

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

**MODIFICAÇÕES MORFOLÓGICAS, FISIOLÓGICAS E
SELETIVIDADE DA SOJA A DIFERENTES HERBICIDAS EM
RESPOSTA AO ESTRESSE HÍDRICO**

Clebson Gomes Gonçalves

Engenheiro Agrônomo

2017

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

**MODIFICAÇÕES MORFOLÓGICAS, FISIOLÓGICAS E
SELETIVIDADE DA SOJA A DIFERENTES HERBICIDAS EM
RESPOSTA AO ESTRESSE HÍDRICO**

Clebson Gomes Gonçalves

Orientador: Prof. Dr. Dagoberto Martins

Co-orientador: Prof. Dr. Maria Renata Rocha Pereira

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

2017

G641m Gonçalves, Clebson Gomes
 Modificações morfológicas, fisiológicas e seletividade da soja a
diferentes herbicidas em resposta ao estresse hídrico / Clebson Gomes
Gonçalves. – – Jaboticabal, 2017
 vi, 120 p. : il. ; 29 cm

 Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2017

 Orientador: Dagoberto Martins

 Banca examinadora: Marcos Antonio Kuva, Mario Sergio
Tomazela, Silvano Bianco, Eduardo Custodio Gasparino

 Bibliografia

 1. Anatomia foliar. 2. Estresse oxidativo. 3. Déficit hídrico. 4.
Glycine max. 5. PROTOX-inibidor. 6. ALS-inibidor. I. Título. II.
Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

 CDU 632.954..633.34

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**TÍTULO: MODIFICAÇÕES MORFOLÓGICAS, FISIOLÓGICAS E SELETIVIDADE DA
SOJA A DIFERENTES HERBICIDAS EM RESPOSTA AO ESTRESSE
HÍDRICO**

AUTOR: CLEBSON GOMES GONÇALVES

ORIENTADOR: DAGOBERTO MARTINS

COORIENTADORA: MARIA RENATA ROCHA PEREIRA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AGRONOMIA
(PRODUÇÃO VEGETAL), pela Comissão Examinadora:



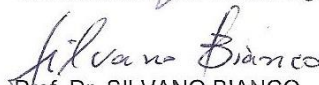
Prof. Dr. DAGOBERTO MARTINS
Departamento de Produção Vegetal / FCAV / UNESP - Jaboticabal



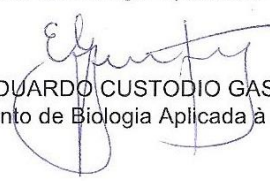
Pesquisador Dr. MARCOS ANTONIO KUVA
HERBAE Consultoria e Projetos Agrícolas / Jaboticabal/SP



Pesquisador Dr. MARIO SÉRGIO TOMAZELA
Coordenadoria De Defesa Agropec. Do Estado De São Paulo / Botucatu, SP



Prof. Dr. SILVANO BIANCO
Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Prof. Dr. EDUARDO CUSTODIO GASPARINO
Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 22 de fevereiro de 2017.

DADOS CURRICULAR DO AUTOR

CLEBSON GOMES GONÇALVES, filho de Claudimundo Macedo Gonçalves e Elenita Gomes Gonçalves, nasceu na cidade de Jacundá, Pará - PA, em 22 de outubro de 1988. Engenheiro Agrônomo pela Universidade Federal do Tocantins – UFT, campus de Gurupi, Tocantins - TO (2008-2012). Durante a graduação foi bolsista na modalidade iniciação científica no período (2009-2012). Nas áreas de fitopatologia e tratos culturais, onde acompanhou atividades relacionadas ao manejo de doenças das principais culturas do estado do Tocantins. Em 2012 ingressou no curso de Mestrado em Agronomia - (Produção Vegetal) pela Universidade Federal de Viçosa UFV-CRP. Atuando nas áreas de manejo de plantas daninhas, seletividade de herbicidas em plantas cultivadas e impacto de pesticidas no ambiente (microrganismos, solo e planta). No ano de 2014 ingressou no curso de doutorado em Agronomia (Produção Vegetal) pela Universidade Estadual Paulista - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (Campus de Jaboticabal). Atuando nas áreas de manejo de plantas daninhas, seletividade de herbicidas em cultivares de soja em diferentes manejos hídricos. Em 2016, esteve em estágio de Doutorado Sandwich em Auburn University - College of Agriculture, (Department of Crop, Soil and Environmental Sciences), Auburn, AL, United States. Durante esse período, conduziu experimentos de campo examinando a qualidade dos gramados em campo de golfe, reguladores de crescimento, eficiência de herbicidas para controlar plantas daninhas em gramados, herbicidas seletivos e problemas relacionados.

EPÍGRAFE

**“Confia no Senhor de todo o teu coração, e não te
estribes no teu próprio entendimento. Reconhece-o
em todos os teus caminhos, e ele endireitará as
tuas veredas. Não sejas sábio a teus próprios
olhos; teme ao Senhor e aparta-te do mal.”
(Provérbios 3:5-7)**

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Claudimundo e Elenita, e a minha esposa Thaís que muito me motivaram nesta caminhada através de palavras de conforto e apoio nos momentos de dificuldade.

Ofereço e dedico.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por me conceder vida e saúde e, estar sempre à frente me dando coragem para enfrentar e vencer mais esse desafio.

Aos meus pais, Claudimundo Macedo Gonçalves e Elenita Gomes Gonçalves pelo grande apoio e total confiança em minhas decisões, além de muito me motivar nesta caminhada através de orações e palavras de conforto.

Aos meus irmãos, Claudiane, Cledson, Claudinei, Cristiana e a minha esposa Thaís, pelo carinho, incentivo e porque sempre estiveram ao meu lado, apoiando e torcendo pela minha vitória.

Ao Professor Dagoberto Martins, pelo apoio, paciência e orientação, sobretudo pela amizade desde o início dessa trajetória.

Aos Professores Maria Renata Rocha Pereira, Eduardo Custódio Gasparino e Priscila Lupino Gratão, pelos ensinamentos, amizade, atenção, disponibilidade de tempo e muita ajuda.

À Universidade Estadual Paulista - Unesp Câmpus de Jaboticabal, pela oportunidade ímpar e pelo apoio concedido no doutorado.

A CAPES pela concessão da bolsa de estudo para a realização do curso de doutorado.

A todos os amigos, pela amizade inestimável e pelo imprescindível auxílio na execução desse trabalho.

Muito Obrigado!

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS	1
Introdução	1
Revisão de literatura	4
Estresse hídrico	4
Anatomia das plantas	5
Estresse oxidativo em plantas	6
Controle químico de plantas daninhas na cultura da soja	7
Microrganismos do solo	8
Objetivo geral	9
Objetivos específicos	10
Referências	10
CAPÍTULO 2 - MODIFICAÇÕES MORFOANATÔMICAS DA SOJA EM RESPOSTA AO MANEJO DE ÁGUA NO SOLO	21
Resumo	21
Introdução	22
Material e Métodos	23
Resultados e Discussão	26
Conclusões	39
Referências	40
CAPÍTULO 3 - DESEMPENHO FISIOLÓGICO DA SOJA CONVENCIONAL E TRANSGÊNICA SUBMETIDA À RESTRIÇÃO HÍDRICA	46
Resumo	46
Introdução	47
Material e Métodos	48
Material vegetal, condições de crescimento e avaliações de campo	48
Análises laboratorial	50
Análise estatística	52
Resultados e Discussão	52
Conclusão	60

Referências.....	60
CAPÍTULO 4 - EFEITO DE DIFERENTES MANEJOS HÍDRICOS NO SOLO SOBRE A SELETIVIDADE DO FOMESAFEN EM SOJA CONVENCIONAL E RR.....	68
Resumo.....	68
Introdução	69
Material e Métodos.....	70
Resultados e Discussão.....	72
Conclusões	87
Referências.....	88
CAPÍTULO 5 - SELETIVIDADE DO CHLORIMURON-ETHYL EM CULTIVARES DE SOJA SOB DIFERENTES MANEJOS HÍDRICOS	96
Resumo.....	96
Introdução	97
Material e Métodos.....	98
Resultados e Discussão.....	100
Conclusões	113
Referências.....	113
CONSIDERAÇÕES FINAIS	120

MODIFICAÇÕES MORFOLÓGICAS, FISIOLÓGICAS E SELETIVIDADE DA SOJA A DIFERENTES HERBICIDAS EM RESPOSTA AO ESTRESSE HÍDRICO

RESUMO – O déficit hídrico é o estresse abiótico mais limitante e severo para as culturas agrícolas, pois desencadeia uma série de adaptações fisiológicas e modificações anatômicas nas plantas como um processo adaptativo em resposta ao déficit hídrico e que regula a redução das perdas de água da planta para a atmosfera. A fim de esclarecer o efeito do estresse hídrico sobre as características anatômicas e fisiológicas da soja, bem como a seletividade de herbicidas, o presente trabalho teve como objetivo examinar as alterações morfológicas e enzimáticas das cultivares de soja: MG / BR 46 Conquista (convencional) e a BRS Valiosa (transgênica) por meio de resposta a diferentes manejos de água no solo, em dois estádios vegetativos de desenvolvimento. As plantas foram submetidas a diferentes manejos de água no solo, nos estádios de desenvolvimento vegetativo V2 e V4. Foram realizadas avaliações de condutância estomática, área foliar, medidas de anatomia foliar e caulinar. Também foram avaliados os mecanismos de resposta ao estresse antioxidante pelas medições de, peroxidação lipídica, teor de H_2O_2 , prolina, superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX), além de avaliar o comportamento dos herbicidas fomesafen a 250 g i.a. ha^{-1} e chlorimuron-ethyl 20 g i.a. ha^{-1} em plantas de soja submetidas a diferentes restrições hídricas. A cultivar BRS Valiosa RR apresentou melhor resposta adaptativa morfológica e anatômica quando submetida a uma restrição hídrica moderada de até (-0,07 MPa) quando ocorrida nas primeiras semanas de desenvolvimento das plantas. A atividade da SOD, CAT e APX das plantas transgênicas apresentaram um intenso aumento no estádio V4, enquanto que a cultivar convencional não superou a condição de estresse nesse período. Estas respostas determinaram que a BRS Valiosa (transgênica) apresentou uma resposta tardia que aumentou a sobrevivência a longos períodos de escassez de água. A escassez hídrica reduz a fitointoxicação visual quando submetida à pulverização dos herbicidas fomesafen e chlorimuron-ethyl. Constatou-se que o fomesafen e chlorimuron-ethyl proporcionaram um efeito negativo na infecção pelos rizóbios, assim como o déficit hídrico reduziu drasticamente a fixação biológica de nitrogênio e o crescimento das plantas de soja. Quando as plantas de soja foram submetidas a uma condição de escassez hídrica moderada (-0,07 MPa) a cultivar convencional teve o seu desenvolvimento mais afetado em comparação com a cultivar transgênica. Evidenciou-se, ainda, que a cultivar transgênica mostrou ter uma maior capacidade em sustentar a fixação biológica de nitrogênio quando submetida a uma condição de escassez hídrica moderada (-0,07 MPa) em comparação com a cultivar convencional.

Palavras-chave: anatomia, estresse oxidativo, déficit hídrico, *Glycine max*, PROTOX, ALS.

MORPHOLOGICAL, PHYSIOLOGICAL MODIFICATIONS AND SELECTIVITY OF SOYBEAN TO DIFFERENT HERBICIDES IN RESPONSE TO WATER STRESS

ABSTRACT – The drought is the most limiting and severe abiotic stress for agricultural crops, because it triggers a number of physiological adaptations and anatomical modifications in the plants as an adaptive process in response to the water deficit and which regulates the reduction of water losses from the plant to the atmosphere. In order to know the effect of water stress on the anatomical and physiological characteristics of soybean, as well as the selectivity of herbicides, the present work had as objective to examine the morphological and enzymatic alterations of soybean cultivars: MG / BR 46 Conquista (conventional) and BRS Valiosa (transgenic) by means of response to different water management in the soil, in two stages of vegetative development. The plants were submitted to different soil water management, in the vegetative development stage V2 and V4. Stomatal conductance, foliar area, and leaf and stem anatomy measurements were performed. The antioxidant stress was measured by lipid peroxidation, H_2O_2 content, proline, superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX). The spraying of fomesafen at rate 250 g a.i ha^{-1} and chlorimuron-ethyl at rate 20 g a.i ha^{-1} in soybean plants under different water restrictions was also evaluated. BRS Valiosa RR has a better adaptive morphological and anatomical performance in response to a moderate water restriction up to (-0.07 MPa) when it occurs in the first weeks of plant development. SOD, CAT and APX activity of transgenic plants showed an intense increase in the V4 stage, while the conventional cultivar did not overcome the stress condition in this period. These responses appoint that BRS Valiosa (transgenic) has a late response, which increases survival at long periods of water scarcity. Drought reduces visual phytointoxication when sprayed with the herbicides fomesafen and chlorimuron-ethyl. It was found that the spraying of the herbicide fomesafen and chlorimuron-ethyl has a negative effect on rhizobia infection, as well as the water deficit drastically reduced the biological nitrogen fixation and the growth of the soybean plants. When soybean plants were submitted to a moderate drought condition (-0.07 MPa) the conventional cultivar had its development more affected compared to the transgenic cultivar. It was also evidenced that the transgenic cultivar showed to have a greater capacity to support the biological fixation of nitrogen when submitted to a condition of moderate drought (-0.07 MPa) in comparison to the conventional cultivar.

Keywords: anatomy, drought stress, *Glycine max*, oxidative stress, PROTOX, ALS.

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

Introdução

O déficit hídrico é o estresse abiótico mais limitante e severo para as culturas agrícolas, pois causa perdas significativas na produção vegetal (COSTA et al., 2008; ASHRAF, 2010; BALARDIN et al., 2011; SILVA et al., 2013). As respostas das plantas ao estresse hídrico são altamente complexas, pois a seca hídrica causa um desequilíbrio entre a absorção de água pela raiz e a transpiração das folhas, que leva a uma redução no crescimento e desenvolvimento das plantas (CABUSLAY et al. 2002; DOGAN et al., 2007; SHAO et al. 2008; ASHRAF; AFZAL et al., 2014).

Além disso, as plantas desencadeiam uma série de adaptações fisiológicas que tem efeitos deletérios, tais como: comprometimento metabólico da fotossíntese, dano oxidativo, alterações hormonais e acúmulo de proteínas relacionadas ao estresse, o que leva à interrupção dos processos fisiológicos e bioquímicos nas vias celulares e moleculares (DOGAN et al., 2007; ASHRAF, 2010; GALMÉS et al., 2011; ASHRAF; HARRIS, 2013; AFZAL et al., 2014).

O fechamento dos estômatos é o principal mecanismo através dos quais as plantas percebem a restrição de água no solo. Sendo este a primeira e imediata resposta ao déficit hídrico que regula a redução das perdas de água da planta para a atmosfera. No entanto, o fechamento dos estômatos também é a principal causa da diminuição da fotossíntese devido às taxas de assimilação de carbono serem reduzidas (FLEXAS et al., 2004; OHASHI et al., 2006; AFZAL et al., 2014; MAK et al., 2014).

Modificações das características anatômicas em plantas sob estresse hídrico, tem sido relatadas como sendo processos adaptativos específicos das plantas, tais como modificações relacionadas na arquitetura das plantas e diminuição do número de folhas, diminuição da expansão foliar, alteração da relação xilema/floema, redução dos diâmetros dos vasos do xilema, diâmetros das células parenquimáticas, aumento do tecido vascular e espessura da parede celular (GUERFEL et al., 2009; KUTLU et al., 2009; MAKBUL et al., 2011; POLIZEL et al., 2011; GALMÉS et al., 2013).

Pesquisas evidenciaram redução da área foliar, limitação do crescimento e comprometimento da biomassa das plantas de soja devido à falta de água (LIU et al., 2003; MAK et al., 2014). Também foi relatado redução das células parenquimáticas em resposta ao déficit hídrico (MAKBUL et al., 2011). Essa redução da lâmina foliar está relacionada com uma menor quantidade de espaços intercelulares, possibilitando que as células fiquem mais justapostas. Fahn (1977) relata que a redução de espaços intercelulares no mesófilo, representa uma vantagem adaptativa, pois aumenta a superfície de contato das células, o que pode facilitar a captura de energia da luz e elementos gasosos, que são necessários para o processo fotossintético (POLIZEL et al., 2011).

O déficit hídrico também pode interromper processos bioquímicos, gerando espécies reativas de oxigênio (ROS) em excesso, que são altamente tóxicos para as plantas, tais como: superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), oxigênio atômico e hidroxila (DEMIDCHIK, 2015).

Estas espécies de oxigênio são altamente reativas e interrompem o metabolismo normal por dano oxidativo, que resulta em peroxidação lipídica (MADANI et al., 2010). O sistema de defesa formado por antioxidante enzimáticos e não-enzimáticos atua para evitar a oxidação descontrolada causada pelo estresse hídrico.

As enzimas antioxidantes como superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) dismuta O_2^- a H_2O_2 . No entanto, o H_2O_2 também é tóxico para as células e devem ser desintoxicadas pela ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.11) e catalase (CAT, 1.11.1.6) que converte a produção excessiva de H_2O_2 em H_2O (HIPPLER et al., 2015; SILVA et al., 2016).

Os antioxidantes não enzimáticos incluindo prolina, flavonóides e carotenóides também desempenham um papel importante na desintoxicação de ROS (AHMAD et al., 2010). A acumulação de prolina é uma das respostas mais comuns ao estresse hídrico nas plantas ao desempenhar um papel como osmoprotetor e um soluto compatível (TÜRKAN et al., 2005; SHARMA et al., 2012). De modo geral o estresse oxidativo afeta a divisão, alongamento e diferenciação celular, resultando em danos no crescimento e desenvolvimento vegetativas e

reprodutivas das plantas (MECKEL et al., 1984; DESCLAUX; ROUMET, 1996; CABUSLAY et al., 2002; SHAO et al., 2008; DEMIRTAS et al., 2010).

O cultivo da soja no Brasil tem aumentado continuamente nos últimos anos, sendo considerada como a principal cultura em área de produção de grãos. No entanto, para as plantas de soja a restrição hídrica é bastante preocupante, pois essa cultura tem baixa eficiência para o uso da água (YANG et al., 2003). Considerando o cenário atual em que, as maiores áreas de cultivo com a soja é feito sem o uso de irrigação, os riscos no processo produtivo são elevados, pois nos períodos de safra e entressafra a ocorrência de períodos prolongados de estiagem, “os veranicos”, têm ocorridos cada vez mais frequentemente, e é comum em áreas meridionais do Brasil.

O aumento na produtividade da soja também é atribuído ao cultivo da soja tolerante ao glyphosate (RR). Sendo esta responsável por mais de 90% de toda a área cultivada com essa oleaginosa no Brasil para a safra de 2014 (JAMES, 2014). O desenvolvimento das culturas tolerante ao glyphosate resultou em um incremento acentuado no uso desse herbicida, consequentemente, houve um declínio na diversidade de herbicidas utilizados para manejo de plantas daninhas nas lavouras, o que levou a seleção de vários biótipos de plantas daninhas resistente em áreas agrícolas (JONES et al. 2005; VILA-AIUB et al., 2007; OWEN 2008; CARVALHO et al., 2011; GAINES et al., 2012).

Desse modo, herbicidas com diferentes mecanismos de ação têm sido utilizado pelos sojicultores para aumentar a eficiência de controle em áreas de cultivos com a presença de biótipos resistentes. Herbicidas como o diuron, bromacil, imazetapir, chlorimuron-ethyl, cloransulam-methyl, lactofen, imazethapyr e fomesafen tem se mostrado satisfatório no controle das plantas daninhas de difícil controle e ou biótipos resistentes ao glyphosate, sendo que os herbicidas testados apresentaram alta seletividade não interferindo no rendimento produtivo dos cultivares de soja (YAMAUTI et al., 2010; MACIEL et al., 2011; STEWART et al., 2011; ALONSO et al., 2013).

A fim de contornar os frequentes estresses que afetam a produção agrícola e alcançar alto desempenho das culturas agrícolas, estudos focados em selecionar

indivíduos com características adaptativas para superar os estresses ambientais deve ser de fundamental importância para o avanço da agricultura no Brasil.

Revisão de literatura

Estresse hídrico

O déficit hídrico é um dos fatores abióticos mais importantes que limitam o crescimento e a produtividade das plantas em todo o mundo (ECHER et al., 2010). Este é compreendido como a mudança significativa das condições ideais de cultivo das plantas e impedindo-as de expressar todo seu potencial genético de desenvolvimento produtivo. Logo, é um dos principais fatores responsáveis por acarretar reduções na produtividade agrícola (SILVA et al., 2013), sobretudo, o déficit hídrico compromete praticamente todos os aspectos relacionados ao desenvolvimento das plantas, incluindo mudanças anatômicas, morfológicas, fisiológicas e bioquímicas (BEZERRA et al., 2003; DOGAN et al., 2007; ASHRAF, 2010; GALMÉS et al., 2013; AFZAL et al., 2014)

O crescimento pode ser considerado um dos processos mais sensíveis ao déficit hídrico, devido à redução de pressão de turgescência, pois a expansão das células só ocorre quando a pressão de turgescência é maior do que o limiar de rendimento da parede celular. Assim, o déficit hídrico suprime a expansão e crescimento das células, devido à baixa pressão de turgescência (JALEEL et al., 2007; KARTHIKEYAN et al., 2007).

Alguns estudos têm demonstrado que sob condições de escassez hídrica, as taxas de assimilação de CO₂ são reduzidas, principalmente, devido ao mecanismo de fechamento dos estômatos (OHASHI et al., 2006; AFZAL et al., 2014; MAK et al., 2014). Com o fechamento estomático, as plantas não só reduzem as perdas de água por transpiração, como também reduzem o suprimento de CO₂ para as folhas e, como consequência, a produção de biomassa das plantas é comprometida (PAIVA et al., 2005).

Na safra 2015/16 as áreas plantadas com a cultura da soja foi de: 33,177 milhões de hectares (CONAB, 2016). Considerando o cenário atual em que, as maiores áreas de cultivo com a cultura da soja é feito sem o uso de irrigação, os

riscos no processo produtivo são elevados em função das restrições hídricas. Uma vez que pode ocorrer distribuição irregular das chuvas logo após a semeadura, o que provoca reduções nos estandes e no crescimento das plantas (COSTA et al., 2008; BALARDIN et al., 2011).

Anatomia das plantas

A sobrevivência das plantas durante uma restrição hídrica requer mecanismos através dos quais as plantas percebem a falta de água no solo e passem a regular rapidamente sua fisiologia para compensar essa condição de estresse (TURNER, 1997). Logo, o principal mecanismo através dos quais as plantas percebem a restrição de água no solo é sinalizado pelo fechamento estomático, sendo este a primeira e imediata resposta ao déficit hídrico que regula a redução das perdas de água pela fotorrespiração (POLIZEL et al., 2011). Além disso, a redução da densidade estomática pode melhorar a tolerância à seca (TRIPATHI et al., 2016).

Modificações das características anatômicas em plantas sob estresse hídrico são descritas na literatura como sendo um processo adaptativo específico das plantas que regula as perdas de água das folhas para a atmosfera. Tais modificações estão relacionadas a mudanças na arquitetura das plantas, diminuição do número de folhas, diminuição da expansão foliar, alteração da relação xilema/floema, redução dos diâmetros dos vasos do xilema, diâmetros das células parenquimáticas, aumento do tecido vascular e espessura da parede celular (GUERFEL et al., 2009; KUTLU et al., 2009; MAKBUL et al., 2011; POLIZEL et al., 2011; GALMÉS et al., 2013).

A redução da área foliar de plantas de soja devido à escassez hídrica foi relatado como sendo uma resposta a falta de água no solo (LIU et al., 2003). No entanto, esta redução é um fator limitante ao desenvolvimento das plantas, pois compromete a biomassa da parte aérea e a produtividade (PAIVA et al., 2005; MAK et al., 2014). Já, em um estudo realizado por Moreira et al. (2010) foi observado que sob condições de estresse hídrico, cultivares de soja tolerante à seca mantêm uma maior área foliar quando comparados com cultivares menos tolerantes.

Makbul et al. (2011) observaram em um estudo que plantas de soja submetidas a uma condição de déficit hídrico apresentaram modificações das células parenquimáticas. Os pesquisadores relataram que uma redução da lâmina foliar é uma resposta adaptativa das plantas, pois uma menor quantidade de espaços intercelulares permite que as células fiquem mais justapostas.

De acordo com Fahn, (1977) em plantas com alta capacidade fotossintética, há poucas ocorrências de espaços intercelulares no mesofilo, o que representa uma vantagem adaptativa, pois células mais próximas podem representar uma adaptação à escassez hídrica, devido ao aumento da superfície de contato das células, o que pode facilitar a captura de energia da luz e elementos gasosos, que são necessários para o processo fotossintético (POLIZEL et al., 2011).

Estresse oxidativo em plantas

Processos bioquímicos também são interrompidos pelo déficit hídrico. Dando origem a espécies tóxicas reativas de oxigênio em excesso (ROS), tais como superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), oxigênio atômico e hidroxila (DEMIDCHIK, 2015).

Na ausência de mecanismos de proteção estas espécies de oxigênio são altamente reativas e interrompem gravemente o metabolismo normal por dano oxidativo, que resulta em peroxidação lipídica (MADANI et al., 2010).

As plantas têm inúmeros mecanismos de defesa para resistir ao estresse oxidativo (GILL; TUTEJA, 2010). A ativação e síntese de antioxidantes enzimáticos e compostos não-enzimáticos é a primeira linha de defesa para lidar com a produção excessiva de ROS e sua eliminação.

Existem muitas enzimas antioxidantes, que mostram alta afinidade para ROS específicos. A SOD (EC 1.15.1.1) pode ser considerada a principal enzima antioxidante porque participa da primeira linha do sistema de defesa contra a toxicidade ROS. Esta enzima catalisa a desmutação de $O_2 \cdot$ para H_2O_2 e O_2 em todos os compartimentos subcelulares, incluindo cloroplastos, mitocôndrias, núcleos, peroxissomas, citoplasma e apoplastos (GILL et al., 2015).

No entanto, o H_2O_2 é uma molécula altamente reativa e deve ser desintoxicada. A ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.11) desempenha um papel essencial na eliminação de H_2O_2 , convertendo a produção excessiva de H_2O_2 em H_2O (SILVA et al., 2016). A CAT também percebe esta reação em diferentes compartimentos celulares, que é uma parte vital da defesa antioxidante (GARG; MANCHANDA, 2009).

Prolina, flavonóides e carotenóides são antioxidantes não enzimáticos que também desempenham um papel importante na desintoxicação de ROS (AHMAD et al., 2010). A acumulação de prolina é uma das respostas mais comuns ao estresse hídrico nas plantas ao desempenhar um papel como osmoprotetor e um soluto compatível (TÜRKAN, 2005; SHARMA et al., 2012). De modo geral, o estresse oxidativo deve ser bem compreendido, pois este afeta a divisão, alongamento e diferenciação celular, resultando em danos no crescimento e desenvolvimento das plantas (MECKEL et al., 1984; DESCLAUX; ROUMET, 1996; CABUSLAY et al., 2002; SHAO et al., 2008; DEMIRTAS et al., 2010).

Controle químico de plantas daninhas na cultura da soja

O manejo de plantas daninhas na cultura da soja é um desafio constante, pois exige elevado nível de conhecimento dos técnicos e produtores, em razão dessas espécies apresentarem distribuição de maneira heterogênea nas áreas de cultivo. A infestação de plantas daninhas pode causar prejuízos para a cultura da soja nos índices de produtividade, rendimento da colheita e na qualidade do produto (PETTER et al., 2007). Os prejuízos ocorrem de forma gradativa, pela concorrência por fatores vitais, como luz, água, nutrientes e espaço, ou simplesmente influenciando a eficiência da colheita e o beneficiamento, ou, ainda, causando danos indiretos, tendo em vista que as plantas daninhas são hospedeiras de pragas e doenças (GAZZIERO et al., 2004). Nesse aspecto, o uso de herbicidas tornou-se indispensável para o manejo de plantas daninhas.

Com o desenvolvimento da soja transgênica tolerante ao herbicida glyphosate, houve um incremento acentuado no uso deste herbicida devido à possibilidade de sua aplicação após emergência da soja, o que representou uma

nova alternativa de controle das plantas daninhas em função da eficiência e viabilidade econômica, características essenciais no conceito de praticabilidade (GAZZIERO et al., 2004). A grande aceitação do glyphosate deu-se em virtude deste, ser um herbicida usado para dessecação de um amplo espectro de plantas daninhas e ser eficiente tanto no controle de plantas daninhas anuais como perenes (GALLI; MONTEZUMA, 2005). Entre os benefícios atribuídos ao desenvolvimento das plantas transgênicas tolerantes ao glyphosate, destaca-se a redução na diversidade de herbicidas utilizados para o manejo de plantas daninhas (YOUNG, 2006).

No entanto, a aplicação do glyphosate não pode ser utilizado em cultivares de soja convencionais. Além disso, o uso deste herbicida em larga escala e em várias vezes e por anos consecutivos, tem proporcionado seleção de vários biótipos de plantas daninhas resistente em áreas agrícolas (JONES et al., 2005; VILA-AIUB et al., 2007; OWEN, 2008; CARVALHO et al., 2011; GAINES et al., 2012).

Desse modo, o uso de herbicidas de diferentes mecanismos de ação, tem sido utilizado pelos sojicultores para aumentar a eficiência de controle das plantas daninhas em áreas cultivadas com a soja tolerante ao glyphosate. A utilização dos herbicidas diuron, bromacil, imazetapir, chlorimuron-ethyl, cloransulam-methyl, lactofen, imazethapyr e fomesafen tem se mostrado satisfatório no controle das plantas daninhas de difícil controle e ou biótipos resistentes ao glyphosate, sendo que os herbicidas testados apresentaram alta seletividade não interferindo no rendimento produtivo dos cultivares de soja resistente ao glyphosate avaliadas (YAMAUTI et al., 2010; MACIEL et al., 2011; STEWART et al., 2011; ALONSO et al., 2013). No entanto, em nenhum dos trabalhos supracitados, bem como também não é encontrado na literatura trabalhos que avaliaram os impactos que esses herbicidas podem provocar às plantas de soja quando estas encontram-se em condições de estresse hídrico.

Microrganismos do solo

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) tem-se mostrado indispensável para a sustentabilidade da agricultura brasileira, devido ao fornecimento de nitrogênio para

as culturas com baixo custo econômico (HUNGRIA et al., 2005, 2006, 2007), sendo definida como um dos principais fatores bióticos que contribuem para a elevada produção de soja, uma vez que, a demanda de nitrogênio das cultivares podem ser supridas pelo processo biológico, sem o incremento desse nutriente no solo por fontes externas (HUNGRIA; MENDES, 2014).

No entanto, o processo de FBN é citado por pesquisadores na literatura como sendo extremamente sensível ao déficit hídrico, com perdas imediatas na sua atividade, ocasionando assim, perdas de rendimento das plantas (THOMAS et al., 2004; KING; PURCELL, 2006; CLEMENT et al., 2008; MASTRODOMENICO et al., 2013).

Além disso, a pulverização de agrotóxicos sobre os microrganismos simbioses radiculares tem sido bastante questionado, devido à grande importância desses agentes biológicos na nutrição e sanidade da cultura da soja.

Entre os trabalhos que avaliaram o efeito de herbicidas na população microbiológica do solo, Zobiolo et al. (2007) avaliaram a influência do herbicida sulfentrazone na fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja e, concluíram que o sulfentrazone reduziu a formação de nódulos, massa seca dos nódulos e o acúmulo de N₂ na parte aérea. Dvoranen et al. (2008) ao avaliar os impactos de aplicações sequencial dos herbicidas fomesafen/[fomesafen+fluazifop-p-butyl] sobre a fixação biológica de nitrogênio, verificaram que o número de nódulos foi reduzido pelas aplicações sequenciais destes herbicidas. Santos et al. (2006) verificaram que o fomesafen aplicado isoladamente e em mistura com o fluazifop-p-butyl em meio de cultura apresentaram efeito negativo sobre o crescimento das estirpes de *Rhizobium*.

Embora vários herbicidas possam reduzir a população microbiológica do solo, estes são utilizados com frequência na cultura da soja para o controle de plantas daninhas. Além disso, esses efeitos podem ser mais acentuados quando a cultura se encontra sob condições de déficit hídrico. No entanto, não foram encontrados na literatura informações que descreva tais fatos.

Objetivo geral

Objetivou-se examinar as alterações morfológicas e enzimáticas das cultivares de soja: MG / BR 46 Conquista (convencional) e a BRS Valiosa (transgênica), e sua seletividade a diferentes herbicidas em resposta ao manejo de água no solo.

Objetivos específicos

Examinar as alterações morfológicas e anatômicas das cultivares de soja: MG / BR 46 Conquista (convencional) e a BRS Valiosa (transgênica) por meio de resposta a diferentes manejos de água no solo, em dois estádios vegetativos de desenvolvimento.

Avaliar o desempenho de dois cultivares de soja: MG / BR 46 Conquista (convencional) e a BRS Valiosa (transgênica) submetido a diferentes manejos de água no solo, através de parâmetros de crescimento, peroxidação lipídica, teor de H₂O₂, prolina e respostas antioxidantes enzimáticas.

Verificar a seletividade dos herbicidas fomesafen e chlorimuron-ethyl, pulverizado em diferentes estádios de desenvolvimento da soja, cultivar convencional e transgênica, sob diferentes potenciais hídricos no solo.

Referências

AHMAD, P.; JALEEL, C. A.; SHARMA, S. Antioxidant defense system, lipid peroxidation, proline-metabolizing enzymes, and biochemical activities in two *Morus alba* genotypes subjected to NaCl stress. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 57, n. 4, p. 509-517, 2010.

ALONSO, D. G.; CONSTANTIN, J.; OLIVEIRA Jr, R. S.; SANTOS, G.; DAN, H. A.; OLIVEIRA NETO, A. M. Selectivity of glyphosate alone or in mixtures for RR soybean in sequential applications. **Planta Daninha**, v. 31, n. 1, p. 203-212, 2013.

ASHRAF, M. Inducing drought tolerance in plants: recent advances. **Biotechnology Advances**, v. 28, n. 1, p. 169-183, 2010.

ASHRAF, M.; HARRIS, P. J. C. Photosynthesis under stressful environments: an overview. **Photosynthetica**, v. 51, n. 2, p. 163-190, 2013.

AFZAL, A.; GULZAR, I.; SHAHBAZ, M.; ASHRAF, M. Water deficit-induced regulation of growth, gas exchange, chlorophyll fluorescence, inorganic nutrient accumulation and antioxidative defense mechanism in mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek]. **Journal of Applied Botany and Food Quality**, v. 87, n. 1 p. 147-156, 2014.

BALARDIN, R. S.; SILVA, F. D.; DEBONA, D.; CORTE, G. D.; FAVERA, D. D.; TORMEN, N. R. Tratamento de sementes com fungicidas e inseticidas como redutores dos efeitos do estresse hídrico em plantas de soja. **Ciência Rural**, v. 41, n. 7, p. 1120-1126, 2011.

BEZERRA, F. M. L.; ARARIPE, M. A. E.; TEÓFILO, E. M.; CORDEIRO, L. G.; SANTOS, J. D. Feijão caupi e déficit hídrico em suas fases fenológicas. **Revista Ciência Agronômica**, v. 34, n. 1, p. 5-10, 2003.

CABUSLAY, G.S.; ITO, O.; ALEJAR, A.A. Physiological evaluation of responses of rice (*Oryza sativa* L.) to water deficit. **Plant Science**, v.163, n.4, p.815-827, 2002.

CARVALHO, L. B.; CRUZ-HIPOLITO, H.; GONZÁLEZ-TORRALVA, F.; ALVES, P. L. C. A.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; PRADO, R. Detection of sourgrass (*Digitaria insularis*) biotypes resistant to glyphosate in Brazil. **Weed Science**, v. 59, n. 2, p. 171-176, 2011.

COSTA, R. C. L.; LOBATO, A. K. S.; OLIVEIRA NETO, C. F.; MAIA, P. S. S.; ALVES, G. A. R.; LAUGHINGHOUSE, H. D. Biochemical and physiological responses in two *Vigna unguiculata* (L.) Walp. cultivars under water stress. **Journal of Agronomy**, v.7, n. 1, p.98-101, 2008.

CONAB. Acomp. safra bras. grãos, v. 3 - Safra 2015/16, n. 10 - Décimo levantamento, julho 2016.

CLEMENT, M.; LAMBERT, A.; HEROUART, D.; BONCOMPAGNI, E. Identification of new up-regulated genes under drought stress in soybean nodules. **Gene**, v. 426, n. 1, p. 15-22, 2008.

DEMIRTAS, Ç.; YAZGAN, S.; CANDOGAN, B. N.; SINCIK, M.; BÜYÜKCANGAZ, H.; GÖKSOY, A. T. Quality and yield response of soybean (*Glycine max* L. Merrill) to drought stress in sub-humid environment. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 41, p. 6873-6881, 2010.

DEMIDCHIK, V. Mechanisms of oxidative stress in plants: from classical chemistry to cell biology. **Environmental and Experimental Botany**, v. 109, p. 212-228, 2015.

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

DOGAN, E.; KIRNAK, H.; COPUR, O. Deficit irrigations during soybean reproductive stages and CROPGRO-soybean simulations under semi-arid climatic conditions. **Field Crops Research**, v. 103, n. 2, p. 154-159, 2007.

DVORANEN, E. C.; OLIVEIRA JR., R. S.; CONSTANTIN, J.; CAVALIERI, S. D.; BLAINSKI, E. Nodulação e crescimento de variedades de soja RR sob aplicação de glyphosate, fluazifop-p-butyl e fomesafen. **Planta Daninha**, v. 26, n. 3, p. 619-625, 2008.

ECHER, F. R.; CUSTÓDIO, C. C.; HOSSOMI, S. T.; DOMINATO, J. C.; NETO, N. B. M. Estresse hídrico induzido por manitol em cultivares de algodão. **Revista Ciência Agronômica**, v.41, n.4, p.638-645, 2010.

FAHN, A. **Plant anatomy**. Oxford: Pergamon, 1977. 611 p.

FLEXAS, J.; BOTA, J.; LORETO, F.; CORNIC, G.; SHARKEY, T. D. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C₃ plants. **Plant Biology**, v. 6, n. 3, p. 269-279, 2004.

GAINES, T. A.; CRIPPS, A.; POWLES, S. B. Evolved resistance to glyphosate in junglerice (*Echinochloa colona*) from the Tropical Ord River Region in Australia. **Weed Technology**, v. 26, n. 3, p. 480-484, 2012.

GALLI, A. J. B.; MONTEZUMA, M. C. **Alguns aspectos da utilização do herbicida glifosato na agricultura**. São Paulo: Monsanto do Brasil, 2005. 60 p.

GALMES, J.; CONESA, M. A.; OCHOGAVÍA, J.; PERDOMO, J. A.; FRANCIS, D. M.; RIBAS-CARBÓ, M.; SAVÉ, R.; FLEXAS, J.; MEDRANO, H.; CIFRE, J. Physiological and morphological adaptations in relation to water use efficiency in Mediterranean accessions of *Solanum lycopersicum*. **Plant, Cell & Environment**, v. 34, n. 2, p. 245-260, 2011.

GALMES, J.; OCHOGAVÍA, J.; GAGO, J.; ROLDÁN, E. J.; CIFRE, J.; CONESA, M. À. Leaf responses to drought stress in Mediterranean accessions of *Solanum lycopersicum*: anatomical adaptations in relation to gas exchange parameters. **Plant, cell & environment**, v. 36, n. 5, p. 920-935, 2013.

GAZZIERO, D. L. P.; VAR GAS, L.; ROMAN, E. S. Manejo e controle de plantas daninhas na cultura da soja. In: VARGAS, L.; ROMAN, E. S. **Manual de manejo e controle de plantas daninhas**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2004. p. 595-635.

GARG, N.; MANCHANDA, G. ROS generation in plants: boon or bane? **Plant Biosystems**. v. 143, n. 1, p. 81–96, 2009.

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

GILL, S. S.; ANJUM, N. A.; GILL, R.; YADAV, S.; HASANUZZAMAN, M.; FUJITA, M.; MISHRA, P.; SABAT, S. C.; TUTEJA, N. Superoxide dismutase—mentor of abiotic stress tolerance in crop plants. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 14, p. 10375-10394, 2015.

GUERFEL, M.; BACCOURI, O.; BOUJNAH, D.; CHAÏBI, W.; ZARROUK, M. Impacts of water stress on gas exchange, water relations, chlorophyll content and leaf structure in the two main Tunisian olive (*Olea europaea* L.) cultivars. **Scientia Horticulturae**, v. 119, n. 3, p. 257-263, 2009.

HIPPLER, F. W. R.; BOARETTO, R. M.; QUAGGIO, J. A.; AZEVEDO, R. A.; MATTOS JR, D. Towards soil management with Zn and Mn: estimates of fertilisation efficacy of Citrus trees. **Annals of Applied Biology**, v. 166, n. 3, p. 484-495, 2015.

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; CAMPO, R. J.; GRAHAM, P. H. The importance of nitrogen fixation to soybean cropping in South America. In: WERNER, D.; NEWTON, W.E. (Ed.). Nitrogen fixation in agriculture: forestry ecology and environment. Dordrecht: **Kluwer Academic Publishers**, 2005. p.25-42.

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; CAMPO, R. J.; CRISPINO, C. C.; MORAES, J. Z.; SIBALDELLI, R. N. R.; MENDES, I. C.; ARIHARA, J. Nitrogen nutrition of soybean in Brazil: Contributions of biological N₂ fixation and N fertilizer to grain yield. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 86, n. 4, p. 927-939, 2006.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. A **Importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro**. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 80p. (Embrapa Soja. Documentos, 283).

HUNGRIA, M.; MENDES, I. C. **Nitrogen Fixation with Soybean: The Perfect Symbiosis?** In: de Bruijn FJ (ed) *Biological Nitrogen Fixation*. Wiley-Blackwell, New Jersey, 2014.

JALEEL, C.A.; GOPI, R.; PANNEERSELVAM, R. Alterations in lipid peroxidation, electrolyte leakage, and proline metabolism in *Catharanthus roseus* under treatment with triadimefon, a systemic fungicide. **Comptes Rendus Biologies**, v.330, n.12, p.905-912, 2007.

JAMES, C. **Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2014**. *ISAAA Brief* No. 49. ISAAA: Ithaca, NY, 2014.

JONES, A. P.; PARK, K. W.; COLQUHOUN, J.; MALLORY-SMITH, C.; SHANER, D. Identification of glyphosate-resistant Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*) in Oregon. **Weed Science**, v. 53, n. 6, p. 775-779, 2005.

KARTHIKEYAN, B.; JALEEL, C. A.; GOPI, R.; DEIVEEKASUNDARAM, M. Alterations in seedling vigour and antioxidant enzyme activities in *Catharanthus roseus* under seed priming with native diazotrophs. **Journal of Zhejiang University-Science B**, v.8, n.7, p.453-457, 2007.

KING, C. A.; PURCELL, L. C. Genotypic variation for shoot N concentration and response to water deficits in soybean. **Crop Science**, v. 46, n. 6, p. 2396-2402, 2006.

KUTLU, N.; TERZI, R.; TEKELI, Ç.; ŞENEL, G.; BATTAL, P.; KADIOĞLU, A. Changes in anatomical structure and levels of endogenous phytohormones during leaf rolling in *Ctenanthe setosa* under drought stress. **Turkish Journal of Biology**, v. 33, n. 2, p. 115-122, 2009.

LIU, F.; JENSEN, C. R.; ANDERSEN, M. N. Hydraulic and chemical signals in the control of leaf expansion and stomatal conductance in soybean exposed to drought stress. **Functional Plant Biology**, v. 30, n. 1, p. 65-73, 2003.

MACIEL, C. D. G.; POLETINE, J. P.; AMSTALDEN, S. L.; GAZZIERO, D. L. P.; RAIMONDI, M. A.; LIMA, G. R. G.; NETO, A. M. O.; GUERRA, N.; JUSTINIANO, W. Misturas em tanque com glyphosate para o controle de trapoeraba, erva-de-touro e capim-carrapicho em soja RR[®]. **Ceres**, Viçosa, v. 58, n.1, p. 35-42, 2011.

MADANI, A.; NEHAL, M.; HAQUE, S. S.; KHAN, A. Perspective of oxidative stress in a biological system and prevention by naturally occurring antioxidant. **Proceedings of the National Academy of Sciences India. Section B, Biological Sciences**, v. 80, n. 4, p. 287-295, 2010.

MAK, M.; BABLA, M., XU, S. C.; O'CARRIGAN, A.; LIU, X. H.; GONG, Y. M.; HOLFORD, P.; CHEN, Z. H. Leaf mesophyll K^+ , H^+ and Ca^{2+} fluxes are involved in drought-induced decrease in photosynthesis and stomatal closure in soybean. **Environmental and Experimental Botany**, v. 98, n. 1 p. 1-12, 2014.

MAKBUL S, SARUHAN GÜLER N, DURMUŞ N e GÜVEN S. Changes in anatomical and physiological parameters of soybean under drought stress. **Turkish Journal of Botany**, v. 35, n. 4, p. 369-377, 2011.

MASTRODOMENICO, A. T.; PURCELL, L. C.; KING, C. A. The response and recovery of nitrogen fixation activity in soybean to water deficit at different reproductive developmental stages. **Environmental and Experimental Botany**, v. 85, p. 16-21, 2013.

MECKEL, L.; EGLI, D. B.; PHILLIPS, R. E.; RADCLIFFE, D.; LEGGETT, J. E. Effect of moisture stress on seed growth in soybeans. **Agronomy Journal**, v. 76, n. 4, p. 647-650, 1984.

MOREIRA, R. S.; MEDRI, M. E.; NEUMAIER, N.; LEMOS, N. G.; PIMENTA, J. A.; TOBITA, S.; BROGIN, R. L.; GUIMARÃES, F. C. M.; OLIVEIRA, M. C. N.; FARIAS, J. R. B.; ABDELNOOR, R. V.; A.L. NEPOMUCENO, A. L. Soybean physiology and gene expression during drought. **Genetics and Molecular Research**, v. 9, n. 4, p. 1946-1956, 2010.

OHASHI, Y.; NAKAYAMA, N.; SANEOKA, H.; FUJITA, K. Effects of drought stress on photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and stem diameter of soybean plants. **Biologia Plantarum**, v. 50, n. 1, p. 138-141, 2006.

OWEN, M. D. K. Weed species shifts in glyphosate-resistant crops. **Pest management science**, v. 64, n. 4, p. 377-387, 2008.

PAIVA, A. S.; FERNANDES, E. J.; RODRIGUES, T. J.; TURCO, J. E. Condutância estomática em folhas de feijoeiro submetido a diferentes regimes de irrigação. **Engenharia Agrícola**, v.25, n.1, p.161-169, 2005.

PETTER, F. A.; PROCÓPIO, S. D. O.; CARGNELUTTI FILHO, A.; BARROSO, A. L. L.; PACHECO, L. P.; BUENO, A. F. Associações entre o herbicida glyphosate e inseticidas na cultura da soja Roundup Ready®. **Planta daninha**, v. 25, n. 2, p. 389-398, 2007.

POLIZEL, A. M.; MEDRI, M. E.; NAKASHIMA, K.; YAMANAKA, N.; FARIAS, J.R.B.; OLIVEIRA, M. C. N.; MARIN, S. R. R.; ABDELNOOR, R. V.; MARCELINO-GUIMARÃES, F. C.; FUGANTI, R.; RODRIGUES, F. A.; STOLF-MOREIRA, R.; BENEVENTI, M. A.; ROLLA, A. A. P.; NEUMAIER, N.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; CARVALHO, J. F. C.; NEPOMUCENO, A. L. Molecular, anatomical and physiological properties of a genetically modified soybean line transformed with rd29A: AtDREB1A for the improvement of drought tolerance. **Genetics and Molecular Research**, v. 10, n. 4, p. 3641-3656, 2011.

SANTOS, J. B.; SILVA, A. A.; COSTA, M. D.; JAKELAITIS, A.; VIVIAN, R.; SANTOS, E. A. Ação de herbicidas sobre o crescimento de estirpes de *Rhizobium tropici*. **Planta Daninha**, v. 24, n. 3, p. 457-465, 2006.

SHAO, H. B.; CHU, L. Y.; SHAO, M. A.; JALEEL, C. A.; HONG-MEI, M. Higher plant antioxidants and redox signaling under environmental stresses. **Comptes Rendus Biologies**, v. 331, n. 6, p. 433-441, 2008.

SHARMA, P.; JHA, A. B.; DUBEY, R. S.; PESSARAKLI, M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany**, v. 2012, n. 1, p. 1-26, 2012.

SILVA, A. R. A.; BEZERRA, F. M. L.; LACERDA, C. F.; PEREIRA FILHO, J. V.; FREITAS, C. A. S. Trocas gasosas em plantas de girassol submetidas à deficiência hídrica em diferentes estádios fenológicos. **Revista Ciência Agronômica**, v.44, n.1, p.86-93, 2013.

SILVA, P. A.; OLIVEIRA, I. V.; RODRIGUES, K. C. B.; COSME, V. S.; BASTOS, A. J. R.; DETMANN, K. S. C.; CUNHA, R. L.; FESTUCCI-BUSELLI, R. A.; DAMATTA, F. M.; PINHEIRO, H. A. Leaf gas exchange and multiple enzymatic and non-enzymatic antioxidant strategies related to drought tolerance in two oil palm hybrids. **Trees**, v. 30, n. 1, p. 203-214, 2016.

STEWART, C. L.; NURSE, R. E.; VAN EERD, L. L.; VYN, R. J.; SIKKEMA, P. H. Weed control, environmental impact, and economics of weed management strategies in glyphosate-resistant soybean. **Weed Technology**, v. 25, n. 4, p. 535-541, 2011.

THOMAS M.; ROBERTSON M. J.; FUKAI S.; PEOPLES M. B. The effect of timing and severity of water deficit on growth, development, yield accumulation and nitrogen fixation of mungbean. **Field Crops Research**, v. 86, n. 1, p. 67-80, 2004.

TRIPATHI, P.; RABARA, R. C.; REESE, R. N.; MILLER, M. A.; ROHILA, J. S.; SUBRAMANIAN, S.; SHEN, Q. J.; MORANDI, D.; BÜCKING, H.; SHULAEV, V.; RUSHTON, P. J. A toolbox of genes, proteins, metabolites and promoters for improving drought tolerance in soybean includes the metabolite coumestrol and stomatal development genes. **BMC Genomics**, v. 17, n. 1, p. 1-22, 2016.

TURNER, N. C. Further progress in crop water relations. **Advances in Agronomy**, v. 58, n. 1, p. 293-338, 1997.

TÜRKAN, I.; BOR, M.; ÖZDEMİR, F.; KOCA, H. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. **Plant Science**, v. 168, n. 1, p. 223-231, 2005.

VILA-AIUB, M. M.; BALBI, M. C.; GUNDEL, P. E.; GHERSA, C. M.; POWLES, S. B. Evolution of glyphosate-resistant Johnsongrass (*Sorghum halepense*) in glyphosate-resistant soybean. **Weed Science**, v. 55, n. 6, p. 566-571, 2007.

YAMAUTI, M. S.; BARROSO, M.; ARROBAS, A.; DE SOUZA, M. C.; ALVES, P. L. C. A. Controle químico de biótipos de buva (*Conyza canadensis* e *Conyza bonariensis*) resistentes ao glyphosate. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 3, p. 495-500, 2010.

YANG, P. H.; GQ LI, G. L.; WU, S. J. Effect of drought stress on plasma membrane permeability of soybean varieties during flowering-podding stage. **Agric Res Arid Areas**, v. 21, p. 127-130, 2003.

YOUNG, B. G. Changes in herbicide use patterns and production practices resulting from glyphosate-resistant crops. **Weed Technology**, v. 20, n. 2, p. 301-307, 2006.

ZOBIOLE, L. H. S.; OLIVEIRA JR., R. S.; TORMENA, C. A.; CONSTANTIN, J.; CAVALIERI, S. D.; ALONSO, D. G.; BRIGHENTI, A. M.; CASTRO, C. Efeito da

compactação do solo e do sulfentrazone sobre a cultura da soja em duas condições de água no solo. **Planta Daninha**, v. 25, n. 3, p. 537-545, 2007.

CAPÍTULO 2 - MODIFICAÇÕES MORFOANATÔMICAS DA SOJA EM RESPOSTA AO MANEJO DE ÁGUA NO SOLO

Resumo - A escassez hídrica é o estresse abiótico mais limitante para as culturas agrícolas, sendo que os mecanismos através dos quais as plantas percebem a restrição de água que são altamente complexos e devem ser melhor compreendidos. A fim de esclarecer o efeito do estresse hídrico sobre as características anatômicas da soja, o presente trabalho teve como objetivo examinar as alterações morfológicas de duas cultivares de soja: MG / BR 46 Conquista (convencional) e a BRS Valiosa (transgênica) por meio de resposta a diferentes manejos de água no solo, em dois estádios vegetativos de desenvolvimento. As plantas foram submetidas a cinco condições hídricas de manejo de água no solo (Ψ_s): -0,03; -0,05; -0,07; -0,5; -1,5 MPa, nos estádios de desenvolvimento vegetativo V2 e V4. Foram realizadas avaliações de condutância estomática, área foliar, medidas de anatomia foliar (largura do parênquima paliádico e esponjoso, comprimento da nervura central, nervura central largura adaxial e abaxial, comprimento do feixe vascular, largura do feixe vascular) e diâmetro do caule. Observou-se uma maior tolerância BRS Valiosa RR a uma condição de déficit hídrico moderado quando ocorrido no estádio V2 da soja. A cultivar BRS Valiosa RR apresenta uma melhor resposta adaptativa morfológica e anatômica em resposta a uma restrição hídrica moderada de até (-0,07 MPa) quando ocorrida nas primeiras semanas de desenvolvimento das plantas.

Palavras-chave: anatomia, condutância estomática, *Glycine max*, tolerância à seca.

Introdução

A seca é o estresse abiótico mais limitante e severo para as culturas agrícolas, pois causa perdas significativas na produção vegetal (COSTA et al., 2008; BALARDIN et al., 2011; SILVA et al., 2013). A seca desencadeia um desequilíbrio entre a absorção de água pela raiz e a transpiração das folhas, que causa redução no crescimento e desenvolvimento das plantas (DOGAN et al., 2007; ASHRAF, 2010; ASHRAF e HARRIS, 2013; AFZAL et al., 2014).

As respostas das plantas ao estresse hídrico são altamente complexas, pois o estado da água nas plantas e o potencial hídrico das folhas é afetado, o que ocasiona uma baixa pressão de turgescência nas células (CABUSLAY et al. 2002; CHAITANYA et al. 2003; KARTHIKEYAN et al. 2007; JALEEL et al. 2008; SHAO et al. 2008), e desencadeia uma série de adaptações fisiológicas que tem efeitos deletérios, tais como: comprometimento metabólico da fotossíntese, dano oxidativo, alterações hormonais e o acúmulo de proteínas relacionadas ao estresse, o que leva à interrupção dos processos fisiológicos e bioquímicos nas vias celulares e moleculares (ASHRAF, 2010; GALMÉS et al., 2011, 2013; ASHRAF e HARRIS, 2013; AFZAL et al., 2014).

O principal mecanismo pelo qual as plantas percebem a restrição de água no solo é sinalizado pelo fechamento estomático, sendo esta a primeira e imediata resposta ao déficit hídrico que regula a redução das perdas de água pela fotorrespiração. No entanto, o fechamento dos estômatos também é a principal causa da diminuição da fotossíntese devido a redução das taxas de assimilação de carbono (FLEXAS et al., 2004; PAIVA et al., 2005; OHASHI et al., 2006; AFZAL et al., 2014; MAK et al., 2014).

Modificações das características anatômicas em plantas sob estresse hídrico, o que sugere processos adaptativos específicos das plantas, tem sido relatadas na literatura, tais como: modificações na arquitetura e diminuição do número de folhas, diminuição da expansão foliar, alteração da relação xilema/floema, redução dos diâmetros dos vasos do xilema, diâmetros das células parenquimáticas, aumento do tecido vascular e da espessura da parede celular (GUERFEL et al., 2009; KUTLU et al., 2009; MAKBUL et al., 2011; POLIZEL et al., 2011; GALMÉS et al., 2013).

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é uma oleaginosa de grande importância econômica em muitos países e ocupa a primeira colocação em áreas de produção de grãos no mundo. Além disso, é uma alta fonte de proteínas para o consumo humano e animal. Para as plantas de soja a restrição hídrica é bastante preocupante, pois essa cultura tem baixa eficiência para o uso da água, e para ter-se uma elevada produtividade a soja demanda alta quantidade de água para uma boa manutenção (YANG et al., 2003).

Considerando o cenário atual em que as maiores áreas de cultivo de soja são realizados sem o uso de irrigação, os riscos no processo produtivo são elevados em função das restrições hídricas, pois nos períodos de safra e entressafra a ocorrência de períodos prolongados de estiagem, “os veranicos”, têm ocorrido cada vez mais frequentemente, e é comum principalmente em áreas meridionais do Brasil.

A fim de contornar esses problemas e alcançar alto desempenho das culturas agrícolas estudos têm focado em selecionar indivíduos com características adaptativas para superar os estresses ambientais. A cultivar de soja BRS Valiosa RR é fundamentalmente derivada da cultivar MG/BR-46 Conquista, obtida por cruzamentos. Embora essas cultivares tenham grandes semelhanças genéticas, é possível que, com o processo de melhoramento para a inserção do gene que confere tolerância ao herbicida glyphosate a esta cultivar, também tenha ocorrido ativação de genes de proteínas alvo induzida pelo estresse hídrico em soja. Portanto, o presente trabalho teve como objetivo examinar as alterações morfológicas e anatômicas das cultivares de soja MG / BR 46 Conquista (convencional) e a BRS Valiosa (transgênica) por meio de resposta a diferentes manejos de água no solo, em dois estádios vegetativos de desenvolvimento.

Material e Métodos

Dois experimentos foram conduzidos em condições de casa de vegetação, no Departamento de Produção Vegetal, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal/SP. A temperatura média nos períodos de condução dos experimentos foi de 24°C ($\pm$ 7°C) e umidade relativa entre 44,6% e 83,8%.

Utilizou-se nestes estudos dois cultivares de soja: MG/BR 46 Conquista (convencional) e BRS Valiosa (RR). As plantas foram submetidas a cinco condições hídricas de manejo de água no solo (Ψ_s): -0,03; -0,05; -0,07; -0,5; -1,5 MPa (manejo de água no solo de 13%, 11%, 10%, 9% e 8%, respectivamente) durante um período de dez dias. O teor de água nos vasos foi controlado por meio de pesagem. Quando o peso atingia o potencial de água definido para cada tratamento, realizou-se a reposição de água até alcançar o potencial máximo de água no solo (Ψ_s): -0,01 MPa (14%).

O solo, antes da semeadura, foi seco ao ar até uma umidade constante de 3%. Para a obtenção da curva de retenção de água foi utilizada a placa de pressão de Richards (KLAR, 1984). A partir dos resultados da curva de retenção, foram estabelecidas as cinco condições hídricas de manejo de água no solo.

Para o primeiro estudo as condições hídricas de manejo de água no solo foram iniciadas quando as plantas atingiram o estágio de desenvolvimento vegetativo V2 (primeiro trifólio aberto) e o segundo estudo quando as plantas atingiram o estágio de desenvolvimento vegetativo V4 (terceiro trifólio aberto) descrita por Fehr e Caviness (1977).

Os experimentos foram instalados e conduzidos no delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, em um arranjo fatorial 5x2, sendo o primeiro fator constituído pelas cinco condições hídricas de manejo de água no solo (Ψ_s): -0,03; -0,05; -0,07; -0,5; -1,5 MPa, e o segundo fator constituído pelas duas cultivares de soja (convencional e transgênica).

As parcelas experimentais foram constituídas por vasos de plástico contendo 3 kg de solo. Foram semeados quatro sementes de soja por vaso, sendo posteriormente realizado um desbaste de plântulas, deixando-se apenas duas plantas por vaso. O solo foi previamente irrigado até a umidade atingir a capacidade de campo, de forma a garantir a efetivação do processo de germinação e o desenvolvimento das plântulas. Uma amostra composta do solo foi retirada, antes da instalação dos experimentos, para caracterização química. A análise química do solo apresentou: pH (CaCl_2) = 5,2; M.O. = 17 g dm^{-3} ; P = 21 mg dm^{-3} ; S = 8 mg dm^{-3} ; Ca = 16 mmolc dm^{-3} ; Mg = 5 mmolc dm^{-3} ; K = 2,3 mmolc dm^{-3} ; H + Al = 24 mmolc dm^{-3} ; S.B. = 23,3 mmolc dm^{-3} ; CTC = 47,3; V = 49. Foi realizada a

correção da acidez e da fertilidade de acordo com as recomendações da cultura. Antes da semeadura, as sementes foram inoculadas com estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* SEMIA 5079 e *Bradyrhizobium elkanii* SEMIA 5019 (9×10^9 células viáveis kg^{-1} de sementes) a fim de garantir o máximo desempenho das plantas de soja.

Após o período de tratamento, utilizou-se uma planta para avaliar a condutância estomática (gs) e área foliar (cm^2). A condutância estomática (gs) foi realizada em um par de folhas completamente expandidas à partir de uma altura intermediária da planta entre 9 e 11 da manhã utilizando um porômetro (Leaf Promoter SC – 1; DECAGON DEVICES, EUA). A determinação da área foliar (cm^2) foi realizada pelo método direto, em que as folhas foram coletadas e medidas automaticamente, utilizando um aparelho integrador de área foliar (Licor 3100).

A segunda planta foi coletada para as avaliações de anatomia foliar e caulinar. Foram coletadas folhas completamente expandidas, amostrada na porção média do limbo foliar. Também foi amostrada a porção média do caule entre a penúltima e última folha expandida do ápice da planta. Imediatamente após os cortes as amostras foram fixadas em FAA₅₀, durante 48 horas, sendo posteriormente estocadas em álcool 70% (JOHANSEN, 1940).

As análises de anatomia foliar e caulinar foram realizadas no Laboratório de Morfologia Vegetal do DBAA-FCAV-UNESP. As amostras foliares foram desidratadas, em série etílicas crescentes, submetidas à imersão em TBA ($\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$) e mantidas em TBA + óleo de parafina (JOHANSEN, 1940). Em seguida as amostras foram emblocadas com parafina e realizados cortes transversais de 10 μm de espessura, sendo realizados em micrótomo rotativo (Leica RM2065), os quais foram corados com Azul de Toluidina 0,05% (O'BRIEN et al., 1964) e montado entre lâmina-lamínula com bálsamo de Canadá sintético. Foram realizadas as seguintes avaliações da anatomia foliar: largura do parênquima paliçádico e esponjoso (μm), comprimento da nervura central (μm), largura adaxial e abaxial da nervura central (μm), comprimento do feixe vascular (μm), largura do feixe vascular (μm) e o diâmetro do caule (μm). As avaliações foram realizadas a partir de 20 medições por tratamento utilizando um microscópio Bel Photonics.

Os resultados foram submetidos à análise de variância, e a significância testada para as fontes de variação significativas pelo teste F, sendo aplicado o teste de Tukey (5% de significância). Os gráficos foram plotados com o software Sigma Plot 10.0.

Resultados e Discussão

Na literatura já é bem conhecido que o principal mecanismo através dos quais as plantas percebem a restrição de água no solo é sinalizado pelo fechamento estomático. Por ser esta a primeira e imediata resposta ao déficit hídrico que regula a redução das perdas de água nas plantas, o controle estomático deve ser considerado como uma adaptação que leva à manutenção do status hídrico em condições de seca (CATTIVELLI et al., 2008). Ressalta-se que a redução da densidade estomática pode melhorar a tolerância à seca (TRIPATHI et al., 2016). Os resultados ora encontrados evidenciam que ambas as cultivares estudadas apresentaram uma grande redução da condutância estomática em resposta aos níveis de água no solo (Figura 1 A-B).

No entanto, foi possível observar que a cultivar BRS Valiosa (RR) principalmente no estágio fenológico V4 (Figura 1 B), obteve uma melhor resposta para os níveis de estresse moderado de (-0,05 e -0,07 MPa), pois a redução da condutância estomática foi menor quando comparada a cultivar convencional MG/BR 46 Conquista. Tal fato, pode ser um indicativo de que a cultivar transgênica não se encontrava em condição de estresse para uma restrição hídrica de até (-0,07 MPa). Já, para os níveis de (-0,5 e -1,5 MPa) ambas as cultivares foram drasticamente afetadas.

A literatura relata uma redução progressiva da condutância estomática de plantas em baixas condições de umidade do solo, como resposta às perdas de água (FLEXAS et al., 2004, 2006a, 2006b; LIU et al., 2005; PAIVA et al., 2005; RIBAS-CARBO et al., 2005; GALMÉS et al., 2013; AFZAL et al., 2014; MAK et al., 2014). Entretanto, esta condição de fechamento dos estômatos também é relatada como sendo a principal causa da diminuição da fotossíntese, devido às baixas taxas de assimilação de CO₂ que limita o crescimento das plantas (FLEXAS et al., 2004;

PAIVA et al., 2005; OHASHI et al., 2006; GALMÉS et al., 2013; AFZAL et al., 2014; MAK et al., 2014).

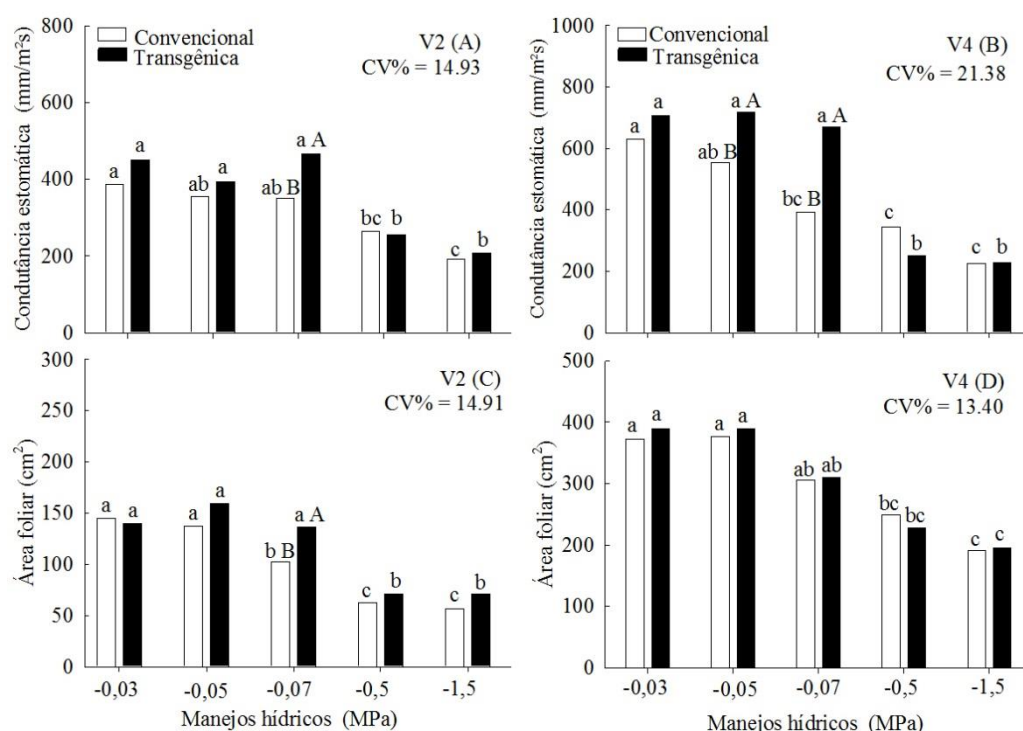


Figure 1. Efeito de manejos hídricos sobre (A-B) condutância estomática (mm/m²s) e (C-D) área foliar em cultivares de soja nos estádios fenológico V2 e V4. Médias seguidas de mesma letra minúscula, não diferem estatisticamente entre os manejos hídricos e as médias seguidas de letra maiúscula, diferem estatisticamente entre as cultivares, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Jaboticabal/SP, 2015.

Ficou evidenciado que a escassez hídrica foi um fator limitante ao crescimento, pois registrou-se uma progressiva redução na área foliar das plantas de soja estudadas (Figura 1 C-D). Todavia, sob uma moderada restrição hídrica ocorrida no estágio fenológico V2, a cultivar MG/BR 46 Conquista apresentou maior sensibilidade à seca, pois uma condição de falta de água moderada (-0,07 MPa) limitou o desenvolvimento da área foliar (Figura 1 C). Diferente da cultivar BRS Valiosa RR que para as mesmas condições não apresentou redução da área foliar.

Liu et al. (2003) também já tinha relatado redução da área foliar de plantas de soja devido à escassez hídrica, sendo este um fator limitante ao seu crescimento, que compromete a biomassa da parte aérea e a produtividade (PAIVA et al., 2005; MAK et al., 2014). Moreira et al. (2010) relataram que sob condições de estresse

hídrico, cultivares de soja tolerante à seca mantêm uma maior área foliar quando comparados com cultivares menos tolerantes.

Observou-se uma modificação da espessura da lâmina foliar das plantas de soja cultivar MG/BR 46 Conquista e BRS Valiosa RR nos estádios V2 e V4 quando as plantas foram mantidas em condição de restrição hídrica. Resultado este, que foram mensurados através das avaliações de espessura do parênquima paliçádico e do parênquima esponjoso.

Para as avaliações no estágio V2 verificou-se que todos os níveis de restrição hídrica reduziram a espessura do parênquima paliçádico para ambas as cultivares estudadas (Figura 2 A). Já, para as avaliações em V4, as modificações constatadas do parênquima paliçádico para os diferentes manejos de água no solo foram pouco expressivas (Figura 2 B).

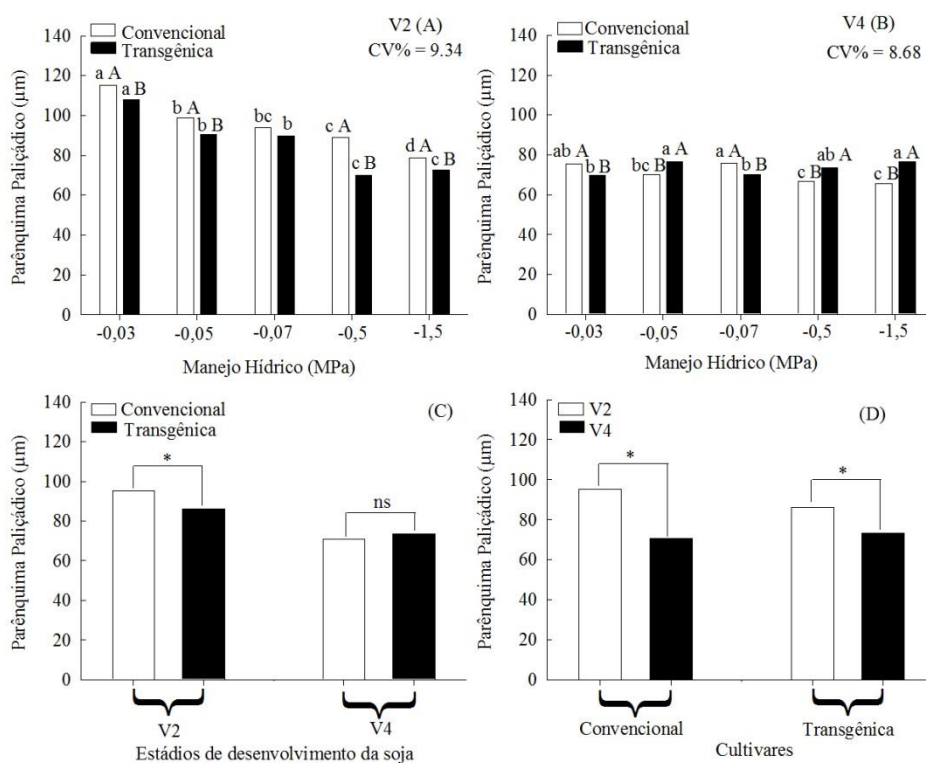


Figura 2. Efeito do estresse hídrico sobre o parênquima paliçádico (µm) em cultivares de soja nos estádios fenológico V2 e V4. Médias seguidas de mesma letra minúscula, não diferem estatisticamente entre os manejos hídricos e as médias seguidas de letra maiúscula, diferem estatisticamente entre as cultivares, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). * Significativo ao nível de 5% de probabilidade; ^{ns} Não significativo. Jaboticabal/SP, 2015.

O parênquima esponjoso também apresentou resposta semelhante ao parênquima paliçádico. Uma vez que, a redução da espessura deste, foi mais acentuada no estágio V2 para os diferentes manejos hídricos em ambas as cultivares (Figura 3 A). Já, em V4 embora as plantas sob estresse hídrico tenham sido afetadas, as modificações foram menores.

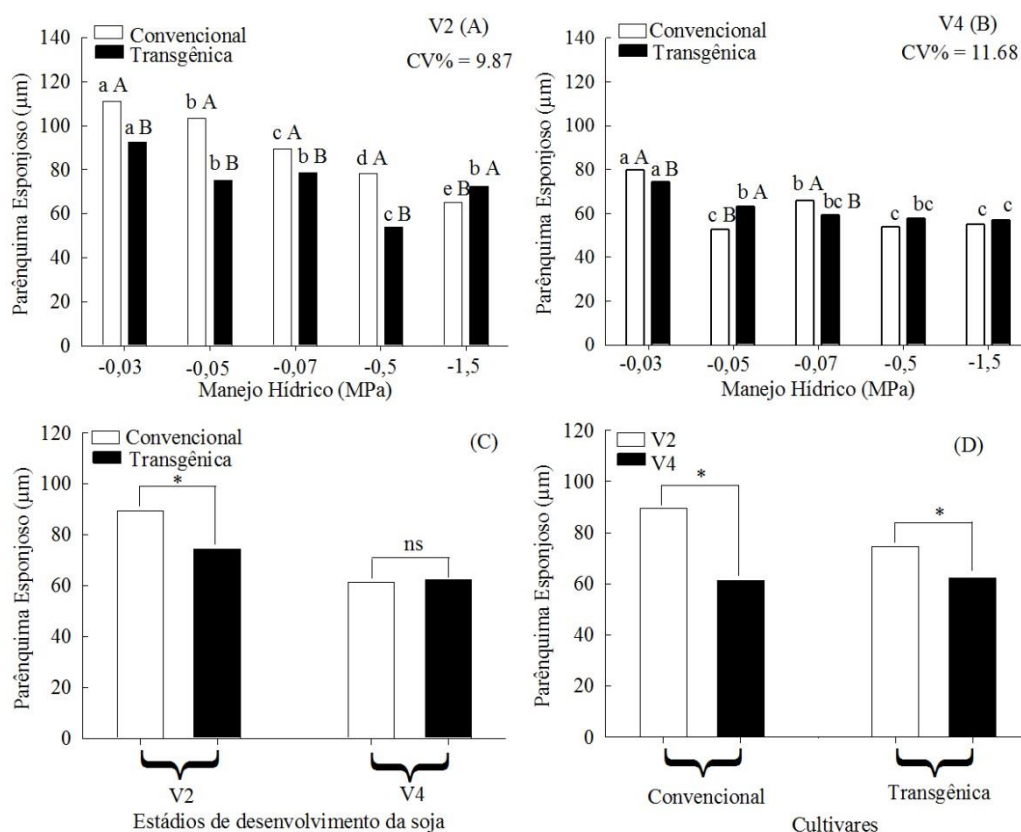


Figura 3. Efeito do estresse hídrico sobre o parênquima esponjoso (μm) em cultivares de soja nos estádios fenológico V2 e V4. Médias seguidas de mesma letra minúscula, não diferem estatisticamente entre os manejos hídricos e as médias seguidas de letra maiúscula, diferem estatisticamente entre as cultivares, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). * Significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns Não significativo. Jaboticabal/SP, 2015.

De um modo geral, a cultivar MG/BR 46 Conquista apresenta maior espessura da lâmina foliar no estágio inicial V2 em comparação as plantas transgênicas. Resultado este, que pode ser observado através das avaliações do parênquima paliçádico e do parênquima esponjoso (Figura 2 C e Figura 3 C). No entanto, à medida que as plantas foram desenvolvendo-se essa diferença não foi

mais observada, haja vista, que não foi notada diferenças entre as cultivares em V4 para parênquima paliçádico e do parênquima esponjoso.

Ressalta-se que, com o aumento da área foliar das plantas, ocorreu uma redução da espessura da lâmina foliar, pois para ambas as cultivares estudadas foi possível observar que no estágio V4 as folhas apresentam uma menor espessura do parênquima paliçádico e do parênquima esponjoso (Figura 2 D e Figura 3 D).

Makbul et al. (2011) relataram em um estudo que as células parenquimáticas é reduzido quando as plantas de soja são submetidas a uma condição de déficit hídrico. Essa redução da lâmina foliar está relacionada com uma menor quantidade de espaços intercelulares, o que possibilita que as células fiquem mais justapostas. De acordo com Fahn (1977) em plantas com alta capacidade fotossintética, há pouca ocorrência de espaços intercelulares no mesófilo, o que representa uma vantagem adaptativa. Segundo Polizel et al. (2011) células mais próximas podem representar uma adaptação a escassez hídrica, pois aumenta a superfície de contato das células, o que pode facilitar a captura de energia da luz e elementos gasosos, que são necessários para o processo fotossintético.

O comprimento da nervura central também foi drasticamente afetado com o estresse hídrico (Figura 4 A-B). Para as avaliações da largura da nervura central na superfície adaxial foi observada uma forte redução para ambas as cultivares nos estádios fenológicos estudados com o aumento da restrição hídrica (Figura 5 A-B). Todavia, para o estágio fenológico V2 foi registrado uma redução linear mais acentuada com o aumento da restrição hídrica (Figura 5 A). Também foi evidenciada uma maior largura da nervura central na superfície adaxial para a cultivar BRS Valiosa RR em comparação a MG/BR 46 Conquista para todas as condições de restrição hídrica estudadas (Figura 5 A-C).

Para as avaliações da largura da nervura central na superfície abaxial também foi evidenciada redução para ambas as cultivares nos estádios fenológicos estudados (Figura 5 C-D). Semelhante à superfície adaxial essas modificações ficaram mais evidentes em V2 (Figura 5 C). Já, em V4, essas modificações também foram menores (Figura 5D).

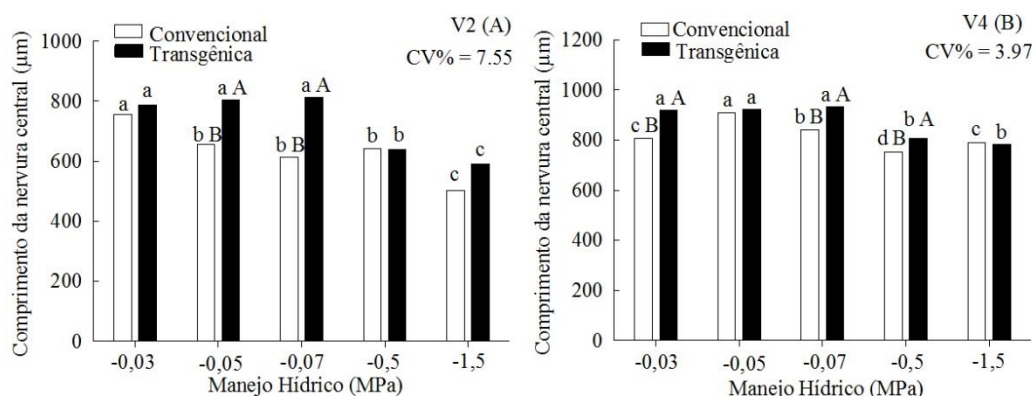


Figura 4. Efeito do estresse hídrico sobre o comprimento da nervura central (μm) em cultivares de soja nos estádios fenológico V2 e V4. Médias seguidas de mesma letra minúscula, não diferem estatisticamente entre os manejos hídricos e as médias seguidas de letra maiúscula, diferem estatisticamente entre as cultivares, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Jaboticabal/SP, 2015.

Na (Figura 6 D-E) verificou-se que a superfície abaxial da cultivar MG/BR 46 Conquista sob estresses hídricos de (-0,5 e -1,5 MPa) no estágio fenológico V2, e na (Figura 7 E) sob estresses hídricos de (-1,5 MPa) no estágio fenológico V4, apresentou um intenso desarranjo das células. Diferente da cultivar BRS Valiosa RR que embora tenha sido fortemente afetada pelo estresse hídrico, manteve seu arranjo natural das células. Este comportamento apresentado pela cultivar BRS Valiosa RR sugere uma melhor adaptação morfológica e anatômica como uma resposta das plantas para tolerar uma restrição hídrica em comparação a cultivar MG/BR 46 Conquista.

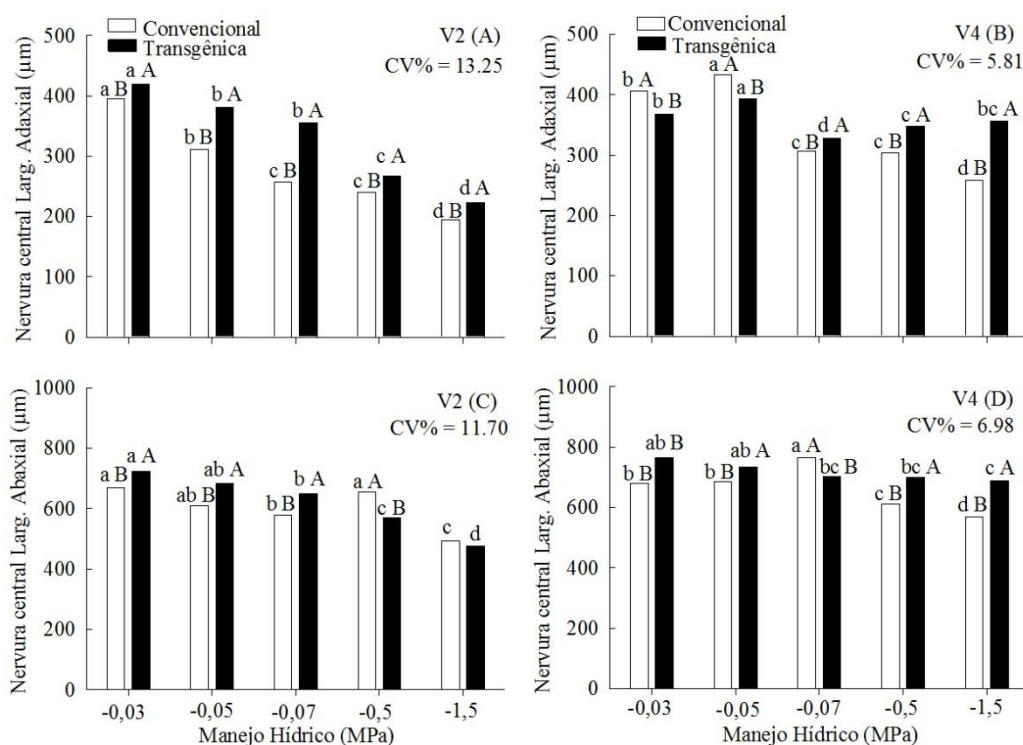


Figura 5. Efeito do estresse hídrico sobre a nervura central largura adaxial (A-B) e abaxial (C-D) (µm) em cultivares de soja nos estádios fenológico V2 e V4. Médias seguidas de mesma letra minúscula, não diferem estatisticamente entre os manejos hídricos e as médias seguidas de letra maiúscula, diferem estatisticamente entre as cultivares, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Jaboticabal/SP, 2015.

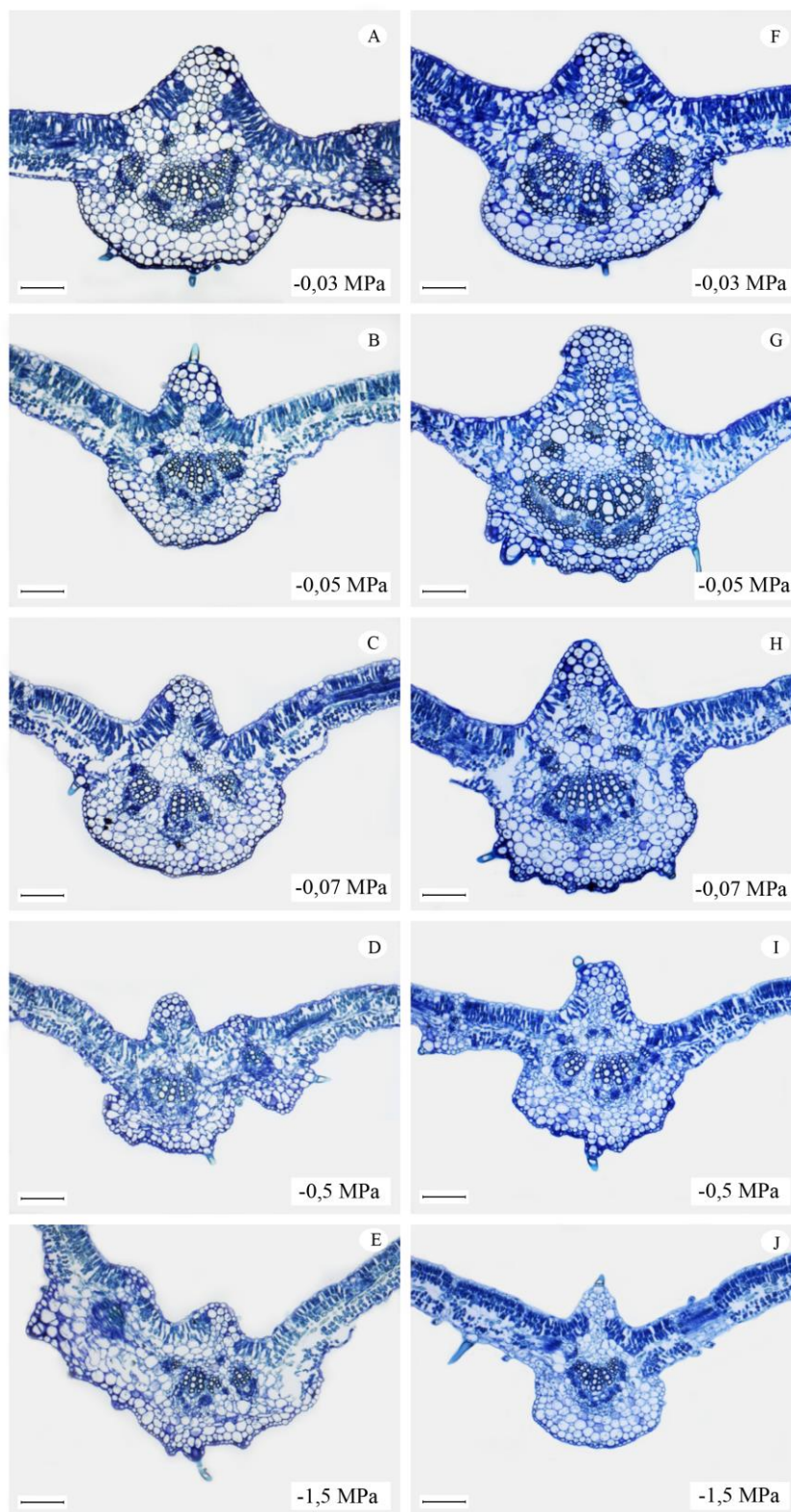


Figura 6. Secção transversal do Limbo foliar de *Glycine max* no estágio fenológico de desenvolvimento V2, cultivar Convencional (A, B, C, D e E), cultivar Transgênica RR (F, G, H, I e J), submetidas a diferentes potenciais hídricos no solo. Barra: 150 µm. Jaboticabal/SP, 2015.

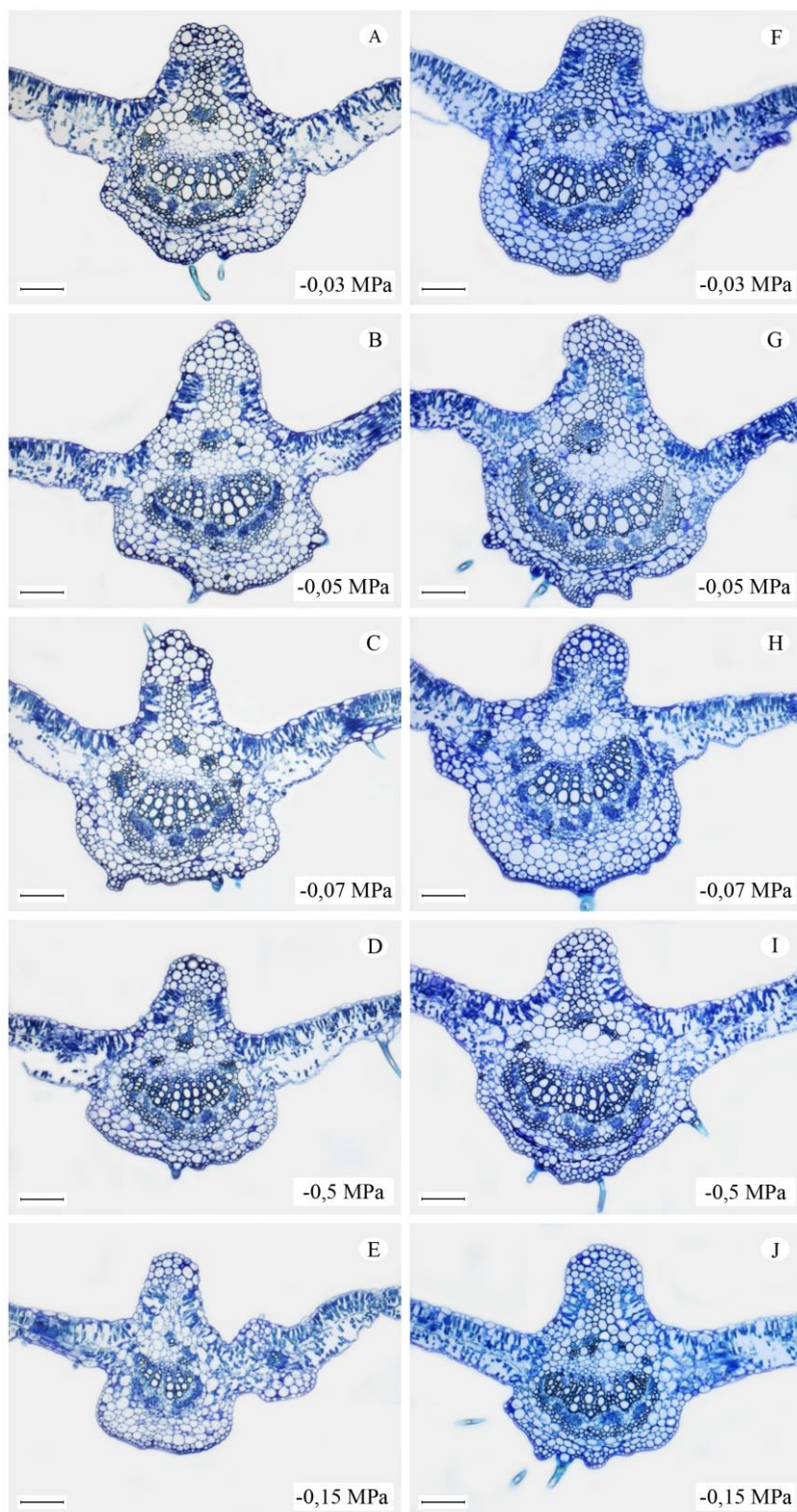


Figura 7. Secção transversal do Limbo foliar de *Glycine max* no estágio fenológico de desenvolvimento V4, cultivar Convencional (A, B, C, D e E), cultivar Transgênica RR (F, G, H, I e J), submetidas a diferentes potenciais hídricos no solo. Barra: 150 μ m. Jaboticabal/SP, 2015.

Nas Figuras (8 A, B, C e D) observou-se também modificações nos feixes vasculares. Através do comprimento e largura dos feixes vasculares foi constatado que no estágio fenológico V2 as plantas apresentam uma maior flexibilidade adaptativa em resposta a restrição hídrica (Figura 8 A-C). Já, para um estresse hídrico ocorrido em V4 essas alterações são menos evidentes (Figura 8 B-D), uma vez que a estrutura anatômica já está estabelecida.

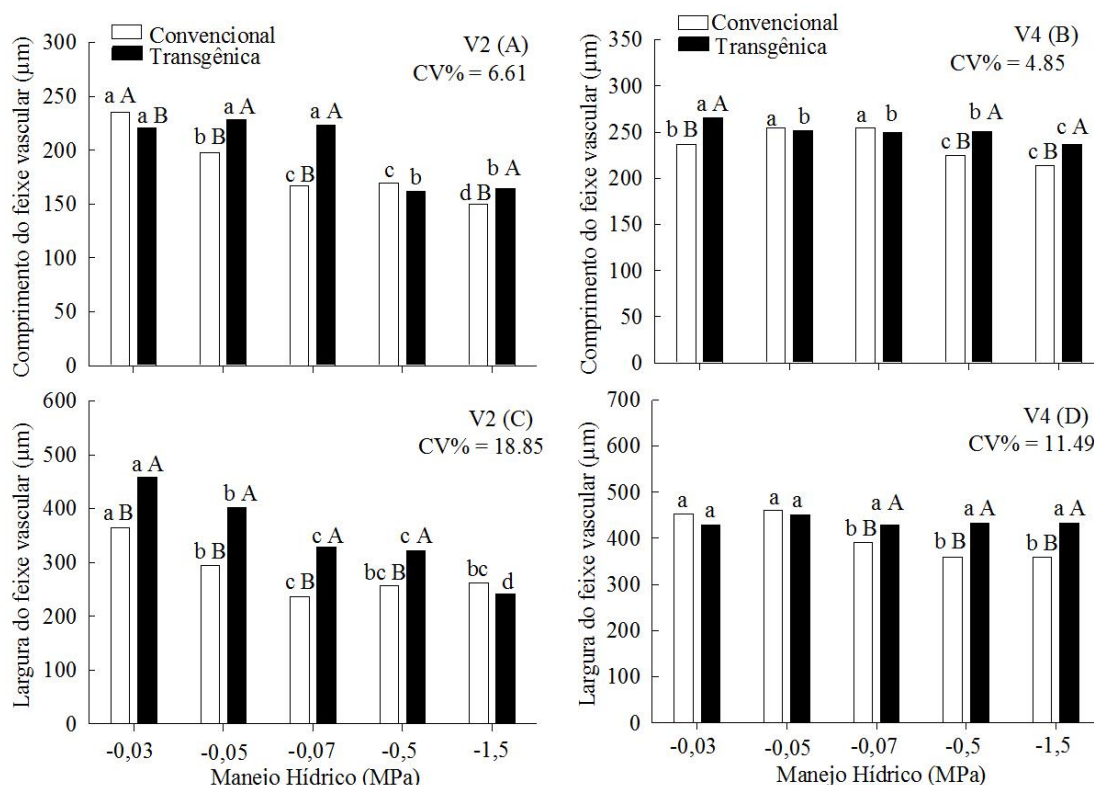


Figura 8. Efeito do estresse hídrico sobre o comprimento (A-B) e largura (C-D) dos feixes vasculares (μm) em cultivares de soja nos estádios fenológico V2 e V4. Médias seguidas de mesma letra minúscula, não diferem estatisticamente entre os manejos hídricos e as médias seguidas de letra maiúscula, diferem estatisticamente entre as cultivares, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Jaboticabal/SP, 2015.

Nota-se que, os feixes vasculares da cultivar BRS Valiosa RR encontram-se mais evidentes em V2 em comparação a cultivar MG/BR 46 Conquista. Já, em V4, esta diferença não foi mais observada. Estes resultados ora verificados sugerem que em V2 a cultivar BRS Valiosa RR já apresenta os seus tecidos bem estabelecidos, o que possibilita a esta cultivar uma menor desestruturação dos tecidos quando submetidas a um estresse severo (-0,5 e -1,5 MPa). Diferente da cultivar MG/BR 46

Conquista que teve os tecidos comprometidos quando submetida a estas condições de estresse.

Ressalta-se que, os tecidos que envolvem a nervura central (formados por colênquima e esclerênquima, e com funções de proteção), têm sua formação comprometida quando os feixes vasculares não estão bem estabelecidos, o que pode ter possibilitado uma maior sensibilidade às plantas da cultivar MG/BR 46 Conquista.

Assim, como para as avaliações anatômicas das folhas, também foi observada redução do diâmetro do caule para ambas as cultivares quando mantidas em condição de estresse hídrico em ambos os estádios fenológicos estudados (Figura 9 A-B).

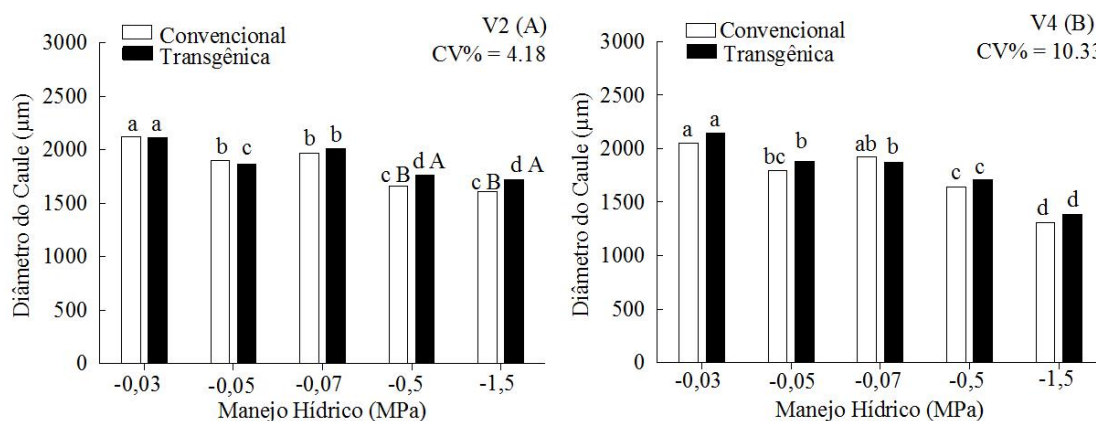


Figura 9. Efeito do estresse hídrico sobre o diâmetro do caule (µm) em cultivares de soja nos estádios fenológico V2 e V4. Médias seguidas de mesma letra minúscula, não diferem estatisticamente entre os manejos hídricos e as médias seguidas de letra maiúscula, diferem estatisticamente entre as cultivares, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Jaboticabal/SP, 2015.

Aparentemente houve maiores danos dos feixes do xilema para a cultivar MG/BR 46 Conquista quando submetidas a uma escassez hídrica de -1,5 MPa em comparação a cultivar BRS Valiosa RR, pois estes foram mais comprometidos (Figura 10 E-J e Figura 11 E-J).

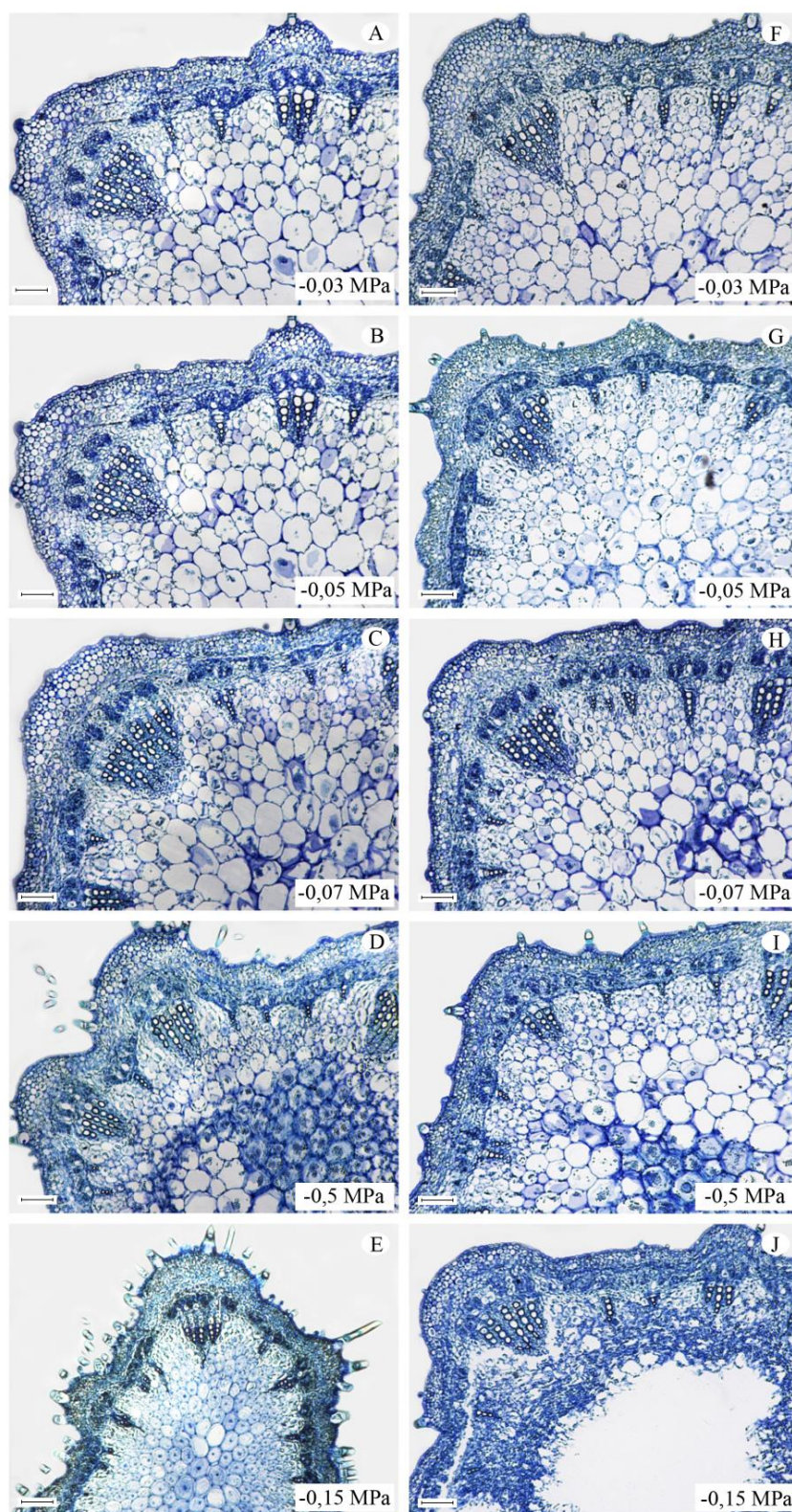


Figura 10. Secção transversal do caule de *Glycine max* no estágio fenológico de desenvolvimento V2, cultivar Convencional (A, B, C, D e E), cultivar Transgênica RR (F, G, H, I e J), submetidas a diferentes potenciais hídricos no solo. Barra: 110 μm. Jaboticabal/SP, 2015.

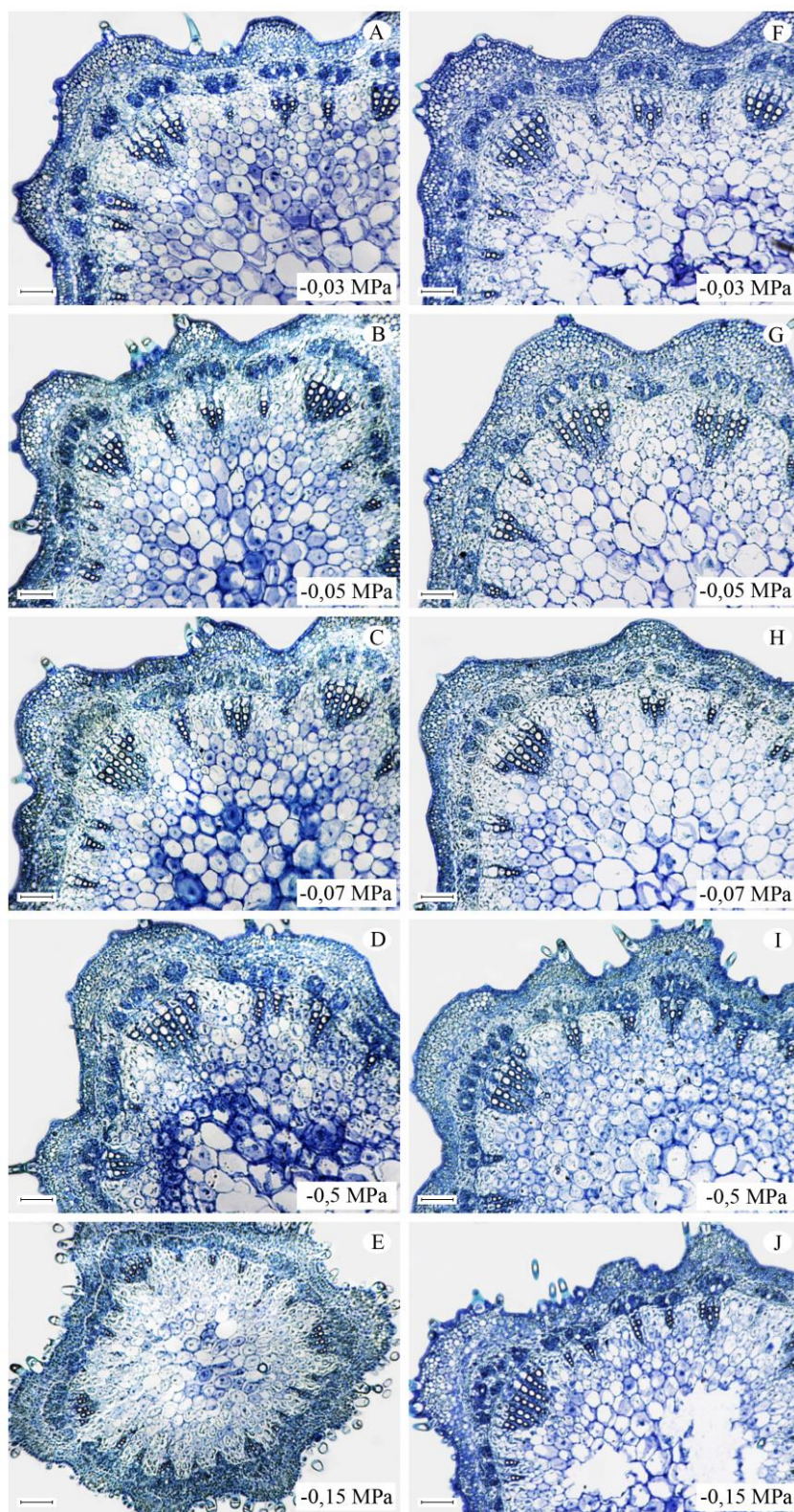


Figura 11. Secção transversal do caule de *Glycine max* no estágio fenológico de desenvolvimento V4, cultivar Convencional (A, B, C, D e E), cultivar Transgênica RR (F, G, H, I e J), submetidas a diferentes potenciais hídricos no solo. Barra: 110 μ m. Jaboticabal/SP, 2015.

Observou-se uma maior fragilidade do parênquima medular do caule para a cultivar BRS Valiosa RR, pois foi registrado um rompimento dos tecidos em todas as lâminas analisadas para as plantas mantidas sob escassez hídrica de -1,5 MPa. Já, para a cultivar MG/BR 46 Conquista, o tecido da medula estavam intactos. Ressalta-se que foi observado uma redução do tamanho das células para a cultivar MG/BR 46 Conquista quando submetidas a um déficit hídrico severo (-1,5 MPa).

Verificou-se que, a cultivar MG/BR 46 Conquista no estágio fenológico V4 sob déficit hídrico severo de -1,5 MPa apresentou uma ruptura do meristema secundário, o que pode ter prejudicado a formação dos tecidos.

Ficou evidenciado nas Figuras 6, 7, 10 e 11 para ambos os estádios fenológicos estudados V2 e V4, uma redução dos espaços intercelulares das folhas e do caule, quando as plantas de soja foram submetidas a uma condição de estresse hídrico, sobretudo para as condições de estresse hídrico severo (-0,5 e -1,5 MPa) no estágio V2 (Figura 6 e 10), o que pode estar relacionado a uma maior plasticidade fenotípica das plantas de soja, em resposta a um estresse hídrico quando ocorrido no estágio inicial das plantas.

Tal fato foi aferido por diversos pesquisadores, que também relataram redução do tamanho das células e redução dos espaços intercelulares, o que foi ocasionado por uma baixa pressão de turgescência nas células, devido uma redução no teor de água dos tecidos em plantas sob escassez hídrica (CABUSLAY et al. 2002; CHAITANYA et al. 2003; KARTHIKEYAN et al. 2007; JALEEL et al. 2008; SHAO et al. 2008).

Conclusões

Todos os caracteres anatômicos avaliados foram afetados pelo déficit hídrico, sendo essas alterações mais evidentes no estágio V2.

Os resultados evidenciaram uma maior tolerância BRS Valiosa RR a uma condição de déficit hídrico moderado quando ocorrido no estágio inicial da soja.

A cultivar BRS Valiosa RR apresenta uma melhor resposta adaptativa morfológica e anatômica em resposta a uma restrição hídrica moderada de até (-0,07 MPa) quando ocorrida nas primeiras semanas de desenvolvimento das plantas.

Referências

ASHRAF, M. Inducing drought tolerance in plants: recent advances. **Biotechnology Advances**, v. 28, n. 1, p. 169-183, 2010.

ASHRAF, M.; HARRIS, P. J. C. Photosynthesis under stressful environments: an overview. **Photosynthetica**, v. 51, n. 2, p. 163-190, 2013.

AFZAL, A.; GULZAR, I.; SHAHBAZ, M.; ASHRAF, M. Water deficit-induced regulation of growth, gas exchange, chlorophyll fluorescence, inorganic nutrient accumulation and antioxidative defense mechanism in mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek]. **Journal of Applied Botany and Food Quality**, v. 87, p. 147-156 2014.

BALARDIN, R. S.; SILVA, F. D.; DEBONA, D.; CORTE, G. D.; FAVERA, D. D.; TORMEN, N. R. Tratamento de sementes com fungicidas e inseticidas como redutores dos efeitos do estresse hídrico em plantas de soja. **Ciência Rural**, v. 41, n. 7, p. 1120-1126, 2011.

CABUSLAY, G. S.; ITO, O.; ALEJAR, A. A. Physiological evaluation of responses of rice (*Oryza sativa* L.) to water deficit. **Plant Science**, v. 163, n. 4, p. 815-827, 2002.

CATTIVELLI, L.; RIZZA, F.; BADECK, F. W.; MAZZUCOTELLI, E.; MASTRANGELO, A. M.; FRANCIA, E.; MARÈ, C.; TONDELLI, A.; STANCA, A. M. Drought tolerance improvement in crop plants: an integrated view from breeding to genomics. **Field Crops Research**, v. 105, n. 1, p. 1-14, 2008.

CHAITANYA, K. V.; JUTUR, P. P.; SUNDAR, D.; REDDY, A. R. Water stress effects on photosynthesis in different mulberry cultivars. **Plant Growth Regulation**, v.40, n.1, p.75-80, 2003.

COSTA, R. C. L.; LOBATO, A. K. S.; OLIVEIRA NETO, C. F.; MAIA, P. S. S.; ALVES, G. A. R.; LAUGHINGHOUSE, H. D. Biochemical and physiological

responses in two *Vigna unguiculata* (L.) Walp. cultivars under water stress. **Journal of Agronomy**, v. 7, n. 1, p. 98-101, 2008.

DOGAN, E.; KIRNAK, H.; COPUR, O. Deficit irrigations during soybean reproductive stages and CROPGRO-soybean simulations under semi-arid climatic conditions. **Field Crops Research**, v. 103, n. 2, p. 154-159, 2007.

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

FLEXAS, J.; BOTA, J.; LORETO, F.; CORNIC, G.; SHARKEY, T. D. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C₃ plants. **Plant Biology**, v. 6, n. 3, p. 269-279, 2004.

FLEXAS, J.; BOTA, J.; GALMES, J.; MEDRANO, H.; RIBAS-CARBÓ, M. Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress. **Physiologia Plantarum**, v. 127, n. 3, p. 343-352, 2006a.

FLEXAS, J.; RIBAS-CARBÓ, M.; BOTA, J.; GALMÉS, J.; HENKLE, M.; MARTÍNEZ-CAÑELLAS, S.; MEDRANO, H. Decreased Rubisco activity during water stress is not induced by decreased relative water content but related to conditions of low stomatal conductance and chloroplast CO₂ concentration. **New Phytologist**, v. 172, n. 1, p. 73-82, 2006b.

FAHN, A. **Plant anatomy**. Oxford: Pergamon, 1977. 611 p.

GALMÉS, J.; CONESA, M. A.; OCHOGAVÍA, J.; PERDOMO, J. A.; FRANCIS, D. M.; RIBAS-CARBÓ, M.; SAVÉ, R.; FLEXAS, J.; MEDRANO, H.; CIFRE, J. Physiological and morphological adaptations in relation to water use efficiency in Mediterranean accessions of *Solanum lycopersicum*. **Plant, Cell & Environment**, v. 34, n. 2, p. 245-260, 2011.

GALMÉS, J.; OCHOGAVÍA, J.; GAGO, J.; ROLDÁN, E. J.; CIFRE, J.; CONESA, M. À. Leaf responses to drought stress in Mediterranean accessions of *Solanum lycopersicum*: anatomical adaptations in relation to gas exchange parameters. **Plant, Cell & Environment**, v. 36, n. 5, p. 920-935, 2013.

GUERFEL, M.; BACCOURI, O.; BOUJNAH, D.; CHAÏBI, W.; ZARROUK, M. Impacts of water stress on gas exchange, water relations, chlorophyll content and leaf structure in the two main Tunisian olive (*Olea europaea* L.) cultivars. **Scientia Horticulturae**, v. 119, n. 3, p. 257-263, 2009.

JALEEL, C. A.; MANIVANNAN, P.; LAKSHMANAN, G. M. A.; GOMATHINAYAGAM, M.; PANNEERSELVAM, R. Alterations in morphological parameters and photosynthetic pigment responses of *Catharanthus roseus* under soil water deficits. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 61, n. 2, p. 298-303, 2008.

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

KARTHIKEYAN, B.; JALEEL, C. A.; GOPI, R.; DEIVEEKASUNDARAM, M. Alterations in seedling vigour and antioxidant enzyme activities in *Catharanthus roseus* under seed priming with native diazotrophs. **Journal of Zhejiang University-Science B**, v. 8, n. 7, p. 453-457, 2007.

KLAR, A. E. 1984. **Evapotranspiração**. In: KLAR, A. E. A água no sistema solo-planta-atmosfera. 2. ed. São Paulo: 408 p.

KUTLU, N.; TERZI, R.; TEKELI, Ç.; ŞENEL, G.; BATTAL, P.; KADIOĞLU, A. Changes in anatomical structure and levels of endogenous phytohormones during leaf rolling in *Ctenanthe setosa* under drought stress. **Turkish Journal of Biology**, v. 33, n. 2, p. 115-122, 2009.

LIU, F.; JENSEN, C. R.; ANDERSEN, M. N. Hydraulic and chemical signals in the control of leaf expansion and stomatal conductance in soybean exposed to drought stress. **Functional Plant Biology**, v. 30, n. 1, p. 65-73, 2003.

LIU, F.; ANDERSEN, M. N.; JACOBSEN, S. E.; JENSEN, C. R. Stomatal control and water use efficiency of soybean (*Glycine max* L. Merr.) during progressive soil drying. **Environmental and Experimental Botany**, v. 54, n. 1, p. 33-40, 2005.

MAKBUL, S.; SARUHAN, GÜLER, N.; DURMUŞ, N.; GÜVEN, S. Changes in anatomical and physiological parameters of soybean under drought stress. **Turkish Journal of Botany**, v. 35, n. 4, p. 369-377, 2011.

MAK, M.; BABLA, M., XU, S. C.; O'CARRIGAN, A.; LIU, X. H.; GONG, Y. M.; HOLFORD, P.; CHEN, Z. H. Leaf mesophyll K^+ , H^+ and Ca^{2+} fluxes are involved in drought-induced decrease in photosynthesis and stomatal closure in soybean. **Environmental and Experimental Botany**, v. 98, n. 1 p. 1-12, 2014.

MOREIRA, R. S.; MEDRI, M. E.; NEUMAIER, N.; LEMOS, N. G.; PIMENTA, J. A.; TOBITA, S.; BROGIN, R. L.; GUIMARÃES, F. C. M.; OLIVEIRA, M. C. N.; FARIAS, J. R. B.; ABDELNOOR, R. V.; A.L. NEPOMUCENO, A. L. Soybean physiology and gene expression during drought. **Genetics and Molecular Research**, v. 9, n. 4, p. 1946-1956, 2010.

O'BRIEN, T. P.; FEDER N.; MCCULLY, M. E. Polychromofic staining of plant cellular wall by toluidine blue. **Protoplasma**, v. 59, n. 2, p. 368-373, 1964.

OHASHI, Y.; NAKAYAMA, N.; SANEOKA, H.; FUJITA, K. Effects of drought stress on photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and stem diameter of soybean plants. **Biologia Plantarum**, v. 50, n. 1, p. 138-141, 2006.

PAIVA, A. S.; FERNANDES, E. J.; RODRIGUES, T. J.; TURCO, J. E. Condutância estomática em folhas de feijoeiro submetido a diferentes regimes de irrigação. **Engenharia Agrícola**, v.25, n.1, p.161-169, 2005.

POLIZEL, A. M.; MEDRI, M. E.; NAKASHIMA, K.; YAMANAKA, N.; FARIAS, J.R.B.; OLIVEIRA, M. C. N.; MARIN, S. R. R.; ABDELNOOR, R. V.; MARCELINO-GUIMARÃES, F. C.; FUGANTI, R.; RODRIGUES, F. A.; STOLF-MOREIRA, R.; BENEVENTI, M. A.; ROLLA, A. A. P.; NEUMAIER, N.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; CARVALHO, J. F. C.; NEPOMUCENO, A. L. Molecular, anatomical and physiological properties of a genetically modified soybean line transformed with rd29A: AtDREB1A for the improvement of drought tolerance. **Genetics and Molecular Research**, v. 10, n. 4, p. 3641-3656, 2011.

RIBAS-CARBO, M.; TAYLOR, N. L.; GILES, L.; BUSQUETS, S.; FINNEGAN, P. M.; DAY, D. A.; LAMBERS, H.; MEDRANO, H.; BERRY, J. A.; FLEXAS, J. Effects of water stress on respiration in soybean leaves. **Plant Physiology**, v. 139, n. 1, p. 466-473, 2005.

SHAO, H. B.; CHU, L. Y.; SHAO, M. A.; JALEEL, C. A.; HONG-MEI, M. Higher plant antioxidants and redox signaling under environmental stresses. **Comptes Rendus Biologies**, v. 331, n. 6, p. 433-441, 2008.

SILVA A. R. A.; BEZERRA F. M. L.; LACERDA C. F.; PEREIRA FILHO J. V.; FREITAS C. A. S. Trocas gasosas em plantas de girassol submetidas à deficiência hídrica em diferentes estádios fenológicos. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, n. 1, p. 86-93, 2013.

TRIPATHI, P.; RABARA, R. C.; REESE, R. N.; MILLER, M. A.; ROHILA, J. S.; SUBRAMANIAN, S.; SHEN, Q. J.; MORANDI, D.; BÜCKING, H.; SHULAEV, V.; RUSHTON, P. J. A toolbox of genes, proteins, metabolites and promoters for improving drought tolerance in soybean includes the metabolite coumestrol and stomatal development genes. **BMC Genomics**, v. 17, n. 1, p. 1-22, 2016.

YANG, P. H.; GQ LI, G. L.; WU, S. J. Effect of drought stress on plasma membrane permeability of soybean varieties during flowering-podding stage. **Agric Res Arid Areas**, v. 21, p. 127-130, 2003.

CAPÍTULO 3 - DESEMPENHO FISIOLÓGICO DA SOJA CONVENCIONAL E TRANSGÊNICA SUBMETIDA À RESTRIÇÃO HÍDRICA

Resumo - O estresse hídrico é uma das principais causas de perdas na produção agrícola, sendo fundamental a realização de estudos que selecionam cultivares que possam desenvolver e crescer sob limitações ambientais. Assim, o presente estudo objetivou avaliar duas cultivares de soja: MG / BR 46 Conquista (convencional) e a BRS Valiosa (transgênica) sob progressiva restrição hídrica em dois estádios fenológicos, V2 e V4. As cultivares de soja foram submetidas a manejos de água no solo (Ψ_s): 13% (-0,03 MPa), 10% (-0,07 MPa) e 9% (-0,5 MPa) quando atingiram os estádios pretendidos por um período de dez dias. Foram analisados parâmetros de crescimento (altura da planta, diâmetro do caule, massa seca da parte aérea) e fisiológicos [condutância estomática, peroxidação lipídica, teor de H_2O_2 , prolina, superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX)]. A restrição hídrica reduziu a altura da planta para ambas as cultivares. As plantas transgênicas exibiram maior massa seca no estágio V2 com um estresse hídrico moderado de -0,07 MPa. A condutância estomática mostrou diminuição em ambos os genótipos sob estresse hídrico, sendo mais pronunciada para a cultivar MG / BR 46 Conquista no estágio V4. O teor de prolina foi menos afetado para a cultivar BRS Valiosa RR. Os teores de H_2O_2 e conteúdo de MDA aumentam quando submetida à condição de restrição hídrica. A atividade da SOD, CAT e APX exibiram um aumento acentuado nas plantas transgênicas no estágio V4, enquanto as plantas convencionais não superaram a condição de estresse neste período. Estes resultados evidenciaram que a cultivar BRS Valiosa RR exibiu uma melhor resposta ao estresse hídrico no estágio V4, o que poderia aumentar a sobrevivência das plantas a um longo período de déficit hídrico.

Palavras-chave: Enzima antioxidante, estresse oxidativo, espécies reativas de oxigênio, *Glycine max*, manejo de água.

Introdução

A Soja é uma grande fonte de proteínas para o consumo humano e animal. Além disso, esta cultura é importante para a economia de muitos países, resultando em uma estimativa de 318,8 milhões de toneladas na produção global para a safra 2014/2015 (USDA, 2016). No entanto, a restrição hídrica é um dos estresses abiótico mais limitante para a soja (JUENGER, 2013), que causa grandes perdas na produção agrícola (COSTA et al., 2008; BALARDIN et al., 2011; SILVA et al., 2013). O requerimento de água pela soja é alto e as plantas mostram baixa eficiência no uso da água, o que faz com que esta cultura seja sensível ao estresse hídrico (YANG et al., 2003).

A restrição hídrica causa um desequilíbrio entre a captação de água pela raiz e a transpiração das folhas, o que leva à interrupção dos processos fisiológicos e bioquímicos nas vias celulares e moleculares (DOGAN et al., 2007; ASHRAF, 2010; ASHRAF; HARRIS, 2013; AFZAL et al., 2014). Como consequência do estresse hídrico, as reações degenerativas geram espécies reativas de oxigênio (ROS) em excesso, tais como: superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), oxigênio atômico e hidroxila (DEMIDCHIK, 2015).

Estas espécies de oxigênio são altamente reativas e interrompem o metabolismo normal por dano oxidativo, que resulta em peroxidação lipídica (MADANI et al., 2010). O sistema de defesa antioxidante composto por compostos enzimáticos e não-enzimáticos atua para evitar a oxidação descontrolada causada pelo estresse hídrico.

As enzimas antioxidantes como superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) dismuta O_2^- a H_2O_2 . No entanto, o H_2O_2 também é tóxico para as células e deve ser desintoxicado pela ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.11) e catalase (CAT, 1.11.1.6) que converte a produção excessiva de H_2O_2 em H_2O (HIPPLER et al., 2015; SILVA et al., 2016).

Os antioxidantes não enzimáticos incluindo prolina, flavonóides e carotenóides também desempenham um papel importante na desintoxicação de ROS (AHMAD et al., 2010). A acumulação de prolina é uma das respostas mais

comuns ao estresse hídrico nas plantas ao desempenhar um papel como osmoprotetor e um soluto compatível (TÜRKAN, 2005; SHARMA et al., 2012).

A divisão, alongamento e diferenciação celular são afetadas negativamente pelo estresse oxidativo, resultando em danos no crescimento, desenvolvimento e reprodução das plantas (CABUSLAY et al., 2002; SHAO et al., 2008). Como resultado, o rendimento de grãos também é afetado devido os impactos negativos na floração (MECKEL et al., 1984; DESCLAUX; ROUMET, 1996; DEMIRTAS et al., 2010).

A escassez hídrica é um grande desafio na agricultura e torna-se necessário a seleção de cultivares de tolerantes às condições de restrição de água. Além disso, algumas cultivares podem apresentar capacidade diferenciada para a formação e eliminação de espécies reativas de oxigênio que podem ser úteis para superar a restrição hídrica (FAROOQ et al., 2009).

Assim, entender as respostas e diferenças entre cultivares de soja sob diferentes manejos hídricos são essenciais para selecionar cultivares com maior tolerância à seca e melhorar a produção de grãos. Devido à importância do tema, tornam-se fundamentais pesquisas adicionais que avaliem o desempenho de cultivares, aliadas a uma melhor eficiência do uso da água em condição de seca. Portanto, a presente pesquisa teve como objetivo avaliar o desempenho de dois cultivares de soja: MG / BR 46 Conquista (convencional) e a BRS Valiosa (transgênica) submetido a diferentes manejos de água no solo, através de parâmetros de crescimento e fisiológicos.

Material e Métodos

Material vegetal, condições de crescimento e avaliações de campo

Dois experimentos foram conduzidos em condições de casa-de-vegetação, no Departamento de Produção Vegetal, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal/SP no período de Janeiro a Março de 2015. As condições climáticas no período de condução foram de temperatura média de 24°C ($\pm$ 7°C) e umidade relativa entre 44,6% e 83,8%.

Sementes de soja (*Glycine max*) Cultivar MG / BR 46 Conquista (convencional) e BRS Valiosa (transgênica) do banco de germoplasma EMBRAPA-Soja foram semeadas a 2-3 cm de profundidade em vasos de plástico preenchidos com três kg de solo seco.

O solo utilizado apresentava as seguintes características químicas: pH (CaCl₂) = 5,2; M.O. = 17 g dm⁻³; P = 21 mg dm⁻³; S = 8 mg dm⁻³; Ca = 16 mmolc dm⁻³; Mg = 5 mmolc dm⁻³; K = 2,3 mmolc dm⁻³; H + Al = 24 mmolc dm⁻³; S.B. = 23,3 mmolc dm⁻³; CTC = 47,3; V = 49. Foi realizada a correção da acidez e da fertilidade de acordo com as recomendações para a cultura (RAIJ et al., 1996).

O solo, antes da semeadura, foi seco ao ar até uma umidade constante de 3%. Para a obtenção da curva de retenção de água foi utilizada a placa de pressão de Richards (KLAR, 1984). A partir dos resultados da curva de retenção, foram estabelecidos três potenciais mínimos de água no solo (Ψ_s): -0,03; -0,07 e -0,5 MPa (manejos hídricos de 13%, 10% e 9%, respectivamente).

Anterior à semeadura, o solo foi previamente irrigado até a umidade atingir a capacidade de campo, de forma a garantir a efetivação do processo de germinação e o desenvolvimento das plântulas. Quando atingiram os estádios de desenvolvimento vegetativo V2 (primeiro trifólio aberto) para o primeiro experimento e V4 (terceiro trifólio aberto) para o segundo experimento (FEHR; CAVINESS, 1977), as plantas foram submetidas a três condições hídricas de manejo de água no solo por um período de dez dias. O teor de água nos vasos foi controlado por meio de pesagem.

Estes experimentos foram instalados e conduzidos no delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, em um arranjo fatorial 3x2, sendo o primeiro fator constituído pelas três condições hídricas de manejo de água no solo (Ψ_s): -0,03; -0,07; -0,5 MPa, e o segundo fator constituído pelas duas cultivares de soja (convencional e transgênica).

Foram mantidas duas plantas por vaso, uma usada para medir os parâmetros de crescimento das plantas e a outra, para coleta de amostras de folhas, que foram imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas a -80 °C.

Após os períodos de estresse hídrico aplicados, avaliou-se a altura de plantas (cm), o diâmetro do caule (mm), a condutância estomática (gs) e a massa seca da

parte aérea (g). A condutância estomática foi realizada em um par de folhas completamente expandidas a partir de uma altura intermediária da planta e entre 9 e 11 da manhã, utilizando-se um porômetro (Leaf Promoter SC – 1; DECAGON DEVICES, EUA).

A altura das plantas foi medida desde o nível do solo (colo) até o ponto de inserção da gema apical. O diâmetro do caule foi medido a 3 cm do nível do solo utilizando-se de um paquímetro digital. Para a avaliação de massa seca da parte aérea as plantas foram secas em uma estufa de circulação forçada de ar, à temperatura de 60 °C, até atingirem massa constante, sendo posteriormente mensuradas em balança de precisão (Adventurer AR2140).

Analises laboratorial

As análises fisiológicas foram realizadas no Laboratório de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária (DBAA)-FCAV-UNESP.

A peroxidação lipídica foi medida pelo teor de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), conforme descrito por Heath e Packer (1968). As folhas frescas foram moídas com polivinilpirrolidona a 20% (p/v) (PVPP) e acrescentou-se o ácido tricloroacético (TCA) a 0,1%. Após centrifugação a 11.000 g durante 10 minutos, adicionou-se o sobrenadante a uma solução de TCA a 20% e ácido tiobarbitúrico a 5% (TBA) e incubou-se num banho de água a 95 °C durante 30 min. A reação foi parada por arrefecimento num banho de gelo durante 10 min e centrifugada a 11.000 rpm durante 10 min. A concentração de equivalentes de malondialdeído (MDA) foi determinada por espectrofotometria entre 535 e 600 nm. Os dados foram calculados usando um coeficiente de extinção de $1,55 \times 10^{-5} \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (GRATÃO et al., 2012).

O teor de H_2O_2 foi determinado seguindo o método de Alexieva et al. (2001). As folhas frescas foram homogeneizadas em ácido tiobarbitúrico (0,1%) e centrifugadas a 10.000 rpm durante 10 min. Adicionou-se o sobrenadante a tampão de fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5) e solução de iodeto de potássio 1 M. Esta solução foi incubada em gelo durante uma hora, sendo a absorvância lida a 390 nm,

e o teor de H_2O_2 foi determinado utilizando uma curva de concentração de H_2O_2 conhecida como padrão.

O teor de prolina foi determinado por espectrofotometria como descrito por Bates et al. (1973). As amostras de folhas foram homogeneizadas em ácido sulfosalicílico a 3%. Fez-se reagir a mistura de filtrado com 1 ml cada de ácido ninhidrina e ácido acético glacial e colocou-se em água fervente durante 1 h. Foi adicionado tolueno (4 mL) à mistura e a absorvância foi medida a 520 nm e calculada como peso fresco de mmol g^{-1} contra prolina padrão.

A concentração de proteína foi determinada seguindo o método de Bradford (1976) utilizando albumina de soro bovino como padrão. O tecido foliar fresco foi homogeneizado numa argamassa refrigerada com um pilão utilizando-se um tampão de extração contendo tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5), ácido etileno diaminotetraacético 1 mM (EDTA), DL-ditiotreitol 3 mM e polivinilpolipirrolidona insolúvel a 5% (p/v) em razão de volume 3:1/peso fresco (BOARETTO et al., 2014). O homogeneizado foi centrifugado a 10.000 rpm durante 30 min e o sobrenadante foi armazenado a $-80\text{ }^\circ\text{C}$ para posterior determinação de proteínas, SOD, CAT e APX.

Para a leitura da superóxido dismutase as amostras de tecidos vegetais foram adicionadas em tampão de fosfato de potássio 50 mM (pH 7,8), metionina, nitro azul tetrazólio (NBT), ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA) e riboflavina. A reação ocorreu numa caixa com luz luminescente (15 W) a $25\text{ }^\circ\text{C}$, e a atividade enzimática foi lida espectrofotometricamente a 560 nm e expressa em U SOD/proteína mg (GIANNOPOLITIS; RIES, 1977).

A atividade da catalase (CAT) foi lida por espectrofotometria a $25\text{ }^\circ\text{C}$ numa mistura reacional contendo 1 mL de tampão de fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5) contendo 25 μL de H_2O_2 (solução a 30%). A atividade foi determinada monitorando a decomposição de H_2O_2 a 240 nm ao longo de 1 min como descrito por Nogueirol et al. (2015). A atividade de CAT foi expressa como proteína $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$.

A atividade da peroxidase de ascorbato (APX) foi medida por espectrofotometria numa reação consistindo de extrato de planta, tampão fosfato de potássio 80 mM (pH 7,0) contendo ascorbato 5 mM, EDTA 1 mM e H_2O_2 1 mM (GRATÃO et al., 2012). A atividade de APX foi medida por monitorização da taxa de

oxidação do ascorbato a 290 nm a 30 °C. A atividade de APX foi expressa como proteína de nanol ascorbato $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$.

Análise estatística

O resultado de cada amostra de planta foi expresso como média e desvio padrão da média ($\pm$ SEM) de três repetições independentes. A análise estatística foi realizada utilizando o teste de Tukey a um nível de significância de 0,05. Os gráficos foram plotados com o software Sigma Plot 10.0.

Resultados e Discussão

De fato, o estresse que as plantas sofrem pela restrição hídrica é uma das principais causas de perdas na produção agrícola. Portanto, é necessário estudar estratégias para evitar danos ao crescimento e produtividade das plantas. Observou-se na (Figura 1 A-B) que a soja convencional e transgênica mantida sob restrição de água moderada (-0,07 MPa) exibiu uma altura significativamente menor para os dois estádios fenológicos (V2 e V4) em comparação com o tratamento sem restrição hídrica (-0,03 MPa), sendo essa redução ainda mais prejudicial para as plantas sob (-0,5 MPa) estresse hídrico.

Embora uma restrição hídrica de (-0,07 MPa) não seja uma condição crítica de estresse, quando as plantas de soja foram submetidas a esta condição por um longo período de tempo, houve uma redução no seu desenvolvimento, o que pode impactar o seu rendimento produtivo. No entanto, salienta-se que não foram observadas diferenças significativas na altura da planta entre a cultivar convencional e transgênica em nenhum dos potenciais hídricos estudados (Figura 1 A-B).

O estresse hídrico é normalmente descrito como um dos principais fatores limitantes para o crescimento das plantas, pois ocasiona uma baixa pressão de turgescência nas células, o que promove uma ação direta na divisão celular, ampliação e diferenciação (CABUSLAY et al., 2002; CHAITANYA et al., 2003; KARTHIKEYAN et al., 2007; SHAO et al., 2008). Liu et al. (2003) e Mak et al. (2014)

relataram que sob condição de estresse hídrico as plantas reduzem o crescimento e a área foliar, como resposta à perda de água por fotorrespiração.

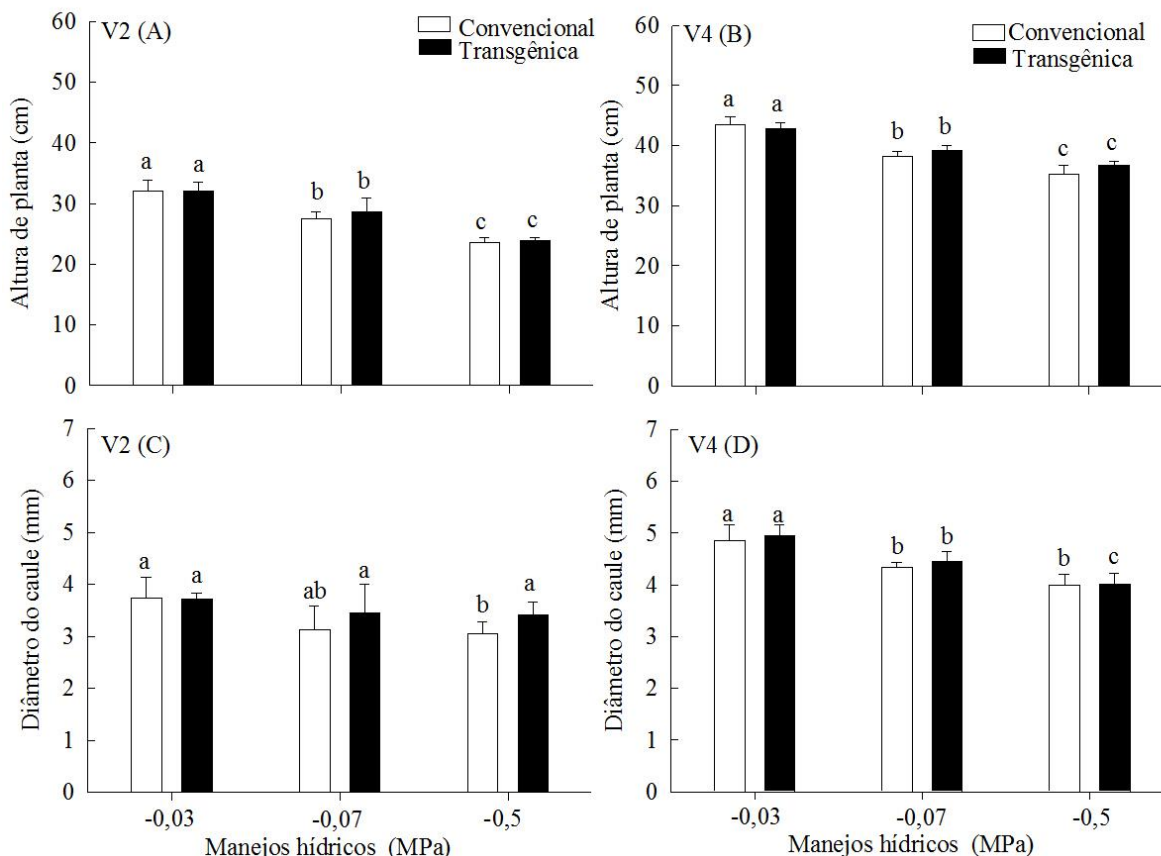


Figure 1. Efeito de manejos hídricos sobre (A-B) a altura de planta (cm) e (C-D) diâmetro do caule (mm) em cultivares de soja nos estádios fenológico V2 e V4. Médias seguidas de mesma letra minúscula, não diferem estatisticamente entre os manejos hídricos e as médias seguidas de letra maiúscula, diferem estatisticamente entre as cultivares, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Jaboticabal/SP, 2015.

É possível que no estágio V4 de desenvolvimento ocorra uma maior perda de água dos tecidos pela fotorrespiração devido às plantas apresentarem uma área foliar relativamente mais elevada em comparação ao estágio V2, caracterizando-se assim uma maior sensibilidade ao déficit hídrico.

O diâmetro do caule apresentou redução significativa para a cultivar convencional em ambos os estádios fenológicos de desenvolvimento sob condições de seca (-0,07 e -0,5 MPa) em relação às plantas conduzidas sob condições adequadas de água (-0,03 MPa) (Figura 1 C-D). Já plantas transgênicas no estágio fenológico V2 não apresentaram redução no diâmetro do caule quando mantidas

sob condições de seca (-0,07 e -0,5 MPa) em comparação às plantas bem regadas (-0,03 MPa) (Figura 1 C). Embora no estágio fenológico V4 o diâmetro do caule para esta cultivar também tenha sido afetadas pelas condições de escassez hídrica (Figura 1 D), este resultado mostra uma possível maior tolerância das plantas transgênicas ao estresse hídrico no estágio fenológico V2 quando comparadas com cultivar convencional.

Os diferentes manejos hídricos nas quais a soja convencional e transgênica foram submetidas afetaram a condutância estomática para ambos os estádios fenológicos em que as plantas se encontravam (Figura 2 A-B), sendo esta redução mais acentuada para uma escassez hídrica severa (-0,5 MPa).

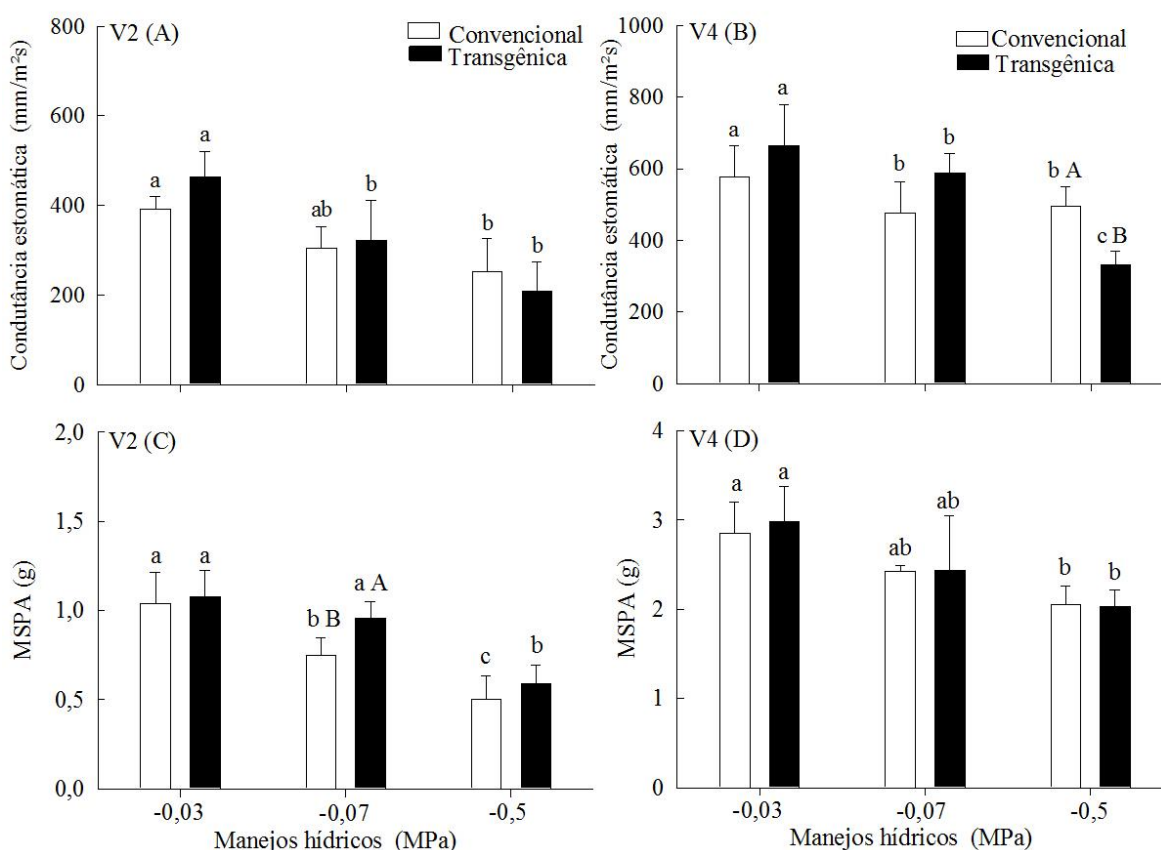


Figure 2. Efeito de manejos hídricos sobre (A-B) condutância estomática (mm/m²s) e (C-D) massa seca da parte aérea (g) em cultivares de soja nos estádios fenológico V2 e V4. Médias seguidas de mesma letra minúscula, não diferem estatisticamente entre os manejos hídricos e as médias seguidas de letra maiúscula, diferem estatisticamente entre as cultivares, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Jaboticabal/SP, 2015.

Apenas no estágio V4 foi observado que sob uma seca severa (-0,5 MPa) a soja transgênica exibiu uma menor condutância estomática em relação à soja convencional (Figura 2 B). Esta característica pode resultar em uma melhor resposta ao fechamento estomático das plantas transgênicas em condições de seca, evitando a perda excessiva de água por fotorrespiração.

De acordo com os resultados ora encontrados, outros estudos relataram uma redução progressiva da condutância estomática de plantas em baixas condições de umidade do solo, como resposta às perdas de água por fotorrespiração ocorre redução na taxa de assimilação líquida de CO₂, na razão de transporte de elétron, nos compostos fenólicos totais e nos atributos de crescimento das plantas (FLEXA et al., 2004, 2006a, 2006b; LIU et al., 2005; PAIVA et al., 2005; RIBAS-CARBO et al., 2005; AFZAL et al., 2014; MAK et al., 2014).

Não houve diferença significativa entre as cultivares convencionais e transgênicas para as avaliações de massa seca da parte aérea no estágio V2 e V4, quando as plantas foram conduzidas sem estresse hídrico (-0,03 MPa) e em uma condição de seca severa (-0,5 MPa) (Figura 2 C-D). No entanto, para as plantas mantidas em condição de seca moderada (-0,07 MPa), observou-se que a cultivar MG/BR 46 Conquista (convencional) apresentou uma maior sensibilidade ao déficit hídrico em comparação a cultivar BRS valiosa (RR) no estágio V2 (Figura 1 C). Estes resultados mostram que a cultivar transgênica utilizada no presente estudo obteve uma maior tolerância a uma condição de déficit hídrico moderado quando ocorrido no estágio inicial da soja, sendo semelhante ao tratamento sem estresse hídrico (-0,03 MPa).

A redução na massa seca da parte aérea das plantas de soja sobre condições de escassez hídrica foi relatada em um estudo realizado por (MAK et al., 2014), bem como Liu et al. (2003) também observaram que a escassez hídrica reduziu a área foliar das plantas de soja, limitando assim o seu crescimento.

Vale ressaltar que, sob condições de escassez hídrica, as taxas de assimilação de CO₂ é reduzida, principalmente, devido aos mecanismos de fechamento dos estômatos, sendo esta a principal causa da diminuição da fotossíntese (PAIVA et al., 2005; OHASHI et al., 2006; AFZAL et al., 2014; MAK et al., 2014). Flexas et al. (2006a) relataram que em condições de baixa umidade no

solo ocorre uma redução no balanço de carbono da planta, que é dependente do equilíbrio entre a fotossíntese e da respiração. No entanto, com o fechamento estomático, as plantas não só reduzem as perdas de água por transpiração, como também reduzem o suprimento de CO_2 para as folhas e, como consequência, a produção de biomassa é comprometida (PAIVA et al., 2005).

Existem vários mecanismos envolvidos na redução do estresse provocado pela seca. Por exemplo, as plantas podem acumular prolina, um osmólito compatível com aminoácidos (MWADZINGENI et al., 2016). Para o presente estudo foi possível observar um aumento do teor de prolina com o incremento do estresse hídrico, sendo que, na condição de estresse mais severo (-0,5 MPa) verificou-se maior conteúdo de prolina em ambas as cultivares (Figura 3).

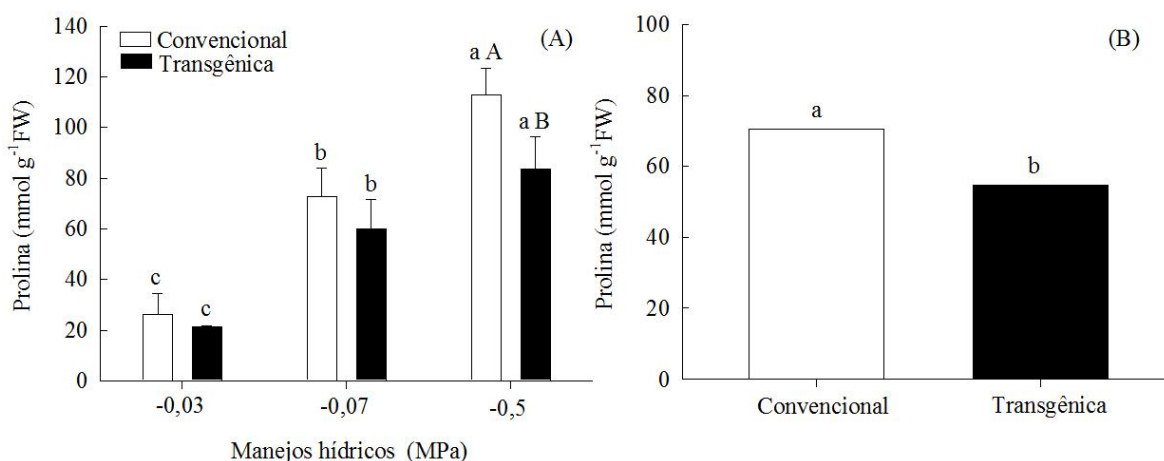


Figure 3. Efeito de manejos hídricos sobre a concentração de prolina (mmol g⁻¹FW) em cultivares de soja: MG/BR 46 Conquista (convencional) e BRS Valiosa (RR) no estágio fenológico V4. Médias seguidas de mesma letra minúscula, não diferem estatisticamente entre os manejos hídricos e as médias seguidas de letra maiúscula, diferem estatisticamente entre as cultivares, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Jaboticabal/SP, 2015.

No entanto, a cultivar convencional apresentou maior teor de prolina quando comparada com transgênica a -0,5 MPa (Figura 3 B). Portanto, numa condição de estresse severo, a cultivar convencional foi eficaz na produção de prolina. Devi e Giridhar (2015) também relataram um aumento progressivo no nível de prolina em cultivares de soja observada após 5 dias em condições de seca. O mesmo padrão foi observado na cana-de-açúcar (QUEIROZ et al., 2011; CIA et al., 2012) e no milho

(ANJUM et al., 2016), quando foi relatado que o aumento do teor de prolina manteve a turgidez do tecido durante uma condição de estresse hídrico progressivo.

A prolina contribui com membranas de estabilização e estruturas subcelulares, além de proteger as funções celulares através da limpeza de ROS (KAUR; ASTHIR, 2015). Embora a cultivar convencional tenha apresentado maior acumulação de prolina a -0,5 MPa (Figura 3), nota-se que a cultivar convencional apresentou maior teor de MDA no estágio V4 do que a transgênica, o que sugere que a acumulação de prolina foi ineficiente para evitar danos na membrana das células da soja convencional (Figura 4B)

As enzimas antioxidantes permitem que as plantas evitem ou tolerem o estresse oxidativo desencadeado por adversidades ambientais, incluindo o estresse hídrico (FAROOQ et al., 2009; SILVA et al., 2016). Para o presente estudo foi selecionadas enzimas antioxidantes chave SOD, APX, e CAT baseado em numerosos relatórios científicos, devido suas respostas ao estresse hídrico nas plantas. Quando se tratou de enzimas antioxidantes, pode-se observar tendências distintas entre cultivares, estágio fenológico e nível de manejo hídrico.

Sabe-se que a SOD é a primeira linha de defesa contra o estresse oxidativo causado pelos estresses abióticos. A SOD, que converte o O_2 em H_2O_2 , demonstrou ser induzida em várias espécies de plantas quando expostas a condições de estresse hídrico (DARMANTI et al., 2016; KHAKDAN et al., 2016).

Os resultados do presente trabalho mostraram que, no estágio V2, as plantas convencionais apresentaram maior atividade da SOD quando comparadas com transgênicas a -0,5 MPa (Figura 5 A). No entanto, ambas as cultivares apresentaram uma produção semelhante de H_2O_2 (Figura 4 C). No estágio V4, embora a produção de H_2O_2 não tenha sido progressiva (Figura 4 D), observa-se claramente que as plantas transgênicas mantêm a atividade SOD constante com o aumento do estresse hídrico (Figura 5 B), o que reduz os níveis tóxicos de O_2^- evitando danos no tecido, o que é medido pelo menor teor de MDA (Figura 4 B).

O H_2O_2 produzido em resposta à atividade de SOD e outros processos metabólicos, subsequentemente pode ser reduzido a H_2O pela ação de CAT e APX. Os resultados ora encontrados indicam que a atividade de CAT foi estável para todos os níveis de manejo hídrico, mas variou entre estágio e cultivar (Figura 5 C-D).

No estágio V2, verificou-se que as plantas convencionais apresentaram alta atividade de CAT quando comparadas com as plantas transgênicas. Contudo, houve uma mudança de padrão no estágio V4, o que sugere que as cultivar transgênica pode apresentar uma resposta tardia que aumenta a sobrevivência em longos períodos de escassez de água.

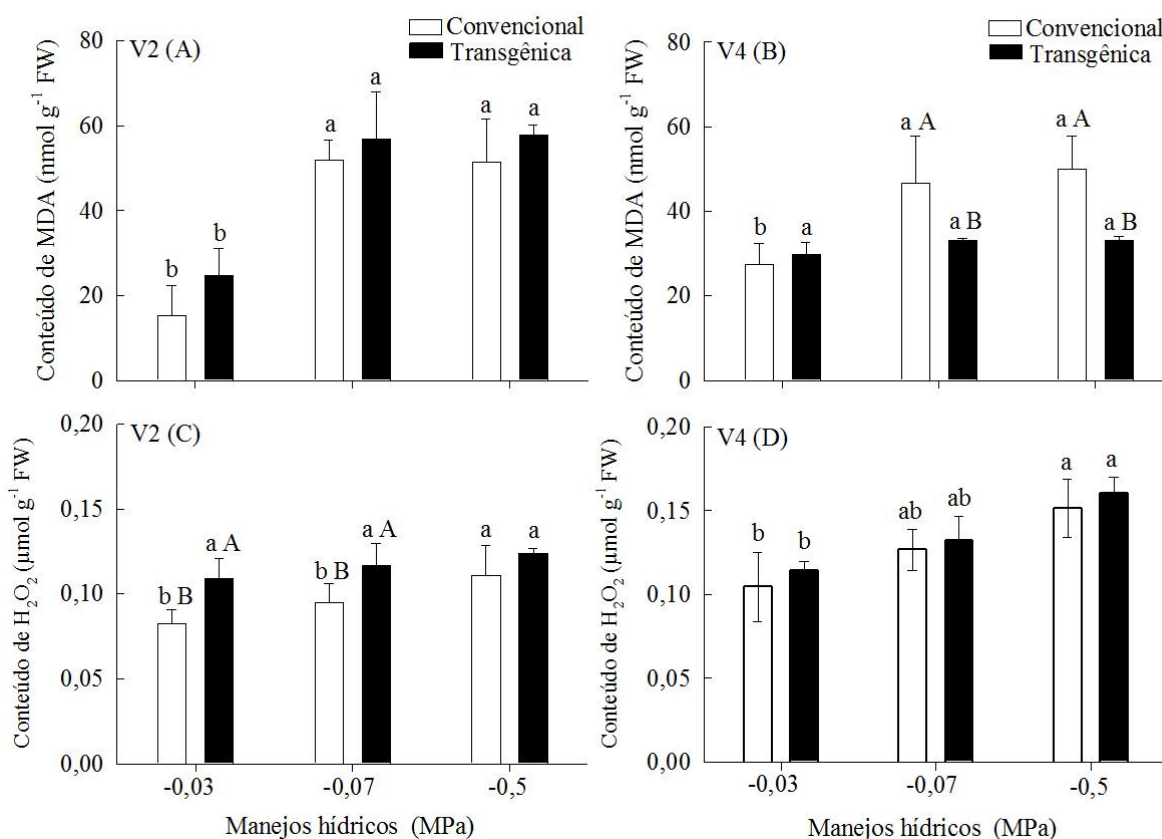


Figure 4. Efeito do manejo hídrico sobre o (A-B) conteúdo de peroxidação lipídica MDA (nmol g⁻¹ FW) e (C-D) conteúdo de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (μmol g⁻¹ FW) em cultivares de soja: MG/BR 46 Conquista (convencional) e BRS Valiosa (RR) nos estádios fenológico V2 e V4. Médias seguidas de mesma letra minúscula, não diferem estatisticamente entre os manejos hídricos e as médias seguidas de letra maiúscula, diferem estatisticamente entre as cultivares, pelo teste de Tukey (P<0,05). Jaboticabal/SP, 2015.

A atividade de APX foi mais intensa em plantas convencionais no estágio V2 (Figura 5 E), que contribuem para a diminuição do teor de H₂O₂ (Figura 4 C). Por outro lado, no estágio V4, registra-se um acentuado aumento na atividade APX de plantas transgênicas (Figura 5 F), o que indica uma melhor resposta tardia para as plantas transgênicas.

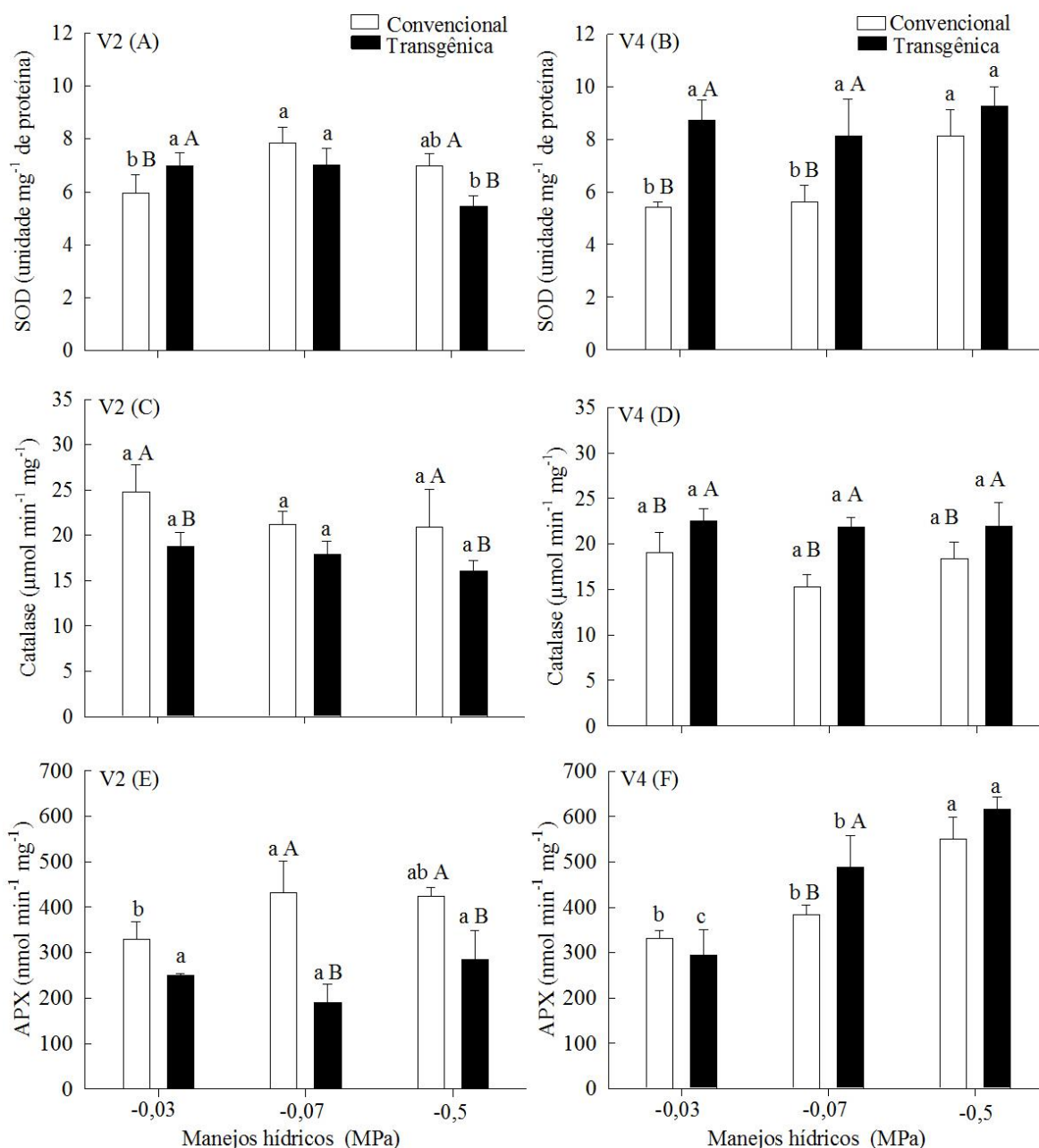


Figure 5. Efeito do manejo hídrico sobre a (A-B) U SOD/mg, (C-D) atividade específica de catalase ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$) e (E-F) atividade específica da APX ($\text{nmol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$) em cultivares de soja: MG/BR 46 Conquista (convencional) e BRS Valiosa (RR) nos estádios fenológico V2 e V4. Médias seguidas de mesma letra minúscula, não diferem estatisticamente entre os manejos hídricos e as médias seguidas de letra maiúscula, diferem estatisticamente entre as cultivares, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Jaboticabal/SP, 2015.

A correlação existente entre os antioxidantes e a produção de ROS determina a tolerância ou susceptibilidade de um genótipo ao estresse hídrico (MITTLER et al., 2002). Tanto as plantas transgênicas como as convencionais exibiram um ligeiro aumento na atividade enzimática antioxidante no estágio V2. No entanto, no estágio V4, as plantas transgênicas melhoraram a atividade das enzimas antioxidantes quando comparadas com a convencional (Figura 4), o que contribuiu para a estabilidade da membrana medida como conteúdo de MDA (Figura 3 B). Por outro lado, o conteúdo de MDA foi maior em ambas as cultivares no estágio V2 (Figura 3 A) e apresentou uma intensa diminuição no estágio V4 (Figura 3 B). Estes dados mostram que cultivares convencionais e transgênicas podem tolerar uma seca no primeiro período de desenvolvimento. No entanto, a cultivar transgênica exibiu uma maior capacidade para controlar a formação e eliminação de espécies reativas de oxigênio, que pode superar o estresse imposto pela escassez hídrica por um longo período e sofrer menos danos em suas células e tecidos.

Conclusão

Os parâmetros fisiológicos e bioquímicos analisados neste estudo permitem sugerir que a cultivar transgênica pode superar o estresse imposto pela escassez de água por um longo período.

Embora ambas as cultivares sejam capazes de resistir ou tolerar o estresse progressivo da seca, foi possível notar que a cultivar transgênica exibiu no estágio fenológico de desenvolvimento V4 uma resposta contínua de compostos enzimáticos que controlam o estresse oxidativo e pode permitir seu desenvolvimento em um longo período de escassez de água.

Referências

AFZAL, A.; GULZAR, I.; SHAHBAZ, M.; ASHRAF, M. Water deficit-induced regulation of growth, gas exchange, chlorophyll fluorescence, inorganic nutrient accumulation and antioxidative defense mechanism in mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek]. **Journal of Applied Botany and Food Quality**, v. 87, p. 147-156 2014.

AHMAD, P.; JALEEL, C. A.; SHARMA, S. Antioxidant defense system, lipid peroxidation, proline-metabolizing enzymes, and biochemical activities in two *Morus alba* genotypes subjected to NaCl stress. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 57, n. 4, p. 509-517, 2010.

ALEXIEVA, V.; SERGIEV, I.; MAPELLI, S.; KARANOV, E. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant, Cell & Environment**, v. 24, n. 12, p. 1337-1344, 2001.

ANJUM, S. A.; TANVEER, M.; ASHRAF, U.; HUSSAIN, S.; SHAHZAD, B.; KHAN, I.; WANG, L. Effect of progressive drought stress on growth, leaf gas exchange, and antioxidant production in two maize cultivars. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 17, p. 17132-17141, 2016.

ASHRAF, M. Inducing drought tolerance in plants: recent advances. **Biotechnology Advances**, v. 28, n. 1, p. 169-183, 2010.

ASHRAF, M.; HARRIS, P. J. C. Photosynthesis under stressful environments: an overview. **Photosynthetica**, v. 51, n. 2, p. 163-190, 2013.

BALARDIN, R. S.; SILVA, F. D.; DEBONA, D.; CORTE, G. D.; FAVERA, D. D.; TORMEN, N. R. Tratamento de sementes com fungicidas e inseticidas como redutores dos efeitos do estresse hídrico em plantas de soja. **Ciência Rural**, v. 41, n. 7, p. 1120-1126, 2011.

BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I.D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, v. 39, n. 1, p. 205-207, 1973.

BOARETTO, L. F.; CARVALHO, G.; BORGIO, L.; CRESTE, S.; LANDELL, M. G. A.; MAZZAFERA, P.; AZEVEDO, R. A. Water stress reveals differential antioxidant

responses of tolerant and non-tolerant sugarcane genotypes. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 74, n.1, p. 165-175, 2014.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

CABUSLAY, G. S.; ITO, O.; ALEJAR, A. A. Physiological evaluation of responses of rice (*Oryza sativa* L.) to water deficit. **Plant Science**, v. 163, n. 4, p. 815-827, 2002.

CHAITANYA, K. V.; JUTUR, P. P.; SUNDAR, D.; REDDY, A. R. Water stress effects on photosynthesis in different mulberry cultivars. **Plant Growth Regulation**, v.40, n.1, p.75-80, 2003.

CIA, M. C.; GUIMARAES, A. C. R.; MEDICI, L. O.; CHABREGAS, S. M.; AZEVEDO, R. A. Antioxidant responses to water deficit by drought-tolerant and-sensitive sugarcane varieties. **Annals of Applied Biology**, v. 161, n. 3, p. 313-324, 2012.

COSTA, R. C. L.; LOBATO, A. K. S.; OLIVEIRA NETO, C. F.; MAIA, P. S. S.; ALVES, G. A. R.; LAUGHINGHOUSE, H. D. Biochemical and physiological responses in two *Vigna unguiculata* (L.) Walp. cultivars under water stress. **Journal of Agronomy**, v. 7, n. 1, p. 98-101, 2008.

DARMANTI, S.; SANTOSA.; DEWI, K.; NUGROHO, L. H. Antioxidative defenses of soybean [*Glycine max* (L.) Merr. cv. Grobogan] against purple nutsedge (*Cyperus rotundus* L.) interference during drought stress. **JAPS, Journal of Animal and Plant Sciences**, v. 26, n. 1, p. 225-232, 2016.

DEMIDCHIK, V. Mechanisms of oxidative stress in plants: from classical chemistry to cell biology. **Environmental and Experimental Botany**, v. 109, p. 212-228, 2015.

DEMIRTAS, Ç.; YAZGAN, S.; CANDOGAN, B. N.; SINCIK, M.; BÜYÜKCANGAZ, H.; GÖKSOY, A. T. Quality and yield response of soybean (*Glycine max* L. Merrill) to

drought stress in sub-humid environment. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 41, p. 6873-6881, 2010.

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

DEVI, M. K. A.; GIRIDHAR, P. Variations in Physiological Response, Lipid Peroxidation, Antioxidant Enzyme Activities, Proline and Isoflavones Content in Soybean Varieties Subjected to Drought Stress. **Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences**, v. 85, n. 1, p. 35-44, 2015.

DOGAN, E.; KIRNAK, H.; COPUR, O. Deficit irrigations during soybean reproductive stages and CROPGRO-soybean simulations under semi-arid climatic conditions. **Field Crops Research**, v. 103, n. 2, p. 154-159, 2007.

FAROOQ M.; WAHID A.; KOBAYASHI N.; FUJITA D.; BASRA S. M. A. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. **Agronomy for Sustainable Development**, p. 153-188. v. 29, n. 1, p. 185-212, 2009.

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

FLEXAS, J.; BOTA, J.; LORETO, F.; CORNIC, G.; SHARKEY, T. D. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C₃ plants. **Plant Biology**, v. 6, n. 3, p. 269-279, 2004.

FLEXAS, J.; BOTA, J.; GALMES, J.; MEDRANO, H.; RIBAS-CARBÓ, M. Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress. **Physiologia Plantarum**, v. 127, n. 3, p. 343-352, 2006a.

FLEXAS, J.; RIBAS-CARBÓ, M.; BOTA, J.; GALMÉS, J.; HENKLE, M.; MARTÍNEZ-CAÑELLAS, S.; MEDRANO, H. Decreased Rubisco activity during water stress is not induced by decreased relative water content but related to conditions of low stomatal conductance and chloroplast CO₂ concentration. **New Phytologist**, v. 172, n. 1, p. 73-82, 2006b.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v. 59, n. 2, p. 309-314, 1977.

GRATÃO, P. L.; MONTEIRO, C. C.; CARVALHO, R. F.; TEZOTTO, T.; PIOTTO, F. A.; PERES, L. E. P.; AZEVEDO, R. A. Biochemical dissection of *diageotropica* and *Never ripe* tomato mutants to Cd-stressful conditions. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 56, p. 79-96, 2012.

HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 125, n. 1, p. 189-198, 1968.

HIPPLER, F. W. R.; BOARETTO, R. M.; QUAGGIO, J. A.; AZEVEDO, R. A.; MATTOS Jr, D. Towards soil management with Zn and Mn: estimates of fertilisation efficacy of Citrus trees. **Annals of Applied Biology**, v. 166, n. 3, p. 484-495, 2015.

JUENGER T. E. Natural variation and genetic constraints on drought tolerance. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 16, n. 3, p. 274-281, 2013.

KARTHIKEYAN, B.; JALEEL, C. A.; GOPI, R.; DEIVEEKASUNDARAM, M. Alterations in seedling vigour and antioxidant enzyme activities in *Catharanthus roseus* under seed priming with native diazotrophs. **Journal of Zhejiang University-Science B**, v. 8, n. 7, p. 453-457, 2007.

KAUR, G.; ASTHIR, B. Proline: a key player in plant abiotic stress tolerance. **Biologia Plantarum**, v. 59, n. 4, p. 609-619, 2015.

KHAKDAN, F.; RANJBAR, M.; NASIRI, J.; AHMADI, F. S.; BAGHERI, A.; ALIZADEH, H. The relationship between antioxidant compounds contents and antioxidant enzymes under water-deficit stress in the three Iranian cultivars of basil (*Ocimum basilicum* L.). **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 38, n. 9, p. 226, 2016.

KLAR, A. E. 1984. Evapotranspiração. In: KLAR, A. E. A água no sistema solo-planta-atmosfera. 2.ed. São Paulo: Nobel, 408 p.

LIU, F.; ANDERSEN, M. N.; JACOBSEN, S. E.; JENSEN, C. R. Stomatal control and water use efficiency of soybean (*Glycine max* L. Merr.) during progressive soil drying. **Environmental and Experimental Botany**, v. 54, n. 1, p. 33-40, 2005.

MADANI, A.; NEHAL, M.; HAQUE, S. S.; KHAN, A. Perspective of oxidative stress in a biological system and prevention by naturally occurring antioxidant. **Proceedings of the National Academy of Sciences India. Section B, Biological Sciences**, v. 80, n. 4, p. 287-295, 2010.

MAK, M.; BABLA, M.; XU, S. C.; O'CARRIGAN, A.; LIU, X. H.; GONG, Y. M.; HOLFORD, P.; CHEN, Z. H. Leaf mesophyll K^+ , H^+ and Ca^{2+} fluxes are involved in drought-induced decrease in photosynthesis and stomatal closure in soybean. **Environmental and Experimental Botany**, v. 98, n. 1 p. 1-12, 2014.

MECKEL, L.; EGLI, D. B.; PHILLIPS, R. E.; RADCLIFFE, D.; LEGGETT, J. E. Effect of moisture stress on seed growth in soybeans. **Agronomy Journal**, v. 76, n. 4, p. 647-650, 1984.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v. 7, n. 9, p. 405-410, 2002.

MWADZINGENI, L.; SHIMELIS, H.; TESFAY, S.; TSILO, T. J. Screening of bread wheat genotypes for drought tolerance using phenotypic and proline analyses. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. 1, p. 1-12, 2016.

NOGUEIROL, R. C.; MONTEIRO, F. A.; GRATÃO, P. L.; BORGIO, L.; AZEVEDO, R. A. Tropical soils with high aluminum concentrations cause oxidative stress in two tomato genotypes. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 187, n. 3, p. 1-16, 2015.

OHASHI, Y.; NAKAYAMA, N.; SANEOKA, H.; FUJITA, K. Effects of drought stress on photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and stem diameter of soybean plants. **Biologia Plantarum**, v. 50, n. 1, p. 138-141, 2006.

PAIVA, A. S.; FERNANDES, E. J.; RODRIGUES, T. J.; TURCO, J. E. Condutância estomática em folhas de feijoeiro submetido a diferentes regimes de irrigação. **Engenharia Agrícola**, v.25, n.1, p.161-169, 2005.

QUEIROZ, R. J. B.; SANTOS, D. M. M. D.; FERRAUDO, A. S.; CARLIN, S. D.; SILVA, M. D. A. Biochemical and physiological responses of sugarcane cultivars to soil water deficiencies. **Scientia Agricola**, v. 68, n. 4, p. 469-476, 2011.

RAIJ, B. V.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2. ed. Campinas: IAC, (IAC. Boletim Técnico, 100), 1996. 285 p.

RIBAS-CARBO, M.; TAYLOR, N. L.; GILES, L.; BUSQUETS, S.; FINNEGAN, P. M.; DAY, D. A.; LAMBERS, H.; MEDRANO, H.; BERRY, J. A.; FLEXAS, J. Effects of water stress on respiration in soybean leaves. **Plant Physiology**, v. 139, n. 1, p. 466-473, 2005.

SHAO, H. B.; CHU, L. Y.; SHAO, M. A.; JALEEL, C. A.; HONG-MEI, M. Higher plant antioxidants and redox signaling under environmental stresses. **Comptes Rendus Biologies**, v. 331, n. 6, p. 433-441, 2008.

SHARMA, P.; JHA, A. B.; DUBEY, R. S.; PESSARAKLI, M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany**, v. 2012, n. 1, p. 1-26, 2012.

SILVA A. R. A.; BEZERRA F. M. L.; LACERDA C.F.; PEREIRA FILHO J. V.; FREITAS C. A. S. Trocas gasosas em plantas de girassol submetidas à deficiência hídrica em diferentes estádios fenológicos. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, n. 1, p. 86-93, 2013.

SILVA, P. A.; OLIVEIRA, I. V.; RODRIGUES, K. C. B.; COSME, V. S.; BASTOS, A. J. R.; DETMANN, K. S. C.; CUNHA, R. L.; FESTUCCI-BUSELLI, R. A.; DAMATTA, F. M.; PINHEIRO, H. A. Leaf gas exchange and multiple enzymatic and non-enzymatic antioxidant strategies related to drought tolerance in two oil palm hybrids. **Trees**, v. 30, n. 1, p. 203-214, 2016.

TÜRKAN, I.; BOR, M.; ÖZDEMİR, F.; KOCA, H. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. **Plant Science**, v. 168, n. 1, p. 223-231, 2005.

USDA, World Agricultural Supply and Demand Estimates Office of the Chief Economist Agricultural Marketing Service Farm Service Agency Economic Research Service Foreign Agricultural Service WASDE - 549 Approved by the World Agricultural Outlook Board January 12, 2016 ISSN: 1554-9089 Pag. 79

YANG, P. H.; GQ LI, G. L.; WU, S. J. Effect of drought stress on plasma membrane permeability of soybean varieties during flowering-podding stage. **Agricultural Research In The Arid Areas**, v. 21, p. 127-130, 2003.

CAPÍTULO 4 - EFEITO DE DIFERENTES MANEJOS HÍDRICOS NO SOLO SOBRE A SELETIVIDADE DO FOMESAFEN EM SOJA CONVENCIONAL E RR

Resumo - O objetivo deste trabalho foi avaliar a seletividade do herbicida fomesafen, aplicado em diferentes estádios fenológicos de desenvolvimento da soja, sob diferentes manejos hídricos no solo. Os estudos foram conduzidos em condições de casa-de-vegetação. Foram utilizadas duas cultivares de soja: MG/BR 46 Conquista e BRS Valiosa RR submetidas a aplicação do herbicida fomesafen a 250 g i.a. ha⁻¹, em dois estádios fenológico (V2-primeiro trifólio aberto e V4-terceiro trifólio aberto); sob três condições hídricas no solo (-0,03; -0,07 e -0,5 MPa). A escassez hídrica reduziu a fitointoxicação visual quando submetida à pulverização do herbicida fomesafen, assim como o déficit hídrico reduz drasticamente a fixação biológica de nitrogênio e o crescimento das plantas de soja. Em condição de escassez hídrica moderada (-0,07 MPa) a cultivar convencional teve o seu desenvolvimento mais afetado em comparação com a cultivar transgênica. Evidenciou-se ainda que, a cultivar transgênica mostrou ter uma maior capacidade em sustentar a fixação biológica de nitrogênio quando submetida a uma condição de escassez hídrica moderada (-0,07 MPa) em comparação com a cultivar convencional.

Palavras-chave: déficit hídrico, fitointoxicação, fixação simbiótica de N₂, *Glycine max*, morfologia.

Introdução

O cultivo da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) no Brasil tem aumentado continuamente nas últimas décadas, o que estabelece esta cultura como a principal em área de produção de grãos no país. Embora seja a mais importante planta oleaginosa do mundo, a cultura da soja pode ser afetada negativamente por vários componentes do meio. Dentre estes, o déficit hídrico em áreas de cultivo, definido como o mais importante e frequentemente estresse que afeta a produção agrícola (COSTA et al., 2008; ASHRAF, 2010; BALARDIN et al., 2011; SILVA et al., 2013).

A soja é bastante sensível ao déficit hídrico quando este ocorre ao longo das fases de crescimento vegetativo e reprodutivo, pois reduz o crescimento, afeta o período de florescimento e o rendimento de grãos (MECKEL et al., 1984; DESCLAUX; ROUMET, 1996; DOGAN et al., 2007; DEMIRTAS et al., 2010).

A escassez hídrica causa um desequilíbrio entre a absorção de água pela raiz e a transpiração das folhas, o que afeta as reações bioquímicas, a fisiologia, a morfologia e os processos de desenvolvimento das plantas (DOGAN et al., 2007; ASHRAF, 2010; ASHRAF; HARRIS, 2013; AFZAL et al., 2014). Ressalta-se que, a escassez hídrica influencia a divisão, o alongamento e a diferenciação celular, que está diretamente ligada à quantidade e qualidade de crescimento das plantas (CABUSLAY et al., 2002; SHAO et al., 2008).

A fixação biológica do nitrogênio (FBN) é um dos principais fatores bióticos que contribuem para elevar a produção da cultura da soja (HUNGRIA et al., 2005; 2006; HUNGRIA; MENDES, 2014). No entanto, este processo é reconhecido como sendo extremamente sensível ao déficit hídrico, com perdas imediatas na sua atividade, e que ocasiona, assim, perdas no rendimento da cultura (STREETER, 2003; THOMAS et al., 2004; KING; PURCELL, 2006; CLEMENT et al., 2008; MASTRODOMENICO et al., 2013).

Dentre os herbicidas recomendados para a cultura da soja, tem-se o fomesafen, que é um inibidor da enzima protoporfirinogênio (PROTOX), seletivo para a cultura da soja, utilizado para um amplo controle de plantas daninhas eudicotiledôneas e pulverizado em pós-emergência (LEE et al., 1993; SKIPSEY et al., 2005).

Embora, normalmente a seletividade seja uma característica dos herbicidas que permite controlar as plantas daninhas sem causar danos econômicos à cultura de interesse, a atividade dos mesmos podem ser afetadas também pelas condições do ambiente. Sabe-se que, sob estresse, as plantas têm seu metabolismo desequilibrado (ASHRAF, 2010; AFZAL et al., 2014) e podem tornar-se mais sensíveis ou tolerantes a determinadas moléculas herbicidas (ABBOTT; STERLING, 2006; PEREIRA et al., 2012). Assim, o estresse hídrico, além de afetar a intensidade de competição da planta daninha com a cultura (PATTERSON, 1995), pode também alterar a sua sensibilidade ao controle químico.

Ainda que existe grande preocupação quanto ao frequente estresse que afeta as culturas agrícolas, não são encontrados na literatura trabalhos de pesquisas que avaliaram o efeito da aplicação de herbicidas sobre a seletividade e o desempenho agrônomo, fisiológico e morfológico da soja, em diferentes condições de regimes hídricos. Devido à importância do tema, torna-se fundamental a realização de estudos que avaliem a eficiência da aplicação dos herbicidas quanto à seletividade para a cultura da soja. Portanto, o presente trabalho teve como objetivo estudar a seletividade do herbicida fomesafen pulverizado em diferentes estádios de desenvolvimento da soja, cultivar convencional e RR, sob diferentes potenciais hídricos no solo.

Material e Métodos

Dois experimentos foram conduzidos em condições de casa de vegetação, no Departamento de Produção Vegetal, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal/SP.

Foram utilizados nestes estudos dois cultivares de soja: MG/BR 46 Conquista (convencional) e BRS Valiosa (RR). Estas cultivares foram submetidas à pulverização do herbicida fomesafen na dose de 250 g i.a. ha⁻¹, quando atingiram o estágio de desenvolvimento vegetativo V2 (primeiro trifólio aberto – primeiro estudo) e V4 (terceiro trifólio aberto – segundo estudo) (FEHR; CAVINESS, 1977), sob três condições hídricas de manejo de água no solo (-0,03; -0,07 e -0,5 MPa de tensão de água no solo).

Estes estudos foram instalados e conduzidos no delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, em um arranjo fatorial 3x2x2, sendo constituído de três manejos hídricos (-0,03; -0,07 e -0,5 MPa), duas cultivares de soja (convencional e RR) e duas doses de fomesafen (com e sem herbicida). No caso das avaliações de fitotoxicidade o fatorial foi 3x2, pois as parcelas sem herbicidas (testemunha) foram apenas utilizadas para a comparação dos sintomas de injúrias com as que receberam o herbicida.

O solo, antes da semeadura, foi seco ao ar até uma umidade constante de 3%. Para a obtenção da curva de retenção de água foi utilizada a placa de pressão de Richards (KLAR, 1984). À partir dos resultados da curva de retenção, foram estabelecidos três potenciais mínimos de água no solo (Ψ_s): -0,03; -0,07 e -0,5 MPa (manejos hídricos de 13%, 10% e 9%, respectivamente) avaliados por meio de pesagem dos vasos.

As parcelas experimentais foram constituídas por vasos de plástico contendo 3 kg de solo. Foram semeados quatro sementes de soja por vaso, sendo posteriormente realizado um desbaste de plântulas, deixando-se apenas uma planta por vaso. O solo foi previamente irrigado até a umidade atingir a capacidade de campo, de forma a garantir a efetivação do processo de germinação e o desenvolvimento das plântulas. Uma amostra composta do solo foi retirada, antes da instalação dos experimentos, para caracterização química, conforme Silva (2009). A análise química do solo apresentou: pH (CaCl_2) = 5,2; M.O. = 17 g dm^{-3} ; P = 21 mg dm^{-3} ; S = 8 mg dm^{-3} ; Ca = 16 mmolc dm^{-3} ; Mg = 5 mmolc dm^{-3} ; K = 2,3 mmolc dm^{-3} ; H + Al = 24 mmolc dm^{-3} ; S.B. = 23,3 mmolc dm^{-3} ; CTC = 47,3; V = 49. Foi realizada a correção da acidez e da fertilidade de acordo com as recomendações da cultura (RAIJ et al., 1996). Antes da semeadura, as sementes foram inoculadas com estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* SEMIA 5079 e *Bradyrhizobium elkanii* SEMIA 5019 (9×10^9 células viáveis kg^{-1} de sementes).

A aplicação do herbicida foi realizada com o uso de um pulverizador costal, com pressão constante por CO_2 e calibrado para um consumo de calda de 200 L ha^{-1} . A barra de pulverização estava equipada com duas pontas tipo jato plano "Teejet" XR 11002VS espaçadas 50 cm entre si.

As avaliações de seletividade foram realizadas aos 3, 7, 14 e 21 dias após a aplicação dos herbicidas. Utilizou-se uma escala de notas, no qual 0 % representa nenhuma injúria às plantas e 100 % morte das plantas, conforme metodologia estabelecida pela SBPCPD (1995). Foram realizadas avaliações de altura de plantas aos 3, 7, 14 e 21 DAA.

Ao final das avaliações, aos 21 DAA, foram coletadas as plantas de cada parcela para a determinação da massa seca da parte aérea e das raízes, quando mensurou-se, ainda, a nodulação do sistema radicular das plantas. As plantas foram secas em uma estufa de circulação forçada de ar, à temperatura de 60 °C, até atingirem massa constante, sendo posteriormente mensuradas em balança de precisão. Para avaliação dos nódulos, as raízes foram cuidadosamente removidas do solo e lavadas em água corrente, posteriormente os nódulos foram removidos de cada planta, sendo assim realizada a contagem dos mesmos e seguidamente submetidos à secagem em estufa de ar forçado a 60 °C para determinação da massa seca.

Os resultados foram submetidos à análise de variância, sendo a significância testada para as fontes de variação significativas pelo teste F, foi aplicado o teste de Tukey (5% de significância).

Resultados e Discussão

Observou-se na primeira avaliação, aos 3 DAA (dias após a aplicação), que o fomesafen proporcionou baixos níveis de fitointoxicação às plantas de soja em ambas as cultivares estudadas no estágio fenológico de desenvolvimento V2 (doravante chamado apenas de estágio V2), bem como o manejo hídrico do solo não influenciou o aparecimento de injúrias nas plantas de soja (Tabela 1).

Por sua vez, na segunda avaliação realizada aos 7 DAA, embora o fomesafen tenha proporcionado baixos níveis de fitointoxicação às plantas de soja, verificou-se para a cultivar transgênica o surgimento de injúrias elevadas em comparação à cultivar convencional (Tabela 1).

Ressalta-se que, para as plantas mantidas em solo com escassez hídrica severa (mínimo de -0,5 Mpa), foram registrados aos 7 e 14 DAA os menores níveis

de fitointoxicação em comparação às plantas submetidas a um manejo hídrico adequado ou sob uma leve restrição hídrica (-0,03 e -0,07 MPa), respectivamente (Tabela 1). Este fato, pode ser atribuído a possíveis modificações morfológicas e fisiológicas ocorridas nas plantas, como espessamento de cutícula, redução da transpiração e menor área foliar, o que seria uma estratégia de escape à seca (PAIVA et al., 2005; DOGAN et al., 2007; ASHRAF, 2010; AFZAL et al., 2014), o que pode dificultar a absorção e ou a translocação do herbicida nas plantas.

Tabela 1. Valores médios verificados para a porcentagem de fitointoxicação visual em plantas de soja, submetidas à aplicação do herbicida fomesafen no estágio fenológico V2, obtidos no desdobramento dos graus de liberdade das variáveis principais: cultivar e manejo hídrico. Jaboticabal/SP, 2015.

Condição	Dias Após Aplicação (%)			
	3 DAA	7 DAA	14 DAA	21 DAA
Cultivar				
Convencional	1,67 a	1,08 b	0,42 b	0,0
RR	1,75 a	3,42 a	1,67 a	0,0
Manejo Hídrico (MPa)				
-0,03	1,13 a	3,00 a	1,38 a	0,0
-0,07	1,88 a	2,63 a	1,25 a	0,0
-0,5	1,38 a	1,13 b	0,5 b	0,0
F Cultivar (C)	1,73 ^{ns}	26,72 ^{**}	96,43 ^{**}	0,0
Manejo hídrico (M)	0,99 ^{ns}	6,44 ^{**}	18,43 ^{**}	0,0
(C) x (M)	0,99 ^{ns}	0,03 ^{ns}	1,29 ^{ns}	0,0
CV (%)	74,5	49,1	29,9	-
d.m.s. (C)	0,93	0,95	0,27	-
d.m.s. (M)	1,39	1,41	0,4	-

^{**} Significativo ao nível de 1% de probabilidade; ^{ns} Não significativo.

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05).

DAA= dias após a aplicação; RR= soja transgênica.

Evidenciou-se que, as injúrias visuais foram observadas apenas em folhas existentes no momento da pulverização do fomesafen, sendo que já na terceira avaliação aos 14 DAA, foi possível observar uma redução nas injúrias proporcionadas pela pulverização deste herbicida (Tabela 1). Quanto ao manejo hídrico, nota-se que, o mesmo comportamento verificado aos 7 DAA foi obtido aos 14 DAA, no qual sob um estresse elevado (-0,5 MPa) as plantas de soja apresentaram sintomas de injúrias menores quando comparados aos outros dois manejos hídricos estudados. Já aos 21 DAA, não foi mais observado nenhum

sintoma visual de fitointoxicação, independente da cultivar ou do manejo hídrico empregado no estudo, o que indica que o herbicida fomesafen foi visualmente seletivo às plantas de soja.

Quando comparado as cultivares estudadas, convencional e transgênica, no estágio fenológico de desenvolvimento V4 (doravante chamado apenas de estágio V4), observa-se que em nenhuma das épocas avaliadas houve diferenças nas intensidades de injúrias provocadas pelo herbicida fomesafen às plantas de soja (Tabela 2). A maior fitointoxicação visual foi registrada aos 7 DAA, porém nas avaliações subsequentes ocorreram decréscimos acentuados.

Quanto ao manejo hídrico, da mesma forma que o registrado no estágio V2 (Tabela 1) o fomesafen proporcionou visualmente menor fitointoxicação às plantas de soja quando estas foram submetidas ao estresse hídrico e, neste caso, para os dois níveis de estresse estudados (-0,07 e -0,5 MPa) em todos os períodos avaliados (Tabela 2); sendo no caso do estágio V2 apenas quando sob maior estresse (-0,5 MPa), o que evidencia que plantas mais velhas sob estresse hídrico, mesmo que ameno, mostram-se mais tolerantes à ação deste herbicida.

Estes resultados demonstraram que, embora a pulverização do fomesafen tenha ocasionado injúrias visuais às plantas, estas apresentaram rápida recuperação. Correia et al. (2008) ao avaliar o efeito fitotóxico do herbicida fomesafen pulverizado em pós-emergência em plantas de soja, observou leves sintomas de fitointoxicação, com recuperação nos primeiros dias após a sua pulverização.

Evidenciou-se ainda, que todas as avaliações realizadas nas plantas mantidas em solo com manejo hídrico adequado (-0,03 MPa) apresentaram os maiores níveis de fitointoxicação, em comparação as plantas submetidas a uma escassez hídrica moderada (-0,07MPa) ou severa (-0,5 MPa) (Tabela 2).

Peregoy et al. (1990) relataram que sob estresse hídrico, a cutícula da folha desidrata, o que pode reduzir a absorção de herbicidas, proporcionando uma menor fitointoxicação à cultura. Ressalta-se também, que a soja é extremamente eficiente em desintoxicação de herbicidas do grupo químico éter difenílico, tais como fomesafen, devido à sua rápida desintoxicação pela enzima glutathione transferases

(GSTs) (SKIPSEY et al., 2005; BENEKOS et al., 2010; DIXON et al., 2010; CUMMINS et al., 2011).

Tabela 2. Valores médios verificados para a porcentagem de fitointoxicação de plantas de soja, submetidas à aplicação do herbicida fomesafen no estágio fenológico V4, obtidos no desdobramento dos graus de liberdade das variáveis principais: cultivar e manejo hídrico e de sua interação. Jaboticabal/SP, 2015.

Condição	Dias Após Aplicação (%)			
	3 DAA	7 DAA	14 DAA	21 DAA
Cultivar				
Convencional	2,83 a	8,58 a	4,33 a	2,08 a
RR	2,17 a	7,92 a	5,00 a	2,17 a
Manejo Hídrico (MPa)				
-0,03	5,75 a	13,50 a	9,00 a	5,00 a
-0,07	0,75 b	5,75 b	2,75 b	0,87 b
-0,5	1,00 b	5,50 b	2,25 b	0,50 b
Interação				
Cultivar				
Manejo hídrico	Conv	RR	Conv.	RR
-0,03	-	-	15,75 aA	11,25 aB
-0,07	-	-	5,50 bA	6,00 bA
-0,5	-	-	4,50 bA	6,50 bA
F Cultivar (C)	1,41 ^{ns}		0,63 ^{ns}	0,81 ^{ns}
Manejo hídrico (M)	33,62 ^{**}		38,94 ^{**}	34,53 ^{**}
(C) x (M)	0,62 ^{ns}		5,45 [*]	3,25 ^{ns}
C.V. (%)	55,0		25,0	38,8
d.m.s. (C)	1,78		1,76	1,55
d.m.s. (M)	1,75		2,63	2,31
d.m.s. Interação (C)	-		3,06	-
d.m.s. Interação (M)	-		3,72	-

^{**} Significativo ao nível de 1% de probabilidade; ^{*} Significativo ao nível de 5% de probabilidade; ^{ns} Não significativo.

Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05).

DAA= dias após a aplicação; RR= soja transgênica; Conv.= convencional.

A interação entre cultivares e manejo hídrico foi significativa somente aos 07 DAA (Tabela 2). Pode-se verificar que, a cultivar convencional quando mantida sob uma condição hídrica adequada (-0,03 MPa) apresentou maiores níveis de fitointoxicação em comparação a cultivar transgênica. Já, para os demais níveis de estresse este comportamento não foi registrado. Assim, dentro de cada cultivar, os

dois níveis de manejo hídrico estudados (-0,07 e -0,5 MPa) foram semelhantes e inferiores à situação de capacidade de campo (-0,03 MPa).

A plantas mantidas sob uma restrição hídrica severa (solo com tensão mínima de -0,5 MPa) apresentaram altura significativamente menor para todas as avaliações (03, 07, 14 e 21 DAA) em comparação as plantas mantidas sem restrição hídrica (solo com tensão mínima de -0,03 MPa) (Tabela 3). Isso evidencia que houve redução no desenvolvimento das plantas, em resposta às condições de estresse imposta nos tratamentos.

Tabela 3. Valores médios verificados para altura de plantas de soja, submetidas à aplicação do herbicida fomesafen no estágio fenológico V2, obtidos no desdobramento dos graus de liberdade das variáveis: cultivar, manejo hídrico e herbicida. Jaboticabal/SP, 2015.

Condição	Altura de Plantas (cm)			
	3 DAA	7 DAA	14 DAA	21 DAA
Cultivar				
Convencional	10,58 a	11,90 a	15,06 a	17,79 b
RR	10,50 a	12,06 a	15,52 a	18,63 a
Manejo Hídrico (MPa)				
-0,03	10,97 a	13,06 a	18,16 a	23,88 a
-0,07	10,66 ab	12,38 a	15,72 b	18,13 b
-0,5	10,00 b	10,50 b	12,00 c	12,63 c
Herbicida				
Com	10,46 a	11,92 a	15,13 a	18,17 a
Sem	10,63 a	12,04 a	15,46 a	18,25 a
F Cultivar (C)	0,12 ^{ns}	0,47 ^{ns}	2,56 ^{ns}	4,92*
Manejo hídrico (M)	5,58**	39,54**	155,95**	298,82**
Herbicida (H)	0,48 ^{ns}	0,26 ^{ns}	1,35 ^{ns}	0,05 ^{ns}
(C) x (M)	2,28 ^{ns}	0,56 ^{ns}	0,35 ^{ns}	1,49 ^{ns}
(C) x (H)	2,97 ^{ns}	2,93 ^{ns}	0,53 ^{ns}	3,15 ^{ns}
(M) x (H)	0,14 ^{ns}	0,61 ^{ns}	1,43 ^{ns}	0,20 ^{ns}
(C) x (M) x (H)	0,68 ^{ns}	0,20 ^{ns}	0,48 ^{ns}	0,23 ^{ns}
C.V. (%)	7,9	7,0	6,5	7,2
d.m.s. (C)/(H)	0,49	0,49	0,58	0,76
d.m.s. (M)	0,49	0,73	0,86	1,12

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade; * Significativo ao nível de 5% de probabilidade; ^{ns} Não significativo.

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05). DAA= dias após a aplicação; RR= soja transgênica.

O crescimento das plantas é considerado um dos processos mais sensíveis à escassez hídrica. Quando submetidas a mesma, há uma redução no teor de água nos tecidos das plantas, ocasionando assim uma baixa pressão de turgescência nas células, e que tem uma ação direta na quantidade e qualidade do crescimento da planta que dependem da divisão celular, alargamento e diferenciação, de modo que todos estes eventos são afetados pelo estresse hídrico (CABUSLAY et al., 2002; CHAITANYA et al., 2003; KARTHIKEYAN et al., 2007; JALEEL et al., 2008; SHAO et al., 2008).

Para as demais avaliações aos 14 e 21 DAA observou-se que, as plantas mantidas sob uma escassez hídrica moderada (tensão mínima de -0,07 MPa), também apresentaram redução na altura em comparação as plantas mantidas sem estresse hídrico (Tabela 3).

Estes resultados evidenciam que, embora uma restrição hídrica moderada (-0,07 Mpa) não seja considerada uma condição crítica de estresse, quando as plantas são submetidas a essas condições por um longo período de tempo, há uma redução no seu desenvolvimento, o que pode ter um impacto direto no rendimento produtivo desta cultura.

Foi observado que a pulverização do herbicida fomesafen não afetou a altura das plantas de soja em nenhuma das avaliações realizadas no estudo (Tabela 3), conferindo assim boa seletividade deste herbicida à cultura da soja.

Para o estágio V4 foi observado que, em todas as avaliações a cultivar transgênica apresentou maior altura das plantas em comparação a cultivar convencional (Tabela 4).

No estágio fenológico V4 ambas as cultivares foram afetadas negativamente quando mantidas sob condições de déficit hídrico (Tabela 4), uma vez que, para todas as avaliações realizadas nas plantas mantidas em solo com manejo hídrico mínimo de (-0,07 MPa) observou-se menor altura em comparação as plantas mantidas sem estresse hídrico. Sendo que essa redução na altura das plantas foi mais acentuada para as plantas submetida ao tratamento com uma escassez hídrica severa (solo com tensão mínima de -0,5 MPa).

Pesquisas tem evidenciado que sob escassez hídrica as plantas reduzem o seu crescimento e a sua área foliar, como resposta às perdas de água pela

fotorrespiração (LIU et al., 2003; MAK et al., 2014). Sabe-se que no estágio fenológico V4 de desenvolvimento as plantas já apresentam uma área foliar relativamente elevada, caracterizando assim uma maior sensibilidade ao déficit hídrico, pois neste estágio uma maior área foliar fica exposta a radiação solar, provocando maiores perdas de água dos tecidos pela fotorrespiração (CABUSLAY et al., 2002), causa esta, tem um efeito direto no crescimento das plantas.

Tabela 4. Valores médios verificados para altura de plantas de soja, submetidas à aplicação do herbicida fomesafen no estágio fenológico V4, obtidos no desdobramento dos graus de liberdade das variáveis: cultivar, manejo hídrico e herbicida. Jaboticabal/SP, 2015.

Condição	Altura de Plantas (cm)			
	3 DAA	7 DAA	14 DAA	21 DAA
Cultivar				
Convencional	15,90 b	18,52 b	22,58 b	28,42 b
RR	17,29 a	20,07 a	24,54 a	30,63 a
Manejo Hídrico (MPa)				
-0,03	19,72 a	24,03 a	30,16 a	38,47 a
-0,07	16,22 b	18,88 b	23,41 b	29,78 b
-0,5	13,84 c	14,98 c	17,13 c	20,31 c
Herbicida				
Com	16,54 a	19,21 a	23,15 a	28,85 a
Sem	16,64 a	19,38 a	23,98 a	30,19 a
F Cultivar (C)	7,32*	6,94*	7,96**	7,92**
Manejo hídrico (M)	43,77**	79,94**	117,47**	178,48**
Herbicida (H)	0,04 ^{ns}	0,08 ^{ns}	1,44 ^{ns}	2,88 ^{ns}
(C) x (M)	0,59 ^{ns}	0,04 ^{ns}	0,13 ^{ns}	1,11 ^{ns}
(C) x (H)	1,02 ^{ns}	1,48 ^{ns}	4,16*	7,62**
(M) x (H)	0,71 ^{ns}	1,09 ^{ns}	1,02 ^{ns}	0,22 ^{ns}
(C) x (M) x (H)	0,20 ^{ns}	0,35 ^{ns}	0,11 ^{ns}	0,62 ^{ns}
C.V. (%)	10,8	10,5	10,2	9,2
d.m.s. (C)/(H)	1,05	1,19	1,41	1,59
d.m.s. (M)	1,54	1,75	2,08	2,35

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade; * Significativo ao nível de 5% de probabilidade; ^{ns} Não significativo.

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05). DAA= dias após a aplicação; RR= soja transgênica.

Assim como no estágio fenológico V2 de desenvolvimento, a pulverização do fomesafen não afetou o crescimento das plantas de soja no estágio fenológico V4 (Tabela 4), o que confere uma boa seletividade do fomesafen à cultura da soja.

Corroborando os resultados ora encontrados Correia et al. (2008) também relataram que a pulverização do fomesafen não afetou o crescimento das plantas de soja.

No entanto, a interação entre cultivar e herbicida mostrou que, nas avaliações aos 14 e 21 DAA do fomesafen houve uma redução na altura das plantas de soja cultivar convencional (Tabela 5), diferente da cultivar transgênica que não foi afetada pela aplicação deste herbicida. Estes resultados são indicativos de que, a seletividade do fomesafen pode apresentar diferenças entre as cultivares de soja. De modo que, o conhecimento do estágio fenológico em que a cultura encontra-se no momento da pulverização é de fundamental importância, garantindo com isso uma boa seletividade deste herbicida.

Tabela 5. Valores médios verificados para altura de plantas de soja, submetidas à aplicação do herbicida fomesafen no estágio fenológico V4, obtidos no desdobramento dos graus de liberdade da interação entre cultivar e herbicida. Jaboticabal/SP, 2015.

Interação	Altura de Plantas (cm)							
	3 DAA		7 DAA		14 DAA		21 DAA	
Cultivar	Herbicida							
	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem
Convencional	-	-	-	-	21,46 bB	23,71 aA	26,67 bB	30,17 aA
RR	-	-	-	-	24,83 aA	24,25 aA	31,04 aA	30,21 aA
d.m.s. (Linha)/(Coluna)	-		-		1,99		2,25	

Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

DAA= dias após a aplicação; RR= soja transgênica.

Não foram observadas diferenças significativas na massa seca da parte aérea e de raízes entre as cultivares convencional e transgênica no estágio V2 (Tabela 6). No entanto, no estágio V4 a massa seca da parte aérea da cultivar transgênica foi maior em comparação com a cultivar convencional. Diferente da massa seca de raiz, que apresentou maiores valores para a cultivar convencional. Embora não tenha sido encontrado na literatura explicação para tais resultados, é possível que estas respostas estejam relacionadas às características genéticas entre as cultivares.

Os dados mostrados indicaram que os diferentes manejos hídricos afetaram a massa seca da parte aérea e das raízes, mesmo em condições de uma escassez hídrica moderada (-0,07 MPa). Foi observada uma redução de 43,6 e 32,8% no acúmulo de massa seca na parte aérea e nas raízes no estágio V2 e uma redução

de 47,9 e 58,2% na massa seca na parte aérea e nas raízes no estágio V4, respectivamente, para as plantas conduzidas sob estresse hídrico de -0,07 MPa (Tabela 6).

Tabela 6. Valores médios verificados para massa seca da parte aérea e de raízes de plantas de soja, submetidas à aplicação do herbicida fomesafen em diferentes estádios fenológicos, obtidos no desdobramento dos graus de liberdade das variáveis principais: cultivar, manejo hídrico e herbicida. Jaboticabal/SP, 2015.

Condição	Massa Seca da Parte Aérea e Raízes (g)			
	V2		V4	
	MSPA	MSR	MSPA	MSR
Cultivar				
Convencional	0,897 a	0,403 a	2,672 b	1,383 a
RR	0,913 a	0,402 a	3,112 a	1,11 b
Manejo Hídrico (MPa)				
-0,03	1,49 a	0,61 a	5,18 a	2,39 a
-0,07	0,84 b	0,41 b	2,70 b	1,00 b
-0,5	0,38 c	0,19 c	0,80 c	0,34 c
Herbicida				
Com	0,82 b	0,38 b	2,86 a	1,10 b
Sem	0,99 a	0,43 a	2,92 a	1,39 a
F Cultivar (C)	0,052 ^{ns}	0,002 ^{ns}	11,88**	13,24**
Manejo hídrico (M)	81,32**	101,47**	393,56**	259,69**
Herbicida (H)	6,01*	5,49*	0,26 ^{ns}	15,067**
(C) x (M)	0,09 ^{ns}	0,089 ^{ns}	4,06*	18,678**
(C) x (H)	1,49 ^{ns}	1,347 ^{ns}	1,79 ^{ns}	13,219**
(M) x (H)	1,98 ^{ns}	2,33 ^{ns}	0,057 ^{ns}	11,842**
(C) x (M) x (H)	0,89 ^{ns}	0,608 ^{ns}	1,18 ^{ns}	6,688**
C.V. (%)	27,2	20,7	15,3	20,8
d.m.s. (C)/(H)	0,14	0,05	0,26	0,15
d.m.s. (M)	0,21	0,07	0,38	0,22

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade; * Significativo ao nível de 5% de probabilidade; ^{ns} Não significativo.

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05). MSPA= massa seca da parte aérea; MSR= massa seca de raízes; RR= soja transgênica.

Contudo, nas condições hídricas mínimas de -0,5 MPa essa redução foi ainda maior, alcançando uma redução de 74,5 e 68,9% na massa seca na parte aérea e nas raízes no estágio V2 e redução de 84,6 e 85,8% na massa seca na parte aérea e nas raízes no estágio V4, respectivamente. Mak et al. (2014) relataram a ocorrência de redução na massa seca da parte aérea de plantas de soja submetidas

a condições de escassez hídrica, o que corrobora os resultados ora encontrados. Liu et al. (2003) também observaram que a escassez hídrica reduziu a área foliar das plantas de soja, limitando assim o seu desenvolvimento.

Quanto ao efeito do herbicida fomesafen, nota-se que a sua pulverização no estágio V2 reduziu a massa seca da parte aérea assim como também a massa seca das raízes (Tabela 6). No entanto, apenas a massa seca das raízes foram afetadas quando pulverizado o fomesafen no estágio V4.

Por sua vez, Correia et al. (2008), ao avaliar a pulverização do herbicida fomesafen aplicado quando as plantas encontravam-se no estágio fenológico V3, não observam redução na massa seca da parte aérea das plantas de soja, o que não corrobora com os resultados encontrados para o estágio V4. Dvoranen et al. (2008) também relataram que a pulverização sequencial do fomesafen nos estágios fenológicos V3 e V5 não afetou a massa seca da parte aérea e de raízes, porém no estudo ora avaliado tanto a massa seca da parte aérea como das raízes foram afetadas no estágio V2 e a massa seca de raízes no estágio V4 (Tabela 6).

Para o primeiro experimento, realizado no estágio V2, não foi observada nenhuma interação entre os fatores principais estudados, tanto para massa seca da parte aérea como de raízes das plantas de soja, submetidas à aplicação do herbicida fomesafen (Tabela 6). Já, no segundo experimento, realizado no estágio V4, verificou-se que em condições de escassez hídrica moderada (-0,07 MPa) a cultivar convencional apresentou menor massa seca da parte aérea em comparação com a cultivar transgênica (Tabela 6). Neste estudo, evidenciou-se uma maior tolerância da cultivar BRS valiosa (RR) às condições de déficit hídrico em comparação a MG/BR 46 Conquista (convencional).

Quando as plantas foram mantidas sob condições hídricas adequadas, foi observado maior acúmulo de massa seca de raízes para a cultivar MG/BR 46 Conquista (convencional) quando comparada com a cultivar BRS valiosa (RR) (Tabela 7). No entanto, nas condições de restrição hídrica moderada (-0,07 Mpa) observou-se que a massa seca de raízes da cultivar convencional foi reduzida em 67,4% e da cultivar transgênica em 43,3% o que indicou uma maior sensibilidade da cultivar convencional quando esta é submetida a uma condição de escassez hídrica moderada.

Tabela 7. Valores médios verificados para massa seca da parte aérea e de raízes de plantas de soja, submetidas à aplicação do herbicida fomesafen em diferentes estádios fenológicos, obtidos no desdobramento dos graus de liberdade das interações entre: cultivar e manejo hídrico, cultivar e herbicida e manejo hídrico e herbicida. Jaboticabal/SP, 2015.

Interação	Massa Seca da Parte Aérea e Raízes (g)							
	V2				V4			
	MSPA		MSR		MSPA		MSR	
Cultivar								
Manejo hídrico (MPa)	Conv.	RR	Conv.	RR	Conv.	RR	Conv.	RR
-0,03	-	-	-	-	5,00 aA	5,35 aA	2,85 aA	1,94 aB
-0,07	-	-	-	-	2,24 bB	3,16 bA	0,93 bA	1,10 bA
-0,5	-	-	-	-	0,77 cA	0,82 cA	0,37 cA	0,32 cA
d.m.s. (Linha)	-		-		0,54		0,32	
d.m.s. (Coluna)	-		-		0,45		0,26	
Herbicida								
Cultivar	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem
Convencional	-	-	-	-	-	-	1,10 aB	1,66 aA
RR	-	-	-	-	-	-	1,10 aA	1,12 bA
d.m.s. (Linha)/(Colina)	-		-		-		0,22	
Herbicida								
Manejo hídrico	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem
-0,03	-	-	-	-	-	-	1,99 aB	2,79 aA
-0,07	-	-	-	-	-	-	0,97 bA	1,04 bA
-0,5	-	-	-	-	-	-	0,34 cA	0,35cA
d.m.s. (Linha)	-		-		-		0,26	
d.m.s. (Coluna)	-		-		-		0,32	

Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

MSPA= massa seca da parte aérea; MSR= massa seca de raízes; RR= soja transgênica.

A pulverização do herbicida fomesafen no estágio V4 reduziu o conteúdo de massa seca de raiz da cultivar convencional, porém de forma oposta a pulverização do fomesafen não proporcionou nenhum impacto na massa seca de raízes da cultivar transgênica (Tabela 7).

A interação entre diferentes manejos hídricos e a pulverização do fomesafen foi significativa apenas no estágio V4 para a massa seca de raízes nas plantas conduzidas sem estresse hídrico (-0,03 MPa), uma vez que, foi observado redução na massa seca de raízes com a pulverização do fomesafen (Tabela 7). Já, dentro de

cada nível de herbicida registrou-se decréscimos no acúmulo de massa seca de raízes das plantas de soja com o aumento do estresse hídrico.

De um modo geral, pode-se observar que no estágio V2 a cultivar convencional apresentou uma maior fixação biológica de nitrogênio em comparação com a cultivar transgênica utilizada no presente estudo, resultado este que pode ser confirmado por meio das avaliações de número e massa seca de nódulo (Tabela 8). No entanto, para o estudo realizado no estágio V4 não houve diferença significativa entre as cultivares avaliadas.

Verificou-se que, o número e a massa seca de nódulos foram drasticamente afetados pela restrição hídrica imposta às plantas de soja (Tabela 8). No estágio V2, apenas as plantas conduzidas sem estresse hídrico (-0,03 MPa) apresentaram infecções pelos rizóbios.

Ressalta-se que, essa inibição de 100% da fixação biológica de nitrogênio nas plantas mantidas em solo com escassez hídrica moderada e severa (-0,07 e 0,5 MPa) pode ser devido à restrição hídrica ter ocorrido no estágio inicial das plantas, coincidindo com o início da nodulação pelas bactérias fixadoras de nitrogênio (RYLE et al., 1979).

No estágio V4 também foi observado que a fixação biológica de nitrogênio foi afetada negativamente pela restrição hídrica imposta às plantas de soja no presente estudo. Nota-se uma redução de 79,4 e 96,4% no número de nódulos quando mantidas em solo com manejo hídrico de -0,07 e -0,5 MPa, respectivamente (Tabela 8). O mesmo foi observado para a massa seca de nódulos que também foi afetada quando as plantas foram mantidas em uma condição de escassez hídrica.

Registrou-se que a pulverização do fomesafen afetou o número e a massa seca de nódulos quando pulverizado no estágio V2. Por outro lado, quando a pulverização do fomesafen foi realizada no estágio V4 não foi verificado redução no número de nódulos, porém a sua massa seca foi afetada pela pulverização do fomesafen neste estágio. Ressalta-se que a massa seca de nódulos é definida como sendo um dos parâmetros mínimos utilizados para a avaliação da eficiência da fixação biológica de nitrogênio para a cultura da soja (SOUZA et al., 2008).

Tabela 8. Valores médios verificados para o número e massa seca de nódulos de *Bradyrhizobium japonicum* e *Bradyrhizobium elkanii* nas plantas de soja, submetidas à aplicação do herbicida fomesafen em diferentes estádios fenológicos, obtidos no desdobramento dos graus de liberdade das variáveis principais: cultivar, manejo hídrico e herbicida. Jaboticabal/SP, 2015.

Condição	Fixação Biológica de Nitrogênio			
	V2 ¹		V4	
	Nº Nódulos	MS Nódulos (g)	Nº Nódulos	MS Nódulos (g)
Cultivar				
Convencional	0,768 a	0,018 a	46,88 a	0,14 a
RR	0,473 b	0,007 b	48,96 a	0,15 a
Manejo Hídrico (MPa)				
-0,03	1,86 a	0,381 a	115,75 a	0,398 a
-0,07	0,00 b	0,00 b	23,81 b	0,035 b
-0,5	0,00 b	0,00 b	4,19 c	0,002 c
Herbicida				
Com	0,00 b	0,00 b	46,42 a	0,13 b
Sem	1,24 a	0,03 a	49,42 a	0,16 a
F Cultivar (C)	9,53**	23,83**	0,32 ^{ns}	0,75 ^{ns}
Manejo hídrico (M)	169,38**	132,73**	343,26**	641,35**
Herbicida (H)	169,38**	132,73**	0,65 ^{ns}	8,34**
(C) x (M)	9,53**	23,83**	8,12**	3,85*
(C) x (H)	9,53**	23,83**	2,13 ^{ns}	6,65*
(M) x (H)	169,38**	132,73**	0,41 ^{ns}	4,71*
(C) x (M) x (H)	9,53**	23,83**	0,96 ^{ns}	7,18*
C.V. (%)	53,2	60,1	26,8	23,9
d.m.s. (C)/(H)	0,19	0,01	7,53	0,02
d.m.s. (M)	0,28	0,01	11,1	0,03

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade; * Significativo ao nível de 5% de probabilidade; ^{ns} Não significativo.

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05).

Nº Nódulos= número de nódulos; MS Nódulos= massa seca de nódulos; RR= soja transgênica.

¹Os dados foram transformados de acordo com a equação " $y = \sqrt{x}$ " apenas os dados do estágio fenológico V2.

Sabe-se que, normalmente no manejo de plantas daninhas a pulverização de latifolicidas ocorre na cultura da soja entre os estádios V2 e V4, devido principalmente ao estágio de crescimento das plantas daninhas, o que é preocupante, pois o fomesafen poderá influenciar a produtividade da cultura independente de que visualmente não determine grandes injúrias às plantas de soja

(Tabela 1 e 2), uma vez que, para a cultura da soja a sua nutrição com nitrogênio deve-se principalmente ao N₂ atmosférico, para a fixação biológica.

Alguns estudos corroboram aos ora observados, como o de Santos et al. (2006a) que registraram que o fomesafen aplicado isoladamente e em mistura com o fluazifop-p-butyl em meio de cultura apresentaram efeito negativo sobre o crescimento de estirpes de *Rhizobium*. Dvoranen et al. (2008) também avaliaram os impactos da pulverização sequencial dos herbicidas fomesafen/[fomesafen+fluazifop-p-butyl] nos estádios fenológicos da soja V3 e V5, sobre a fixação biológica de nitrogênio e, verificaram que o número de nódulos foram reduzidos pelas pulverizações sequenciais destes herbicidas.

Ao analisar as interações ocorridas, nota-se que para a interação cultivar e manejo hídrico, no estágio V2 que, quando as plantas foram conduzidas sem estresse hídrico (-0,03 MPa) a cultivar convencional apresentou maiores médias de número e massa seca de nódulos em comparação com a cultivar transgênica (Tabela 9).

Para o estágio V4 também foi observado que sem estresse hídrico (-0,03 MPa) a cultivar convencional também apresentou maiores médias quanto ao número de nódulos. Embora, não tenha sido observada diferença significativa para avaliação de massa seca de nódulo.

No entanto, quando as plantas foram submetidas a uma condição de escassez hídrica moderada (-0,07 MPa) foi observado que a cultivar MG/BR 46 Conquista (convencional) apresentou uma maior sensibilidade ao déficit hídrico em comparação a cultivar BRS valiosa (RR) no estágio V4 (Tabela 9), uma vez que, foi verificado uma redução no número de nódulos de 89,1% para a cultivar convencional e de 67,4% para a cultivar transgênica. Redução esta, que também foi observada para a massa seca de nódulos quando a cultivar convencional foi conduzida a uma condição de escassez hídrica moderada (-0,07 MPa).

Trabalhos têm apontado diferenças entre genótipos de soja, quanto à capacidade de sustentar a fixação biológica de nitrogênio sob condições de escassez hídrica no solo (VADEZ; SINCLAIR, 2001; CHEN et al., 2007; SINCLAIR et al., 2007), com relatos de possíveis expressões de genes que codificam proteínas

envolvidas na resposta ao déficit hídrico (CLEMENT et al., 2006; 2008; MARINO et al., 2006).

Tabela 9. Valores médios verificados para o número e massa seca de nódulos de *Bradyrhizobium japonicum* e *Bradyrhizobium elkanii* nas plantas de soja, submetidas à aplicação do herbicida fomesafen em diferentes estádios fenológicos, obtidos no desdobramento dos graus de liberdade das interações entre: cultivar e manejo hídrico, cultivar e herbicida e manejo hídrico e herbicida. Jaboticabal/SP, 2015.

Fixação Biológica de Nitrogênio								
Interação	V2 ¹				V4			
	Nº Nódulos		MS Nódulos (g)		Nº Nódulos		MS Nódulos (g)	
Cultivar								
M. Hídrico (MPa)	Conv.	RR	Conv.	RR	Conv.	RR	Conv.	RR
-0,03	2,30 aA	1,42 aB	0,05 aA	0,02 aB	123,75 aA	107,75 aB	0,41 aA	0,388 aA
-0,07	0,0 bA	0,0 bA	0,0bA	0,0 bA	13,50 bB	35,13 bA	0,01 bB	0,058 bA
-0,5	0,0 bA	0,0 bA	0,0 bA	0,0 bA	3,75 bA	5,00 cA	0,00 bA	0,002 cA
d.m.s. (Linha)	0,40		0,01		15,70		0,042	
d.m.s. (Coluna)	0,34		0,01		13,05		0,035	
Herbicida								
Cultivar	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem
Convencional	0,0 aB	1,54 aA	0,0 aB	0,036 aA	-	-	0,113 bB	0,168 aA
RR	0,0 aB	0,95 bA	0,0 aB	0,15 bA	-	-	0,148 aA	0,151 aA
d.m.s. (Linha)/(Coluna)	0,27		0,01		-		0,029	
Herbicida								
M. Hídrico (MPa)	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem
-0,03	0,0 aB	3,72 aA	0,0 aB	0,076 aA	-	-	0,362 aB	0,434 aA
-0,07	0,0 aA	0,0 bA	0,0 aA	0,00 bA	-	-	0,028 bA	0,043 bA
-0,5	0,0 aA	0,0 bA	0,0 aA	0,00 bA	-	-	0,002 bA	0,002 bA
d.m.s. (Linha)	0,34		0,01		-		0,04	
d.m.s. (Coluna)	0,4		0,01		-		0,04	

Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05).

Nº Nódulos= número de nódulos; MS Nódulos= massa seca de nódulos; RR= soja transgênica; M. hídrico= manejo hídrico.

¹Os dados foram transformados de acordo com a equação “ $y = \sqrt{x}$ ” apenas os dados do estágio fenológico V2.

No entanto, Silvente et al. (2012) ao avaliar a fixação biológica do nitrogênio em cultivares de soja (sensível e tolerante à escassez hídrica) observaram que para ambas as cultivares houve uma redução drástica na nodulação. Contudo, os pesquisadores relataram que a atividade da nitrogenase não foi afetada pela seca.

Na interação cultivar e herbicida, foi observado que independente da cultivar, a pulverização do herbicida fomesafen afetou o número e a massa seca de nódulos no estágio V2 (Tabela 9). Embora não tenha sido observado efeito da aplicação do herbicida fomesafen sobre o número de nódulos entre as cultivares quando pulverizado no estágio V4, nota-se que, a massa seca de nódulos da cultivar convencional foi afetada pela aplicação deste herbicida, diferente da cultivar transgênica que não foi afetada pelo uso do fomesafen (Tabela 9).

Ao analisar a interação entre manejo hídrico e herbicida, verifica-se no estágio V2 que apenas nas plantas conduzidas sob regime hídrico adequado (tensão mínima de -0,03 MPa) ocorreu redução do número e massa seca de nódulos com a pulverização do fomesafen (Tabela 9). Resultado este, também observado no estágio V4 para a massa seca de nódulos.

Em um estudo realizado por Procópio et al. (2004) em condições de laboratório, com intuito de avaliar a toxicidade de diversos herbicidas frequentemente empregados em lavouras de soja sobre o crescimento de estirpes de *Bradyrhizobium*, observaram que o fomesafen apresentou alta toxicidade às estirpes avaliadas. Santos et al. (2006b) ao estudar o efeito de diferentes herbicidas sobre a flora microbiana do solo também relataram que a pulverização do herbicida fomesafen foi a que causou o maior impacto negativo sobre a atividade microbiana do solo. Além de afetar a fixação biológica de nitrogênio, a utilização do fomesafen em doses elevadas reduz a atividade de microrganismos em geral, provocando graves alterações na estrutura da comunidade microbiana do solo (WU et al., 2014).

Conclusões

Sob escassez hídrica as plantas de soja apresentaram uma menor fitotoxicidade visual quando submetida à pulverização do herbicida fomesafen.

Em condição de escassez hídrica moderada (-0,07 MPa) a cultivar convencional apresenta um menor desenvolvimento em relação a cultivar transgênica.

A cultivar transgênica mostrou ter uma maior capacidade em sustentar a fixação biológica de nitrogênio quando submetida a uma condição de escassez hídrica moderada (-0,07 MPa) em relação a cultivar convencional.

Referências

ABBOTT, L. B.; STERLING, T. M. Recovery of African rue seedlings from water stress: Implications for recruitment and invasion. African rue (*Peganum harmala*) seedling response to herbicides applied under water-deficit stress. **Weed Science**, v. 54, n. 1, p. 198-204, 2006.

ASHRAF, M. Inducing drought tolerance in plants: recent advances. **Biotechnology Advances**, v. 28, n. 1, p. 169-183, 2010.

ASHRAF, M.; HARRIS, P. J. C. Photosynthesis under stressful environments: an overview. **Photosynthetica**, v. 51, n. 2, p. 163-190, 2013.

AFZAL, A.; GULZAR, I.; SHAHBAZ, M.; ASHRAF, M. Water deficit-induced regulation of growth, gas exchange, chlorophyll fluorescence, inorganic nutrient accumulation and antioxidative defense mechanism in mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek]. **Journal of Applied Botany and Food Quality**, v. 87, n. 1 p. 147-156 2014.

BALARDIN, R. S.; SILVA, F. D.; DEBONA, D.; CORTE, G. D.; FAVERA, D. D.; TORMEN, N. R. Tratamento de sementes com fungicidas e inseticidas como redutores dos efeitos do estresse hídrico em plantas de soja. **Ciência Rural**, v. 41, n. 7, p. 1120-1126, 2011.

BENEKOS, K.; KISSOUDIS, C.; NIANIOU-OBEIDAT, I.; LABROU, N.; MADEISIS, P.; KALAMAKI, M.; MAKRIS, A; TSAFTARIS, A. Overexpression of a specific soybean GmGSTU4 isoenzyme improves diphenyl ether and chloroacetanilide herbicide

tolerance of transgenic tobacco plants. **Journal of Biotechnology**, v. 150, n. 1, p. 195-201, 2010.

CABUSLAY, G. S.; ITO, O.; ALEJAR, A. A. Physiological evaluation of responses of rice (*Oryza sativa* L.) to water deficit. **Plant Science**, v. 163, n. 4, p. 815-827, 2002.

CORREIA, N. M.; DURIGAN, J. C.; LEITE, G. J. Seletividade da soja transgênica tolerante ao glyphosate e eficácia de controle de *Commelina benghalensis* com herbicidas aplicados isolados e em misturas. **Bragantia**, v. 67, n. 3, p. 663-671, 2008.

COSTA, R. C. L.; LOBATO, A. K. S.; OLIVEIRA NETO, C. F.; MAIA, P. S. S.; ALVES, G. A. R.; LAUGHINGHOUSE, H. D. Biochemical and physiological responses in two *Vigna unguiculata* (L.) Walp. cultivars under water stress. **Journal of Agronomy**, v. 7, n. 1, p. 98-101, 2008.

CHAITANYA, K. V.; JUTUR, P. P.; SUNDAR, D.; REDDY, A. R. Water stress effects on photosynthesis in different mulberry cultivars. **Plant Growth Regulation**, v.40, n.1, p.75-80, 2003.

CHEN, P.; SNELLER, C. H.; PURCELL, L. C.; SINCLAIR, T. R.; KING, C. A.; ISHIBASHI, T. Registration of soybean germplasm lines R01-416F and R01-581F for improved yield and nitrogen fixation under drought stress. **Journal of Plant Registrations**, v. 1, n. 2, p. 166-167, 2007.

CLEMENT, M.; BONCOMPAGNI, E.; ALMEIDA-ENGLER, J.; HEROUART, D. Isolation of a novel nodulin: a molecular marker of osmotic stress in *Glycine max/Bradyrhizobium japonicum* nodule. **Plant, Cell & Environment**, v. 29, n. 9, p. 1841-1852, 2006.

CLEMENT, M.; LAMBERT, A.; HEROUART, D.; BONCOMPAGNI, E. Identification of new up-regulated genes under drought stress in soybean nodules. **Gene**, v. 426, n. 1, p. 15-22, 2008.

CUMMINS, I.; DIXON, D. P.; FREITAG-POHL, S.; SKIPSEY, M.; EDWARDS, R. Multiple roles for plant glutathione transferases in xenobiotic detoxification. **Drug Metabolism Reviews**, v. 43, n. 2, p. 266-280, 2011.

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

DEMIRTAS, Ç.; YAZGAN, S.; CANDOGAN, B. N.; SINCIK, M.; BÜYÜKCANGAZ, H.; GÖKSOY, A. T. Quality and yield response of soybean (*Glycine max* L. Merrill) to drought stress in sub-humid environment. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 41, p. 6873-6881, 2010.

DIXON, D. P.; SKIPSEY, M.; EDWARDS, R. Roles for glutathione transferases in plant secondary metabolism. **Phytochemistry**, v. 71, n. 4, p. 338-350, 2010.

DOGAN, E.; KIRNAK, H.; COPUR, O. Deficit irrigations during soybean reproductive stages and CROPGRO-soybean simulations under semi-arid climatic conditions. **Field Crops Research**, v. 103, n. 2, p. 154-159, 2007.

DVORANEN, E. C.; OLIVEIRA Jr., R. S.; CONSTANTIN, J.; CAVALIERI, S. D.; BLAINSKI, E. Nodulação e crescimento de variedades de soja RR sob aplicação de glyphosate, fluazifop-p-butyl e fomesafen. **Planta Daninha**, v. 26, n. 3, p. 619-625, 2008.

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

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; CAMPO, R. J.; GRAHAM, P. H. The importance of nitrogen fixation to soybean cropping in South America. In: WERNER, D.; NEWTON, W.E. (Ed.). Nitrogen fixation in agriculture: forestry ecology and environment. Dordrecht: **Kluwer Academic Publishers**, 2005. p. 25-42.

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; CAMPO, R. J.; CRISPINO, C. C.; MORAES, J. Z.; SIBALDELLI, R. N. R.; MENDES, I. C.; ARIHARA, J. Nitrogen nutrition of soybean in Brazil: Contributions of biological N₂ fixation and N fertilizer to grain yield. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 86, n. 4, p. 927-939, 2006.

HUNGRIA, M.; MENDES, I. C. **Nitrogen Fixation with Soybean**: The Perfect Symbiosis? In: de Bruijn FJ (ed) Biological Nitrogen Fixation. Wiley-Blackwell, New Jersey, 2014.

JALEEL, C. A.; MANIVANNAN, P.; LAKSHMANAN, G. M. A.; GOMATHINAYAGAM, M.; PANNEERSELVAM, R. Alterations in morphological parameters and photosynthetic pigment responses of *Catharanthus roseus* under soil water deficits. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 61, n. 2, p. 298-303, 2008.

KARTHIKEYAN, B.; JALEEL, C. A.; GOPI, R.; DEIVEEKASUNDARAM, M. Alterations in seedling vigour and antioxidant enzyme activities in *Catharanthus roseus* under seed priming with native diazotrophs. **Journal of Zhejiang University-Science B**, v. 8, n. 7, p. 453-457, 2007.

KING, C. A.; PURCELL, L. C. Genotypic variation for shoot N concentration and response to water deficits in soybean. **Crop Science**, v. 46, n. 6, p. 2396-2402, 2006.

KLAR, A. E. Evapotranspiração. In: KLAR, A. E. **A água no sistema solo-planta-atmosfera**. 2. ed. São Paulo: Nobel, 1984. p. 408.

LEE, H. J.; DUKE, M. V.; DUKE, S. O. Cellular localization of protoporphyrinogen-oxidizing activities of etiolated barley (*Hordeum vulgare* L.) leaves (relationship to mechanism of action of protoporphyrinogen oxidase-inhibiting herbicides). **Plant Physiology**, v. 102, n. 3, p. 881-889, 1993.

LIU, F.; JENSEN, C. R.; ANDERSEN, M. N. Hydraulic and chemical signals in the control of leaf expansion and stomatal conductance in soybean exposed to drought stress. **Functional Plant Biology**, v. 30, n. 1, p. 65-73, 2003.

MARINO, D.; GONZÁLEZ, E. M.; ARRESE-IGOR, C. Drought effects on carbon and nitrogen metabolism of pea nodules can be mimicked by paraquat: evidence for the occurrence of two regulation pathways under oxidative stresses. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, n. 3, p. 665-673, 2006.

MASTRODOMENICO, A. T.; PURCELL, L. C.; KING, C. A. The response and recovery of nitrogen fixation activity in soybean to water deficit at different reproductive developmental stages. **Environmental and Experimental Botany**, v. 85, n. 1, p. 16-21, 2013.

MAK, M.; BABLA, M.; XU, S. C.; O'CARRIGAN, A.; LIU, X. H.; GONG, Y. M.; HOLFORD, P.; CHEN, Z. H. Leaf mesophyll K^+ , H^+ and Ca^{2+} fluxes are involved in drought-induced decrease in photosynthesis and stomatal closure in soybean. **Environmental and Experimental Botany**, v. 98, n. 1, p. 1-12, 2014.

MECKEL, L.; EGLI, D. B.; PHILLIPS, R. E.; RADCLIFFE, D.; LEGGETT, J. E. Effect of moisture stress on seed growth in soybeans. **Agronomy Journal**, v. 76, n. 4, p. 647-650, 1984.

PATTERSON, D. T. Effects of environmental stress on weed/crop interactions. **Weed Science**, v. 43, n. 3, p. 483-490, 1995.

PAIVA, A. S.; FERNANDES, E. J.; RODRIGUES, T. J.; TURCO, J. E. Condutância estomática em folhas de feijoeiro submetido a diferentes regimes de irrigação. **Engenharia Agrícola**, v.25, n.1, p.161-169, 2005.

PEREGOY, R. S.; KITCHEN, L. M.; JORDAN, P. W.; GRIFFIN, J. L. Moisture stress effects on the absorption, translocation, and metabolism of haloxyfop in johnsongrass (*Sorghum halepense*) and large crabgrass (*Digitaria sanguinalis*). **Weed Science**, v. 38, n. 4/5, p. 331-337, 1990.

PEREIRA, M. R. R.; KLAR, A. E.; MARTINS, D.; SOUZA, G. S. F.; VILLALBA, J. Effect of water stress on herbicide efficiency applied to *Urochloa decumbens*. **Ciencia e Investigación Agraria**, v. 39, n. 1, p. 211-220, 2012.

PROCOPIO, S. O.; SANTOS, J. B.; JACQUES, R. J. S.; KASUYA, M. C. M.; SILVA, A. A.; WERLANG, R. C. Crescimento de Estirpes de *Bradyrhizobium* sob Influencia dos Herbicidas Glyphosate Potassico, Fomesafen, Imazethapyr e Carfentrazone-Ethyl. **Revista Ceres**, v. 51, n.1, p. 179-188, 2004.

RAIJ BV, CANTARELLA H, QUAGGIO JA, FURLANI AMC. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2. ed. Campinas: IAC, (IAC. Boletim Técnico, 100), 1996. p. 285.

RYLE, G. J. A.; POWELL, C. E.; GORDON, A. J. The Respiratory Costs of Nitrogen Fixation in Soyabean, Cowpea, and White Clover II. COMPARISONS OF THE COST OF NITROGEN FIXATION AND THE UTILIZATION OF COMBINED NITROGEN. **Journal of Experimental Botany**, v. 30, n. 1, p. 145-153, 1979.

SANTOS, J. B.; SILVA, A. A.; COSTA, M. D.; JAKELAITIS, A.; VIVIAN, R.; SANTOS, E. A. Ação de herbicidas sobre o crescimento de estirpes de *Rhizobium tropici*. **Planta Daninha**, v. 24, n. 3, p. 457-465, 2006a.

SANTOS, J. B.; JAKELAITIS, A.; SILVA, A. A.; COSTA, M. D.; MANABE, A.; SILVA, M. C. S. Action of two herbicides on the microbial activity of soil cultivated with common bean (*Phaseolus vulgaris*) in conventional-till and no-till systems. **Weed Research**, v. 46, n. 4, p. 284-289, 2006b.

SINCLAIR, T. R.; PURCELL, L. C.; KING, C. A.; SNELLER, C. H.; CHEN, P.; VADEZ, V. Drought tolerance and yield increase of soybean resulting from improved symbiotic N₂ fixation. **Field Crops Research**, v. 101, n. 1, p. 68-71, 2007.

SILVA, F. C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. 627p.

SILVA A. R. A.; BEZERRA F. M. L.; LACERDA C.F.; PEREIRA FILHO J. V.; FREITAS C. A. S. Trocas gasosas em plantas de girassol submetidas à deficiência hídrica em diferentes estádios fenológicos. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, n. 1, p. 86-93, 2013.

SILVENTE, S.; SOBOLEV, A. P.; LARA, M. Metabolite adjustments in drought tolerant and sensitive soybean genotypes in response to water stress. **PLoS One**, v. 7, n. 6, p. e38554, 2012.

SHAO, H. B.; CHU, L. Y.; SHAO, M. A.; JALEEL, C. A.; HONG-MEI, M. Higher plant antioxidants and redox signaling under environmental stresses. **Comptes Rendus Biologies**, v. 331, n. 6, p. 433-441, 2008.

SOUZA, R. A.; HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; MACIEL, C. D.; CAMPO, R. J.; ZAIA, D. A. M. Minimal set of parameters for evaluation soil microbiota and biological nitrogen fixation in soybean. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 1, p. 83-91, 2008.

SOCIEDADE BRASILEIRA DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS - SBPCPD. **Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas**. Londrina: 1995. 42 p.

STREETER, J. G. Effects of drought on nitrogen fixation in soybean root nodules. **Plant, Cell & Environment**, v. 26, n. 8, p. 1199-1204, 2003.

SKIPSEY, M.; CUMMINS, I.; ANDREWS, C. J.; JEPSON, I.; EDWARDS, R. Manipulation of plant tolerance to herbicides through co-ordinated metabolic engineering of a detoxifying glutathione transferase and thiol cosubstrate. **Plant Biotechnology Journal**, v. 3, n. 4, p. 409-420, 2005.

THOMAS M.; ROBERTSON M. J.; FUKAI S.; PEOPLES M. B. The effect of timing and severity of water deficit on growth, development, yield accumulation and nitrogen fixation of mungbean. **Field Crops Research**, v. 86, n. 1, p. 67-80, 2004.

VADEZ, V.; SINCLAIR, T. R. Leaf ureide degradation and N₂ fixation tolerance to water deficit in soybean. **Journal of Experimental Botany**, v. 52, n. 354, p. 153-159, 2001.

WU. X.; XU, J.; DONG, F.; LIU, X.; ZHENG, Y. Responses of soil microbial community to different concentration of fomesafen. **Journal of hazardous materials**, v. 273, n. 1, p. 155-164, 2014.

CAPÍTULO 5 - SELETIVIDADE DO CHLORIMURON-ETHYL EM CULTIVARES DE SOJA SOB DIFERENTES MANEJOS HÍDRICOS

Resumo - O objetivo deste trabalho foi avaliar a seletividade do herbicida chlorimuron-ethyl, pulverizado em diferentes estádios fenológicos de desenvolvimento da soja, sob diferentes manejos hídricos no solo. Os estudos foram conduzidos em condições de casa-de-vegetação. Foram utilizadas duas cultivares de soja: MG/BR 46 Conquista (convencional) e BRS Valiosa (RR) submetidas aplicação do herbicida chlorimuron-ethyl na dose de 20 g i.a. ha⁻¹, em dois estádios fenológico (V2-primeiro trifólio aberto e V4-terceiro trifólio aberto); sob três condições hídricas no solo (-0,03; -0,07 e -0,5 MPa). Avaliou-se, a fitointoxicação e altura de plantas aos 3, 7, 14 e 21 dias após a aplicação do herbicida. Ao final do estudo, determinou-se a massa seca da parte aérea, massa seca raízes e nodulação do sistema radicular através do número e massa seca de nódulos. Constatou-se que em condições de estresse hídrico as plantas de soja apresentaram uma menor fitointoxicação visual quando submetida à pulverização do herbicida chlorimuron-ethyl. A pulverização do herbicida chlorimuron-ethyl reduziu o crescimento e o desenvolvimento das plantas de soja. Além de reduzir a infecção pelos rizóbios. A cultivar transgênica BRS Valiosa RR apresentou uma melhor fixação biológica de nitrogênio quando submetida a uma condição de escassez hídrica moderada (-0,07 MPa).

Palavras-chave: déficit hídrico, fitointoxicação, fixação simbiótica de N₂, *Glycine max*, ALS, .

Introdução

Os estresses abióticos são responsáveis por grandes perdas das culturas agrícolas. Entre estes, o déficit hídrico é considerado o mais limitante e severo estresse, pois causa perdas significativas na produção vegetal (COSTA et al., 2008; ASHRAF, 2010; BALARDIN et al., 2011; SILVA et al., 2013).

A restrição de água no solo causa um desequilíbrio entre a absorção de água pela raiz e a transpiração das folhas. Além disso, em resposta à restrição hídrica as plantas desencadeiam uma série de adaptações fisiológicas que tem efeitos deletérios, tais como: no comprometimento metabólico da maquinaria fotossintética, dano oxidativo, alterações hormonais e no acúmulo de proteínas relacionadas ao estresse, o que leva à interrupção dos processos fisiológicos e bioquímicos nas vias celulares e moleculares (DOGAN et al., 2007; ASHRAF, 2010; ASHRAF; HARRIS, 2013; GALMÉS et al., 2013; AFZAL et al., 2014).

Modificações das características anatômicas em plantas sob estresse hídrico, tem sido relatadas por pesquisadores como sendo um processo adaptativo específico das plantas a uma condição de restrição de água no solo, a exemplos do fechamento estomático, redução da densidade estomática, modificações na arquitetura e diminuição do número de folhas, diminuição da expansão foliar, alteração da relação xilema/floema, redução dos diâmetros dos vasos do xilema, diâmetros das células parenquimáticas, aumento do tecido vascular e espessura da parede celular (GUERFEL et al., 2009; KUTLU et al., 2009; MAKBUL et al., 2011; POLIZEL et al., 2011; GALMÉS et al., 2013; TRIPATHI et al., 2016).

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é a leguminosa mais importante do mundo, e vem sendo cada vez mais cultivada no Brasil nas últimas décadas. No entanto, o requerimento de água pela soja é alto e as plantas mostram baixa eficiência de uso da água (YANG et al., 2003).

Devido à soja ser uma cultura de sequeiro, a restrição hídrica representa um fator limitante importante para a produtividade. Em razão das maiores áreas de cultivo com a soja ser feita em áreas sem o uso de irrigação, os riscos no processo produtivo são elevados em função de restrições hídricas (BALARDIN et al., 2011), pois nos períodos de safra e entressafra a ocorrência de períodos prolongados de

estiagem, “os veranicos”, têm ocorrido cada vez mais frequentemente em regiões produtoras brasileiras.

Processos como a fixação biológica do nitrogênio (FBN) que contribuem para elevar a produção da cultura da soja (HUNGRIA et al., 2005; 2006; HUNGRIA; MENDES, 2014), também é reconhecido como sendo extremamente sensível ao déficit hídrico, com perdas imediatas na sua atividade (STREETER 2003; THOMAS et al., 2004; KING; PURCELL, 2006; CLEMENT et al., 2008; MASTRODOMENICO et al., 2013).

O uso de herbicidas tornou-se fundamental na agricultura, uma vez que é necessário um controle adequado das plantas daninhas para garantir o desenvolvimento das culturas. O chlorimuron-ethyl é um herbicida da família de sulfonilureia, amplamente utilizado na cultura da soja para o controle de plantas daninhas de folha larga (TAN et al., 2013)

Normalmente, a seletividade dos herbicidas é uma característica que permite controlar as plantas daninhas sem causar danos à cultura de interesse. No entanto, é possível que modificações anatômicas, fisiológicas e bioquímicas devido a estresses abióticos possam afetar as características das plantas, ocasionando uma maior sensibilidade ou tolerância a determinadas moléculas herbicidas.

Devido não ser descrito na literatura trabalhos de pesquisas que avaliaram a seletividade de herbicidas em cultivares de soja sob condições de restrição hídrica, objetivou-se estudar a seletividade do herbicida chlorimuron-ethyl, pulverizado em diferentes estádios de desenvolvimento da soja, cultivar convencional e transgênica, sob diferentes manejos de água no solo.

Material e Métodos

Dois experimentos foram conduzidos em condições-de-casa de vegetação, no Departamento de Produção Vegetal, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal/SP.

Foram utilizados nestes estudos dois cultivares de soja: MG/BR 46 Conquista (convencional) e BRS Valiosa (RR). Estas cultivares foram submetidas à pulverização do herbicida chlorimuron-ethyl na dose de 20 g i.a. ha⁻¹, quando

atingiram o estágio de desenvolvimento vegetativo V2 (primeiro trifólio aberto – primeiro estudo) e V4 (terceiro trifólio aberto – segundo estudo) (FEHR e CAVINESS, 1977), sob três condições hídricas de manejo de água no solo (-0,03; -0,07 e -0,5 MPa de tensão de água no solo).

Estes estudos foram instalados e conduzidos no delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, em um arranjo fatorial 3x2x2, sendo constituído de três manejos hídricos (-0,03; -0,07 e -0,5 MPa), duas cultivares de soja (convencional e RR) e duas doses de chlorimuron-ethyl (com e sem herbicida). No caso das avaliações de fitotoxicidade o fatorial foi 3x2, pois as parcelas sem herbicidas (testemunha) foram apenas utilizadas para a comparação dos sintomas de injúrias com as que receberam o herbicida.

O solo, antes da semeadura, foi seco ao ar até uma umidade constante de 3%. Para a obtenção da curva de retenção de água, foi utilizada a placa de pressão de Richards (KLAR, 1984). À partir dos resultados da curva de retenção, foram estabelecidos três potenciais mínimos de água no solo (Ψ_s): -0,03; -0,07 e -0,5 MPa (manejos hídricos de 13%, 10% e 9%, respectivamente) avaliados por meio de pesagem dos vasos.

As parcelas experimentais foram constituídas por vasos de plástico contendo 3 kg de solo. Foram semeados quatro sementes de soja por vaso, sendo posteriormente realizado um desbaste de plântulas, deixando-se apenas uma planta por vaso. O solo foi previamente irrigado até a umidade atingir a capacidade de campo, de forma a garantir a efetivação do processo de germinação e o desenvolvimento das plântulas. Uma amostra composta do solo foi retirada, antes da instalação dos experimentos, para caracterização química, conforme Silva (2009). A análise química do solo apresentou: pH (CaCl_2) = 5,2; M.O. = 17 g dm^{-3} ; P = 21 mg dm^{-3} ; S = 8 mg dm^{-3} ; Ca = 16 mmolc dm^{-3} ; Mg = 5 mmolc dm^{-3} ; K = 2,3 mmolc dm^{-3} ; H + Al = 24 mmolc dm^{-3} ; S.B. = 23,3 mmolc dm^{-3} ; CTC = 47,3; V = 49. Foi realizada a correção da acidez e da fertilidade do solo de acordo com as recomendações da cultura (RAIJ et al., 1996). Antes da semeadura, as sementes foram inoculadas com estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* SEMIA 5079 e *Bradyrhizobium elkanii* SEMIA 5019 (9×10^9 células viáveis kg^{-1} de sementes).

A aplicação do herbicida foi realizada através de um pulverizador costal, com pressão constante por CO₂ e calibrado para um consumo de calda de 200 L ha⁻¹. A barra de pulverização estava equipada com duas pontas tipo jato plano “Teejet” XR 11002VS espaçadas 50 cm entre si.

As avaliações de seletividade foram realizadas aos 3, 7, 14 e 21 dias após a aplicação dos herbicidas. Utilizou-se uma escala de notas, no qual 0 % representa nenhuma injúria às plantas e 100 % morte das plantas, conforme metodologia estabelecida pela SBPCPD (1995). Além disso, foram realizadas avaliações de altura de plantas aos 3, 7, 14 e 21 DAA.

Ao final das avaliações, aos 21 DAA, foram coletadas as plantas de cada parcela para a determinação da massa seca da parte aérea e das raízes, quando mensurou-se, ainda, a nodulação do sistema radicular das plantas. As plantas foram secas em uma estufa de circulação forçada de ar, à temperatura de 60 °C, até atingirem massa constante, sendo posteriormente mensuradas em balança de precisão. Para avaliação dos nódulos, as raízes foram cuidadosamente removidas do solo e lavadas em água corrente; posteriormente os nódulos foram removidos de cada planta, sendo assim realizada a contagem dos mesmos e posteriormente também foram submetidos à secagem em estufa de ar forçado a 60 °C para determinação da massa seca.

Os resultados foram submetidos à análise de variância, sendo a significância testada para as fontes de variação significativas pelo teste F, sendo aplicado o teste de Tukey (5% de significância).

Resultados e Discussão

Na Tabela 1, estão apresentados os resultados das avaliações de porcentagem de fitointoxicação visual após a aplicação do herbicida chlorimuron-ethyl em diferentes épocas de avaliação em plantas de soja no estágio fenológico de desenvolvimento V2. Foi constatado que o chlorimuron-ethyl proporcionou níveis aceitáveis de fitointoxicação visual nas plantas de soja para ambas as cultivares estudadas em todas as avaliações (Tabela 1).

Tabela 1. Valores médios verificados para a porcentagem de fitointoxicação de plantas de soja, submetidas à aplicação do herbicida chlorimuron-ethyl no estágio fenológico V2, obtidos no desdobramento das variáveis: cultivar e manejo hídrico e de sua interação. Jaboticabal/SP, 2015.

Condição	Dias Após Aplicação (%)			
	3 DAA	7 DAA	14 DAA	21 DAA
Cultivar				
Convencional	4,08 b	5,58 b	6,75 a	3,33 a
RR	5,50 a	7,50 a	4,33 b	1,50 b
Manejo Hídrico (MPa)				
-0,03	8,00 a	10,00 a	9,63 a	4,13 a
-0,07	4,38 b	7,00 b	4,75 b	2,88 b
-0,5	2,00 c	2,63 c	2,25 c	0,25 c
Interação				
Cultivar				
Manejo hídrico	Conv.	RR	Conv.	RR
-0,03	-	-	12,00 aA	7,25 aB
-0,07	-	-	6,00 bA	3,50 bB
-0,5	-	-	2,25 cA	2,25 bA
F Cultivar (C)	5,67*	10,65**	36,57**	30,25**
Manejo hídrico (M)	34,37**	53,17**	117,43**	46,94**
(C) x (M)	2,72 ^{ns}	2,56 ^{ns}	11,78**	8,31**
C.V. (%)	30,4	22,0	17,7	33,8
d.m.s. (C)	1,25	1,23	0,84	0,70
d.m.s. (M)	1,86	1,84	1,25	1,04
d.m.s. Interação (C)	-	-	1,45	1,21
d.m.s. Interação (M)	-	-	1,77	1,47

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade; * Significativo ao nível de 5% de probabilidade; ^{ns} Não significativo.

Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05).

DAA= dias após a aplicação; RR= soja transgênica.

Embora tenha sido observada maiores injúrias para a cultivar transgênica BRS Valiosa (RR) nas avaliações aos 3 e 7 DAA em comparação a cultivar MG / BR 46 Conquista (convencional) (Tabela 1), ficou evidenciado para a cultivar RR uma melhor desintoxicação, pois as injúrias foram menores para a cultivar transgênica aos 14 e 21 DAA em comparação a cultivar convencional.

As plantas mantidas em solo com escassez hídrica (-0,07 e -0,5 MPa) apresentaram os menores níveis de fitointoxicação visual ao chlorimuron-ethyl em comparação com as plantas mantidas sem restrição hídrica (-0,03 e MPa) (Tabela 1).

Ressalta-se que, a cultivar convencional quando se encontrava em condições adequadas de água no solo (-0,03 MPa) ou sob uma leve restrição hídrica (-0,07 MPa) apresentou maiores níveis de fitointoxicação visual ao chlorimuron-ethyl aos 14 e 21 DAA, comparada a cultivar RR (Tabela 1). Já, sob escassez hídrica severa (-0,5 MPa), essas diferenças não foram mais observadas.

A pulverização do herbicida chlorimuron-ethyl no estágio fenológico de desenvolvimento V4 também proporcionou baixos níveis de fitointoxicação visual nas plantas de soja (Tabela 2), sendo que os maiores níveis de injúrias foram observados aos 7 DAA, com média de 12,17 e 12,33% para a cultivar convencional e RR, respectivamente. Assim como em V2 (Tabela 1) os maiores níveis de fitointoxicação visual foram atribuídas às plantas de soja mantidas em condições adequadas de água no solo (-0,03 MPa).

Diversos fatores podem estar relacionados a essa menor fitointoxicação visual das plantas de soja ao herbicida chlorimuron-ethyl quando mantidas sob condição de déficit hídrico (-0,07 e -0,5 MPa), tais como: uma menor área foliar das plantas, modificações anatômicas das folhas, maior espessura de cutícula e da parede celular que pode resultar em uma menor absorção do herbicida pelas plantas de soja, pois todas essas características têm sido relatadas na literatura como sendo processos adaptativos em resposta a restrição de água no solo (LIU et al., 2003; PAIVA et al., 2005; KUTLU et al., 2009; MAKBUL et al., 2011; POLIZEL et al., 2011; GALMÉS et al., 2013; AFZAL et al., 2014)

Na Tabela 3, 4 e 5 estão apresentados os resultados das avaliações de altura de plantas de soja submetidas a diferentes manejos hídricos após a aplicação do herbicida chlorimuron-ethyl nos estágios fenológicos de desenvolvimento V2 e V4. De modo geral, constatou-se em V2 que não há diferença entre as cultivares convencional e RR para a variável altura de plantas (Tabela 3).

No entanto, uma condição de restrição de água no solo mostrou-se muito prejudicial ao crescimento das plantas, pois as mesmas mantidas sob restrição hídrica de (-0,07 e -0,5 MPa) apresentaram altura significativamente menor em todos os períodos de avaliações em comparação as plantas mantidas sem restrição hídrica (-0,03 MPa), sendo que os piores índices de crescimento foram observados para as plantas mantidas a uma restrição hídrica de (-0,5 MPa).

As plantas sob escassez hídrica reduzem o seu crescimento e a sua área foliar como resposta às perdas de água pela fotorrespiração (LIU et al., 2003; MAK et al., 2014), o que corrobora os resultados ora encontrados.

Tabela 2. Valores médios verificados para a porcentagem de fitointoxicação de plantas de soja, submetidas à aplicação do herbicida chlorimuron-ethyl no estágio fenológico V4, obtidos no desdobramento das variáveis: cultivar e manejo hídrico e de sua interação. Jaboticabal/SP, 2015.

Condição	Dias Após Aplicação (%)			
	3 DAA	7 DAA	14 DAA	21 DAA
Cultivar				
Convencional	5,83 a	12,17 a	10,33 a	5,00 b
RR	4,17 b	12,33 a	11,33 a	6,50 a
Manejo Hídrico (MPa)				
-0,03	9,13 a	16,63 a	18,38 a	11,00 a
-0,07	4,88 b	13,25 b	11,38 b	5,25 b
-0,5	1,00 c	6,88 c	2,75 c	1,00 c
Interação				
Cultivar				
Manejo hídrico	Conv.	RR	Conv.	RR
-0,03	-	-	18,50 aA	18,25 aA
-0,07	-	-	9,00 bB	13,75 bA
-0,5	-	-	3,50 cA	2,00 cA
F Cultivar (C)	5,94*	0,03 ^{ns}	1,76 ^{ns}	5,57*
Manejo hídrico (M)	47,09**	40,58**	143,43**	98,03**
(C) x (M)	1,17 ^{ns}	1,15 ^{ns}	6,40**	6,57**
C.V. (%)	33,5	17,9	17,1	24,9
d.m.s. (C)	1,44	1,88	1,58	1,23
d.m.s. (M)	2,14	2,81	2,36	1,83
d.m.s. Interação (C)	-	-	2,74	2,13
d.m.s. Interação (M)	-	-	3,34	2,59

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade; * Significativo ao nível de 5% de probabilidade; ^{ns} Não significativo.

Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05).

DAA= dias após a aplicação; RR= soja transgênica.

Ao avaliar os impactos da pulverização do herbicida chlorimuron-ethyl no incremento da altura das plantas de soja, foi possível observar que, aos 14 e 21 DAA, as plantas que receberam a pulverização deste herbicida apresentaram uma altura relativamente menor comparada às plantas do tratamento controle, que não foram submetidas à pulverização do chlorimuron-ethyl (Tabela 3).

Assim, como observado em V2 (Tabela 3), foi possível evidenciar em V4 que as cultivares de soja utilizadas no presente estudo apresentaram altura semelhante, uma vez que não foi observada diferença entre as cultivares para as avaliações realizadas aos 7, 14 e 21 DAA (Tabela 4). A restrição de água no solo também reduziu o crescimento das plantas, sendo que as plantas mantidas sob restrição hídrica de (-0,5 MPa) foram as mais impactadas.

Tabela 3. Valores médios verificados para altura de plantas de soja, submetidas à aplicação do herbicida chlorimuron-ethyl no estágio fenológico V2, obtidos no desdobramento dos graus de liberdade das variáveis: cultivar, manejo hídrico e herbicida. Jaboticabal/SP, 2015.

Condição	Altura de Plantas (cm)			
	3 DAA	7 DAA	14 DAA	21 DAA
Cultivar				
Convencional	10,52 a	11,79 a	14,85 a	17,27 a
RR	10,38 a	11,92 a	15,23 a	17,92 a
Manejo Hídrico (MPa)				
-0,03	11,22 a	13,13 a	18,03 a	22,72 a
-0,07	10,34 b	12,16 b	15,34 b	17,59 b
-0,5	9,78 b	10,28 c	11,75 c	12,47 c
Herbicida				
Com	10,27 a	11,67 a	14,63 b	16,94 b
Sem	10,63 a	12,04 a	15,46 a	18,25 a
F Cultivar (C)	0,37 ^{ns}	0,20 ^{ns}	1,17 ^{ns}	2,11 ^{ns}
Manejo hídrico (M)	12,18 ^{**}	35,67 ^{**}	110,02 ^{**}	176,82 ^{**}
Herbicida (H)	2,18 ^{ns}	1,80 ^{ns}	5,77 [*]	8,70 ^{**}
(C) x (M)	0,76 ^{ns}	0,05 ^{ns}	1,05 ^{ns}	1,09 ^{ns}
(C) x (H)	2,18 ^{ns}	1,80 ^{ns}	0,13 ^{ns}	1,16 ^{ns}
(M) x (H)	2,29 ^{ns}	1,22 ^{ns}	0,72 ^{ns}	2,63 ^{ns}
(C) x (M) x (H)	2,21 ^{ns}	1,02 ^{ns}	1,31 ^{ns}	0,14 ^{ns}
C.V. (%)	8,0	8,2	8,0	8,8
d.m.s. (C)/(H)	0,49	0,57	0,70	0,90
d.m.s. (M)	0,72	0,84	1,04	1,33

^{**} Significativo ao nível de 1% de probabilidade; ^{*} Significativo ao nível de 5% de probabilidade; ^{ns} Não significativo.

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05).

DAA= dias após a aplicação; RR= soja transgênica.

Tabela 4. Valores médios verificados para altura de plantas de soja, submetidas à aplicação do herbicida chlorimuron-ethyl no estágio fenológico V4,

obtidos no desdobramento dos graus de liberdade das variáveis: cultivar, manejo hídrico e herbicida. Jaboticabal/SP, 2015.

Condição	Altura de Plantas (cm)			
	3 DAA	7 DAA	14 DAA	21 DAA
Cultivar				
Convencional	15,73 b	17,94 a	21,56 a	27,13 a
RR	16,71 a	18,85 a	22,10 a	27,65 a
Manejo Hídrico (MPa)				
-0,03	18,91 a	21,50 a	26,00 a	33,41 a
-0,07	16,41 b	19,16 b	23,13 b	28,63 b
-0,5	13,34 c	14,93 c	16,38 c	20,13 c
Herbicida				
Com	15,79 a	17,42 b	20,13 b	24,59 b
Sem	16,65 a	19,28 a	23,54 a	30,19 a
F Cultivar (C)	4,36*	2,92 ^{ns}	0,56 ^{ns}	0,54 ^{ns}
Manejo hídrico (M)	47,03**	58,18**	62,32**	122,68**
Herbicida (H)	3,31 ^{ns}	13,31**	22,35**	63,68**
(C) x (M)	0,39 ^{ns}	0,46 ^{ns}	0,44 ^{ns}	2,09 ^{ns}
(C) x (H)	0,05 ^{ns}	0,02 ^{ns}	1,20 ^{ns}	0,46 ^{ns}
(M) x (H)	1,52 ^{ns}	4,27*	8,78**	17,56**
(C) x (M) x (H)	0,48 ^{ns}	0,46 ^{ns}	1,65 ^{ns}	2,61 ^{ns}
C.V. (%)	10,0	8,2	11,5	8,9
d.m.s. (C)/(H)	0,95	1,09	1,47	1,42
d.m.s. (M)	1,40	1,61	2,16	2,10

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade; * Significativo ao nível de 5% de probabilidade; ^{ns} Não significativo.

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05). DAA= dias após a aplicação; RR= soja transgênica.

A escassez hídrica é prejudicial ao crescimento das plantas, pois ocorre uma redução no teor de água nos tecidos das plantas, provocando uma baixa pressão de turgescência nas células, que tem efeito direto na divisão celular, alargamento e diferenciação das mesmas (CABUSLAY et al., 2002; JALEEL et al., 2008; SHAO et al., 2008).

Foi possível confirmar em V4 que a pulverização do herbicida chlorimuron-ethyl afetou o crescimento das plantas de soja (Tabela 4), devido nas avaliações realizadas aos 7, 14 e 21 DAA as plantas que receberam a pulverização deste herbicida apresentaram crescimento reduzido em comparação ao tratamento sem pulverização.

Na Tabela 5 observa-se que essa redução do crescimento das plantas de soja após a pulverização do herbicida chlorimuron-ethyl ocorreu principalmente para

as plantas mantidas em condições ideais de água no solo (-0,03 MPa), pois as plantas mantidas sob uma restrição hídrica severa (-0,5 MPa) não foram afetadas pela pulverização do chlorimuron-ethyl, sendo que esta redução do crescimento das plantas de soja foi caracterizada por uma diminuição do comprimento dos entrenós.

Os resultados ora encontrados permitem inferir que as plantas mantidas em condições ideais de água no solo apresentam uma maior absorção do herbicida chlorimuron-ethyl. Devido ao chlorimuron-ethyl ser um herbicida sistêmico, do grupo das sulfoniluréias e que inibem a ação da enzima acetolactato sintase (ALS). É possível que condições ambientais que promovem o rápido crescimento da planta, também promovam uma maior atividade deste herbicida nas plantas de soja, que por sua vez, podem ter causado um impacto direto no crescimento e desenvolvimento das mesmas.

Tabela 5. Valores médios verificados para altura de plantas de soja, submetidas à aplicação do herbicida chlorimuron-ethyl no estágio fenológico V4, obtidos no desdobramento dos graus de liberdade da interação entre manejo hídrico e herbicida. Jaboticabal/SP, 2015.

Manejo hídrico e herbicida: Cabotica/CP, 2010.								
Interação	Altura de Plantas (cm)							
	3 DAA		7 DAA		14 DAA		21 DAA	
Manejo hídrico	Herbicida							
	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem
-0,03	-	-	19,50 aB	23,50 aA	22,19 aB	29,81 aA	27,81 aB	39,00 aA
-0,07	-	-	19,06 aA	19,25 bA	22,13 aA	24,13 bA	26,44 aB	30,81 bA
-0,5	-	-	13,69 bA	15,38 cA	16,06 bA	16,69 cA	19,51 bA	20,75 cA
d.m.s. (Linha)	-	-	1,89		2,54		2,46	
d.m.s. (Coluna)	-	-	2,27		3,06		2,96	

Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

DAA= dias após a aplicação; RR= soja transgênica.

Verificou-se na Tabela 6, que no estágio V4 a massa seca da parte aérea da cultivar convencional era menor em comparação a cultivar transgênica. No entanto, para a massa seca de raízes essa resposta foi diferente, pois maiores valores para a massa seca de raízes foi observada para a cultivar convencional, sendo que esta resposta pode estar relacionada às características genéticas das cultivares.

Tabela 6. Valores médios verificados para massa seca da parte aérea e de raízes de plantas de soja, submetidas à aplicação do herbicida chlorimuron-ethyl em diferentes estádios fenológicos, obtidos no desdobramento dos graus de liberdade das variáveis: cultivar, manejo hídrico e herbicida. Jaboticabal/SP, 2015.

Condição	Massa Seca da Parte Aérea e Raízes (g)			
	V2		V4	
	MSPA	MSR	MSPA	MSR
Cultivar				
Convencional	0,86 a	0,39 a	2,45 b	1,21 a
RR	0,91 a	0,39 a	2,96 a	1,02 b
Manejo Hídrico (MPa)				
-0,03	1,42 a	0,58 a	4,66 a	2,09 a
-0,07	0,85 b	0,40 b	2,60 b	0,92 b
-0,5	0,38 c	0,19 c	0,86 c	0,34 c
Herbicida				
Com	0,78 b	0,35 b	2,49 b	2,84 b
Sem	0,99 a	0,43 a	2,92 a	1,39 a
F Cultivar (C)	0,31 ^{ns}	0,01 ^{ns}	23,36**	9,45**
Manejo hídrico (M)	54,85**	62,04**	434,84**	275,80**
Herbicida (H)	7,21*	7,63**	16,66**	78,56**
(C) x (M)	0,30 ^{ns}	0,31 ^{ns}	4,94*	15,78**
(C) x (H)	2,04 ^{ns}	1,07 ^{ns}	2,73 ^{ns}	32,49**
(M) x (H)	3,23 ^{ns}	3,48*	6,75**	48,50**
(C) x (M) x (H)	0,11 ^{ns}	0,03 ^{ns}	1,34 ^{ns}	19,01**
C.V. (%)	31,7	25,6	13,5	19,3
d.m.s. (C)/(H)	0,16	0,06	0,21	0,13
d.m.s. (M)	0,24	0,09	0,31	0,19

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade; * Significativo ao nível de 5% de probabilidade; ^{ns} Não significativo.

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05). MSPA= massa seca da parte aérea; MSR= massa seca de raízes; RR= soja transgênica.

As condições de escassez hídrica no solo reduziram a biomassa da parte aérea e das raízes para ambos os estágios fenológicos utilizados neste estudo (Tabela 6). A restrição hídrica foi tão prejudicial para as plantas de soja que uma condição de escassez hídrica moderada (-0,07 MPa) foi suficiente para reduzir a massa seca da parte aérea e massa seca de raízes em 40,1 e 31,0% no estágio V2, respectivamente, reduzir em 44,2 e 55,9% no estágio V4, respectivamente (Tabela

6). Ressalta-se que essa redução foi ainda mais acentuada para as plantas mantidas em condição hídricas mínimas de (-0,5 MPa).

Cultivares de soja resistente ao déficit hídrico apresentam alterações fisiológicas e modificações na morfologia das raízes para garantir o crescimento normal da planta e melhorar sua capacidade de resposta ao estresse pela seca (LIUQING et al., 2016). Além disso, um genótipo tolerante tem uma capacidade fotossintética relativamente mais forte e um sistema de defesa antioxidativo mais robusto (YU et al., 2016).

Na Tabela 6, nota-se que a pulverização do herbicida chlorimuron-ethyl afetou o desenvolvimento das plantas de soja, sendo que, para ambos os estádios fenológicos estudados a pulverização deste herbicida reduziu a massa seca da parte aérea e a massa seca de raízes quando comparadas às plantas que não receberam a pulverização do mesmo.

No estágio V4, verificou-se que em condições ideais de água no solo e em condições de escassez hídrica moderada (-0,03 e -0,07 MPa), a cultivar convencional apresentou menor massa seca da parte aérea em comparação a cultivar transgênica (Tabela 7). Já, para uma escassez hídrica de (-0,5 MPa) ambas as cultivares foram drasticamente afetadas não apresentando diferenças entre as mesmas.

Também foi evidenciado que, sob condições hídricas adequadas (-0,03 MPa), a cultivar convencional apresentou maior acúmulo de massa seca de raízes quando comparada com a cultivar transgênica (Tabela 7). No entanto, em condições de restrição hídrica, essas diferenças não foram mais observadas.

A pulverização do chlorimuron-ethyl no estágio V2 afetou a massa seca de raízes das plantas de soja quando conduzidas sem estresse hídrico (-0,03 MPa) (Tabela 7). Já, no estágio V4 as plantas mantidas sob escassez hídrica moderada (-0,07 MPa) também foram afetadas pela pulverização deste herbicida.

Também foi constatada redução da massa seca da parte aérea no estágio V4 para as plantas conduzidas sem estresse hídrico (-0,03 MPa) que receberam a pulverização do chlorimuron-ethyl. Diferente das plantas mantidas em condição de restrição hídrica que não apresentaram redução da massa seca da parte aérea.

Tabela 7. Valores médios verificados para massa seca da parte aérea e de raízes de plantas de soja, submetidas à aplicação do herbicida chlorimuron-ethyl em diferentes estádios fenológicos, obtidos no desdobramento dos graus de liberdade das interações entre: cultivar e manejo hídrico, cultivar e herbicida e, manejo hídrico e herbicida. Jaboticabal/SP, 2015.

Interação	Massa Seca da Parte Aérea e Raízes (g)							
	V2				V4			
	MSPA		MSR		MSPA		MSR	
Cultivar								
Manejo hídrico (MPa) (M)	Conv.	RR	Conv.	RR	Conv.	RR	Conv.	RR
-0,03	-	-	-	-	4,28 aB	5,04 aA	2,43 aA	1,75 aB
-0,07	-	-	-	-	2,23 bB	2,96 bA	0,86 bA	0,99 bA
-0,5	-	-	-	-	0,84 cA	0,88 cA	0,35 cA	0,32 cA
d.m.s. (Linha)	-		-		0,45		0,26	
d.m.s. (Coluna)	-		-		0,37		0,22	
Herbicida								
Cultivar	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem
Convencional	-	-	-	-	-	-	0,76 aB	1,66 aA
RR	-	-	-	-	-	-	0,92 aB	1,12 bA
d.m.s. (Linha)/(Colina)							0,18	
Herbicida								
Manejo hídrico	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem
-0,03	-	-	0,49 aB	0,68 aA	4,17 aB	5,14 aA	1,39 aB	2,80 aA
-0,07	-	-	0,38 aA	0,43 bA	2,48bA	2,71 bA	0,81 bB	1,04 bA
-0,5	-	-	0,18 bA	0,19 cA	0,82 cA	0,91 cA	0,33 cA	0,35 cA
d.m.s. (Linha)	-		0,102		0,37		0,22	
d.m.s. (Coluna)	-		0,122		0,45		0,26	

Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

MSPA= massa seca da parte aérea; MSR= massa seca de raízes; RR= soja transgênica.

No estágio fenológico V2, a cultivar convencional apresentou uma maior atividade da fixação biológica de nitrogênio em comparação com a cultivar transgênica (Tabela 8). Uma vez que, a cultivar convencional apresentou maior número e massa seca de nódulo. No entanto, para o estudo realizado no estágio V4 o número e massa seca de nódulo foram maiores para as plantas transgênicas.

Foi observado que a infecção pelos rizóbios é muito sensível a uma condição de restrição hídrica imposta às plantas de soja, pois as plantas mantidas sob restrição hídrica em V2 apresentaram inibição de 100% da fixação biológica de nitrogênio (Tabela 8), e apenas as plantas conduzidas sem estresse hídrico (-0,03 MPa) apresentaram infecções pelos rizóbios. É possível que essa inibição de 100%

da infecção pelos rizóbios tenha ocorrido devido à restrição hídrica ter acontecido no estágio inicial de desenvolvimento das plantas, coincidindo com o início da nodulação pelas bactérias fixadoras de nitrogênio (RYLE et al., 1979).

Tabela 8. Valores médios verificados para o número e massa seca de nódulos de plantas de soja, submetidas à aplicação do herbicida chlorimuron-ethyl em diferentes estádios fenológicos, obtidos no desdobramento dos graus de liberdade das variáveis: cultivar, manejo hídrico e herbicida. Jaboticabal/SP, 2015.

Condição	Fixação Biológica de Nitrogênio			
	V2 ¹		V4 ¹	
	Nº Nódulos	MS Nódulos (g)	Nº Nódulos	MS Nódulos (g)
Cultivar				
Convencional	0,83 a	0,019 a	4,67 b	0,22 b
RR	0,53 b	0,009 b	5,25 a	0,25 a
Manejo Hídrico (MPa)				
-0,03	2,04 a	0,042 a	9,27 a	0,52 a
-0,07	0,00 b	0,00 b	3,78 b	0,14 b
-0,5	0,00 b	0,00 b	1,83 c	0,04 c
Herbicida				
Com	0,12 b	0,003 b	3,99 b	0,17 b
Sem	1,24 a	0,025 a	5,92 a	0,30 a
F Cultivar (C)	5,40*	13,91**	4,67*	7,90**
Manejo hídrico (M)	115,12**	97,38**	276,63**	497,13**
Herbicida (H)	78,64**	62,26**	52,18**	85,13**
(C) x (M)	5,40**	13,91**	3,29*	7,42**
(C) x (H)	5,40*	13,91**	1,45 ^{ns}	1,75 ^{ns}
(M) x (H)	78,64**	62,26**	11,87**	33,85**
(C) x (M) x (H)	5,40**	13,91	3,58*	4,80*
C.V. (%)	64,6	71,3	18,7	19,5
d.m.s. (C)/(H)	0,26	0,006	0,54	0,03
d.m.s. (M)	0,38	0,009	0,80	0,04

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade; * Significativo ao nível de 5% de probabilidade; ^{ns} Não significativo.

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05).

Nº Nódulos= número de nódulos; MS Nódulos= massa seca de nódulos; RR= soja transgênica.

¹Os dados foram transformados de acordo com a equação " $y = \sqrt{x}$ ".

Corroborando os resultados observados em estágio V2, no estágio V4 também foi registrado que o número e a massa seca de nódulos foram severamente reduzidos quando as plantas de soja foram mantidas em solo com manejo hídrico de (-0,07 e -0,5 MPa). Ressalta-se que a massa seca de nódulos é definida como

sendo um dos parâmetros mínimos utilizados para a avaliação da eficiência da fixação biológica de nitrogênio para a cultura da soja (SOUZA et al., 2008) o que demonstra que a fixação biológica de nitrogênio é altamente sensível à restrição de água no solo.

A pulverização do herbicida chlorimuron-ethyl tem efeito negativo na infecção pelos rizóbios (Tabela 8), uma vez que, para ambos os estádios fenológicos estudados a pulverização deste herbicida reduziu o número e a massa seca de nódulos quando comparadas às plantas que não receberam a pulverização do mesmo.

Sabe-se que, normalmente no manejo de plantas daninhas a pulverização dos herbicidas em pós-emergência ocorrem na cultura da soja entre os estádios V2 e V4, devido principalmente ao estágio de crescimento das plantas daninhas. Logo, embora a pulverização do herbicida chlorimuron-ethyl apresente uma boa seletividade visual para a cultura da soja, este poderá afetar o desempenho produtivo das plantas, uma vez que, para esta cultura a demanda de nitrogênio é suprida principalmente através do N₂ atmosférico pela fixação biológica.

Verificou-se que para a interação cultivar e manejo hídrico, no estágio V2 que, quando as plantas foram conduzidas sem estresse hídrico (-0,03 MPa) a cultivar convencional apresentou maiores médias de número e massa seca de nódulos em comparação com a cultivar transgênica (Tabela 9).

Já, no estágio V4, foi observado que sem estresse hídrico (-0,03 MPa) as cultivares não apresentaram diferenças entre si para as avaliações de número e massa seca de nódulos (Tabela 9). No entanto, para uma condição de escassez hídrica moderada (-0,07 MPa) a cultivar convencional apresentou maior redução do número e massa seca de nódulos em comparação a cultivar transgênica. O que demonstra uma maior sustentação da infecção pelos rizóbios para a cultivar transgênica quando mantidas em condições de escassez hídrica moderada.

Pesquisas encontradas na literatura também têm relatado diferenças entres genótipos de soja, quanto à capacidade de sustentar a fixação biológica de nitrogênio sob condições de escassez hídrica no solo (CHEN et al., 2007; SINCLAIR et al., 2007), sendo que essa maior sustentação da infecção pelos rizóbios pode ser

selecionadas há possíveis expressões de genes que codificam proteínas envolvidas na resposta ao déficit hídrico (CLEMENT et al., 2006; 2008; MARINO et al., 2006).

Tabela 9. Valores médios verificados para o número e massa seca de nódulos de plantas de soja, submetidas à aplicação do herbicida chlorimuron-ethyl em diferentes estádios fenológicos, obtidos no desdobramento dos graus de liberdade das interações entre: cultivar e manejo hídrico, cultivar e herbicida e manejo hídrico e herbicida. Jaboticabal/SP, 2015.

Interação	Fixação Biológica de Nitrogênio							
	V2 ¹				V4 ¹			
	Nº Nódulos		MS Nódulos (g)		Nº Nódulos		MS Nódulos (g)	
Cultivar								
M. Hídrico (MPa) (M)	Conv.	RR	Conv.	RR	Conv.	RR	Conv.	RR
-0,03	2,48 aA	1,60 aB	0,06 aA	0,03 aB	9,23 aA	9,30 aA	0,52 aA	0,52 aA
-0,07	0,00 bA	0,00 bA	0,00 bA	0,00 bA	3,00 bB	4,55 bA	0,09 bB	0,20 bA
-0,5	0,00 bA	0,00 bA	0,00 bA	0,00 bA	1,78 cA	1,88 cA	0,04bA	0,04 cA
d.m.s. (Linha)	0,54		0,01		1,13		0,06	
d.m.s. (Coluna)	0,45		0,01		0,94		0,05	
Herbicida								
Cultivar	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem
Convencional	0,12 aB	1,54 aA	0,003 aB	0,04 aA	-	-	-	-
RR	0,12 aB	0,95 bA	0,003 aB	0,01 bA	-	-	-	-
d.m.s. (Linha)/(Coluna)	0,36		0,008		-		-	
Herbicida								
Manejo hídrico	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem
-0,03	0,35 aB	3,72 aA	0,008 aB	0,076 aA	7,76 aB	10,77 aA	0,39 aB	0,66 aA
-0,07	0,00 aA	0,00 bA	0,00 aA	0,00 bA	2,44 bB	5,12 bA	0,09 bB	0,19 bA
-0,5	0,00 aA	0,00bA	0,00 aA	0,00 bA	1,78 bA	1,88 cA	0,04 cA	0,04 cA
d.m.s. (Linha)	0,45		0,01		0,94		0,046	
d.m.s. (Coluna)	0,54		0,01		1,13		0,056	

Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05).

Nº Nódulos= número de nódulos; MS Nódulos= massa seca de nódulos; RR= soja transgênica; M. hídrico= manejo hídrico.

¹Os dados foram transformados de acordo com a equação “ $y = \sqrt{x}$ ”.

Para a interação, entre manejo hídrico e herbicida, verifica-se no estágio V2 que apenas as plantas conduzidas sob regime hídrico adequado (-0,03 MPa) ocorreu redução do número e massa seca de nódulos com a pulverização do chlorimuron-ethyl (Tabela 9). Resultado este, que também foi observado no estágio V4 para o número e massa seca de nódulos quando as plantas encontravam-se sob condição ideais de água no solo e escassez hídrica moderada (-0,03 e -0,07 MPa).

O herbicida chlorimuron-ethyl tem sido utilizado em grande escala nas últimas décadas para o controle de plantas daninhas na cultura da soja. Embora não há relatado na literatura que descrevem os efeitos diretos deste herbicida na fixação biológica de nitrogênio. A pulverização do chlorimuron-ethyl a um longo prazo pode perturbar seriamente as comunidades de bactérias transformadoras de nitrogênio do solo alterando assim, a estrutura da comunidade bacteriana (ZHANG et al., 2013). O que sugere que o uso contínuo do chlorimuron-ethyl pode influenciar o ciclo e a qualidade biológica do solo e afetar o regime de cultivo contínuo da soja.

Conclusões

Sob escassez hídrica as plantas de soja apresentaram uma menor fitotoxicidade visual quando submetida à pulverização do herbicida chlorimuron-ethyl.

A pulverização do herbicida chlorimuron-ethyl reduziu o crescimento e desenvolvimento das plantas de soja.

A pulverização do herbicida chlorimuron-ethyl tem efeito negativo na infecção pelos rizóbios ocasionando perdas para a fixação biológica de nitrogênio.

A cultivar transgênica BRS Valiosa RR mostrou um melhor desempenho quando submetida a uma condição de escassez hídrica moderada (-0,07 MPa) para sustentar a fixação biológica de nitrogênio.

Referências

ASHRAF, M. Inducing drought tolerance in plants: recent advances. **Biotechnology Advances**, v. 28, n. 1, p. 169-183, 2010.

ASHRAF, M.; HARRIS, P. J. C. Photosynthesis under stressful environments: an overview. **Photosynthetica**, v. 51, n. 2, p. 163-190, 2013.

AFZAL, A.; GULZAR, I.; SHAHBAZ, M.; ASHRAF, M. Water deficit-induced regulation of growth, gas exchange, chlorophyll fluorescence, inorganic nutrient

accumulation and antioxidative defense mechanism in mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek]. **Journal of Applied Botany and Food Quality**, v. 87, n. 1, p. 147-156 2014.

BALARDIN, R. S.; SILVA, F. D.; DEBONA, D.; CORTE, G. D.; FAVERA, D. D.; TORMEN, N. R. Tratamento de sementes com fungicidas e inseticidas como redutores dos efeitos do estresse hídrico em plantas de soja. **Ciência Rural**, v. 41, n. 7, p. 1120-1126, 2011.

CABUSLAY, G. S.; ITO, O.; ALEJAR, A. A. Physiological evaluation of responses of rice (*Oryza sativa* L.) to water deficit. **Plant Science**, v. 163, n. 4, p. 815-827, 2002.

COSTA, R. C. L.; LOBATO, A. K. S.; OLIVEIRA NETO, C. F.; MAIA, P. S. S.; ALVES, G. A. R.; LAUGHINGHOUSE, H. D. Biochemical and physiological responses in two *Vigna unguiculata* (L.) Walp. cultivars under water stress. **Journal of Agronomy**, v. 7, n. 1, p. 98-101, 2008.

CHEN, P.; SNELLER, C. H.; PURCELL, L. C.; SINCLAIR, T. R.; KING, C. A.; ISHIBASHI, T. Registration of soybean germplasm lines R01-416F and R01-581F for improved yield and nitrogen fixation under drought stress. **Journal of Plant Registrations**, v. 1, n. 2, p. 166-167, 2007.

CLEMENT, M.; BONCOMPAGNI, E.; ALMEIDA-ENGLER, J.; HEROUART, D. Isolation of a novel nodulin: a molecular marker of osmotic stress in *Glycine max/Bradyrhizobium japonicum* nodule. **Plant, Cell & Environment**, v. 29, n. 9, p. 1841-1852, 2006.

CLEMENT, M.; LAMBERT, A.; HEROUART, D.; BONCOMPAGNI, E. Identification of new up-regulated genes under drought stress in soybean nodules. **Gene**, v. 426, n. 1, p. 15-22, 2008.

DOGAN, E.; KIRNAK, H.; COPUR, O. Deficit irrigations during soybean reproductive stages and CROPGRO-soybean simulations under semi-arid climatic conditions. **Field Crops Research**, v. 103, n. 2, p. 154-159, 2007.

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

GALMÉS, J.; OCHOGAVÍA, J.; GAGO, J.; ROLDÁN, E. J.; CIFRE, J.; CONESA, M. À. Leaf responses to drought stress in Mediterranean accessions of *Solanum lycopersicum*: anatomical adaptations in relation to gas exchange parameters. **Plant, Cell & Environment**, v. 36, n. 5, p. 920-935, 2013.

GUERFEL, M.; BACCOURI, O.; BOUJNAH, D.; CHAÏBI, W.; ZARROUK, M. Impacts of water stress on gas exchange, water relations, chlorophyll content and leaf structure in the two main Tunisian olive (*Olea europaea* L.) cultivars. **Scientia Horticulturae**, v. 119, n. 3, p. 257-263, 2009.

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; CAMPO, R. J.; GRAHAM, P. H. The importance of nitrogen fixation to soybean cropping in South America. In: WERNER, D.; NEWTON, W.E. (Ed.). Nitrogen fixation in agriculture: forestry ecology and environment. Dordrecht: **Kluwer Academic Publishers**, 2005. p. 25-42.

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; CAMPO, R. J.; CRISPINO, C. C.; MORAES, J. Z.; SIBALDELLI, R. N. R.; MENDES, I. C.; ARIHARA, J. Nitrogen nutrition of soybean in Brazil: Contributions of biological N₂ fixation and N fertilizer to grain yield. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 86, n. 4, p. 927-939, 2006.

HUNGRIA, M.; MENDES, I. C. **Nitrogen Fixation with Soybean: The Perfect Symbiosis?** In: de Bruijn FJ (ed) Biological Nitrogen Fixation. Wiley-Blackwell, New Jersey, 2014.

JALEEL, C. A.; MANIVANNAN, P.; LAKSHMANAN, G. M. A.; GOMATHINAYAGAM, M.; PANNEERSELVAM, R. Alterations in morphological parameters and photosynthetic pigment responses of *Catharanthus roseus* under soil water deficits. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 61, n. 2, p. 298-303, 2008.

KING, C. A.; PURCELL, L. C. Genotypic variation for shoot N concentration and response to water deficits in soybean. **Crop Science**, v. 46, n. 6, p. 2396-2402, 2006.

KLAR, A. E. Evapotranspiração. In: KLAR, A. E. **A água no sistema solo-planta-atmosfera**. 2. ed. São Paulo: Nobel, 1984. p. 408.

KUTLU, N.; TERZI, R.; TEKELI, Ç.; ŞENEL, G.; BATTAL, P.; KADIOĞLU, A. Changes in anatomical structure and levels of endogenous phytohormones during leaf rolling in *Ctenanthe setosa* under drought stress. **Turkish Journal of Biology**, v. 33, n. 2, p. 115-122, 2009.

LIU, F.; JENSEN, C. R.; ANDERSEN, M. N. Hydraulic and chemical signals in the control of leaf expansion and stomatal conductance in soybean exposed to drought stress. **Functional Plant Biology**, v. 30, n. 1, p. 65-73, 2003.

LIUQING, Y.; HAORAN, L.; GUOWEI, S.; SHULING, Z.; LIJUN, D.; HAN, L.; XIAO, J.; JIANFENG, L. Effects of drought stress on physiological property and growth parameter of different drought resistance soybean cultivars. **Journal of Agricultural Science and Technology (Beijing)**, v. 18, n. 2, p. 115-120, 2016.

MARINO, D.; GONZÁLEZ, E. M.; ARRESE-IGOR, C. Drought effects on carbon and nitrogen metabolism of pea nodules can be mimicked by paraquat: evidence for the occurrence of two regulation pathways under oxidative stresses. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, n. 3, p. 665-673, 2006.

MAKBUL S.; SARUHAN GÜLER N.; DURMUŞ N.; GÜVEN S. Changes in anatomical and physiological parameters of soybean under drought stress. **Turkish Journal of Botany**, v. 35, n. 4, p. 369-377, 2011.

MASTRODOMENICO, A. T.; PURCELL, L. C.; KING, C. A. The response and recovery of nitrogen fixation activity in soybean to water deficit at different reproductive developmental stages. **Environmental and Experimental Botany**, v. 85, n. 1, p. 16-21, 2013.

MAK, M.; BABLA, M., XU, S. C.; O'CARRIGAN, A.; LIU, X. H.; GONG, Y. M.; HOLFORD, P.; CHEN, Z. H. Leaf mesophyll K^+ , H^+ and Ca^{2+} fluxes are involved in drought-induced decrease in photosynthesis and stomatal closure in soybean. **Environmental and Experimental Botany**, v. 98, n. 1, p. 1-12, 2014.

PAIVA, A. S.; FERNANDES, E. J.; RODRIGUES, T. J.; TURCO, J. E. Condutância estomática em folhas de feijoeiro submetido a diferentes regimes de irrigação. **Engenharia Agrícola**, v.25, n.1, p.161-169, 2005.

POLIZEL, A. M.; MEDRI, M. E.; NAKASHIMA, K.; YAMANAKA, N.; FARIAS, J.R.B.; OLIVEIRA, M. C. N.; MARIN, S. R. R.; ABDELNOOR, R. V.; MARCELINO-GUIMARÃES, F. C.; FUGANTI, R.; RODRIGUES, F. A.; STOLF-MOREIRA, R.; BENEVENTI, M. A.; ROLLA, A. A. P.; NEUMAIER, N.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; CARVALHO, J. F. C.; NEPOMUCENO, A.L. Molecular, anatomical and physiological properties of a genetically modified soybean line transformed with rd29A: AtDREB1A for the improvement of drought tolerance. **Genetics and Molecular Research**, v. 10, n. 4, p. 3641-3656, 2011.

RAIJ BV, CANTARELLA H, QUAGGIO JA, FURLANI AMC. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2. ed. Campinas: IAC, (IAC. Boletim Técnico, 100), 1996. p. 285.

RYLE, G. J. A.; POWELL, C. E.; GORDON, A. J. The Respiratory Costs of Nitrogen Fixation in Soyabean, Cowpea, and White Clover II. COMPARISONS OF THE COST OF NITROGEN FIXATION AND THE UTILIZATION OF COMBINED NITROGEN. **Journal of Experimental Botany**, v. 30, n. 1, p. 145-153, 1979.

SINCLAIR, T. R.; PURCELL, L. C.; KING, C. A.; SNELLER, C. H.; CHEN, P.; VADEZ, V. Drought tolerance and yield increase of soybean resulting from improved symbiotic N₂ fixation. **Field Crops Research**, v. 101, n. 1, p. 68-71, 2007.

SILVA, F. C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. 627p.

SILVA A. R. A.; BEZERRA F. M. L.; LACERDA C.F.; PEREIRA FILHO J. V.; FREITAS C. A. S. Trocas gasosas em plantas de girassol submetidas à deficiência hídrica em diferentes estádios fenológicos. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, n. 1, p. 86-93, 2013.

SHAO, H. B.; CHU, L. Y.; SHAO, M. A.; JALEEL, C. A.; HONG-MEI, M. Higher plant antioxidants and redox signaling under environmental stresses. **Comptes Rendus Biologies**, v. 331, n. 6, p. 433-441, 2008.

SOUZA, R. A.; HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; MACIEL, C. D.; CAMPO, R. J.; ZAIA, D. A. M. Minimal set of parameters for evaluation soil microbiota and biological nitrogen fixation in soybean. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 1, p. 83-91, 2008.

SOCIEDADE BRASILEIRA DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS - SBCPD. **Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas**. Londrina: 1995. 42 p.

STREETER, J. G. Effects of drought on nitrogen fixation in soybean root nodules. **Plant, Cell & Environment**, v. 26, n. 8, p. 1199-1204, 2003.

TAN, H., XU, M., LI, X., ZHANG, H., & ZHANG, C. Effects of chlorimuron-ethyl application with or without urea fertilization on soil ammonia-oxidizing bacteria and archaea. **Journal of Hazardous Materials**, v. 260, p. 368-374, 2013.

THOMAS M.; ROBERTSON M. J.; FUKAI S.; PEOPLES M. B. The effect of timing and severity of water deficit on growth, development, yield accumulation and nitrogen fixation of mungbean. **Field Crops Research**, v. 86, n. 1, p. 67-80, 2004.

TRIPATHI, P.; RABARA, R. C.; REESE, R. N.; MILLER, M. A.; ROHILA, J. S.; SUBRAMANIAN, S.; SHEN, Q. J.; MORANDI, D.; BÜCKING, H.; SHULAEV, V.; RUSHTON, P. J. A toolbox of genes, proteins, metabolites and promoters for improving drought tolerance in soybean includes the metabolite coumestrol and stomatal development genes. **BMC Genomics**, v. 17, n. 1, p. 1-22, 2016.

YANG, P. H.; GQ LI, G. L.; WU, S. J. Effect of drought stress on plasma membrane permeability of soybean varieties during flowering-podding stage. **Agric Res Arid Areas**, v. 21, p. 127-130, 2003.

YU, X.; JAMES, A. T.; YANG, A.; JONES, A.; MENDOZA-PORRAS, O.; BÉTRIX, C. A.; MA, H.; COLGRAVE, M. L. A comparative proteomic study of drought-tolerant and drought-sensitive soybean seedlings under drought stress. **Crop and Pasture Science**, v. 67, n. 5, p. 528-540, 2016.

ZHANG, X.; LI, X.; ZHANG, C.; LI, X.; ZHANG, H. Responses of soil nitrogen-fixing, ammonia-oxidizing, and denitrifying bacterial communities to long-term chlorimuron-ethyl stress in a continuously cropped soybean field in Northeast China. **Annals of Microbiology**, v. 63, n. 4, p. 1619-1627, 2013.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pelas análises dos parâmetros morfoanatômicos constatou-se que as cultivares de soja apresentam uma melhor resposta adaptativa em relação a uma restrição hídrica moderada de até (-0,07 MPa) quando ocorrido no estágio fenológico inicial da soja. As alterações adaptativas observadas para a anatomia foliar e caulinar foram mais evidentes no estágio fenológico V2 para a cultivar BRS Valiosa RR (transgênica). Já, para os parâmetros fisiológicos e bioquímicos analisados neste estudo pode-se verificar que a cultivar BRS Valiosa RR (transgênica) no estágio fenológico de desenvolvimento V4 apresentou uma melhor resposta ao estresse imposto pela escassez de água no solo, em relação a cultivar MG/BR 46 Conquista (convencional), que foi devido às respostas contínuas de compostos enzimáticos que controlam o estresse oxidativo e que pode permitir seu desenvolvimento em um maior período de déficit hídrico.

Através de parâmetros de crescimento constatou-se que em condição de escassez hídrica moderada (-0,07 MPa) a cultivar MG/BR 46 Conquista (convencional) apresentou um menor desenvolvimento em relação a cultivar BRS Valiosa RR (transgênica). Quanto à fixação biológica de nitrogênio a cultivar transgênica mostrou uma maior capacidade em sustentar a nodulação quando submetida a uma condição de escassez hídrica moderada (-0,07 MPa) em relação a cultivar convencional.

Outro aspecto a considerar, refere-se ao efeito do déficit hídrico, no qual as plantas de soja apresentaram uma menor intoxicação visual quando submetida à pulverização dos herbicidas fomesafen e chlorimuron-ethyl para ambas as cultivares estudadas. Também constatou-se que a pulverização destes herbicidas teve efeito negativo na infecção rizóbio/planta o que ocasionou perdas para a fixação biológica de nitrogênio. Deve-se salientar que este efeito precoce na nodulação poderá ter reflexos na produção de vargens.