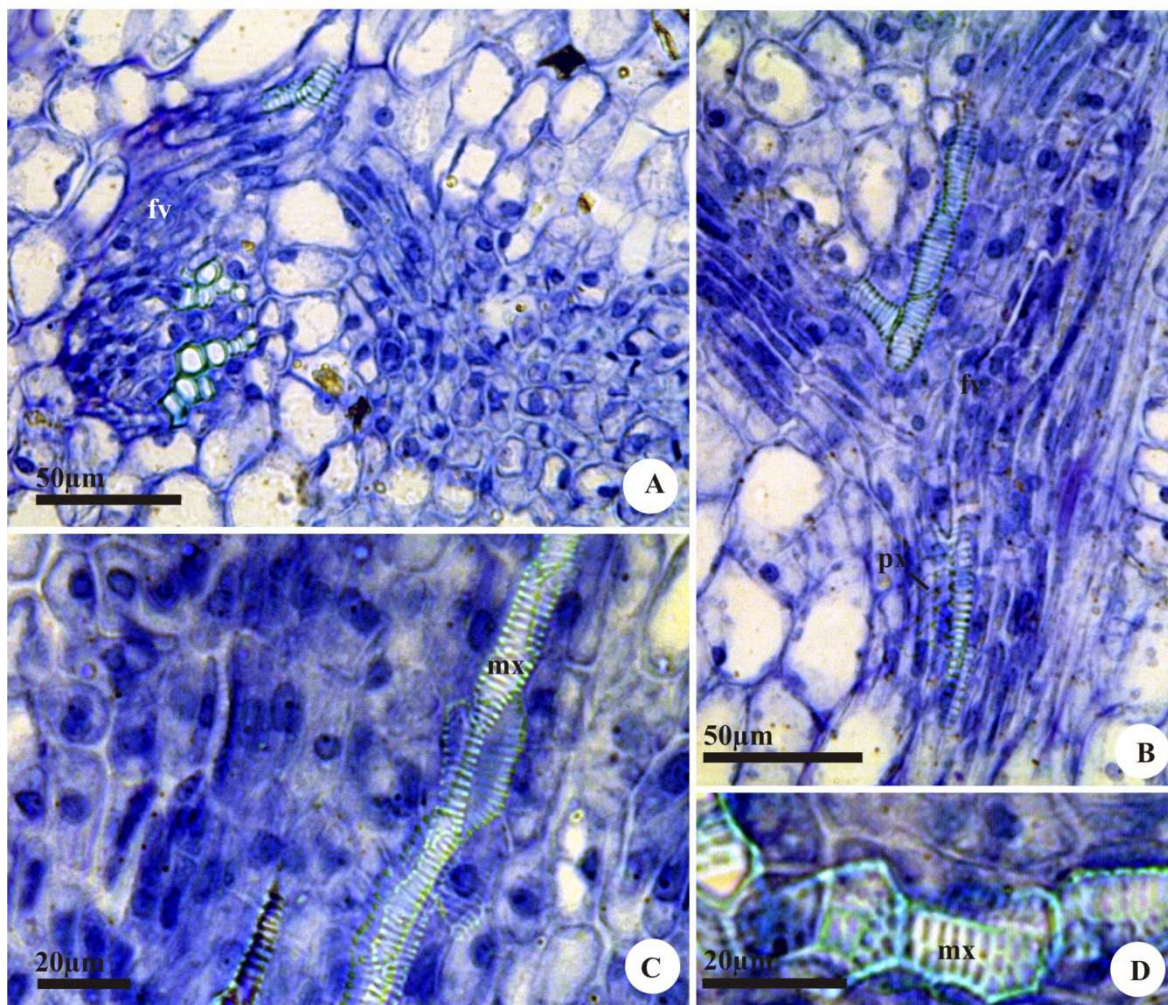


Figura 6. Genótipo CD202: Botão floral em corte transversal e longitudinal da região de inserção da flor no racemo, respectivamente, apresentado protoxilema (A-B); Flor (6º estágio) em corte longitudinal destacando a presença de metaxilema (C-D). (fv= feixe vascular; px= protoxilema). Botucatu (SP), 2011.

Deve-se considerar também que a diferenciação vascular em tecidos é um processo resultante do balanço hormonal, principalmente, entre auxina e citocinina que promovem a diferenciação. Deste modo, pode-se considerar que este processo possa ser estimulado por um balanço hormonal favorável, natural ou artificial, da mesma forma que o processo pode ser limitado pela ocorrência de estresse ambiental, que resultaria em um balanço hormonal desfavorável.

Conforme discutido anteriormente, a fixação de flores em espécies leguminosas varia em função da posição em que a mesma se encontra no racemo da planta, sendo que flores de posições proximais do racemo apresentam maior probabilidade de desenvolvimento do que flores de posições distais (MONDAL et al., 2011). Em feijão

caupi, a probabilidade de fixação de flores nas posições 1, 2, 3, 4 e 5 foram, respectivamente, de 71, 70, 54, 23 e 8%, sendo que flores superiores não se desenvolveram. Faquir et al. (2011) relataram ainda que grandes quantidades de flores são abortadas quando sua emissão ocorre tardiamente, pela baixa vascularização e pela competição com flores mais velhas e vagens em desenvolvimento. Além disso, a raquis de racemos normais apresenta tendência de redução do diâmetro a partir da base até o ápice, contudo, quando as flores de posições basais do racemo são retiradas, a raquis apresenta espessamento da porção distal, resultando em um mecanismo compensatório, mantendo o desenvolvimento de flores que seriam abortadas (BRUN e BETS, 1984).

É válido lembrar que as amostras de flores analisadas no presente estudo foram coletadas em racemos do terço médio de plantas de soja em fases iniciais de florescimento (-1 a 6 dias após a antese). Conforme descrito anteriormente, essas flores são as que apresentam maiores chances de se desenvolver em vagens, quando não existem limitações ambientais. Contudo, em nenhum desses trabalhos, a conexão entre o racemo e as flores em desenvolvimento foi estudada. Os resultados apresentados demonstram, portanto, que mesmo flores que se desenvolvem em fases iniciais do período reprodutivo apresentam xilema pouco desenvolvido, sendo este fator limitante para o movimento de solutos, principalmente, em condições onde o fluxo transpiratório é afetado. O desenvolvimento efetivo do tecido vascular irá ocorrer apenas após o período crítico do desenvolvimento do embrião. Existe ainda, a possibilidade de que a vascularização entre racemo e flor seja menos desenvolvida ainda em flores distais dos racemos, com abertura tardia, que pode caracterizar outro fator limitante para o desenvolvimento dessas estruturas.

Considerando-se que durante a fase mais crítica do desenvolvimento reprodutivo, a qual define a fixação ou abortamento de estruturas, flores de soja apresentam xilema pouco desenvolvido, o movimento de assimilados e nutrientes essenciais para o processo de fecundação e desenvolvimento inicial do embrião pode ser diretamente afetado em condições de estresse ambiental. Deste modo, práticas de cultivo podem ser desenvolvidas no sentido de amenizar os efeitos deletérios de ambientes estressantes, em termos de fixação de estruturas reprodutivas. Entre estas técnicas, a aplicação de nutrientes determinantes para o processo, como o cálcio, além do suprimento exógeno de hormônios promotores da divisão e diferenciação celular podem resultar em ganhos representativos em termos de produção de grãos.

4.2 Experimento 2: Comportamento produtivo da soja em função de épocas de aplicação de cálcio e citocinina

4.2.1 Índice SPAD e trocas gasosas

A análise de variância individual para os resultados de índice SPAD e de trocas gasosas, para as duas áreas experimentais, revelou uniformidade nos quadrados médios dos resíduos. Desta forma, foi realizada a análise conjunta para os dados, conforme critérios estabelecidos por Pimentel Gomes (1990), apresentados na Tabela 6. O efeito dos estádios fenológicos de aplicação de Ca, CK ou de sua combinação, foi significativo para a maioria das variáveis estudadas, enquanto os produtos aplicados não afetaram nenhuma das características (Tabela 6). A interação entre estádios fenológicos de aplicação e aplicação dos produtos não foi significativa para as variáveis testadas e houve efeito significativo para as áreas e interação significativa entre área e estádios. Contudo, optou-se por apresentar apenas os valores referentes a estádios de aplicação.

Os valores de índice SPAD apresentaram pouca variação entre os estádios fenológicos de aplicação, embora a diferença tenha sido significativa (Tabela 7). Contudo, deve-se ressaltar que os baixos valores dos coeficientes de variação para a característica (Tabela 6) resultam em maior probabilidade de obtenção de efeitos significativos entre tratamentos. Desta forma, embora significativos, os resultados são pouco representativos em termos práticos, como pode ser verificado através do comportamento variável entre os estádios fenológicos de aplicação dentro de cada avaliação. É possível verificar que os maiores valores são observados para o estágio fenológico R2, a partir de 6DAA, possivelmente em função do estado de maturação de folhas na fase de pós-antese, característico de cultivares de soja de hábito determinado de crescimento, no qual o crescimento vegetativo cessa após o início do florescimento. Campos et al. (2008) verificaram aumento nos valores de índice SPAD para plantas de soja no período reprodutivo, tratadas ou não com reguladores vegetais.

Tabela 6. Resumo da análise de variância conjunta (valores de F) para índice SPAD, assimilação líquida de carbono, transpiração, condutância estomática, eficiência de uso da água e concentração interna de CO₂ em plantas de soja BRS 245 RR em função de estádios fenológicos de aplicação de cálcio, citocinina e cálcio + citocinina. Botucatu (SP), 2012.

FV ¹	Índice SPAD					Assimilação líquida de carbono				
	0 DAA ²	3 DAA	6 DAA	9 DAA	12 DAA	0 DAA	3 DAA	6 DAA	9 DAA	12 DAA
Bloco	2,61	0,41	1,69	0,66	0,44	0,77	1,02	1,77	2,31	1,19
Área (A)	24,90 ^{**}	4,17 [*]	20,96 ^{**}	0,90 ^{ns}	2,33 ^{ns}	12,46 ^{**}	1,70 ^{ns}	1,15 ^{ns}	0,46 ^{ns}	51,69 ^{**}
Estádio (E)	12,87 ^{**}	12,71 ^{**}	8,85 ^{**}	24,77 ^{**}	88,66 ^{**}	5,73 ^{**}	43,2 ^{**}	17,9 ^{**}	1,87 ^{ns}	9,45 ^{**}
Trat. (T)	0,18 ^{ns}	1,90 ^{ns}	0,53 ^{ns}	1,31 ^{ns}	0,88 ^{ns}	0,64 ^{ns}	1,28 ^{ns}	0,98 ^{ns}	0,93 ^{ns}	1,37 ^{ns}
A x E	13,76 ^{**}	5,14 ^{**}	8,00 ^{**}	11,89 ^{**}	11,19 ^{**}	47,01 ^{**}	4,72 [*]	15,9 ^{**}	30,7 ^{**}	67,64 ^{**}
A x T	1,45 ^{ns}	1,72 ^{ns}	0,49 ^{ns}	2,48 ^{ns}	0,07 ^{ns}	0,53 ^{ns}	1,35 ^{ns}	0,99 ^{ns}	0,69 ^{ns}	0,21 ^{ns}
E x T	0,65 ^{ns}	1,72 ^{ns}	0,42 ^{ns}	0,36 ^{ns}	0,35 ^{ns}	1,26 ^{ns}	0,62 ^{ns}	0,80 ^{ns}	0,67 ^{ns}	0,26 ^{ns}
A x E x T	0,56 ^{ns}	0,84 ^{ns}	0,71 ^{ns}	0,41 ^{ns}	3,95 [*]	4,63 ^{**}	0,22 ^{ns}	0,69 ^{ns}	1,10 ^{ns}	1,13 ^{ns}
CV ³ (%)	3,92	4,17	3,54	4,52	3,53	13,87	15,32	18,57	18,74	13,08
Média	39,31	40,56	40,68	40,89	40,91	10,48	10,76	10,31	11,09	11,22
FV	Transpiração					Condutância estomática				
	0 DAA	3 DAA	6 DAA	9 DAA	12 DAA	0 DAA	3 DAA	6 DAA	9 DAA	12 DAA
Bloco	30,76	4,58	0,61	3,33	1,98	2,81	1,39	1,75	1,99	7,19
Área (A)	132,2 ^{**}	204,9 ^{**}	108,6 ^{**}	780,4 ^{**}	101,1 ^{**}	226,8 ^{**}	49,6 ^{**}	14,8 ^{**}	51,7 ^{**}	13,99 ^{**}
Estádio (E)	21,9 ^{**}	18,8 ^{**}	33,8 ^{**}	168,2 ^{**}	9,63 ^{**}	14,29 ^{**}	0,07 ^{ns}	9,29 ^{**}	6,51 ^{**}	15,9 ^{**}
Trat. (T)	0,38 ^{ns}	0,63 ^{ns}	0,97 ^{ns}	1,02 ^{ns}	0,81 ^{ns}	0,93 ^{ns}	1,94 ^{ns}	1,51 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,56 ^{ns}
A x E	48,1 ^{**}	91,8 ^{**}	35,3 ^{**}	246,5 ^{**}	43,77 ^{**}	14,14 ^{**}	2,44 ^{ns}	0,31 ^{ns}	2,06 ^{ns}	58,85 ^{**}
A x T	2,62 ^{ns}	0,45 ^{ns}	1,37 ^{ns}	0,36 ^{ns}	0,62 ^{ns}	0,33 ^{ns}	0,55 ^{ns}	0,63 ^{ns}	0,46 ^{ns}	0,78 ^{ns}
E x T	0,67 ^{ns}	0,24 ^{ns}	0,59 ^{ns}	1,68 ^{ns}	0,24 ^{ns}	0,23 ^{ns}	0,30 ^{ns}	1,16 ^{ns}	0,28 ^{ns}	0,27 ^{ns}
A x E x T	1,59 ^{ns}	0,39 ^{ns}	0,54 ^{ns}	0,86 ^{ns}	0,19 ^{ns}	0,27 ^{ns}	0,73 ^{ns}	29,53 ^{**}	0,21 ^{ns}	0,18 ^{ns}
CV (%)	7,68	10,81	12,28	8,38	13,51	20,33	19,14	0,58	20,36	22,19
Média	5,22	5,87	5,22	6,09	5,64	0,46	0,52	0,58	0,54	0,49
FV	Eficiência do uso da água					Concentração interna de CO ₂				
	0 DAA	3 DAA	6 DAA	9 DAA	12 DAA	0 DAA	3 DAA	6 DAA	9 DAA	12 DAA
Bloco	8,04	1,43	1,28	4,37	2,41	6,97	3,68	3,08	0,33	6,09
Área (A)	16,83 ^{**}	90,09 ^{**}	46,84 ^{**}	90,71 ^{**}	12,88 ^{**}	118,7 ^{**}	8,80 ^{**}	32,3 ^{**}	10,5 ^{**}	1,44 ^{ns}
Estádio (E)	4,77 ^{**}	56,90 ^{**}	36,45 ^{**}	25,43 ^{**}	13,81 ^{**}	15,47 ^{**}	22,6 ^{**}	11,5 ^{**}	3,95 [*]	5,22 ^{**}
Trat. (T)	0,94 ^{ns}	1,64 ^{ns}	0,92 ^{ns}	0,12 ^{ns}	1,19 ^{ns}	1,08 ^{ns}	1,28 ^{ns}	1,06 ^{ns}	2,09 ^{ns}	0,05 ^{ns}
A x E	17,14 ^{**}	20,89 ^{**}	5,34 ^{**}	60,01 ^{**}	84,08 ^{**}	8,62 ^{**}	25,4 ^{**}	28,3 ^{**}	70,73 ^{**}	75,07 ^{**}
A x T	0,14 ^{ns}	0,85 ^{ns}	0,46 ^{ns}	0,27 ^{ns}	0,21 ^{ns}	1,69 ^{ns}	0,65 ^{ns}	0,73 ^{ns}	1,52 ^{ns}	0,40 ^{ns}
E x T	1,12 ^{ns}	0,62 ^{ns}	0,60 ^{ns}	0,76 ^{ns}	0,32 ^{ns}	0,27 ^{ns}	0,40 ^{ns}	0,52 ^{ns}	0,35 ^{ns}	0,51 ^{ns}
A x E x T	2,43 ^{ns}	0,25 ^{ns}	1,20 ^{ns}	0,21 ^{ns}	0,38 ^{ns}	0,18 ^{ns}	0,51 ^{ns}	0,54 ^{ns}	0,53 ^{ns}	0,33 ^{ns}
CV (%)	15,33	19,38	22,14	19,63	22,69	12,27	10,83	14,54	14,12	12,79
Média	1,97	1,93	2,03	2,01	2,12	170,65	167,01	197,29	190,26	181,95

¹FV: fonte de variação; ²DAA: Dias após a aplicação; ³CV: Coeficiente de variação; ^{ns} não significativo; * e ** significativo p<0,05 e p<0,01, respectivamente, pelo teste F.

As leituras efetuadas pelo medidor portátil de clorofila correspondem ao teor relativo de clorofila presente na folha da planta, sendo que os valores são calculados pelo equipamento com base na quantidade de luz transmitida pela folha, em dois comprimentos de ondas, com diferentes absorbâncias da clorofila (MINOLTA, 1989). As regiões de picos de absorbância da clorofila são o azul e o vermelho, enquanto as de baixa absorbância situam-se nas regiões do verde e as de absorbância extremamente baixa na região do infravermelho (HENDRY, 1993). Os valores obtidos têm relação proporcional ao teor de clorofila presente na folha. Alguns pesquisadores têm demonstrado a existência de relação entre índice de esverdeamento e teor de clorofila na folha (DWYER et al., 1995). Deste modo, o processo de amadurecimento de folhas pode ser caracterizado através deste índice, considerando que folhas fisiologicamente maduras apresentam maiores teores de clorofila em comparação com folhas em expansão.

Com relação às variáveis relacionadas a trocas gasosas, de modo geral, os maiores valores de assimilação líquida de carbono, condutância estomática, eficiência do uso da água e concentração interna de carbono foram observados para aplicações realizadas estágio fenológico R1 e em alguns casos para R2. Os valores de transpiração apresentaram comportamento inverso, com tendência de menores valores quando a aplicação foi realizada no estágio R1, resultando em valores superiores de eficiência de uso da água. Este período é marcado por um intenso processo de emissão de flores. De modo geral, é comum verificar-se aumento na atividade fotossintética de plantas cultivadas no início do período reprodutivo, em ambientes sem ocorrência de estresse, sendo que a assimilação de carbono nesta fase é determinante para a fixação de flores e para a fecundação ou abortamento (LIU et al., 2004b). Westgate e Peterson (1993) relatam que a disponibilidade de assimilados no período entre 0 e 3 dias após a antese de uma flor é determinante para o sucesso no processo de fixação. Como efeito, plantas com limitações fotossintéticas neste período apresentam reduções significativas no número de vagens e no número de grãos por vagem.

Tabela 7. Comparação de médias para índice SPAD, assimilação líquida de carbono, transpiração, condutância estomática, eficiência de uso da água e concentração interna de CO₂ em função da aplicação de cálcio e citocinina em diferentes estádios fenológicos da plantas de soja BRS 245 RR. Botucatu (SP), 2012.

Índice SPAD					
Estádio	0 DAA	3 DAA	6 DAA	9 DAA	12 DAA
Vn	38,38 c	39,87 b	40,27 b	41,06 b	38,87 c
R1	40,33 a	41,79 a	40,21 b	39,18 c	40,26 b
R2	39,19 b	40,02 b	41,55 a	42,42 a	43,55 a
dms	0,77	0,84	0,72	0,92	0,72
Assimilação líquida de Carbono ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)					
Estádio	0 DAA	3 DAA	6 DAA	9 DAA	12 DAA
Vn	9,77 b	9,79 b	10,46 b	11,66 a	10,30 b
R1	10,92 a	12,97 a	11,66 a	10,94 a	11,70 a
R2	10,73 a	9,53 b	8,80 c	10,69 a	11,67 a
dms	0,72	0,82	0,95	1,04	0,73
Transpiração ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)					
Estádio	0 DAA	3 DAA	6 DAA	9 DAA	12 DAA
Vn	4,84 b	6,35 a	5,62 a	5,12 c	5,25 b
R1	5,47 a	5,38 c	4,46 b	5,78 b	5,59 b
R2	5,34 a	5,89 b	5,58 a	7,39 a	6,08 a
dms	0,20	0,31	0,32	0,26	0,38
Eficiência do uso da água ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol H}_2\text{O}^{-1}$)					
Estádio	0 DAA ¹	3 DAA	6 DAA	9 DAA	12 DAA
Vn	1,84 b	1,58 b	1,83 b	2,28 a	1,93 b
R1	2,02 a	2,51 a	2,56 a	2,12 a	2,49 a
R2	2,06 a	1,71 b	1,67 b	1,61 b	1,94 b
dms	0,15	0,19	0,22	0,20	0,24
Condutância estomática ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)					
Estádio	0 DAA	3 DAA	6 DAA	9 DAA	12 DAA
Vn	0,43 b	0,52 a	0,60 a	0,51 b	0,47 b
R1	0,54 a	0,53 a	0,66 a	0,51 b	0,43 b
R2	0,42 b	0,52 a	0,48 b	0,60 a	0,58 a
dms	0,05	0,05	0,09	0,06	0,06
Concentração interna de CO ₂ ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol ar}^{-1}$)					
Estádio	0 DAA	3 DAA	6 DAA	9 DAA	12 DAA
Vn	171,28 b	160,62 b	177,66 b	190,59 ab	182,72 ab
R1	184,87 a	156,04 b	204,63 a	180,64 b	172,20 b
R2	155,79 c	184,37 a	209,58 a	199,55 a	190,96 a
dms	10,44	9,02	14,3	13,41	11,61

¹DAA: Dias após a aplicação; Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste t de Student ($p < 0,05$).

É importante destacar a ausência de efeitos significativos da aplicação de CK para índice SPAD e de trocas gasosas (Tabela 6). A citocinina é um hormônio vegetal que atua diretamente em processos envolvidos com a síntese de clorofila, diferenciação de cloroplastos, síntese da enzima ribulose difosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco), além de atuar na inibição de enzimas como a clorofilase, mantendo teores adequados de clorofila (HUTCHISON e KIEBER, 2002). A ausência de resultados significativos, neste caso, levanta duas hipóteses. A primeira hipótese está relacionada com a dose de cinetina aplicada (400 mg ha^{-1}), a qual pode ter sido insuficiente para promover efeitos significativos. Passos et al. (2008) verificaram efeitos significativos em termos de produtividade da cultura da soja para doses acima de 250 mg ha^{-1} de cinetina, com resposta positiva até 1000 mg ha^{-1} , porém, variáveis relacionadas ao teor de clorofila e trocas gasosas não foram estudadas no trabalho desses autores. Os demais trabalhos encontrados utilizam como fonte de CK a benzilaminopurina (CARLSON et al., 1987; PETERSON et al., 1990; CHO et al., 2002), em concentrações entre 1-2 mM, que por ser outra forma de citocinina dificulta a comparação. Uma segunda hipótese passível de estudo é o sistema de regulação da concentração interna de citocinina, ou regulação por *feedback*. Neste caso, a planta mantém a concentração interna de CK em níveis mais ou menos constantes, através da atividade da enzima CKoxidase, a qual quebra a ligação da cadeia lateral, liberando o grupo adenina, sendo esta forma de inativação considerada irreversível (BUCHANAN et al., 2000). Este comportamento poderia acontecer, principalmente, em situações onde o ambiente não é um fator limitante em termos de estresse, como no presente experimento.

4.2.2 Componentes da produção e produtividade

Os resultados observados para os componentes da produção e para a produtividade da soja em função dos estádios de aplicação de cálcio, citocinina e cálcio + citocinina apresentaram variações quanto à uniformidade dos quadrados médios do resíduo entre as duas áreas. Desta forma, optou-se por realizar somente a análise de variância individual para cada uma das duas áreas de cultivo (Tabelas 8 e 9). Na área experimental 1 houve efeito significativo dos estádios de aplicação apenas para a porcentagem de produção observada nos terços inferior e superior (Tabela 8), sendo que o efeito de produtos aplicados, da interação entre fatores e entre fatorial e testemunha não foi significativo para nenhuma das características avaliadas. Na área experimental 2 houve

efeito significativo dos estádios de aplicação para boa parte das características avaliadas (Tabela 9). O efeito da aplicação dos produtos foi observado apenas para o número de vagens no terço médio das plantas, sendo que a interação entre fatores foi observada para a produtividade da cultura. Não foi observada interação entre fatorial e testemunha para nenhuma das características. Em função da ausência de interação entre o fatorial e testemunha em ambos os experimentos, a comparação entre fatores isolados (estádios ou produtos) com a testemunha foi realizada pela determinação da diferença mínima significativa calculada pelo teste Dunnett ($p < 0,05$).

Tabela 8. Resumo da análise de variância individual (valores de F) na área experimental 1 para componentes da produção e produtividade da cultura de soja BRS 245 RR em função de estádios fenológicos de aplicação e da aplicação de cálcio, citocinina e cálcio + citocinina. Botucatu (SP), 2012.

FV ¹	AI	NVP	NVINP	NVMED	NVSUP	NVUG	NVDG	NVTG
Bloco	1,79	1,28	0,76	3,11	0,26	0,83	1,98	0,37
Estádio (E)	0,18 ^{ns}	1,01 ^{ns}	0,92 ^{ns}	0,44 ^{ns}	2,97 ^{ns}	1,11 ^{ns}	1,49 ^{ns}	0,13 ^{ns}
Trat. (T)	1,05 ^{ns}	0,17 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,98 ^{ns}	0,32 ^{ns}	1,74 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,34 ^{ns}
E x T	0,16 ^{ns}	0,16 ^{ns}	0,42 ^{ns}	0,31 ^{ns}	0,92 ^{ns}	0,27 ^{ns}	0,81 ^{ns}	0,56 ^{ns}
Fat. x Test.	1,27 ^{ns}	0,92 ^{ns}	0,38 ^{ns}	0,66 ^{ns}	0,79 ^{ns}	0,60 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,18 ^{ns}
CV ² (%)	18,34	10,92	24,17	10,25	15,25	19,18	11,06	13,44
Média	14,54	55,87	4,22	33,82	17,81	13,08	23,78	21,08
FV	NVCH	%VV	NGP	NGINF	NGMED	NGSUP	MGP	MGINF
Bloco	1,17	1,62	1,25	0,39	3,31	0,15	1,39	0,54
Estádio (E)	0,83 ^{ns}	0,20 ^{ns}	0,55 ^{ns}	2,23 ^{ns}	0,31 ^{ns}	2,28 ^{ns}	0,39 ^{ns}	2,45 ^{ns}
Trat. (T)	0,55 ^{ns}	0,59 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,21 ^{ns}	0,35 ^{ns}	0,43 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,25 ^{ns}
E x T	0,75 ^{ns}	1,75 ^{ns}	0,44 ^{ns}	0,15 ^{ns}	0,45 ^{ns}	1,08 ^{ns}	0,47 ^{ns}	0,15 ^{ns}
Fat. x Test.	1,85 ^{ns}	1,37 ^{ns}	0,33 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,15 ^{ns}	0,56 ^{ns}	0,24 ^{ns}	0,01 ^{ns}
CV (%)	25,02	2,35	12,02	28,91	10,81	17,86	11,19	28,55
Média	6,07	89,18	99,95	7,06	62,35	30,54	16,62	1,17
FV	MGMED	MGSUP	%ProdINF	%ProdMED	%ProdSUP	PROD	Umidade	MMG
Bloco	3,38	0,04	0,55	1,66	1,85	2,64	1,31	1,83
Estádio (E)	0,13 ^{ns}	2,39 ^{ns}	4,14 [*]	0,54 ^{ns}	3,91 [*]	1,92 ^{ns}	0,32 ^{ns}	0,56 ^{ns}
Trat. (T)	0,19 ^{ns}	0,65 ^{ns}	0,33 ^{ns}	1,42 ^{ns}	1,09 ^{ns}	0,23 ^{ns}	2,09 ^{ns}	0,44 ^{ns}
E x T	0,51 ^{ns}	1,19 ^{ns}	0,18 ^{ns}	1,51 ^{ns}	1,76 ^{ns}	0,53 ^{ns}	1,91 ^{ns}	0,47 ^{ns}
Fat. x Test.	0,07 ^{ns}	0,54 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,39 ^{ns}	0,52 ^{ns}	0,17 ^{ns}	0,54 ^{ns}	0,11 ^{ns}
CV (%)	10,64	16,56	24,92	5,34	9,64	5,85	2,27	3,01
Média	10,37	5,07	7,05	62,48	30,45	2349,18	12,67	166,42

¹FV: fonte de variação; ²CV: Coeficiente de variação; ^{ns} não significativo; ^{*} e ^{***} significativo $p < 0,05$ e $p < 0,01$, respectivamente, pelo teste F. AI: altura de inserção da primeira vagem; NVP: número de vagens por planta; NVINF: número de vagens no terço inferior; NVMED: número de vagens no terço médio; NVSUP: número de vagens no terço superior; NVUG: número de vagens com um grão; NVDG: número de vagens com dois grãos; NVTG: número de vagens com três grãos; NVCH: número de vagens chochas; %VV: porcentagem de vagens viáveis; NGP: número de grãos por planta; NGINF: número de grãos no terço inferior; NGMED: número de grãos no terço médio; NGSUP: número de grãos no terço superior; MGP: massa de grãos por planta; MGINF: massa de grãos no terço inferior; MGMED: massa de grãos no terço médio; MGSUP: massa de grãos no terço superior; %ProdINF: porcentagem de produção no terço inferior; %ProdMED: porcentagem de produção no terço médio; %ProdSUP: porcentagem de produção no terço superior; PROD: produtividade; Umidade: teor de umidade na colheita; MMG: massa de mil grãos.

Tabela 9. Resumo da análise de variância individual (valores de F) na área experimental 2, para componentes da produção e produtividade da cultura de soja BRS 245 RR em função de estádios fenológicos de aplicação e da aplicação cálcio, citocinina e cálcio + citocinina. Botucatu (SP), 2012.

FV ¹	AI	NVP	NVIN	NVMED	NVSUP	NVUG	NVDG	NVTG
Bloco	16,11	9,58	1,95	6,65	6,32	3,81	7,56	8,06
Estádio (E)	10,59**	4,19*	1,52 ^{ns}	9,99**	3,53*	1,89 ^{ns}	4,76*	8,97**
Trat. (T)	0,16 ^{ns}	0,92 ^{ns}	0,25 ^{ns}	3,79*	0,16 ^{ns}	1,72 ^{ns}	0,63 ^{ns}	0,78 ^{ns}
E x T	1,16 ^{ns}	0,54 ^{ns}	0,60 ^{ns}	0,31 ^{ns}	0,60 ^{ns}	0,63 ^{ns}	0,88 ^{ns}	1,51 ^{ns}
Fat. x Test.	1,43 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,50 ^{ns}	0,11 ^{ns}	0,94 ^{ns}	0,76 ^{ns}	0,24 ^{ns}	2,62 ^{ns}
CV ² (%)	11,33	12,41	64,95	10,22	21,92	17,99	11,99	14,02
Média	12,88	56,24	4,47	33,31	18,44	10,86	22,11	15,42
FV	NVCH	%VV	NGP	NGINF	NGMED	NGSUP	MGP	MGINF
Bloco	4,23	0,94	10,08	1,14	4,23	7,44	8,63	1,18
Estádio (E)	0,39 ^{ns}	1,16 ^{ns}	7,61**	1,46 ^{ns}	13,31**	4,62*	6,74**	1,51 ^{ns}
Trat. (T)	0,07 ^{ns}	0,08 ^{ns}	1,05 ^{ns}	0,45 ^{ns}	3,21 ^{ns}	0,16 ^{ns}	0,71 ^{ns}	0,43 ^{ns}
E x T	0,33 ^{ns}	0,64 ^{ns}	0,95 ^{ns}	0,59 ^{ns}	0,45 ^{ns}	0,82 ^{ns}	0,98 ^{ns}	0,57 ^{ns}
Fat. x Test.	0,28 ^{ns}	0,28 ^{ns}	0,29 ^{ns}	0,59 ^{ns}	1,54 ^{ns}	0,46 ^{ns}	0,35 ^{ns}	0,60 ^{ns}
CV (%)	28,67	3,28	11,27	81,66	9,99	22,38	11,26	81,77
Média	7,83	86,21	101,38	6,37	60,21	34,79	14,77	0,83
FV	MGMED	MGSUP	%ProdINF	%ProdMED	%ProdSUP	PROD	Umidade	MMG
Bloco	3,63	6,81	0,71	4,55	4,14	13,03	3,56	3,81
Estádio (E)	12,27**	4,35*	2,42 ^{ns}	0,56 ^{ns}	1,42 ^{ns}	0,71 ^{ns}	3,84**	1,26 ^{ns}
Trat. (T)	2,59 ^{ns}	0,19 ^{ns}	0,35 ^{ns}	1,61 ^{ns}	1,72 ^{ns}	0,56 ^{ns}	0,32 ^{ns}	1,31 ^{ns}
E x T	0,52 ^{ns}	0,89 ^{ns}	0,52 ^{ns}	0,72 ^{ns}	0,72 ^{ns}	4,70**	0,82 ^{ns}	2,71 ^{ns}
Fat. x Test.	1,75 ^{ns}	0,43 ^{ns}	0,53 ^{ns}	0,56 ^{ns}	2,69 ^{ns}	1,24 ^{ns}	0,92 ^{ns}	0,13 ^{ns}
CV (%)	9,82	22,31	80,66	9,02	13,93	7,54	5,39	1,75
Média	8,78	5,07	6,26	59,85	33,89	2533,96	13,35	145,95

¹FV: fonte de variação; ²CV: Coeficiente de variação; ^{ns} não significativo; * e ** significativo p<0,05 e p<0,01, respectivamente, pelo teste F. AI: altura de inserção da primeira vagem; NVP: número de vagens por planta; NVINF: número de vagens no terço inferior; NVMED: número de vagens no terço médio; NVSUP: número de vagens no terço superior; NVUG: número de vagens com um grão; NVDG: número de vagens com dois grãos; NVTG: número de vagens com três grãos; NVCH: número de vagens chochas; %VV: porcentagem de vagens viáveis; NGP: número de grãos por planta; NGINF: número de grãos no terço inferior; NGMED: número de grãos no terço médio; NGSUP: número de grãos no terço superior; MGP: massa de grãos por planta; MGINF: massa de grãos no terço inferior; MGMED: massa de grãos no terço médio; MGSUP: massa de grãos no terço superior; %ProdINF: porcentagem da produção no terço inferior; %ProdMED: porcentagem da produção no terço médio; %ProdSUP: porcentagem da produção no terço superior; PROD: produtividade; Umidade: teor de umidade na colheita; MMG: massa de mil grãos.

O número total de vagens, o número de grãos e a massa de grãos por planta não sofreram interferência significativa da aplicação de Ca e CK e do estágio fenológico em que a aplicação foi realizada, no Experimento 1 (Tabela 8). Estes são os componentes principais da produção na cultura da soja, os quais têm efeitos diretos sobre a

produtividade, a qual também não foi afetada. Para este experimento, os estádios de aplicação de Ca, CK ou de sua combinação promoveram alterações na proporção da produção de grãos dentro do perfil da planta (Tabela 10). Observa-se que a aplicação dos produtos, isolados ou combinados, promoveu aumento na proporção da produção de grãos no terço inferior da planta quando realizada em R1, enquanto a menor proporção é observada para a aplicação em Vn. Considerando que a produção total da planta não foi afetada, a maior proporção de grãos observada no terço inferior para a aplicação em R1 resultou em redução significativa na proporção de grãos no terço superior da planta, enquanto a aplicação em Vn promoveu maior proporção de grãos no terço superior. Contudo, vale ressaltar que, as médias relativas aos componentes da produção, quando avaliadas em função da aplicação de Ca e CK dentro dos estádios fenológicos em que foram realizadas as aplicações, não foram superiores ao controle, sem aplicação

Tabela 10. Comparação de médias para porcentagem da produção nos terços inferior e superior de plantas de soja BRS 245 RR em função de estádios fenológicos de aplicação e da aplicação de cálcio, citocinina e cálcio + citocinina na área experimental 1. Botucatu (SP), 2012.

Estádio	Produção no terço inferior (%)	Produção no terço superior (%)
Vn	5,95 b	32,26 a
R1	7,99 a	29,12 b
R2	7,23 ab	29,14 b
Controle	7,0 ^{ns}	31,47 ^{ns}
dms estágio	1,47	2,46
dms controle ¹	2,46	4,10

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste t de Student ($p < 0,05$). ¹diferença mínima significativa pelo teste Dunnett ($p < 0,05$) para a comparação entre épocas e o controle, sem aplicação.

De modo geral, as primeiras flores a entrarem em antese em plantas de soja de hábito determinado de crescimento são as do terço médio, evoluindo para o ápice e para a base da planta com a evolução do desenvolvimento reprodutivo. Aplicações mais precoces dos produtos (Vn) resultaram em maior proporção da produção no terço superior das plantas, enquanto aplicações tardias resultaram em maior proporção da produção no terço inferior. Para o terço médio, onde o florescimento se inicia, a produção não foi afetada. Este comportamento revela certo grau de plasticidade no desenvolvimento reprodutivo da cultura, sendo que o total de produção da planta não foi afetado pelos estádios de aplicação dos produtos. É possível que a aplicação em Vn tenha beneficiado as

primeiras flores a se desenvolverem, nos terços médio e superior, enquanto aplicações mais tardias beneficiaram o desenvolvimento de flores do terço inferior (Tabela 10).

Os estádios fenológicos em que a aplicação dos produtos foi realizada afetaram os componentes da produção de soja de forma significativa no experimento 2 (Tabela 11). De modo geral, a aplicação de tratamentos no estágio R1 proporcionou os menores valores de número de vagens total, nos terços médio e superior e vagens com dois e três grãos. Da mesma forma, os valores de número de grãos e massa de total de grãos nos terços médio e superior foram menores quando a aplicação foi realizada em R1. Para todas as características citadas (Tabela 11), aplicações realizadas em Vn e R2 resultaram em valores significativamente superiores, além de resultar em menor altura de inserção de vagens. É importante destacar que em nenhuma das características avaliadas a aplicação proporcionou valores superiores ao do controle, sem aplicação.

Tabela 11. Comparação de médias para componentes de produção de plantas de soja BRS 245 RR em função de estádios fenológicos de aplicação e da aplicação de cálcio, citocinina e cálcio + citocinina na área experimental 2. Botucatu (SP), 2012.

Estádios	AI (cm)	NVP	NVMED	NVSUP	NVDG	NVTG
Vn	11,7 b	59,30 a	36,17 a	19,22 a	23,65 a	16,41 a
R1	14,3 a	51,53 b	30,03 b	15,73 b	20,32 b	13,48 b
R2	12,4 b	57,78 a	33,95 a	19,78 a	22,14 ab	16,97 a
Controle	13,7 ^{ns}	56,58 ^{ns}	32,78 ^{ns}	20,30 ^{ns}	22,73 ^{ns}	14,78 ^{ns}
dms estágio	1,20	5,84	2,85	3,38	2,22	1,81
dms controle ¹	2,04	9,75	4,76	5,65	3,70	3,03
	NGP	NGMED	NGSUP	MGP (g)	MGMED (g)	MGSUP (g)
Vn	108,21 a	66,05 a	36,74 a	15,70 a	9,59 a	5,33 a
R1	91,31 b	53,65 b	28,97 b	13,41 b	7,88 b	4,25 b
R2	105,63 a	62,12 a	36,74 a	15,39 a	9,05 a	5,51 a
Controle	98,45 ^{ns}	58,68 ^{ns}	37,30 ^{ns}	14,31 ^{ns}	8,54 ^{ns}	5,42 ^{ns}
dms estágio	9,56	5,03	6,52	1,39	0,72	0,95
dms controle	15,97	8,41	10,88	2,33	1,20	1,58

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste t de Student ($p < 0,05$). ¹diferença mínima significativa pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$) para a comparação entre épocas e o controle, sem aplicação. AI: altura de inserção da primeira vagem; NVP: número de vagens por planta; NVMED: número de vagens no terço médio; NVSUP: número de vagens no terço superior; NVDG: número de vagens com dois grãos; NVTG: número de vagens com três grãos; NGP: número de grãos por planta; NGMED: número de grãos no terço médio; NGSUP: número de grãos no terço superior; MGP: massa de grãos por planta; GMED: massa de grãos no terço médio; MGSUP: massa de grãos no terço superior;

A aplicação de Ca e cinetina, de forma isolada ou associada resultou em alteração significativa apenas para o número de vagens no terço médio das plantas no experimento 2 (Tabela 12). Neste caso, independentemente do estágio fenológico, a aplicação de CK de forma isolada ou combinada com cálcio proporcionou maior número total de vagens na planta. É válido destacar que o número total de vagens na planta para esse tratamento, bem como dos demais tratamentos, não foram afetados. Os valores de número de vagens no terço médio das plantas para os tratamentos não diferiram dos observados no controle.

Tabela 12. Comparação de médias para número de vagens no terço médio de plantas (NVMED) e desdobramento da interação entre estádios fenológicos de aplicação e da aplicação de cálcio, citocinina e cálcio + citocinina para produtividade da cultura de soja BRS 245 RR na área experimental 2. Botucatu (SP), 2012.

NVMED		Produtividade (kg ha ⁻¹)			
		Vn		R1	R2
Ca	31,32 b	Ca	2449,5 abA	2449,5 aA	2539,6 aA
CK	35,12 a	CK	2698,6 aA	2705,2 aA	2255,4 bB
Ca + CK	33,70 ab	Ca + CK	2409,9 bB	2627,2 aAB	2728,4 aA
Controle	32,78 ^{ns}	Controle	2432,70 ^{ns}		
dms tratamento	2,85	dms interação	277,0		
dms controle ¹	4,77	dms controle	388,9		

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste t de Student ($p < 0,05$). ¹diferença mínima significativa pelo teste Dunnett ($p < 0,05$) para a comparação entre tratamentos e o controle, sem aplicação.

A produtividade de grãos da cultura da soja foi afetada de forma significativa pela interação entre estádios fenológicos e produtos aplicados (Tabela 12). Para as aplicações no estágio Vn, maior produtividade foi obtida para a aplicação de CK. Quando a aplicação foi realizada em R1 não houve diferença entre tratamentos. Para a aplicação no estágio R2 os melhores resultados foram obtidos para a aplicação de Ca na forma isolada ou combinada com CK. Quando se compara as médias de produtividade entre estádios de aplicação de cada produto, observa-se que para aplicação de Ca não houve variações significativas na produtividade de grãos entre os estádios de aplicação. Para a aplicação isolada de CK, maiores valores de produtividade foram observados para

aplicações em Vn e R1, enquanto que para a aplicação combinada de Ca + CK, os maiores valores foram observados para a aplicação em R2, a qual não diferiu da aplicação em R1.

As diferenças no comportamento produtivo entre as duas áreas experimentais podem ser explicadas pelas características morfológicas das plantas observadas nos dois experimentos (Tabela 4). A semeadura tardia da segunda área, em relação à primeira, resultou em uma redução na altura de plantas, característica deste tipo de cultivo, resultando em plantas com área foliar ligeiramente superior. A redução na altura de plantas, associada ao menor número de plantas na linha resulta em um padrão diferenciado de arquitetura que, em termos de tecnologia de aplicação, resulta em maior capacidade de penetração da calda de pulverização durante a aplicação.

O estágio de aplicação dos produtos foi fator significativo para o padrão de comportamento produtivo, em termos de produção nos terços inferior, médio e superior. Contudo, a ausência de interação fatores, ou mesmo dentro dos produtos aplicados, dificulta o entendimento dos resultados, pois não fica claro se os resultados ocorreram em função da aplicação de cálcio ou citocinina, ou mesmo da aplicação combinada de ambos. Vale destacar ainda, que o efeito dos estádios de aplicação ou dos produtos não foi significativo quando comparado com o controle sem aplicação.

Trabalhos de campo com a aplicação de formas exógenas de CK ainda são escassos. Passos et al. (2008) observaram aumento no número de vagens em plantas de soja para a aplicação de CK na forma de cinetina no estágio R3 da cultura, caracterizado pelo início do desenvolvimento de vagens. Contudo, esta época de aplicação não foi estudada no presente trabalho. Trabalhos como o de Nagel et al. (2001) demonstram que o balanço hormonal no período reprodutivo de plantas de soja é bastante dinâmico e variável em função das condições ambientais, visto que os resultados obtidos pela aplicação de BA no fluxo xilemático de plantas em casa de vegetação não se refletiram quando BA foi aplicado em condições de campo. O balanço hormonal interno da planta é uma característica complexa, que é resultado de fatores genéticos e da interação da planta com o ambiente, cujos efeitos em muitos casos ainda não são totalmente esclarecidos (BUCHANAN et al., 2000). Desta forma, pode-se dizer que maiores estudos são necessários para o comportamento da soja em condições de campo, pois se o potencial observado em estudos com ambiente controlado (CARLSON et al., 1987; PETERSON et al., 1990; NAGEL et al., 2001; CHO et al., 2002; LIU et al., 2004a) se refletir a campo, altos índices de produtividade da cultura podem ser obtidos.

Os resultados obtidos nos dois experimentos de campo, com a mesma cultivar de soja, demonstram a ausência de efeitos significativos para a aplicação foliar de cálcio na cultura, visto que a produtividade e os componentes principais da produção não foram afetados (Tabelas 8 e 9). Portanto, o aumento na disponibilidade de cálcio no período entre os estádios de pré-florescimento (Vn) até o florescimento pleno de plantas de soja parecem não afetar o desenvolvimento reprodutivo da planta em condições de campo sem ocorrência de estresse ambiental. Conforme citado anteriormente, os efeitos da aplicação foliar de cálcio no período reprodutivo de plantas de soja são bastante inconsistentes, principalmente, quando se trata de aplicações em campo (ARANTES et al., 2009), com resultados insatisfatórios obtidos mesmo em condições controladas de cultivo de soja ou mesmo de feijão (QUINTANA et al., 1999; SEVÁ e JORGE, 1981; BEVILAQUA et al., 2002).

Conforme observado na literatura, o período crítico para o desenvolvimento de flores de soja ocorre até os três dias após a antese (WESTGATE e PETERSON, 1993). Somado a isso, os resultados observados no presente estudo demonstram o baixo desenvolvimento vascular em flores de soja neste período, com xilema desenvolvido de modo satisfatório somente após a formação inicial do embrião, ou seja, após o período crítico. Parece claro, neste caso, que em condições de ambiente não limitante, o fluxo apoplástico de cálcio, via transporte célula-célula, é efetivo para suprir as necessidades iniciais do embrião até que o xilema tenha seu desenvolvimento finalizado. Pode-se dizer também, que o abortamento de flores emitidas tardiamente não ocorre devido a limitações nutricionais, pelo menos de cálcio, visto que o suprimento adicional do nutriente não resultou em aumento no número de vagens ou de grãos.

Deve-se considerar, contudo, que as questões levantadas tratam-se apenas de hipóteses, as quais necessitam de comprovação, visto que existem ainda outros fatores que ainda não foram estudados. Considerando que o cálcio é um nutriente que se movimenta basicamente em regiões apoplásticas de tecidos vegetais (EPSTEIN e BLOOM, 2006), o objetivo primário de uma aplicação foliar com o nutriente seria o suprimento direto a estruturas reprodutivas, as quais, comprovadamente possuem sistema vascular pouco desenvolvido para o suprimento de cálcio, visto que se o cálcio for fornecido via pulverização foliar, os nutrientes que atingem as folhas dificilmente serão redistribuídos, e se forem, encontrarão a mesma limitação vascular verificada para os nutrientes que se movimentam diretamente das raízes. Portanto, para ser efetiva, a

aplicação de soluções de cálcio devem ter como alvos principais os botões florais e flores em desenvolvimento, o que pode ser considerado um desafio em termos de tecnologia de aplicação. O efeito guarda-chuvas provocado pela grande quantidade de folhas em plantas de soja na fase reprodutiva representa um grande entrave, neste caso, para que a solução aplicada atinja o alvo determinado. Deve-se considerar, que isto se trata apenas de uma hipótese, que poderá ser testada em trabalhos futuros. Neste caso, estudos que determinarão a quantidade de cálcio que atinge estruturas reprodutivas de plantas de soja em aplicações foliares, bem como os efeitos da aplicação localizada de cálcio em racemos ou flores específicas dentro do dossel de plantas de soja, serão de grande auxílio para elucidar estas questões. Deve-se considerar ainda, que mesmo com o xilema formado, o Ca ainda terá dificuldade de transporte para as estruturas reprodutivas, visto que o fluxo transpiratório leva o Ca para as folhas em detrimento de estruturas reprodutivas.

4.3 Experimento 3: Comportamento produtivo da soja em função da aplicação de cálcio e citocinina sob estresse ambiental

4.3.1 Conteúdo relativo de água (CRA)

A análise de variância para os valores de conteúdo relativo de água (CRA) nas folhas no período de estresse e recuperação demonstra efeitos significativos para os fatores estudados (Tabela 13). O estresse ambiental afetou o CRA de forma significativa em todas as avaliações realizadas, desde 0 aos 14 DAA. Foram verificados efeitos significativos dos produtos aplicados (de forma isolada), no CRA apenas aos 2 DAA, enquanto que a interação entre fatores foi verificada apenas aos 4 DAA.

Tabela 13. Resumo da análise de variância (valores de F) para os valores de conteúdo relativo de água nas folhas em plantas de soja BRS 245 RR em função do estresse ambiental e da aplicação de cálcio, citocinina e cálcio + citocinina no estágio R2. Botucatu (SP), 2012.

FV ¹	Conteúdo relativo de água (CRA)							
	0 DAA ²	2 DAA	4 DAA	6 DAA	8 DAA	10 DAA	12 DAA	14 DAA
Bloco	2,88	0,16	1,26	1,48	0,61	0,72	2,57	2,87
Ambiente (A)	5,06*	26,59**	25,36**	13,59**	25,48**	51,73**	338,51**	5,06*
Produto (P)	0,70 ^{ns}	3,16*	6,24**	1,83 ^{ns}	1,06 ^{ns}	0,25 ^{ns}	1,91 ^{ns}	0,70 ^{ns}
A x P	0,62 ^{ns}	1,48 ^{ns}	4,00**	0,66 ^{ns}	0,58 ^{ns}	0,30 ^{ns}	1,24 ^{ns}	0,63 ^{ns}
CV ³ (%) 1	2,01	2,86	12,01	4,87	13,39	3,49	5,65	2,01
CV ⁴ (%) 2	2,51	2,95	7,28	6,36	7,29	3,87	5,21	2,51
Média	88,58	87,63	81,48	86,98	76,51	86,43	75,62	88,58

¹FV: fonte de variação; ²DAA: Dias após a aplicação; ³CV: Coeficiente de variação para parcela; ⁴CV: Coeficiente de variação para subparcela; ^{ns} não significativo; * e ** significativo p<0,05 e p<0,01, respectivamente, pelo teste F.

O CRA foi afetado de forma significativa pela imposição de déficit hídrico, quando comparado com o ambiente controle e o ambiente com estresse por sombreamento (Tabela 14). Plantas submetidas a restrições no suprimento de água apresentaram os menores valores de CRA durante todo o período. A redução na disponibilidade de água neste ambiente, conforme caracterizado pela Figura 4d, ocorreu em três ciclos, sendo o primeiro de 0 à 4 DAA, dia em que se iniciou o segundo ciclo que se encerrou aos 8 DAA, quando o terceiro ciclo foi iniciado, sendo finalizado aos 12 DAA. O período entre 12 e 14 DAA foi determinado como período de recuperação, sendo que

todos os tratamentos estavam submetidos às mesmas condições de luz e suprimento hídrico. Os menores valores de CRA em folhas de plantas em ambiente sob déficit hídrico foram observados nos dias finais de cada ciclo de estresse, acompanhando a redução na disponibilidade de água no solo.

Para o ambiente controle e o ambiente com estresse por sombreamento, os valores permaneceram constantes no período, sendo significativamente superiores em todos os dias de avaliação. Conforme esperado, o estresse por sombreamento não afetou o CRA de plantas de soja, visto que este ambiente restringe apenas a incidência de luz, sendo que a disponibilidade de água no período foi a mesma das plantas no ambiente controle.

Tabela 14. Comparação de médias para valores de conteúdo relativo de água nas folhas em plantas de soja BRS 245 RR em função do efeito isolado do estresse ambiental e da aplicação de cálcio, citocinina e cálcio + citocinina no estágio R2. Botucatu (SP), 2012.

Conteúdo relativo de água (%)								
Ambiente	0 DAA ¹	2 DAA	4 DAA	6 DAA	8 DAA	10 DAA	12 DAA	14 DAA
Controle	88,90 ab	88,83 a	87,61 a	88,76 a	84,66 a	89,29 a	87,65 a	88,90 ab
Déficit hídrico	87,45 b	83,97 b	67,31 b	82,50 b	61,60 b	80,17 b	52,96 b	87,45 b
Sombreamento	89,38 a	90,90 a	89,52 a	89,68 a	83,26 a	89,85 a	86,24 a	89,38 a
dms	1,54	2,17	8,45	3,67	8,66	2,61	3,69	1,54
Conteúdo relativo de água (%)								
Produtos	0 DAA	2 DAA	4 DAA	6 DAA	8 DAA	10 DAA	12 DAA	14 DAA
Controle	88,60 a	85,93 b	75,89 b	85,06 a	74,20 a	86,74 a	73,45 a	88,60 a
Ca	88,91 a	87,59 ab	84,89 a	89,63 a	77,41 a	85,72 a	75,68 a	88,91 a
CK	88,98 a	89,17 a	80,37 ab	85,39 a	76,46 a	86,57 a	76,41 a	88,98 a
Ca+CK	87,81 a	87,82 ab	84,77 a	87,84 a	77,97 a	86,72 a	76,92 a	87,81 a
dms	1,54	2,17	4,97	4,63	4,67	2,81	3,49	1,86

¹DAA: Dias após a aplicação; Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste t de Student (p<0,05).

O efeito isolado da aplicação de Ca e CK sobre o CRA foi observado apenas no segundo dia após a aplicação (2 DAA), sendo que neste caso, plantas tratadas com CK apresentaram os maiores valores, enquanto os menores valores foram verificados para o tratamento controle, sem aplicação (Tabela 14). A interação entre ambiente e a aplicação dos produtos foi verificada aos quatro dias após a aplicação (Tabela 15), caracterizado pelo último dia de estresse do primeiro ciclo de déficit hídrico. Tanto para a aplicação de Ca, CK e Ca+CK, bem como o controle, sem aplicação, os menores

CRA foram observados para a condição de déficit hídrico, enquanto os valores no ambiente controle e do ambiente sombreado foram significativamente superiores, sem diferirem entre si. Para a comparação entre os produtos aplicados, dentro de cada condição ambiental, observa-se que não houve efeito da aplicação de Ca e CK, isolados ou combinados, para o ambiente controle e para o ambiente sobre sombreamento. Contudo no ambiente sobre déficit hídrico os maiores valores de CRA foram observados para plantas tratadas com Ca, de forma isolada ou combinada com CK, enquanto que o controle apresentou os menores valores. Plantas tratadas apenas com CK apresentaram comportamento intermediário.

Tabela 15. Comparação de médias de conteúdo relativo de água nas folhas aos 4 DAA em plantas de soja BRS 245 RR para o desdobramento do efeito do estresse ambiental e da aplicação de cálcio, citocinina e cálcio + citocinina no estágio R2. Botucatu (SP), 2012.

Conteúdo relativo de água (%) 4 DAA ¹				
Ambiente	Controle	Ca	CK	Ca+CK
Controle	87,9 aA	88,7 aA	87,2 aA	86,7 aA
Déficit hídrico	52,3 bC	75,6 bA	66,0 bB	75,2 bA
Sombreamento	87,4 aA	90,3 aA	87,8 aA	92,5 aA
dms	8,61			

¹DAA: Dias após a aplicação; Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste t de Student (p<0,05).

O CRA é um importante indicador do estado hídrico de plantas em condições de déficit hídrico, sendo que elevados valores de conteúdo de água nas folhas permitem a manutenção do metabolismo celular durante eventos de estresse (JONES, 2007). Em condições de déficit hídrico suave, moderado e severo, Ennahli e Earl (2005) observaram relação linear entre os valores de conteúdo relativo de água (CRA) e potencial hídrico foliar, em plantas de algodão. Esta característica pode ser utilizada ainda, como ferramenta para a identificação de variações genéticas para tolerância à seca (PANNU et al., 1993; JAMES et al., 2008). A manutenção do turgor celular pode estar associada ao ajustamento osmótico (SERRAJ e SINCLAIR, 2002), onde o acúmulo de compostos osmoticamente ativos e não nocivos provocam a redução do potencial osmótico celular, mantendo o conteúdo de água no tecido (ZHANG et al., 1999; HASEGAWA et al., 2000). Por outro lado, a manutenção do estado hídrico foliar pode ocorrer em resposta ao aumento na capacidade de controle das perdas de água da planta pelo fechamento estomático

(CHAVES et al., 2002). Neste caso, a concentração de ABA nas folhas e a sensibilidade das células-guarda em responder ao estímulo resultante são fatores determinantes (CHAVES e OLIVEIRA, 2004).

O comportamento de plantas tratadas com Ca e CK (Tabela 15) revela que os tratamentos proporcionaram aumento na capacidade de manutenção do estado hídrico foliar no primeiro ciclo de déficit hídrico, sendo que este efeito não foi observado nos ciclos seguintes de estresse. A manutenção do estado hídrico foliar durante eventos de escassez de água é fundamental para o metabolismo vegetal, resultando em manutenção da função celular e também do metabolismo fotossintético. É possível que os efeitos do Ca e da CK estejam relacionados ao controle estomático em horários de maior demanda evapotranspiratória, que resultaria em maior capacidade de manutenção do teor de água nos tecidos, ou mesmo com respostas associadas ao ajustamento osmótico foliar.

O cálcio atua de forma extremamente dinâmica na sinalização de eventos celulares (REDDY, 2001), sendo que a sinalização em condições de déficit hídrico é de grande importância (HONG-BO et al., 2008). O influxo ou efluxo de Ca no citoplasma vegetal resulta em eventos de mudança na sua concentração de forma rápida e localizada, promovendo transmissão de sinais específicos (WHITE e BROADLEY, 2003). Entre os sinais mais conhecidos em situação de estresse ambiental está envolvido com a ação do ABA no fechamento estomático (HONG-BO et al., 2008). Neste sentido, a presença de maiores concentrações de Ca em folhas poderia resultar em uma maior eficiência na ação do ABA sobre o controle estomático das perdas de água. Chari et al. (1986) observaram que a aplicação de cálcio em plantas de amendoim e feijão caupi antes da submissão ao déficit hídrico resultou em manutenção do estado hídrico foliar e da integridade celular de folhas. Segundo os autores, o efeito do cálcio na manutenção do estado hídrico não estaria relacionado com o ajuste osmótico foliar.

É comum verificar a redução na biossíntese de CK em plantas sob condições de estresse (YANG et al., 2002). Atanassova et al. (1996) verificaram redução no conteúdo de CK em plantas de milho e ervilha submetidas ao estresse salino. Yoshida et al. (1997) observaram que o acúmulo de prolina, um importante osmólito compatível associado ao ajustamento osmótico em plantas, tem uma regulação transcricional em plantas de tabaco submetidas a desidratação. Cherniad'ev e Monakhova (2003) verificaram que formas endógenas de CK possuem efeitos diretos no retardamento da redução nos conteúdos de clorofila, proteínas solúveis e da enzima Rubisco em plantas de trigo

submetidas ao déficit hídrico. Merewitz et al. (2012) estudando plantas mutantes de grama rasteira (*Agrostis stolonifera*) com super expressão de genes associados com a biossíntese de CK, observaram que o acúmulo de CK está diretamente relacionado com o acúmulo de solutos compatíveis, como prolina, glicina, alanina, sacarose, frutose e maltose, os quais estão diretamente relacionados com o ajuste osmótico e, por consequência, com a tolerância a seca nestes materiais.

Observa-se, contudo, que os efeitos do Ca e da CK são isolados e não sinérgicos, visto que a aplicação combinada dos dois tratamentos não resultou em efeito superior ao da aplicação isolada. Deste modo, pode-se sugerir que os efeitos do cálcio e da citocinina na manutenção do estado hídrico foliar ocorrem por vias diferentes e independentes. Desta forma, é possível que os efeitos do cálcio ocorram em nível de sinalização no controle estomático das perdas de água, enquanto a CK esteja relacionada com o ajustamento osmótico. Deste modo, ambos apresentam potencial para utilização no aumento da tolerância de plantas ao déficit hídrico.

4.3.2 Trocas gasosas

O ambiente de cultivo afetou de forma significativa as características associadas às trocas gasosas de plantas de soja durante o período de estresse e recuperação (Tabela 16). A aplicação dos produtos resultou em pequeno efeito sobre os parâmetros citados, sendo que resultados significativos foram observados apenas para a transpiração de folhas no período de recuperação do estresse (14 DAA). A interação entre ambientes de cultivo e aplicação dos produtos foi verificada apenas no último dia de estresse para valores de assimilação líquida de carbono, transpiração e concentração interna de carbono.

Tabela 16. Resumo da análise de variância (valores de F) para os valores de taxa de assimilação líquida de carbono, taxa de transpiração, eficiência do uso da água, condutância estomática, concentração interna de CO₂ e temperatura de folhas de plantas de soja BRS 245 RR em função do estresse ambiental e da aplicação de cálcio, citocinina e cálcio + citocinina no estádio R2. Botucatu (SP), 2012.

Assimilação líquida de carbono ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)								
FV ¹	0 DAA ²	2 DAA	4 DAA	6 DAA	8 DAA	10 DAA	12 DAA	14 DAA
Bloco	0,29	0,15	1,64	2,68	2,32	4,91	2,21	0,23
Ambiente (A)	6,99 [*]	4,89 [*]	26,47 ^{**}	10,76 ^{**}	24,37 ^{**}	28,68 ^{**}	135,26 ^{**}	1,56 ^{ns}
Produto (P)	1,73 ^{ns}	0,36 ^{ns}	1,12 ^{ns}	1,37 ^{ns}	0,46 ^{ns}	0,56 ^{ns}	1,06 ^{ns}	0,66 ^{ns}
A x P	0,36 ^{ns}	2,06 ^{ns}	1,70 ^{ns}	1,27 ^{ns}	1,88 ^{ns}	0,86 ^{ns}	5,11 ^{**}	1,76 ^{ns}
CV ³ (%) 1	44,91	54,92	51,91	34,37	67,84	31,29	28,31	36,54
CV ⁴ (%) 2	27,71	40,74	28,01	26,29	28,68	34,13	14,65	32,86
Média	8,28	7,97	5,49	7,96	5,44	7,19	6,34	8,39
Transpiração ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)								
FV	0 DAA	2 DAA	4 DAA	6 DAA	8 DAA	10 DAA	12 DAA	14 DAA
Bloco	1,11	16,77	1,17	0,23	5,28	3,86	3,67	1,93
Ambiente (A)	10,06 ^{**}	2,90 ^{ns}	244,02 ^{**}	13,51 ^{**}	27,81 ^{**}	40,75 ^{**}	111,27 ^{**}	5,36 [*]
Produto (P)	0,46 ^{ns}	0,68 ^{ns}	2,41 ^{ns}	1,65 ^{ns}	0,32 ^{ns}	2,15 ^{ns}	0,57 ^{ns}	5,02 [*]
A x P	0,99 ^{ns}	1,52 ^{ns}	2,43 ^{ns}	1,39 ^{ns}	2,16 ^{ns}	0,76 ^{ns}	3,12 [*]	1,81 ^{ns}
CV (%) 1	17,91	14,51	11,62	16,69	17,65	17,41	20,64	17,08
CV (%) 2	11,65	14,36	11,09	13,69	15,51	18,95	12,72	14,97
Média	5,43	5,48	4,73	4,88	4,98	4,46	4,61	5,41
Eficiência de uso da água ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol H}_2\text{O}^{-1}$)								
FV	0 DAA	2 DAA	4 DAA	6 DAA	8 DAA	10 DAA	12 DAA	14 DAA
Bloco	0,85	0,81	1,15	4,03	2,61	0,88	0,77	0,48
Ambiente (A)	2,31 ^{ns}	2,84 ^{ns}	7,15 [*]	3,49 ^{ns}	22,73 ^{**}	3,56 ^{ns}	70,91 ^{**}	0,35 ^{ns}
Produto (P)	1,55 ^{ns}	0,30 ^{ns}	1,48 ^{ns}	1,55 ^{ns}	1,18 ^{ns}	0,37 ^{ns}	0,65 ^{ns}	0,31 ^{ns}
A x P	0,64 ^{ns}	1,35 ^{ns}	2,11 ^{ns}	1,13 ^{ns}	1,41 ^{ns}	0,47 ^{ns}	1,44 ^{ns}	1,08 ^{ns}
CV (%) 1	58,01	66,76	53,29	27,85	59,57	36,72	29,85	27,46
CV (%) 2	27,01	41,01	31,07	21,64	27,72	30,03	16,99	29,84
Média	1,53	1,45	1,04	1,59	0,98	1,54	1,15	1,54

(Continua...)

(...Continuação)

Condutância estomática ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)								
FV	0 DAA	2 DAA	4 DAA	6 DAA	8 DAA	10 DAA	12 DAA	14 DAA
Bloco	8,51	0,71	1,49	3,11	3,73	3,45	0,71	0,29
Ambiente (A)	3,42 ^{ns}	9,08 ^{**}	40,14 ^{**}	23,08 ^{**}	22,07 ^{**}	28,22 ^{**}	16,39 ^{**}	7,29 [*]
Produto (P)	0,16 ^{ns}	0,59 ^{ns}	1,05 ^{ns}	0,73 ^{ns}	0,66 ^{ns}	2,71 ^{ns}	0,66 ^{ns}	1,48 ^{ns}
A x P	0,91 ^{ns}	1,69 ^{ns}	0,72 ^{ns}	0,55 ^{ns}	0,36 ^{ns}	1,01 ^{ns}	1,20 ^{ns}	1,19 ^{ns}
CV (%) 1	25,74	56,01	49,76	44,34	60,82	50,14	75,45	35,57
CV (%) 2	22,44	27,39	27,78	32,82	37,87	33,84	28,64	38,75
Média	0,41	0,52	0,33	0,29	0,34	0,27	0,29	0,23
Concentração interna de CO ₂ ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol ar}^{-1}$)								
FV	0 DAA	2 DAA	4 DAA	6 DAA	8 DAA	10 DAA	12 DAA	14 DAA
Bloco	14,83	2,91	1,19	2,06	1,41	1,61	1,73	1,38
Ambiente (A)	18,26 ^{**}	13,43 ^{**}	100,55 ^{**}	35,24 ^{**}	42,63 ^{**}	16,41 ^{**}	39,17 ^{**}	0,49 ^{ns}
Produto (P)	0,68 ^{ns}	0,86 ^{ns}	1,62 ^{ns}	0,22 ^{ns}	2,48 ^{ns}	0,41 ^{ns}	0,92 ^{ns}	0,40 ^{ns}
A x P	1,04 ^{ns}	0,96 ^{ns}	1,91 ^{ns}	1,98 ^{ns}	2,57 [*]	1,70 ^{ns}	3,21 ^{ns}	0,82 ^{ns}
CV (%) 1	19,61	21,52	10,96	19,30	15,48	22,38	20,85	24,03
CV (%) 2	22,37	18,12	12,88	11,41	9,04	14,95	7,22	15,35
Média	263,49	263,26	275,96	220,75	291,38	239,66	263,97	202,67
Temperatura da folha (°C)								
FV	0 DAA	2 DAA	4 DAA	6 DAA	8 DAA	10 DAA	12 DAA	14 DAA
Bloco	13,47	5,98	3,59	4,62	38,89	7,17	3,88	6,49
Ambiente (A)	12,04 ^{**}	8,72 [*]	29,97 ^{**}	23,96 ^{**}	106,70 ^{**}	101,06 ^{**}	50,92 ^{**}	1,88 ^{ns}
Produto (P)	0,28 ^{ns}	0,57 ^{ns}	0,11 ^{ns}	0,80 ^{ns}	0,08 ^{ns}	0,76 ^{ns}	0,55 ^{ns}	0,69 ^{ns}
A x P	1,49 ^{ns}	1,02 ^{ns}	0,81 ^{ns}	0,57 ^{ns}	0,35 ^{ns}	0,31 ^{ns}	1,21 ^{ns}	1,23 ^{ns}
CV (%) 1	10,67	15,56	10,95	10,87	4,86	6,07	9,16	4,83
CV (%) 2	2,70	8,6	5,68	5,32	8,08	6,37	5,68	4,93
Média	31,17	31,07	33,18	32,57	32,81	32,19	32,65	34,51

¹FV: fonte de variação; ²DAA: Dias após a aplicação; ³CV: Coeficiente de variação para parcela; ⁴CV: Coeficiente de variação para subparcela; ^{ns} não significativo; * e ** significativo p<0,05 e p<0,01, respectivamente, pelo teste F.

A imposição de estresse ambiental por déficit hídrico e por sombreamento afetou as trocas gasosas de plantas de soja de forma diferente (Tabela 17). A taxa de assimilação líquida de carbono (A) foi superior para o ambiente controle a partir de 4 DAA, sem diferir dos demais ambientes apenas após o período de recuperação das plantas (14 DAA).

Tabela 17. Comparação de médias para valores de taxa de assimilação líquida de carbono, taxa de transpiração, eficiência do uso da água, condutância estomática, concentração interna de CO₂ e temperatura de folhas de plantas de soja BRS 245 RR para o efeito do estresse ambiental no estágio R2. Botucatu (SP), 2012.

Assimilação líquida de carbono ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)								
Ambiente	0 DAA ¹	2 DAA	4 DAA	6 DAA	8 DAA	10 DAA	12 DAA	14 DAA
Controle	9,55 a	10,70 a	9,08 a	10,56 a	9,89 a	10,33 a	10,93 a	9,49 a
Déficit hídrico	9,85 a	7,10 ab	1,75 c	6,57 b	0,78 c	4,31 c	0,66 c	7,83 a
Sombreado	5,45 b	6,10 b	5,64 b	6,77 b	5,67 b	6,94 b	7,45 b	7,85 a
dms	3,22	3,79	2,46	2,37	3,19	1,95	1,55	2,65
Transpiração ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)								
Ambiente	0 DAA	2 DAA	4 DAA	6 DAA	8 DAA	10 DAA	12 DAA	14 DAA
Controle	6,18 a	5,87 a	6,66 a	5,74 a	6,04 a	5,75 a	6,98 a	5,96 a
Déficit hídrico	5,50 a	5,34 a	2,42 c	4,35 b	3,75 c	3,28 c	1,98 c	4,90 b
Sombreado	4,64 b	5,23 a	5,14 b	4,57 b	5,16 b	4,34 b	4,85 b	5,36 ab
dms	0,84	0,69	0,48	0,71	0,76	0,67	0,82	0,80
Eficiência do uso da água ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol H}_2\text{O}^{-1}$)								
Ambiente	0 DAA	2 DAA	4 DAA	6 DAA	8 DAA	10 DAA	12 DAA	14 DAA
Controle	1,83 a	1,60 a	1,91 a	1,36 a	1,61 a	1,77 a	1,57 a	1,59 a
Déficit hídrico	1,46 a	1,83 a	1,32 ab	0,63 b	0,24 c	1,25 b	0,31 b	1,55 a
Sombreado	1,48 a	1,17 a	1,12 b	1,10 a	1,08 b	1,61 ab	1,54 a	1,47 a
dms	0,77	0,84	0,48	0,38	0,50	0,49	0,30	0,36
Condutância estomática ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)								
Ambiente	0 DAA	2 DAA	4 DAA	6 DAA	8 DAA	10 DAA	12 DAA	14 DAA
Controle	0,41 ab	0,47 b	0,38 b	0,30 b	0,38 b	0,31 b	0,42 a	0,29 a
Déficit hídrico	0,36 b	0,33 b	0,05 c	0,13 c	0,08 c	0,08 c	0,03 b	0,20 b
Sombreado	0,46 a	0,75 a	0,56 a	0,44 a	0,57 a	0,43 a	0,42 a	0,19 b
dms	0,09	0,25	0,14	0,11	0,18	0,12	0,19	0,07
Concentração interna de CO ₂ ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol ar}^{-1}$)								
Ambiente	0 DAA	2 DAA	4 DAA	6 DAA	8 DAA	10 DAA	12 DAA	14 DAA
Controle	222,03 b	210,35 b	189,38 b	164,38 c	208,22 b	181,52 b	170,17 c	192,92 a
Déficit hídrico	242,29 b	265,30 a	330,72 a	208,72 b	348,25 a	248,34 a	339,47 a	206,37 a
Sombreado	326,17 a	314,11 a	307,78 a	289,13 a	317,65 a	289,14 a	282,26 b	208,72 a
dms	44,71	49,02	42,59	36,86	39,02	46,40	47,67	42,14
Temperatura da folha (°C)								
Ambiente	0 DAA	2 DAA	4 DAA	6 DAA	8 DAA	10 DAA	12 DAA	14 DAA
Controle	32,82 a	32,05 a	34,28 b	34,21 a	33,10 b	32,71 b	32,56 b	33,97 a
Déficit hídrico	32,86 a	34,04 a	37,51 a	35,84 a	36,77 a	36,83 a	38,03 a	34,44 a
Sombreado	27,85 b	27,11 b	27,74 c	27,66 b	28,55 c	27,05 c	27,36 c	35,10 a
dms	2,87	4,18	3,14	3,06	1,38	1,69	2,59	1,44

¹DAA: Dias após a aplicação; Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste t de Student (p<0,05).

Os valores de A para o ambiente sob déficit hídrico (Tabela 17) acompanharam o padrão de disponibilidade de água no solo (Figura 4d) e do conteúdo relativo de água nas folhas (Tabela 14), durante os três ciclos de estresse, sendo que os menores valores foram observados aos 4, 8 e 12 DAA, que correspondem ao último dia de cada ciclo. No primeiro ciclo de estresse (0-4 DAA), as plantas submetidas ao déficit hídrico apresentaram valores próximos ao ambiente controle (0 e 2 DAA), com os menores valores no último dia (4 DAA). Após o primeiro ciclo, os valores de A para este ambiente foram os menores até o final do período de avaliação.

O efeito do sombreamento sobre a A foi observado logo no primeiro dia de estresse, como efeito da redução direta de 80% na irradiação total incidente (Figura 4a), de modo diferente do déficit hídrico, onde o efeito foi mais gradual. Apesar de limitar o metabolismo fotossintético, a ocorrência de sombreamento resultou em valores intermediários de A em relação ao ambiente controle e com imposição de déficit hídrico em todos os dias de avaliação, com rápida recuperação após o final do período de estresse. O comportamento fotossintético de plantas de soja em função do tipo de estresse ambiental é típico de espécies com metabolismo C3, as quais são mais adaptadas a condições de baixa luminosidade, com maior sensibilidade a restrições na disponibilidade de água, quando comparadas com plantas com metabolismo fotossintético C4 (TAIZ e ZEIGER, 2009).

Os maiores valores de transpiração foliar (E) em plantas de soja foram observados para o ambiente controle (Tabela 17). No primeiro ciclo de déficit hídrico (0-4 DAA), as plantas de soja apresentaram transpiração semelhante ao ambiente controle, exceto aos 4 DAA, onde os valores de E foram os mais baixos. A partir do segundo ciclo, os valores de E para este ambiente foram os menores entre os três ambientes. A transpiração em folhas de plantas submetidas ao estresse por sombreamento foi menor do que no ambiente controle, com valores intermediários em relação ao déficit hídrico. Este comportamento é verificado em resposta à redução na temperatura e no déficit de pressão de vapor (DPV) em resposta ao sombreamento neste ambiente (Figuras 4b e 4c). Portanto, observa-se que a transpiração foliar foi afetada pelos dois tipos de estresse, no entanto, a redução nas perdas de água nos dois ambientes ocorreu em função de componentes diferentes. No ambiente sob déficit hídrico, plantas tendem a apresentar redução nas perdas de água como mecanismo adaptativo pelo fechamento estomático, para manter o status hídrico (CHAVES et al., 2002). Em contrapartida, reduzidos valores de

transpiração foliar em plantas sombreadas não são efeitos do fechamento estomático, visto que os maiores valores de condutância estomática foram verificados neste ambiente. Neste caso, menores taxas de perdas de água são observadas em função da redução no DPV.

A eficiência fotossintética de uso da água (EUA) foi superior no ambiente controle e no ambiente com estresse por sombreamento (Tabela 17), sendo os menores valores observados para condição de déficit hídrico, principalmente, após o primeiro ciclo de estresse. Este comportamento é verificado em função desta ser uma característica diretamente relacionada com as taxas de A e E . Os maiores valores de condutância estomática (g_s) no período foram observados em condições de estresse por sombreamento (Tabela 17). Neste ambiente, a redução na temperatura e no DPV (Figuras 4b e 4c) resultam em menor necessidade de fechamento estomático, em função da redução nas perdas de água por transpiração, sendo que a difusão de CO_2 para o interior da folha pode ser mantida por períodos mais longos. Com o aumento no DPV e da temperatura, a necessidade de controle estomático das perdas de água é maior, para evitar a desidratação, conforme observado para o ambiente controle. Quando este padrão de ambiente é agravado pela restrição na disponibilidade de água, as plantas tendem a manter os estômatos fechados na maior parte do dia, resultando em reduzidos valores de g_s neste ambiente, principalmente, no segundo e terceiro ciclo de estresse.

Como reflexo dos elevados valores de g_s , plantas sombreadas apresentaram também maiores valores de concentração interna de carbono (C_i) (Tabela 17). Apesar de apresentarem os menores valores de g_s no período, plantas submetidas ao déficit hídrico apresentaram valores de C_i próximos ao das plantas sombreadas e maiores do que no ambiente controle. Neste caso, o acúmulo de carbono nos espaços intercelulares pode ser o resultado conjunto do fechamento estomático e da baixa capacidade de assimilação de CO_2 pelo ciclo de Calvin, considerando que os processos de interceptação e transformação da energia luminosa são também afetados pela restrição hídrica.

Para uma redução na temperatura ambiental de 2-3°C (Figura 4b), o ambiente resultou em redução significativa na temperatura foliar de plantas de soja (Tabela 17). A redução na disponibilidade hídrica, juntamente com os maiores valores de temperatura ambiental, resultou em maiores valores de temperatura de folhas nessas condições. Visto que a transpiração foliar é essencial para dissipar o excesso de energia absorvida pelas folhas, a redução na disponibilidade de água limita o controle da

temperatura no dossel da planta. Valores intermediários de temperatura foliar foram observados para o ambiente controle.

Ambos os tipos de estresse resultaram em redução nas taxas de assimilação de carbono por plantas de soja (Tabela 17). Contudo, é válido lembrar que os impedimentos ao metabolismo fotossintético ocorrem por vias diferentes nos dois ambientes. Sob déficit hídrico, a inibição da fotossíntese ocorre em função do fechamento estomático que limita a difusão de CO_2 para as células do mesofilo foliar, reduzindo a fotossíntese. No caso do ambiente sombreado, a limitação fotossintética ocorre pela redução na atividade nos mecanismos de absorção e transformação da energia luminosa, visto que a energia incidente é limitada, reduzindo a quantidade de energia (ATP) e de poder redutor (NADPH_2), formados para a síntese orgânica, visto que a entrada de CO_2 no mesofilo não é um fator limitante (TAIZ e ZEIGER, 2009).

O efeito dos produtos aplicados foi observado apenas para os valores de E após o período de recuperação de plantas aos 14 DAA (Tabela 18). Neste caso, plantas tratadas com a combinação de Ca e CK apresentaram os maiores valores de transpiração. Alguns trabalhos indicam que a CK atua na manutenção da abertura estomática de folhas em condições não estressantes (LECHOWSKI, 1997), o que pode explicar o fato de que os efeitos da aplicação de CK tenham sido verificados apenas após o período de recuperação das plantas submetidas ao estresse ambiental. Após este período, é possível que os níveis de ABA nas folhas tenham decrescido e seus efeitos inibitórios sobre a CK (DAVIES e ZHANG, 1991) tenham cessado, permitindo a verificação do efeito. Deve-se lembrar, contudo, que em dois experimentos de campo, o efeito da CK nas trocas gasosas não foi observado (Tabela 6).

Tabela 18. Comparação de médias para valores de taxa de transpiração de folhas de plantas de soja BRS 245 RR aos 14 dias após a aplicação de cálcio, citocinina e cálcio + citocinina no estágio R2. Botucatu (SP), 2012.

Produto	Transpiração ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$)
Controle	5,05 b
Ca	5,01 b
CK	5,43 b
Ca+CK	6,14 a
dms	0,68

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste t de Student ($p < 0,05$).

A interação entre ambiente e a aplicação dos produtos foi observada para os valores de *A*, *E* e *Ci* no último dia de estresse ambiental, aos 12 DAA (Tabela 19). A aplicação ou não de Ca e CK, na forma isolada ou combinada, não afetou o comportamento de plantas de soja dentro dos ambientes testados, sendo que para todos os tratamentos maiores valores de *A* e *E* e os menores valores de *Ci* foram observados para o ambiente controle e os menores valores de *A* e *E* e os maiores valores de *Ci* foram observados para o ambiente sobre déficit hídrico. Valores intermediários para as três características foram observados para o ambiente sombreado. O efeito dos produtos foi observado apenas para o ambiente controle, onde a aplicação de Ca e o tratamento controle, sem aplicação, apresentaram maiores valores de *A*.

Tabela 19. Comparação de médias de taxa de assimilação líquida de carbono, taxa de transpiração e concentração interna de carbono aos 12 DAA em plantas de soja BRS 245 RR para o desdobramento do efeito do estresse ambiental e da aplicação de cálcio, citocinina e cálcio + citocinina no estágio R2. Botucatu (SP), 2012.

Assimilação líquida de carbono ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)				
Ambiente	Controle	Ca	CK	Ca + CK
Controle	12,01 aA	12,27 aA	10,06 aB	9,39 aB
Déficit hídrico	0,66 cA	0,33 cA	0,43 cA	1,21 cA
Sombreado	7,34 bA	6,81 bA	7,66 bA	8,00 bA
dms	1,35			
Transpiração ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)				
Ambiente	Controle	Ca	CK	Ca + CK
Controle	7,39 aA	7,60 aA	6,75 aAB	6,18 aB
Déficit hídrico	1,66 cA	1,89 cA	1,99 cA	2,39 cA
Sombreado	5,17 bA	4,56 bA	4,68 bA	4,99 bA
dms	0,85			
Concentração interna de carbono ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol ar}^{-1}$)				
Ambiente	Controle	Ca	CK	Ca + CK
Controle	171,04 cAB	161,92 cAB	159,65 cA	188,07 cB
Déficit hídrico	335,23 aAB	361,58 aB	346,72 aB	314,35 aA
Sombreado	272,14 bA	286,04 bA	294,69 bA	276,17 bA
dms	27,65			

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste t de Student ($p < 0,05$).

Os resultados apresentados na Tabela 19 contrariam os observados na literatura, visto que os efeitos protetores da citocinina, além de sua relação com a síntese de clorofila e manutenção dos níveis da enzima Rubisco (HUTCHISON e KIEBER, 2002), frequentemente, estão relacionados com o aumento nas taxas fotossintéticas, mesmo em situações de estresse (CHERNIAD'EV e MONAKHOVA, 2003; RIVERO et al., 2007).

4.3.3 Tolerância protoplasmática foliar e índice SPAD

Os valores de índice SPAD e dos indicadores da tolerância protoplasmática foliar, após o período de estresse e recuperação, foram afetados de forma significativa pelos ambientes estudados (Tabela 20). Os produtos, como efeito isolado, não afetaram nenhuma das variáveis citadas, enquanto a interação entre ambiente e produtos foi observada apenas para os valores de condutividade livre da solução contendo discos foliares.

Tabela 20. Resumo da análise de variância (valores de F) para os valores de índice SPAD, condutividade livre (CL) e condutividade total (CT) de folhas de plantas de soja BRS 245 RR em função do estresse ambiental e da aplicação de cálcio, citocinina e cálcio + citocinina no estágio R2. Botucatu (SP), 2012.

FV ¹	SPAD	CL	CT
Bloco	2,78	3,27	0,27
Ambiente (A)	32,57 ^{**}	12,81 ^{**}	135,79 ^{**}
Produto (P)	1,56 ^{ns}	2,36 ^{ns}	1,20 ^{ns}
A x P	1,56 ^{ns}	3,43 ^{**}	1,63 ^{ns}
CV ² (%) 1	4,55	45,00	11,01
CV ³ (%) 2	4,63	34,20	10,29
Média	49,09	119,42	346,35

¹FV: fonte de variação; ²CV: Coeficiente de variação para parcela; ³CV: Coeficiente de variação para subparcela; ^{ns} não significativo; * e ** significativo p<0,05 e p<0,01, respectivamente, pelo teste F.

O índice SPAD em folhas de soja, que mede a intensidade da coloração verde em folhas, reduziu de forma significativa quando as plantas foram submetidas aos três ciclos de estresse por déficit hídrico (Tabela 21), sendo que os valores observados para plantas sombreadas não diferiram do ambiente controle. A redução no

CRA de folhas em plantas submetidas ao déficit hídrico resulta no aumento da atividade de espécies reativas de oxigênio (EROs) e de enzimas de lise, como as clorofilases (KELES e UNYAYAR, 2004). Como resposta, tem-se a redução nos teores foliares de clorofila, conforme observado na Tabela 21. Este comportamento pode estar relacionado com o aumento na concentração de ABA em folhas, resultando na inibição dos efeitos protetores da CK.

Tabela 21. Comparação de médias para valores de índice SPAD e condutividade total de folhas de plantas de soja BRS 245 RR após o período de recuperação do estresse ambiental no estágio R2. Botucatu (SP), 2012.

Ambiente	SPAD	CT ($\mu\text{s cm}^{-1}$)
Controle	45,43 a	363,25 b
Déficit hídrico	40,74 b	447,12 c
Sombreamento	46,11 a	227,19 a
dms	1,77	32,96

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste t de Student ($p < 0,05$).

A condutividade total de uma solução contendo discos foliares, após uma hora a 100°C, fornece informações importantes sobre o estado de concentração de eletrólitos nas células foliares, sendo açúcares, aminoácidos, minerais entre outros. Os maiores valores de condutividade total foram observados em folhas de plantas submetidas ao déficit hídrico (Tabela 21), sendo que valores intermediários foram observados para o ambiente controle e os menores valores para plantas sombreadas.

O aumento na concentração de eletrólitos em células foliares pode representar um mecanismo de evitamento à dessecação dos tecidos, o ajuste osmótico. O aumento na concentração de solutos resulta em redução no componente osmótico do potencial hídrico foliar, resultando na manutenção do turgor celular. Em algumas espécies, como a soja, o ajustamento osmótico é responsável pela manutenção do estado hídrico foliar, verificado através do CRA e da manutenção da área foliar (JAMES et al., 2008a; 2008b) e com o ajuste osmótico, visto que os efeitos nocivos do déficit hídrico não chegam a ocorrer. Contudo, nem sempre o acúmulo de eletrólitos está relacionado ao ajustamento osmótico e, também, em muitos casos, a ocorrência de ajustamento osmótico não é suficiente para a manutenção do estado hídrico foliar, como pode ter sido o caso do presente experimento.

Observou-se interação significativa entre ambientes e produtos para tolerância protoplasmática (Tabela 22). Para o tratamento controle, sem aplicação, os maiores valores de condutividade foram observados para plantas sob déficit hídrico, seguido do ambiente controle e do ambiente sombreado. Para plantas tratadas com Ca e CK de forma isolada, não houve diferenças entre plantas no ambiente controle e com déficit hídrico, com plantas em ambiente sombreado apresentando os menores valores. Para a aplicação conjunta de Ca e CK, os maiores valores foram observados para o ambiente controle, sem apresentar diferenças entre plantas sobre déficit hídrico e sombreadas. Comparando-se o efeito dos produtos dentro de cada ambiente, verifica-se que para o ambiente controle e sombreado não houve diferença entre os produtos aplicados. Contudo, para o ambiente sobre déficit hídrico, os maiores valores de condutividade foram observados para o controle, sem aplicação, enquanto a aplicação combinada de Ca e CK proporcionou valores significativamente inferiores, com a aplicação isolada de ambos, apresentando valores intermediários.

Tabela 22. Comparação de médias para valores de condutividade livre de folhas em plantas de soja BRS 245 RR para o desdobramento do efeito do estresse ambiental e da aplicação de cálcio, citocinina e cálcio + citocinina no estágio R2. Botucatu (SP), 2012.

Ambiente	Condutividade livre ($\mu\text{s cm}^{-1}$)			
	Controle	Ca	CK	Ca+CK
Controle	131,9 bA	122,8 abA	132,0 aA	156,0 aA
Déficit hídrico	229,5 aA	164,5 aB	147,8 aB	87,1 bC
Sombreamento	60,7 cA	79,2 bA	74,5 bA	46,5 bA
dms	59,25			

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste t de Student ($p < 0,05$).

A condutividade livre de discos foliares imersos em água deionizada por horas é uma variável indicadora dos danos provocados por radicais livres as membranas plasmáticas, resultando no extravasamento de eletrólitos. A liberação de eletrólitos ocorre em níveis severos de déficit hídrico, por causa do aumento da quantidade de espécies reativas de oxigênio (superóxidos), radicais livres e de enzimas de lise (ROY-MACAULEY et al., 1992), que resultam na ruptura e aumento da permeabilidade das membranas e, muitas vezes, em danos irreversíveis nas organelas e moléculas presentes no interior das células (ALONSO et al., 1997). Entre os radicais livres mais ativos em condições de estresse oxidativo estão o ânion superóxido (O_2^-) e o peróxido de hidrogênio

(H₂O₂) (YAN et al., 2007). A ocorrência de espécies reativas de oxigênio nas células desencadeia um processo de sinalização que resulta na ativação de enzimas do estresse oxidativo, como a ascorbato peroxidase, superóxido dismutase e catalase, as quais atuam na eliminação dos radicais livres, protegendo os componentes celulares de danos (ALSCHER et al., 2002; KELES e UNYAYAR, 2004).

Portanto, observa-se efeito positivo e sinérgico do Ca e da CK em promover proteção à membrana plasmática ou mesmo de atuar na eliminação de radicais livres que degradam as membranas. A manutenção da integridade de membranas celulares está relacionada com o balanço entre CK e ABA nas folhas (NISHIYAMA et al., 2011). Gidrol et al. (1994) verificaram que em plântulas de soja a maior atividade das enzimas do estresse oxidativo ocorreu em resposta a altas concentrações de CK, sendo que danos por radicais livres foram observados com a redução na concentração de CK e aumento na concentração de ABA nos tecidos. Rivero et al. (2009) verificaram aumento na atividade da enzima catalase nos peroxissomos de plantas transgênicas de tabaco com elevada síntese de CK, as quais apresentaram maior tolerância ao estresse por déficit hídrico do que plantas selvagens.

Conforme discutido anteriormente, o cálcio é um eficiente sinalizador celular para diversos eventos, apresentando controle sobre a permeabilidade de membranas celulares (WHITE e BROADLEY, 2003). O efeito isolado da aplicação de cálcio e, sobretudo, seu efeito sinérgico sobre a CK pode estar também relacionado a mecanismos de sinalização celular para o sistema de defesa da célula contra o ataque de radicais livres. De acordo com Yan et al. (2006), a sinalização celular em resposta à presença de espécies reativas de oxigênio envolve a participação do cálcio, como mensageiro secundário, ativando enzimas do estresse oxidativo de forma direta ou amplificando o sinal através da ativação da calmodulina.

A ausência de respostas dos produtos aplicados dentro do ambiente controle pode estar relacionada a um padrão de ativação de mecanismos de defesa em ambientes específicos. Considerando que plantas que se desenvolvem em ambientes sem limitação ambiental têm seu metabolismo voltado para o crescimento, os sistemas de defesa contra agentes estressantes permanecem inativos. Neste caso, a concentração interna de hormônios vegetais e sinalizadores é controlado por mecanismos de *feedback*, o que pode explicar a ausência de resultados para a aplicação de Ca e CK nos experimentos conduzidos a campo e para o tratamento controle em casa de vegetação, sendo que ambos

foram conduzidos na ausência de estresse. Verifica-se também, que embora o sombreamento seja fator limitante para a fotossíntese, seus efeitos não se refletem a nível celular, pelo menos no que se refere a produção de radicais livres, que provoca o estresse oxidativo nas células.

4.3.4 Estimativa da expansão de tecidos jovens

A expansão em tecidos jovens foi afetada de forma significativa pelos ambientes estudados no experimento (Tabela 23). Para os produtos testados, houve efeito apenas para os valores de massa foliar específica. Não foi observada interação significativa entre os fatores para as características avaliadas.

Tabela 23. Resumo da análise de variância (valores de F) para variáveis relacionadas com a estimativa da expansão em tecidos jovens de plantas de soja BRS 245 RR em função do estresse ambiental e da aplicação de cálcio, citocinina e cálcio + citocinina no estádio R2. Botucatu (SP), 2012.

FV ¹	CV	MSV	AF	MSF	AFE	MFE
Bloco	1,11	1,27	0,61	1,02	0,09	0,61
Ambiente (A)	106,72 ^{**}	19,29 ^{**}	59,56 ^{**}	24,00 ^{**}	185,87 ^{**}	144,01 ^{**}
Produto (P)	0,76 ^{ns}	1,30 ^{ns}	1,13 ^{ns}	0,38 ^{ns}	1,66 ^{ns}	4,17 [*]
A x P	1,85 ^{ns}	2,09 ^{ns}	1,92 ^{ns}	1,78 ^{ns}	0,50 ^{ns}	2,40 [*]
CV ² (%) 1	18,88	60,09	37,15	41,56	13,48	14,74
CV ³ (%) 2	10,42	22,09	19,17	24,55	10,59	11,97
Média	29,19	0,51	130,01	0,33	360,59	3,23

¹FV: fonte de variação; ²CV: Coeficiente de variação para parcela; ³CV: Coeficiente de variação para subparcela; ^{ns} não significativo; * e ** significativo p<0,05 e p<0,01, respectivamente, pelo teste F; CV: comprimento de vagens; MSV: massa de matéria seca de vagens; AF: área foliar; MSF: massa de matéria seca de folhas; AFE: área foliar específica; MFE: massa foliar específica.

A expansão celular e o acúmulo de biomassa foram afetados de forma significativa em plantas cujos tecidos completaram seu desenvolvimento no período de escassez de água (Tabela 24). Os menores valores de comprimento médio de vagens, matéria seca de vagens, área foliar, matéria seca de folhas e área foliar específica foram observados para plantas submetidas ao déficit hídrico. Um dos primeiros processos afetados, em resposta à redução da água disponível no solo (LAWLOR e UPRETY, 1993), é a expansão celular, processo altamente dependente da turgescência da célula (KRAMER

e BOYER, 1995). Em estágios mais avançados de déficit hídrico, outros processos fisiológicos são afetados, com efeitos diretos no acúmulo de assimilados pela planta, como a redução na taxa de assimilação de carbono e aumento da taxa respiratória (TURNER, 1997). Ambos os efeitos podem ser verificados neste caso, através da baixa expansão de tecidos e do baixo acúmulo de matéria seca.

Tabela 24. Comparação de médias para variáveis relacionadas com a estimativa da expansão em tecidos jovens de plantas de soja BRS 245 RR para o efeito do estresse ambiental no estádio R2. Botucatu (SP), 2012.

Ambiente	CV (mm)	MSV (g)	AF (cm ²)	MSF (g)	AFE (cm g ⁻¹)
Controle	38,81 a	0,80 a	144,21 b	0,45 a	323,82 b
Déficit hídrico	12,84 b	0,14 b	30,54 c	0,14 b	216,35 c
Sombreamento	35,92 a	0,60 a	215,26 a	0,40 a	541,59 a
dms	4,77	0,27	41,78	0,12	42,06

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste t de Student ($p < 0,05$). CV: comprimento de vagens; MSV: massa de matéria seca de vagens; AF: área foliar; MSF: massa de matéria seca de folhas; AFE: área foliar específica.

Plantas cultivadas em ambiente sombreado por 12 dias apresentaram os maiores valores de área foliar e de área foliar específica (Tabela 24), revelando o desenvolvimento de mecanismos de adaptação ao ambiente com baixa intensidade luminosa. O aumento na área foliar específica é considerado como um mecanismo adaptativo, com folhas maiores e mais finas, para maximizar a interceptação da luz difusa em ambientes sombreados. Outra característica de plantas adaptadas a ambientes sombreados é a redução da relação entre clorofila *a* e clorofila *b*, em resposta ao aumento na concentração de clorofila *b* em folhas (EVANS, 1993b), que revela um gasto energético no desenvolvimento do complexo de antenas (clorofila *b*) em detrimento dos centros de reação (clorofila *a*) (PFEIFFER e REYNOLDS, 2000). Burkey e Wells (1991) verificaram redução da relação entre clorofila *a* e clorofila *b* em plantas de soja submetidas ao sombreamento.

A interação entre ambientes e produtos foi observada para a característica massa foliar específica, que é determinada pelo acúmulo de biomassa por unidade de área foliar (Tabela 25). O comportamento dos produtos foi constante dentro dos ambientes estudados, sendo que os maiores valores foram observados para plantas submetidas ao déficit hídrico e os menores valores foram observados para plantas sombreadas. Neste caso, observa-se clara relação entre a expansão celular e o acúmulo de

matéria seca. Plantas sob restrição hídrica apresentam limitações na expansão celular, conforme citado anteriormente, resultando em maior acúmulo de matéria seca por unidade de área, ao contrário do observado para plantas sombreadas.

Tabela 25. Comparação de médias de massa foliar específica em plantas de soja BRS 245 RR para o desdobramento do efeito do estresse ambiental e da aplicação de cálcio, citocinina e cálcio + citocinina no estágio R2. Botucatu (SP), 2012.

Ambiente	Massa foliar específica (g cm ⁻²)			
	Controle	Ca	CK	Ca+CK
Controle	3,31 bA	2,96 bA	3,11 bA	3,10 bA
Déficit hídrico	5,48 aA	4,73 aB	4,44 aB	4,20 aB
Sombreamento	1,89 cA	1,90 cA	1,79 cA	1,86 cA
dms	0,56			

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste t de Student (p<0,05).

O efeito dos produtos foi observado apenas para o ambiente sob déficit hídrico, onde a aplicação de Ca e CK, de forma isolada ou combinada resultou em menor massa foliar específica, que pode ser resultado da combinação entre maior expansão celular e menor acúmulo de matéria seca, tendo em vista que para as características isoladas não houve efeito dos produtos (Tabela 23). Para os demais ambientes não houve efeito dos produtos.

4.3.5 Componentes da produção e produção por planta

Os componentes de produção e a produção de grãos por planta foram afetados de forma significativa pelos ambientes estudados (Tabela 26). O efeito dos produtos aplicados no estágio R2 das plantas foi verificado apenas para o componente número de vagens com dois grãos, sendo que a interação entre ambientes e produtos foi observada apenas para a porcentagem de produção na porção inferior de plantas.

Tabela 26. Resumo da análise de variância (valores de F) para componentes de produção e produção de grãos em plantas de soja BRS 245 RR em função do estresse ambiental e da aplicação de cálcio, citocinina e cálcio + citocinina no estágio R2. Botucatu (SP), 2012.

FV ¹	NVP	NVINF	NVMED	NVSUP	NVUG	NVDG	NVTG
Bloco	7,80	2,35	2,61	2,85	3,35	9,09	2,72
Ambiente (A)	89,55**	68,77**	6,84*	30,32**	6,67*	39,87**	6,60*
Produto (P)	1,31 ^{ns}	0,41 ^{ns}	1,88 ^{ns}	0,94 ^{ns}	0,47 ^{ns}	3,22*	0,17 ^{ns}
A x P	0,15 ^{ns}	2,04 ^{ns}	1,03 ^{ns}	0,45 ^{ns}	0,19 ^{ns}	1,29 ^{ns}	1,17 ^{ns}
CV ² (%) 1	9,58	24,65	23,99	18,56	32,7	13,19	32,34
CV ³ (%) 2	16,80	59,51	19,79	21,95	40,37	26,86	25,88
Média	37,74	1,19	17,16	11,39	5,22	12,57	10,96
	NVCH	%VV	NGP	NGINF	NGMED	NGSUP	MGP
Bloco	4,36	9,73	6,05	5,62	2,96	3,34	9,12
Ambiente (A)	43,03**	17,83**	26,88**	55,58**	8,25*	15,44**	13,33**
Produto (P)	1,36 ^{ns}	1,36 ^{ns}	1,05 ^{ns}	1,00 ^{ns}	1,35 ^{ns}	0,60 ^{ns}	0,70 ^{ns}
A x P	1,49 ^{ns}	0,99 ^{ns}	0,46 ^{ns}	1,80 ^{ns}	0,93 ^{ns}	1,07 ^{ns}	0,29 ^{ns}
CV (%) 1	27,77	3,47	15,58	31,17	22,98	19,58	16,12
CV (%) 2	41,47	5,86	18,78	70,28	22,61	24,07	18,29
Média	3,99	87,84	63,24	6,17	34,69	22,38	10,88
	MGINF	MGMED	MGSUP	%ProdINF	%ProdMED	%ProdSUP	MCG
Bloco	10,34	3,64	4,96	6,39	1,67	0,58	15,58
Ambiente (A)	56,13**	3,17 ^{ns}	9,50*	49,64**	4,34 ^{ns}	6,06*	22,41**
Produto (P)	1,09 ^{ns}	0,94 ^{ns}	0,72 ^{ns}	1,04 ^{ns}	1,99 ^{ns}	1,24 ^{ns}	0,87 ^{ns}
A x P	2,11 ^{ns}	0,79 ^{ns}	0,74 ^{ns}	2,80*	1,06 ^{ns}	0,74 ^{ns}	0,93 ^{ns}
CV (%) 1	27,18	23,4	23,29	20,24	11,03	20,22	6,24
CV (%) 2	68,33	22,89	23,42	53,91	13,92	19,51	6,93
Média	1,01	5,72	3,71	9,26	54,85	35,88	16,64

¹FV: fonte de variação; ²CV: Coeficiente de variação para parcela; ³CV: Coeficiente de variação para subparcela; ^{ns} não significativo; * e ** significativo p<0,05 e p<0,01, respectivamente, pelo teste F. NVP: número de vagens por planta; NVINF: número de vagens no terço inferior; NVMED: número de vagens no terço médio; NVSUP: número de vagens no terço superior; NVUG: número de vagens com um grão; NVDG: número de vagens com dois grãos; NVTG: número de vagens com três grãos; NVCH: número de vagens chochas; %VV: porcentagem de vagens viáveis; NGP: número de grãos por planta; NGINF: número de grãos no terço inferior; NGMED: número de grãos no terço médio; NGSUP: número de grãos no terço superior; MGP: massa de grãos por planta; MGINF: massa de grãos no terço inferior; MGMED: massa de grãos no terço médio; MGSUP: massa de grãos no terço superior; %ProdINF: porcentagem da produção no terço inferior; %ProdMED: porcentagem da produção no terço médio; %ProdSUP: porcentagem da produção no terço superior; MCG: massa de cem grãos.

O estresse induzido na fase reprodutiva teve efeito direto sobre a produção de grãos em plantas de soja (Tabela 27). Analisando os componentes diretos da produção, número de vagens, número de grãos e peso médio de grãos, observa-se que tanto o estresse por déficit hídrico quanto o estresse por sombreamento resultaram em redução significativa dos mesmos, sem diferir entre si. Contudo, a massa de cem grãos foi maior

em plantas sob déficit hídrico, podendo estar associado a uma característica adaptativa de plantas de soja que passaram por situações de seca no período de florescimento, onde o aumento na massa de grãos representa um mecanismo compensatório para a redução no número de grãos formados, mesmo que neste caso o aumento na massa de grãos não tenha sido suficiente para compensar a redução no número de grãos em termos de produção final.

Tabela 27. Comparação de médias para componentes de produção e produção de grãos em plantas de soja BRS 245 RR para o efeito do estresse ambiental no estágio R2. Botucatu (SP), 2012.

Ambiente	NVP	NVINF	NGMED	NVSUP	NVUG	NVDG
Controle	41,3 a	6,6 a	20,1 a	14,6 a	6,3 a	15,6 a
Déficit hídrico	27,7 b	2,4 c	14,8 b	10,5 b	5,3 ab	11,1 b
Sombreamento	29,3 b	3,7 b	16,7 ab	9,0 b	4,1 b	11,0 b
dms	2,71	0,89	3,56	1,82	1,48	1,43
Ambiente	NVTG	NVCH	%VV	NGP	NGINF	NGMED
Controle	13,5 a	5,9 a	85,3 b	77,9 a	10,2 a	40,8 a
Déficit hídrico	9,0 b	2,3 c	91,5 a	54,6 b	3,2 c	29,5 b
Sombreamento	10,4 b	3,8 b	86,8 b	57,2 b	5,2 b	33,7 b
dms	3,06	0,96	2,64	8,52	1,67	6,90
Ambiente	NGSUP	MGP	MGINF	MGSUP	%ProdSUP	PCG
Controle	26,9 a	12,2 a	1,6 a	4,2 a	34,8 ab	15,7 b
Déficit hídrico	21,9 b	9,8 b	0,6 c	4,0 a	40,8 a	18,0 a
Sombreamento	18,3 b	9,3 b	0,9 b	3,0 b	32,0 b	16,2 b
dms	3,79	1,46	0,24	0,75	6,28	0,90

Médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si pelo teste t de Student ($p < 0,05$). NVP: número de vagens por planta; NVINF: número de vagens no terço inferior; NVMED: número de vagens no terço médio; NVSUP: número de vagens no terço superior; NVUG: número de vagens com um grão; NVDG: número de vagens com dois grãos; NVTG: número de vagens com três grãos; NVCH: número de vagens chochas; %VV: porcentagem de vagens viáveis; NGP: número de grãos por planta; NGINF: número de grãos no terço inferior; NGMED: número de grãos no terço médio; NGSUP: número de grãos no terço superior; MGP: massa de grãos por planta; MGINF: massa de grãos no terço inferior; MGSUP: massa de grãos no terço superior; %ProdSUP: porcentagem da produção no terço superior; MCG: massa de cem grãos.

Os valores de número de vagens chochas e porcentagem de vagens viáveis (Tabela 27) indicam que os efeitos nocivos do estresse por déficit hídrico foram mais intensos em termos de abortamento de flores e não do abortamento de grãos dentro da vagem. De modo geral, o terço inferior das plantas submetidas à restrição hídrica foi o mais afetado, com menores valores de número de vagens e grãos nesta região, resultando em maior proporção da produção no terço superior da planta, quando comparado com os demais ambientes.

A redução nos componentes de produção e no rendimento de grãos por planta é um reflexo claro da limitação fotossintética proporcionada pela ocorrência de estresse ambiental na fase reprodutiva (O'TOOLE et al., 1977; LAWN e LIKOSWE, 2008). A disponibilidade de assimilados na fase de antese é fator determinante para a fecundação de flores e o desenvolvimento inicial do embrião. Conforme discutido anteriormente, o período até os três dias após a antese é determinante para o desenvolvimento, podendo resultar no abortamento de embriões ou mesmo de flores ou vagens inteiras.

Conforme verificado na Tabela 17, a limitação fotossintética resultante da limitação na disponibilidade hídrica foi mais intensa do que a imposta pela redução de 80% na radiação incidente. Neste ambiente, a taxa de assimilação líquida de carbono atingiu valores próximos a zero no último dia de cada ciclo de estresse, enquanto no ambiente sombreado os valores permaneceram relativamente constantes e superiores no decorrer do período, sempre abaixo do tratamento controle. Contudo, mesmo com intensidades diferentes em nível de limitação na fotossíntese no período crítico, o reflexo das duas formas de estresse foi semelhante em termos de componentes de produção e produção de grãos por planta. Pode-se sugerir, neste caso, que quando a assimilação líquida de carbono atinge valores abaixo de um limite crítico, o processo de fixação e desenvolvimento de estruturas reprodutivas é afetado de forma semelhante a condições onde restrições severas ao metabolismo fotossintético são impostas à cultura.

A interação entre ambientes e produtos foi verificada para a porcentagem da produção observada no terço inferior de plantas de soja (Tabela 28). Para a comparação de produtos aplicados dentro de cada ambiente observa-se que no tratamento controle, sem aplicação e para a aplicação isolada de Ca, os maiores valores foram observados no ambiente sem estresse (controle). Para a aplicação conjunta de Ca e CK, não houve diferença entre os ambientes estudados. Para a comparação entre produtos aplicados dentro de cada ambiente observa-se que a aplicação isolada de Ca promoveu aumento na proporção de grãos produzidos no terço inferior de plantas no ambiente controle, sendo que para os demais ambientes não houve efeito dos produtos. Apesar da produção de grãos em plantas de soja não ter sido afetada pelos produtos observa-se que o padrão de distribuição da produção pode ser alterado pela aplicação de Ca e CK, particularmente quando se trata do terço inferior da planta.

Tabela 28. Comparação de médias de porcentagem da produção no terço inferior de plantas de soja BRS 245 RR para o desdobramento do efeito do estresse ambiental e da aplicação de cálcio, citocinina e cálcio + citocinina no estágio R2. Botucatu (SP), 2012.

Produção no terço inferior (%)				
Ambiente	Controle	Ca	CK	Ca+CK
Controle	10,0 aB	20,0 aA	10,0 abB	9,9 aB
Déficit hídrico	3,9 bA	5,7 bA	3,9 bA	9,9 aA
Sombreamento	8,6 bA	5,8 bA	12,0 aA	11,6 aA
Dms	7,3			

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste t de Student ($p < 0,05$).

O comportamento produtivo de plantas de soja cultivadas em casa de vegetação e submetidas à aplicação de cálcio e citocinina foi coerente com os resultados observados em condição de campo para os dois experimentos. A comparação é viável, considerando-se que o ambiente controle no experimento em cultivo protegido se assemelha ao ambiente de campo, em se tratando de ausência de restrições ambientais (disponibilidade hídrica e luminosidade), além da cultivar utilizada nos dois experimentos ser a mesma. O resultado obtido, contudo, difere de outros encontrados na literatura para experimentos em condições controladas, como de Sevá e Jorge (1981), Bevilaqua et al. (2002) e Silva et al. (2006).

Os resultados observados em função da interação entre ambientes e aplicação de Ca e CK diferem dos esperados para o presente estudo. A imposição do estresse por sombreamento e por déficit hídrico teve objetivos pontuais, caracterizando duas formas de limitação ao metabolismo fotossintético e duas formas de limitação no fluxo transpiratório, uma pela restrição hídrica e outra pela redução na demanda evapotranspiratória resultante do sombreamento. Com relação à fotossíntese, esperava-se verificar efeitos significativos, principalmente, em função da aplicação de CK, em função dos inúmeros efeitos citados e discutidos anteriormente. Esperava-se promover um balanço hormonal favorável ao desenvolvimento de plantas durante o período de estresse, que foi verificado em alguns aspectos, mas não foi em termos de fixação de estruturas reprodutivas.

Foi demonstrado que limitações no fluxo transpiratório em plantas reduzem o movimento de cálcio para estruturas reprodutivas (GRUSAK et al., 1999). Contudo, comparando-se apenas os ambientes, não se pode afirmar se a redução no

número de vagens e de grãos formados em plantas sob estresse está relacionada à deficiência induzida de cálcio, à redução na disponibilidade de assimilados, ao desbalanço hormonal ou mesmo pela combinação entre fatores, que parece ser o mais provável. Neste caso, se a limitação ao processo de fixação de estruturas reprodutivas estivesse relacionada a limitações no suprimento de cálcio, seria razoável supor que a aplicação foliar de cálcio promovesse incrementos no número de vagens e de grãos fixados, o que não foi observado no presente estudo.

Conforme discutido em função dos resultados dos experimentos de campo, a ausência de respostas relacionadas à aplicação de cálcio não é um indicativo definitivo de que o nutriente não é um fator limitante para a fixação de estruturas reprodutivas em soja, seja em condições normais ou sob estresse ambiental. Foi discutido anteriormente que baixa vascularização entre o racemo e o óvulo de flores de soja limita o movimento de cálcio para essas estruturas, sendo que a aplicação foliar deste nutriente deve ter como alvo as flores, pois os nutrientes que atingem as folhas dificilmente serão redistribuídos. Trabalhos futuros deverão estudar formas de aplicação de cálcio em plantas de soja, além de verificar a quantidade de nutriente que atinge as estruturas reprodutivas das plantas e, quando possível, observar a existência de respostas produtivas. A aplicação manual de cálcio em flores ou racemos individuais poderá ser uma ferramenta de estudo auxiliar neste processo para verificar os efeitos do suprimento adicional do nutriente tanto em função da posição de flores no racemo quanto em plantas submetidas ao estresse ambiental.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo anatômico do desenvolvimento vascular, da polinização e fecundação de flores de soja resultou em informações de relevância significativa para pesquisas relacionadas à eficiência produtiva de plantas de soja. Somados aos resultados encontrados na literatura, os dados levantados permitem definir que a vascularização de estruturas reprodutivas pode ser um fator determinante para a fixação de vagens. Apesar de apresentarem xilema pouco desenvolvido na fase mais importante para o desenvolvimento, flores de soja são supridas com cálcio provavelmente por vias apoplásticas intercelulares. Contudo, o fluxo de cálcio da planta para essas estruturas merece ser mais estudado, para que a importância relativa deste componente seja elucidada de forma concreta, tanto em condições normais quanto em condições de estresse ambiental.

Os resultados obtidos no estudo anatômico de flores de soja permitem ainda observar que a fecundação ocorre antes mesmo do que era esperado e citado em outros estudos. Desta forma, pode-se determinar um novo período crítico, baseado em características morfológicas da flor, para a adoção de técnicas que possam vir

a aumentar a capacidade de fixação de estruturas reprodutivas na cultura. Contudo, para as condições em que o estudo foi conduzido, a aplicação de cálcio e citocinina não foi eficiente em promover incrementos no número de vagens e grãos fixados, bem como na produtividade. Entretanto, deve-se ressaltar que a ausência de significância nos resultados obtidos pode estar associada à eficiência dos métodos de aplicação, onde se buscou simular condições de aplicação em campo, ou mesmo das doses testadas, no caso da citocinina. Portanto, estes são outros aspectos que merecem estudos mais aprofundados.

A ocorrência de estresse ambiental na fase de antese de flores foi fator determinante, de forma negativa, para a fixação de vagens na cultura de soja. Mesmo sem afetar a fixação de estruturas reprodutivas é importante ressaltar que a aplicação de cálcio e citocinina resultou em aumento da tolerância à seca nas fases iniciais do período de estresse, o que abre um novo leque de possibilidades de estudos na área de fisiologia do estresse. Considerando que, em trabalhos de pesquisa básica, os efeitos do cálcio e da citocinina são significativamente efetivos, o estudo da melhor forma de suprimento, em termos práticos, pode ser o melhor caminho para que o potencial produtivo de plantas de soja possa ser aumentado, tanto em condições normais como em estresse ambiental. Por fim, é importante ressaltar que a fixação de estruturas reprodutivas é um processo complexo, que envolve fatores genéticos e a interação entre o metabolismo fotossintético, o balanço hormonal e a disponibilidade de nutrientes, os quais, sempre que possível devem ser estudados de forma conjunta para que os resultados sejam representativos.

6 CONCLUSÕES

Pelos resultados obtidos e nas condições deste estudo pode-se concluir que:

- A fecundação de flores de soja ocorre pelo menos um dia antes da abertura completa das pétalas;
- O xilema de flores de soja, na região de inserção no racemo, apresenta baixo desenvolvimento no período de polinização e fecundação;
- A aplicação foliar de cálcio e citocinina em fases iniciais do desenvolvimento reprodutivo de plantas, de forma isolada ou combinada, não afeta o comportamento produtivo da cultura de soja em condições de campo;
- Em condição de estresse ambiental, particularmente sobre déficit hídrico, o fornecimento exógeno de cálcio e citocinina promove efeitos benéficos em nível para a manutenção do conteúdo relativo de água e redução dos danos de membrana;

- A aplicação de cálcio e citocinina em plantas de soja sob déficit hídrico e sombreamento não aumenta a produção final de grãos.

REFERÊNCIAS

ALONSO, A.; QUEIROZ, C. G. S.; MAGALHÃES, A. C. Chilling stress leads to increased cell membrane rigidity in roots of coffee (*Coffea arabica* L.) seedlings. **Biochimica et Biophysica Acta**, Frankfurt, v.1323, p.75-84, 1997.

ALSCHER, R. G.; ERTURK, N.; HEATH, L. S. Role of superoxide dismutases (SODs) in control ling oxidative stress in plants. **Journal of Experimental Botany**, London, v.53, p.1331-1341, 2002.

ANDERSEN, M. N; ASCH, F.; WU, Y.; JENSEN, C. R.; NAESTED, H.; MOGENSEN, V. O. Soluble invertase expression is an early target of drought stress during the critical abortion-sensitive phase of young ovary development in maize. **Plant Physiology**, United Kingdom, v.30, p. 591-604, 2002.

ARANTES, R. P.; CURY, T. N.; LEÃO, F. P. Aplicação foliar de cálcio e boro a base de cloreto de cálcio e ácido bórico misturado no tanque para avaliação de rendimento da semente de soja. **Nucleus**, Ituverava, v.6, 117-121, 2009.

ATANASSOVA, L.; PISSARSKA, M.; STOYANOV I. Cytokinins and growth responses of maize and pea plants to salt stress. **Bulgarian Journal of plant physiology**, Sofia, v. 22, p.22–31, 1996.

ATKINS, C. A.; PIGEAIRE, A. Application of Cytokinins to Flowers to Increase Pod Set in *Lupinus angustifolius* L.. **Australian Journal of Agriculture Research**, Collingwood, v. 44, p. 1799-1819, 1993.

AZCON-BIETO, J., Inhibition of photosynthesis by carbohydrates in wheat leaves. **Plant Physiology**, United Kingdom v.73, p.681–686, 1983.

BARRS, H. D.; WEATHERLEY, P. E. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. **Australian Journal of Biological Science**, Collingwood, v.15, p.413-428, 1962.

BEVILAQUA, G. A. P.; SILVA FILHO, P. M.; POSSENTI, J. C. Aplicação foliar de cálcio e boro e componentes de rendimento e qualidade de sementes de soja. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.32, p.31-34, 2002.

BOREÉM, A. **Melhoramento de espécies cultivadas**. 2ª ed. Editora UFV, Viçosa, 2005. 969p.

BRUN, W.A.; BETTS, K.J. Source/Sink relations of abscising and nonabscising soybean flowers. **Plant Physiology**, United Kingdom v. 75, p.187–191, 1984.

BUCHANAN, B. B.; GRUISSSEN, W.; JONES, R. L. **Biochemistry and Molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000. 1.367p.

BURKEY, K. O.; WELLS, R. Response of soybean photosynthesis and chloroplast membrane function to canopy development and mutual shading. **Plant Physiology**, United Kingdom, v.97, p.245-252, 1991.

CAMPOS, M. F.; ONO, E. O.; BOARO, C. S. F.; RODRIGUES, J. D. Análise de crescimento em plantas de soja tratadas com substâncias reguladoras. **Revista Biotemas**, Florianópolis, v.21, p.53-63, 2008.

CARLSON, D. R.; DYER, D. J.; COTTERMAN, C. D.; DURLEY, R. The physiological basis for cytokinin induced increases in pod set in IX93-100 soybeans. **Plant Physiology**, United Kingdom, v.84, p. 233-237, 1987.

CHARI, M.; GUPTA, K.; PRASAD, T. G.; KRISHNA SASTRY, K. S.; UDAYA KUMAR, M. Enhancement of water status by calcium pretreatment in groundnut and cowpea plants subjected to moisture stress. **Plant and Soil**, Crawley, v.91, p. 109-114, 1996.

CHAVES, M. M.; PEREIRA, J. S.; MAROCO, J.; RODRIGUES, M. L.; RICARDO, C. P. P.; OSÓRIO, M. L.; CARVALHO, I.; FARIA, T.; PINHEIRO, T. How plants cope with water stress in the field. Photosynthesis and yield. **Annals of Botany**, London, v.89, p.907-916, 2002.

CHAVES, M. M.; OLIVEIRA, M. M. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. **Journal of Experimental Botany**, London, v.55, p. 2365–2384, 2004.

CHERNIAD'EV, L. L.; MONAKHOVA, O. F. Effect of cytokinin preparations on the pools of pigments and proteins of wheat cultivars differing in their tolerance to water stress. **Prikladnaia Biokhimiia Mikrobiologiia**, Valitova, v. 39, p.593-601, 2003.

CHEN, W. S. Endogenous Growth Substances in Xylem and Shoot Tip Diffusate of Lychee in Relation to Flowering. **Horticultural science**, Czech Republic v.25, p.314-315, 1990.

CHO, K.; SUH, S. K.; PARK, H. K.; WOOD, A. Impact of 2,4-DP and BAP upon pod set and seed yield in soybean treated at reproductive stages. **Plant Growth Regulation**, Coverage, v. 36, p. 215-221, 2002.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. **Séries históricas relativas às safras 1976/77 a 2012/2013 de área plantada, produtividade e produção**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252&t=2> ; Acesso em: 22 de Junho de 2013.

CUTLER, D.F.; BOTHA, T.; STEVENSON, D. W. **Anatomia vegetal - uma abordagem aplicada**. 1ª ed, Artmed, Porto Alegre, 2011. 304p.

DAVIES, P. J. **Plant hormones: physiology, biochemistry and molecular biology**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. 1995.833 p.

DAVIES, W. J.; ZHANG, J. H. Root signal and the regulation of growth and development of plants in drying soil. **Annual review of plant physiology and plant molecular biology**, Berkeley, v.42, p.55–76, 1991.

DIETRICH, J. T.; KAMINEK, M.; BLEVINS, D. G.; REINBOTT, T. M. MORRIS, R. O. Changes in cytokinins and cytokinin oxidase activity in developing maize kernels and the effects of exogenous cytokinin on kernel development. **Plant Physiology and Biochemistry**, Bari, v.33, p. 327-336, 1995.

DYBING, C. D. Soybean flower production as related to plant growth and seed yield. **Crop Science**, Madison, v. 34, p. 489-497, 1994.

DYBING, C. D; GHIASI, H. PAECH, C. Biochemical characterization of soybean ovary growth from anthesis to abscission of aborting ovaries. **Plant Physiology**, United Kingdom v. 81, p. 1069-1074, 1986.

DWYER, L. M.; TOLLENAAR, M.; HOUWING, L. A. Quantifying the nonlinearity in chlorophyll meter response to corn leaf nitrogen concentration. **Canadian Journal of Plant Science**, Québec, v. 75, p. 179-182, 1995.

EGLI, D.B.; BRUENING, W.P. Flowering and fruit set dynamics at phloem-isolated nodes in soybean. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 79, p. 9–19, 2002a.

EGLI, D.B.; BRUENING, W.P. Synchronous flowering and fruit set at phloem-isolated nodes in soybean. **Crop Science**, Madison, v. 42, p.1535–1540, 2002b.

EGLI, D.B.; BRUENING, W.P. Shade and temporal distribution of pod production and pod set in soybean. **Crop Science**, Madison, v.45, p.1764–1769. 2005.

EGLI, D.B.; BRUENING, W.P. Temporal profiles of pod production and reproductive success in soybean. **European Journal of Agronomy**, Cambridge, v.24, p.11–18. 2006.

ENNAHLI, S.; EARL H. J. Physiological limitations to photosynthetic carbon assimilation in cotton under water stress. **Crop Science**, Madison, v.45, p.2374-2382, 2005.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de soja – CNPSO. **Tecnologias de produção de soja região Central do Brasil 2003**. Londrina: EMBRAPA-CNPSO: Sistemas de produção, 1, 2004.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos-CNPS. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro: Embrapa-CNPS, 2006. 306 p.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas**. 2ª Ed. Editora planta, Londrina. 2006. 403 p.

EVANS, L.T. **Crop evolution, adaptation and yield**. Cambridge University Press, Cambridge, 1993a, 500p.

EVANS, J. R. Photosynthetic acclimation and nitrogen partitioning within a lucerne canopy. I. Canopy characteristics. **Australian Journal of Plant Physiology**, Victoria v.20, p.55-67, 1993b.

FAGERIA, N. K.; BALIGAR, V. C.; CLARK, R. B. **Physiology of Crop Production**. New York: The Haworth Press. 2006. 345p.

FAKIR, M. S. A.; MONDAL, M. M. A.; ISMAIL, M.R.; ASHRAFUZZAMAN, M. Flowering pattern and reproductive efficiency in mungbean. **International Journal of Agriculture & Biology**, Faisalabad, v.13, p. 966–970, 2011.

FEHR, W.R.; CAVINESS, C.E. **Stages of soybean development**. Ames: State University of Science and Technology, 1977. 11 p. (Special report, 80).

FIGUEIREDO, S. L.; RODRIGUES, J. D. Perfilhamento do trigo em função da aplicação de regulador vegetal. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v.7, p.750-755, 2012.

GE, L. L.; TIAN, H. Q.; RUSSELL, S. D. Calcium function and distribution during fertilization in angiosperms. **American Journal of Botany**, Davis, v.94, p.1046–1060, 2007.

GEIGER, D. R.; SHEIH, W. J.; YU, X. M., Photosynthetic carbon metabolism and translocation in wild type and starch-deficient mutant *Nicotiana sylvestris* L. **Plant Physiology**, United Kingdom, v. 107, p. 507– 514,1995.

GIDROL, X.; LIN, W. S.; DEGOUSEE, N.; YIP, S. F.; KUSH, A. Accumulation of reactive oxygen species and oxidation of cytokinin in germinating soybean seeds. **European Journal of Biochemistry**, London, v.224, p.21-28, 1994.

GRUSAK, M. A.; POMPER, K. W. Influence of pod stomatal density and pod transpiration on the calcium concentration of snap bean pods. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.124, p. 194-198, 1999.

HAZEWAGA, P.; BRESSAN, R. A.; ZHU, J. K.; BOHNERT, J. Plant cellular and molecular responses to high salinity. **Annual review of plant physiology and plant molecular biology**, Berkeley, v.51, p.463-499, 2000.

HEIFFIG, L. C. **Plasticidade da cultura da soja (*Glycine max*, L. Merrill) em diferentes arranjos espaciais**. 2002. 85p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

HENDRY, G. A. Plant pigments. In: LEA. P. J., LEEGOOD, R. C. **Plant biochemistry and molecular biology**. Great Britain: Bookcraft, 1993. p. 181-196.

HESS, J. R.; CARMAN, J. G.; BANOWETZ, G. M. Hormones in wheat kernels during embryony. **Journal of Plant Physiology**, Irvine, v.159, p. 379-386, 2002.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. **The water culture method for growing plants without soils**. Berkeley: California Agricultural Experimental Station, 1950. 347 p.

HONG-BO, S.; LI-YE, C.; MING-AN, S. Calcium as a versatile plant signal transducer under soil water stress. **BioEssays**, Malden, v.30, p.634–641, 2008.

HUFF, A.; DYBING, C. D. Factors affecting shedding of flowers in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill]. **Journal of Experimental Botany**, London, v. 31, p. 51-62, 1980.

HUTCHISON, C. E.; KIEBER, J. J. Cytokinin signaling in Arabidopsis. **Plant Cell**, United Kingdom, v. 14, p. 547-559, 2002.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Contas nacionais trimestrais**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/pib/defaultcnt.shtm> ; Acesso em 22 de junho de 2013.

JAMES, A. T.; LAWN, R. J.; COOPER, M. Genotypic variation for drought stress response traits in soybean. II. Inter-relations between epidermal conductance, osmotic potential, relative water content, and plant survival. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v.59, p.670-678, 2008.

JIANG, H.; EGLI, D. B. Shade induced changes in flower and pod number and flower and fruit abscission in soybean. **Agronomy Journal**, Madison, v.85, p.221-225, 1993.

JOHANSEN, D. **Plant microtechnique**. McGraw-Hill Book Company, New York, 1940. 523 p.

JONES, H. G. Monitoring plant and soil water status: established and novel methods revisited and their relevance to studies of drought tolerance. **Journal of Experimental Botany**, London, v.58, p.119-130, 2007.

KASTER, M.; FARIAS, J. R. B. **Regionalização dos testes de valor de cultivo e uso e da indicação de cultivares de soja – terceira aproximação**. Londrina, Embrapa Soja (Documentos 330), 2012. 69 p.

KELES, Y.; UNYAYAR, S. Responses of antioxidant defense system of *Helianthus annuus* to abscisic acid under drought and waterlogging. **Acta Physiology Plantarum**, Heidelberg, v.26, p.149-156, 2004.

KOKUBUN, M.; HONDA, L. Intra-raceme variation in pod set probability is associated with cytokinin content in soybeans. **Plant Production Science**, Kyoto, v.3, p.354-359, 2000.

KOKUBUN, M.; SHIMADA, S.; TAKAHASHI, M. Flower Abortion Caused by Preanthesis Water Deficit Is Not Attributed to Impairment of Pollen in Soybean. **Crop Science**, Madison, v.41, p. 1517–1521, 2001.

KÖPPEN, W. **Climatologia**: con un estudio de los climas de la tierra. México: Fondo de Cultura Económica, 1948, 478 p.

KRAMER, P. J.; BOYER, J. S. **Water relations of plants and soils**. San Diego: Academic Press, 1995. 495p.

KRICHEVSKY, A.; KOZLOVSKY, S. V.; TIAN, G.; CHEN, M.; ZALTSMAN, A.; CITOVSKY, V. How pollen tubes grow. **Developmental Biology**, Kansas, v.303, p.405–420, 2007.

LAWLOR, D. W.; UPRETY, D. C. Effects of water stress on photosynthesis of crops and the biochemical mechanism. In: ABROL YP, MOHANTY P, GOVINJEE, eds.

Photosynthesis: photoreactions to plant productivity. New Dehli: Oxford and IBH Publishing Co. PVT. Ltd v.1, 1993. p.419-449.

LAWN, R. J.; LIKOSWE, A. A. Genotypic differences in leaf area maintenance contribute to differences in recovery from water stress in soybean. **Australian Journal of Agricultural Research**, Collingwood, v.59, p.1075-1085, 2008.

LECHOWSKI, Z. Stomatal response to exogenous cytokinin treatment of the hemiparasite *Melampyrum arvense* L before and after attachment to the host. **Biologia Plantarum**, Dordrecht, v.39, p.13–21, 1997.

LEOPOLD, A. C.; MUSGRAVE, M. E.; WILLIAMS, K. M. Solute leakage resulting from leaf desiccation. **Plant Physiology**, United Kingdom, v.68, p.1222-1225, 1981.

LIU, F.; ANDERSEN, M. N.; JENSEN, C. R. Loss of pod set caused by drought stress is associated with water status and ABA content of reproductive structures in soybean. **Functional Plant Biology**, Collingwood, v.30, p.271–280, 2003.

LIU, F.; JENSEN, C. R.; ANDERSEN, M. N. Pod Set Related to Photosynthetic Rate and Endogenous ABA in Soybeans Subjected to Different Water Regimes and Exogenous ABA and BA at Early Reproductive Stages. **Annals of Botany**, London, v. 94, p. 405–411, 2004a.

LIU, F.; JENSEN, C. R.; ANDERSEN, M. N. Drought stress effect on carbohydrate concentration in soybean leaves and pods during early reproductive development: its implication in altering pod set. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 86, p. 1–13, 2004b.

MAMBELLI, S.; SETTER, T. L. Inhibition of maize endosperm cell division and endoreplication by exogenously applied abscisic acid. **Physiologia Plantarum**, Malden, v. 104, p. 266-272, 1998.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2^a Ed. Academic Press Ltd. London, Norfolk. 1995. 889p.

McBLAIN, B. A.; HUME, D. J. Reproductive abortion, yield components and nitrogen content in three early soybean cultivars. **Canadian Journal of Plant Science**. Ottawa, v. 61, p.499-505, 1981.

MEREWITZ, E.B.; DU, H.; YU, W.; LIU, Y.; GIANFAGNA, T.; HUANG, B. Elevated cytokinin content in ipt transgenic creeping bentgrass promotes drought tolerance through regulating metabolite accumulation. **Journal of Experimental Botany**, London, v. 63, p. 1315–1328, 2012.

MINOLTA, CAMERA Co. Ltd. **Manual for chlorophyll meter SPAD-502**. Minolta Radiometric Instruments Div., Osaka, 1989. 22p.

MONDAL, M. M. A.; FAKIR, M. S. A.; PRODHAN, A.K.M.A.; ISMAIL, M.R.; ASHRAFUZZAMAN, M. Deflowering effect on vasculature and yield attributes in raceme of mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek]. **Australian Journal of Crop Science**, Collingwood, v.5, p.1339-1344, 2011.

MONTANHEIRO, M. N.; SAITO, S. N. T.; REICHARDT, K.; LIBARDI, P. L. Controle de tensões de água no solo em vasos com feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 17. Manaus, 1979, **Anais...** Campinas: SBCS, 1979. p. 68.

MORGAN, J. M. Possible role of abscisic acid in reducing seed set in water-stressed wheat plants. **Nature**, London, v. 285, p. 655-657, 1980.

NAGEL, L; BREWSTER, R.; RIEDELL, W. E.; REESE, R. N. Cytokinin Regulation of Flower and Pod Set in Soybeans [(*Glycine max* (L.) Merr.)]. **Annals of Botany**, London, v.88, p. 27-31, 2001.

NAVARRO JUNIOR, H. M.; COSTA, J. A. Expressão do potencial de rendimento de cultivares de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, p. 275-279, 2002.

NISHIYAMA, R.; WATANABE, Y.; FUJITA, Y.; LE, D. T.; KOJIMA, M.; WERNER, T.; VANKOVA, R.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K.; KAKIMOTO, T.; SAKAKIBARA, H.; SCHMULLING, T.; TRAN, L.P. Analysis of Cytokinin Mutants and Regulation of Cytokinin Metabolic Genes Reveals Important Regulatory Roles of Cytokinins in Drought, Salt and Absciscic Acid Responses, and Absciscic Acid Biosynthesis. **The Plant Cell**, United Kingdom, v. 23, p. 2169–2183, 2011.

NOBEL, P. S. **Physicochemical and environmental plant physiology**. Academic Press, San Diego 1991. 422p.

NONOKAWA, K.; KOKUBUN, M.; NAKAJIMA, T.; NAKAMURA, T.; YOSHIDA, R. Roles of Auxin and Cytokinin in Soybean Pod Setting. **Plant Production Science**, Kyoto, v.10, p. 199-206, 2007.

O'BRIEN, T. P.; FEDER, N. M. C.; CULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell wall by toluidine blue. **O Protoplasma**, Wien, v.59, p.369-376, 1964.

O'TOOLE, J. C.; OZBUN, J. L.; WALLACE, D. H. Photosynthetic response to water stress in *Phaseolus vulgaris*. **Physiologia Plantarum**, Malden, v.40, p.111-114, 1977.

PANNU, R. K.; SINGH, D.P.; SINGH, P.; CHAUDHARY, B. D.; SINGH, V.P. Evaluation of various plant water indices for screening the genotypes of chickpea under limited water environment. **Haryana Journal Agronomy**, Hisar, v.9, p.16-22, 1993.

PASSOS, A. M. A.; REZENDE, P. M.; CARVALHO, E. A.; SAVELLI, R. A. M. Cinetina e nitrato de potássio em características agronômicas de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, p.925-928, 2008.

PETERSON, C. M.; WILLIAMS, J. C.; KUANG, A. Increased pod set of determinate cultivars of soybean *Glycine max*, by benzylaminopurine. **Botani Gazette**, Chicago, v. 151, p. 322-330, 1990.

PILLAY, I.; BEYL, C. Early responses of drought-resistant and drought-susceptible tomato plants subjected to water stress. **Journal of Plant Growth Regulators**, Dordrecht, v.9, p. 213-219, 1990.

PIMENTEL GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 13.ed. Piracicaba: Nobel, 1990. 468p.

POTTER, J. R.; BREEN, P. J. Maintenance of high photosynthetic rates during the accumulation of high leaf starch levels in sunflower and soybean. **Plant Physiology**, United Kingdom, v. 66, p.528-531, 1980.

QUINTANA, J. M.; HARRISON H. C.; NIENHUIS, J.; PALTA J. P.; GRUSAK, M. A. Variation in calcium concentration among sixty S1 families and four cultivars of snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.121, p.789-793, 1996.

PFEIFFER W.H.; REYNOLDS M.P. Applying physiological strategies to improve yield potential. In: ROYO C.; NACHIT M.; DI FONZO N.; ARAUS J. L. (editors). **Durum wheat improvement in the Mediterranean region: New challenges**. Zaragoza: CIHEAM, 2000. p. 95-103

REDDY, A. S. N. Calcium: silver bullet in signaling. **Plant Science**, Davis, v.160, p. 381-404, 2001.

RIVERO, R. M.; KOJIMA, M.; GEPSTEIN, A.; SAKAKIBARA, H.; MITTLER, R.; GEPSTEIN, S.; BLUMWALD, E.; Delayed leaf senescence induces extreme drought tolerance in a flowering plant. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Boston, v.104, p.19631–19636, 2007.

RIVERO, R. M.; SHULAEV, V.; BLUMWALD, E. Cytokinin-dependent photorespiration and the protection of photosynthesis during water deficit. **Plant Physiology**, United Kingdom, v.150, p.1530–1540, 2009.

ROY-MACAULEY, H.; ZUILY-FODIL, Y.; KIDRIC, M.; PHAN THI, A.; VIEIRA DA SILVA, J. Effect of drought stress on proteolytic activities in *Phaseolus* and *Vigna* leaves from sensitive and resistant plants. **Physiologia Plantarum**, Malden, v.85, p.90-96, 1992.

SERRAJ, R.; SINCLAIR, T.R. Osmolyte accumulation: can it really help increase crop under drought conditions? **Plant Cell Environment**, Malden, v.25, p.333-341, 2002.

SEVÁ, S. S.; JORGE, J. P. N. Aplicação de cálcio por via foliar na produção de grãos de soja. **Bragantia**, Campinas, v.40, p.185-188, 1981.

SFREDO, G. J. **Soja no Brasil: calagem, adubação e nutrição mineral**. Londrina, Embrapa Soja (Documentos 305), 2008. 148 p.

SHARKEY, T. D. Feedback limitation of photosynthesis and physiological role of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylation. **Botanical Magazine**, Malden, 1990, v.2, p.87–105, 1990.

SILVA, T. R. B.; SORATTO, R. P.; BÍSCARO, T.; LEMOS, L. B. Aplicação foliar de boro e cálcio no feijoeiro. **Científica**, Jaboticabal, v.34, p. 46-52, 2006.

SUSUKI, T.; MATSUURA, T.; KAWAKAMI, N. NODA, K. Accumulation and leakage of abscisic acid during embryo development and seed dormancy in wheat. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v.30, p. 253-260, 2000.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

TANKSLEY, S.D. Mapping polygenes. **Annual Review Genetic**, Princeton, v. 27, p. 205–233, 1993.

TISCHNER, T.; ALLPHIN, L.; CHASE, K.; ORF, J. H.; LARK, K. G. Genetics of Seed Abortion and Reproductive Traits in Soybean. **Crop Science**, Madison, v. 43, p.464–473, 2003.

TROUVERIE, J.; THEVENOT, C.; ROCHER, J. P.; SOTTA, B.; PRIOUL, J. L. The role of abscisic acid in the response of a specific vacuolar invertase to water stress in the adult maize leaf. **Journal of Experimental Botany**, London, v. 54, p. 2177-2186, 2003.

TURNER, N. C. Further progress in crop water relations. **Advances in Agronomy**, Newark, v.58, p.293-338, 1997.

WANG, Z.; CAO, W.; DAI, T.; ZHOU, Q. Effects of exogenous hormones on floret development and grain set in wheat. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 35, p. 225-231, 2001.

WARDLAW, I. F. The control of carbon partitioning in plants. **New Phytologist**, Lancaster, v.116, p. 341-381, 1990.

WESTGATE, M. E.; PETERSON, C. M. Flower and pod development in water-deficient soybean (*Glycine max* L. Merr.). **Journal of Experimental Botany**, London, v.44, p.109–117, 1993.

WIEBOLD, W. J.; PANCIERA, M. T. Vasculature of Soybean Racemes with Altered Intraraceme Competition. **Crop Science**, Madison, v.30, p.1089-1093, 1990.

WIENS, D. Ovule survivorship, brood size, life history, breeding systems, and reproductive success in plants. **Oecologia**, Berlin, v.64, p.47–53, 1984.

WHITE P. J. The pathways of calcium movement to the xylem. **Journal of Experimental Botany**, London, v.52, p. 891-899, 2001.

WHITE, P.J.; BROADLEY, M.R. Calcium in plants. **Annals of Botany**, London, v.92, p. 487–511, 2003.

YANG, J. C.; ZHANG, J. H.; WANG, Z. Q.; ZHU, Q. S.; LIU, J. J.; Absciscic acid and cytokinins in the root exudates and leaves and their relationship to senescence and remobilization of carbon reserves in rice subjected to water stress during grain filling. **Planta**, Bonn, v.215, p. 645-652, 2002.

YANG, J. C.; ZHANG, J. H.; WANG, Z. Q.; ZHU, Q. S.; LIU, J. J.; Involvement of abscisic acid and cytokinins in the senescence and remobilization of carbon reserves in wheat subjected to water stress during grain filling. **Plant Cell Environment**, Malden, v. 26, p. 1621-1631, 2003.

YAN, Y.; WEI, C.; ZHANG, W.; CHENG, H.; LIU, J. Cross-talk between calcium and reactive oxygen species signaling. **Acta Pharmacologica Sinica**, Shanghai, v. 27, p.821–826, 2006.

YASHIMA, Y.; KAIHATSU, A.; NAKAJIMA, T.; KOKUBUN, M. Effects of Source/Sink Ratio and Cytokinin Application on Pod Set in Soybean. **Plant Production Science**, Kyoto, v.8, p. 139-144, 2005.

YOSHIBA, Y.; KIYOSUE, T.; NAKASHIMA, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, Y.; SHINOZAKI, K. Regulation of levels of proline as an osmolyte in plants under water stress. **Plant and Cell Physiology**, Sendai, v.38, p.1095-1102, 1997.

ZHANG, J.; NGUYEN, H. T.; BLUM, A. Genetic analysis of osmotic adjustment in crop plants. **Journal of Experimental Botanic**, London, v,50, p.291- 302, 1999.

ZHENG, S.H., NAKAMOTO, H., YOSHIKAWA, K., FURUYA, T., FUKUYAMA, M. Influences of high night temperatures on flowering and pod setting soybean. **Plant Production Science**, Kyoto, v. 5, p.215–218, 2002.

ZINSELMEIER, C.; JEONG, B. R.; BOYER, J. S. Starch and the controle of kernel number in maize at low water potentials. **Plant Physiology**, United Kingdom, v. 121, p. 25-35, 1999.