

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA
AGRÍCOLA**

Tassiane Bolzan Morais

**RESPOSTAS MORFO-FISIOLÓGICAS DA SOJA SUBMETIDA À
ESTRESSE HÍDRICO E APLICAÇÃO DE BIOESTIMULANTE**

Santa Maria, RS
2020

Tassiane Bolzan Morais

**RESPOSTAS MORFO-FISIOLÓGICAS DA SOJA SUBMETIDA À
ESTRESSE HÍDRICO E APLICAÇÃO DE BIOESTIMULANTE**

Tese apresentada ao Curso de Pós-graduação em Engenharia Agrícola, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutora em Engenharia Agrícola.**

Orientador: Alexandre Swarowsky

Santa Maria, RS, Brasil
2020

Morais, Tassiane
RESPOSTAS MORFO-FISIOLOGICAS DA SOJA SUBMETIDA À
ESTRESSE HÍDRICO E APLICAÇÃO DE BIOESTIMULANTE /
Tassiane Moraes.- 2020.
71 p.; 30 cm

Orientador: Alexandre Swarowsky
Coorientador: Márcio Mazutti
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós
Graduação em Engenharia Agrícola, RS, 2020

1. Deficiência hídrica 2. Soja 3. Bioestimulantes I.
Swarowsky, Alexandre II. Mazutti, Márcio III. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFEM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

Declaro, TASSIANE MORAIS, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Tese) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

Tassiane Bolzan Moraes

**RESPOSTAS MORFO-FISIOLÓGICAS DA SOJA SUBMETIDA À
ESTRESSE HÍDRICO E APLICAÇÃO DE BIOESTIMULANTE**

Tese apresentada ao Curso Pós-Graduação
em Engenharia Agrícola, como requisito
parcial para obtenção do grau de **Doutora**
em Engenharia Agrícola.

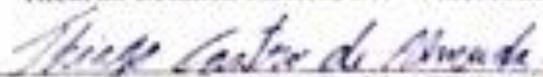
Aprovado (a) em 04 de setembro de 2020

Alexandre Swarowsky, Dr. (UFSM) - Videoconferência
(Presidente Orientador)

Sylvio Henrique Bidel Dornelles, Dr. (UFSM) - Videoconferência
(Co-orientador)

Danie Martini Sanchotene, Dr. (URI) - Videoconferência

Ricardo Bemfica Steffen, Dr. - Videoconferência



Thiago Castro de Almeida, Dr. (BALLAGRO) - Videoconferência

Santa Maria, RS
2020

AGRADECIMENTOS

Quero dedicar este trabalho primeiramente a Deus e a todos os Santos que iluminam meu caminho. E, a todas as pessoas que me ajudaram e torceram por mim durante esta etapa da minha vida acadêmica.

À Universidade Federal de Santa Maria, seu corpo docente, mais precisamente ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, pela oportunidade.

À o meu orientador, Prof. Alexandre Swarowsky pela orientação, amizade, paciência, ensinamento e incentivo. Meu muito obrigada, com todo carinho.

Aos professores Sylvio Henrique Bidel Dornelles e Danie Martini Sanchotene pelas palavras de amizade, de carinho, de confiança e de apoio. E, pelos ensinamentos a mim repassados.

À equipe da Biomonte Pesquisa e Desenvolvimento, pelo apoio e amizade, agradeço de coração a ajuda e o incentivo.

Aos pilares da minha vida, meus pais, José Brasil e Marlei, por todo amor e confiança que em mim depositaram e, por me prepararem para os desafios da vida com seus conselhos e seus ensinamentos. As minhas queridas irmãs, Marzane e Eveline, por serem não apenas irmãs mais velhas e sim, grandes amigas que Deus me deu, muito obrigada!

A todas minhas amigas, que me apoiaram e entenderam o meu não comparecimento muitas vezes, muito obrigada!

“É muito melhor lançar-se em busca de conquistas grandiosas, mesmo expondo-se ao fracasso, do que alinhar-se com os pobres de espírito, que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem numa penumbra cinzenta, onde não conhecem nem vitória, nem derrota. ”

Theodore Roosevelt

RESUMO

Tese de Doutorado
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

RESPOSTAS MORFO-FISIOLÓGICAS DA SOJA SUBMETIDA À ESTRESSE HÍDRICO E APLICAÇÃO DE BIOESTIMULANTE

AUTORA: Tassiane Bolzan Morais
ORIENTADOR: Alexandre Swarowsky

A soja é considerada a principal cultura agrícola de importância econômica para o Brasil. A disponibilidade hídrica é um dos fatores determinantes para seu correto desenvolvimento e produtividade. Os bioestimulantes à base de extrato da alga marinha *Ascophyllum nodosum* apresentam substâncias com objetivo de proteger as plantas dos efeitos estressores, provocados por estresses bióticos e abióticos, como a deficiência hídrica. Assim, o objetivo geral desse estudo foi avaliar o efeito de dois bioestimulantes (via tratamento de sementes: Seed+ e via aplicação de parte aérea: Crop+) na mitigação de danos causados pela deficiência hídrica nas características morfofisiológicas e na produtividade da soja. O experimento foi conduzido à campo, nas safras agrícolas 2017/2018 e 2018/2019, em área experimental no município de Santa Maria - RS. O delineamento utilizado foi blocos ao acaso (DBC), em esquema fatorial 2x6, com quatro repetições. O fator A foi composto por seis manejos de bioestimulantes (testemunha sem aplicação; Seed⁺; Seed⁺ + Crop⁺ (V5); Seed⁺ + Crop⁺ (V5 e R1); Crop⁺ (V5) e Crop⁺ (V5 e R1)) e o fator D foram utilizadas duas condições hídricas do solo (com e sem deficiência hídrica), totalizando 12 tratamentos. Foram confeccionadas 24 “mini estufas” para submeter à cultura da soja a deficiência hídrica. Para monitoramento da irrigação, foi utilizado o equipamento HidroFarm e a presença de tensiômetros na área experimental. Os resultados obtidos nos experimentos confirmam a hipótese de aumento da tolerância das plantas de soja à deficiência hídrica, pois houve efeito significativo dos manejos com bioestimulantes testados, sobre variáveis morfofisiológicas analisadas, como o aumento da defesa das plantas contra a formação de EROs, atividade fotossintética, componentes de rendimento e produtividade. O efeito benéfico encontrado na aplicação dos bioestimulantes sobre as plantas de soja, é mais aparente em plantas submetidas a condições de estresses ambientais que em plantas cultivadas em ambiente favorável a seu crescimento e desenvolvimento, sobretudo quando é realizado o manejo prévia a ocorrência da atividade estressora.

Palavras-chave: Deficiência hídrica, *Ascophyllum nodosum*, manejo.

ABSTRACT

Doctoral thesis
Graduate Program in Agricultural Engineering
Federal University of Santa Maria, RS, Brazil

MORPHO-PHYSIOLOGICAL RESPONSES OF SOY SUBMITTED TO WATER STRESS AND BIOESTIMULANT APPLICATION

AUTHOR: Tassiane Bolzan Morais
ADVISOR: Alexandre Swarowsky

Soy is considered the main agricultural crop of economic importance for Brazil. Water availability is one of the determining factors for its correct development and productivity. The biostimulants based on the extract of the seaweed *Ascophyllum nodosum* present substances with the objective of protecting the plants from stressful effects, caused by biotic and abiotic stresses, such as water deficiency. Thus, the general objective of this study was to evaluate the effect of two biostimulants (via seed treatment: Seed + and via aerial part application: Crop +) in mitigating damage caused by water deficiency in the morphophysiological characteristics and in soybean productivity. The experiment was carried out in the field, in the 2017/2018 and 2018/2019 agricultural seasons), in an experimental area in the municipality of Santa Maria - RS. The design used was randomized blocks (DBC), in a 2x6 factorial scheme, with four replications. Factor A was composed of six managements of biostimulants (control without application; Seed +; Seed + + Crop + (V5); Seed + + Crop + (V5 and R1); Crop + (V5) and Crop + (V5 and R1)) and factor D were Two soil water conditions (with and without water deficiency) were used, totaling 12 treatments. 24 “mini greenhouses” were made to subject water deficiency to soybean culture. For monitoring irrigation, the HidroFarm equipment and the presence of tensiometers in the experimental area were used. The results obtained in the experiments confirm the hypothesis of increased tolerance of soybean plants to water deficiency, as there was a significant effect of the management with tested biostimulants, on analyzed morphophysiological variables, such as the increased defense of the plants against the formation of ROS, photosynthetic activity, yield and productivity components. The beneficial effect found in the application of biostimulants on soybean plants, is more apparent in plants subjected to conditions of environmental stress than in plants grown in an environment favorable to their growth and development, especially when handling prior to the occurrence of stressful activity.

Keywords: Water deficiency, *Ascophyllum nodosum*, management.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1: Dados de precipitação pluvial e temperatura média, no período de execução dos experimentos..... | 23 |
| Figura 2: Dados de precipitação pluvial e temperatura média, no período de execução dos experimentos..... | 44 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1 - Tratamentos que serão utilizados nos experimentos de campo, na cultura da soja. | 24 |
| Tabela 2 - Média da eficiência quântica potencial (Fv/Fm) das plantas de soja submetidas a diferentes manejos com bioestimulantes e dois níveis do fator D (déficit hídrico). Santa Maria/RS, 2020..... | 28 |
| Tabela 3 - Médias do número de legumes planta-1 das plantas submetidas a diferentes manejos com bioestimulantes e os níveis do fator D (deficiência hídrica), nas safras de 2017/2018 e 2018/2019. Santa Maria/RS, 2020..... | 30 |
| Tabela 4 - Médias do número de grãos legume-1 das plantas submetidas a diferentes manejos com bioestimulantes e dois níveis do fator D (déficit hídrico), na safra agrícola 2017/18. Santa Maria/RS, 2020..... | 32 |
| Tabela 5 - Produtividade (kg ha-1) da soja submetidas a diferentes manejos com bioestimulantes e níveis do fator D (déficit hídrico), na safra agrícola 2017/18. Santa Maria/RS, 2020 | 34 |
| Tabela 6 - Médias do valor de PMS (peso de mil sementes) das plantas submetidas a diferentes manejos com bioestimulantes e dois níveis do fator D (deficiência hídrica), na safra agrícola 2017/18. Santa Maria/RS, 2020..... | 36 |
| Tabela 7 - Tratamentos utilizados no experimento, na cultura da soja. Santa Maria/RS, 2020 | 45 |
| Tabela 8 - Médias do valor de Gs (condutância estomática) das plantas submetidas a diferentes manejos com bioestimulantes e dois níveis do fator D (restrição hídrica) e três leituras. Santa Maria/RS, 2020..... | 49 |
| Tabela 9 - Médias do valor de E (taxa transpiratória - nmol H2O m-2 s-1) das plantas submetidas a diferentes manejos com bioestimulantes e dois níveis do fator D (restrição hídrica) e três leituras. Santa Maria/RS, 2020 | 50 |
| Tabela 10 - Médias do valor de A (assimilação líquida de CO2 - μmol CO2 m-2 s-1) das plantas submetidas a diferentes manejos com bioestimulantes e dois níveis do fator D (restrição hídrica) e três leituras. Santa Maria/RS, 2020 | 52 |
| Tabela 11 - Médias dos valores de SOD (enzima superóxido dismutase - U mg-1 proteína) das plantas submetidas a diferentes manejos com bioestimulantes e dois níveis do fator D (restrição hídrica). Santa Maria/RS, 2020 | 54 |
| Tabela 12 - Médias dos valores de POD (enzima guaiacol peroxidase - U mg-1 proteína) das plantas submetidas a diferentes manejos com bioestimulantes e dois níveis do fator D (restrição hídrica). Santa Maria/RS, 2020 | 55 |
| Tabela 13 - Médias dos valores dos conteúdos de pigmentos das plantas submetidas a diferentes manejos com bioestimulantes e dois níveis do fator D (restrição hídrica). Santa Maria/RS, 2020 | 57 |

SUMÁRIO

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 12 |
| 2 | REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 14 |
| 2.1 | ASPECTOS GERAIS DA SOJA..... | 14 |
| 2.1.1 | Origem da espécie <i>Glycine max</i> L., e sua ecofisiologia..... | 14 |
| 2.1.2 | Importância econômica da cultura da soja..... | 15 |
| 2.2 | ESTRESSE HÍDRICO | 15 |
| 2.2.1 | Estresse hídrico nas culturas agrícolas..... | 15 |
| 2.3 | USO DE BIOESTIMULANTES NA AGRICULTURA..... | 18 |
| 3 | ARTIGO 1 - Respostas da soja a aplicação de bioestimulantes em condições de deficiência hídrica | 20 |
| | INTRODUÇÃO | 21 |
| | MATERIAL E MÉTODOS | 22 |
| | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 26 |
| | Respostas fotossintéticas | 26 |
| | Respostas produtivas | 28 |
| | CONCLUSÕES | 36 |
| | REFERÊNCIAS..... | 37 |
| 4 | ARTIGO 2 - Respostas fisiológicas e bioquímicas a aplicação de bioestimulantes em soja, sob deficiência hídrica | 41 |
| | INTRODUÇÃO | 42 |
| | MATERIAL E MÉTODOS | 44 |
| | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 47 |
| | Parâmetros fisiológicos | 47 |
| | Atividade das enzimas oxidativas | 53 |
| | Conteúdo de pigmentos | 56 |
| | CONCLUSÕES | 58 |
| | REFERÊNCIAS..... | 58 |
| 5 | DISCUSSÃO GERAL | 64 |
| 6 | CONCLUSÃO | 66 |
| 7 | REFERÊNCIAS | 67 |

1 INTRODUÇÃO

A soja é considerada a principal *commodity* agrícola mundial, sendo os Estados Unidos, Brasil e Argentina, os principais produtores e responsáveis por 78% da produção mundial do grão (FAOSTAT, 2016). A produção estimada na safra 2019/2020 atingiu 120,4 milhões de toneladas, apresentando um acréscimo de 4,7%, em relação à safra agrícola de 2018/2019. Na região Sul do Brasil ocorreu um incremento na área plantada de 1,7% em relação ao exercício anterior, porém, problemas climáticos prejudicaram o rendimento, resultando em uma produção de 8,8% menor que a última safra (CONAB, 2020).

A produção agrícola está sempre sujeita a ação de adversidades climáticas, como temperatura elevadas ou baixas, baixa luminosidade e excesso ou falta de chuvas, sendo este último, o fator climático mais limitante para a produção de grãos (FIOREZE et al., 2011). O longo período de estiagem na safra 2019/2020, causou perdas significativas no cultivo da soja nos estados produtores, sobretudo no Rio Grande do Sul, com perdas de 44,6%, com média de 1839 kg/há comparado a média de 3321 kg/há do exercício anterior (CONAB 2020). Tal queda na produção de soja no Brasil deve-se a sensibilidade da cultura a déficits hídricos, quando comparada a outras importantes culturas no mundo, além de seu requerimento hídrico ser relativamente alto, em torno de 800 mm para obtenção de altas produtividades (ISODA, 2005; EMBRAPA, 2008). Sendo comuns perdas anuais em produtividade devido à escassez de água durante o ciclo da cultura, principalmente na região Sul do Brasil (SILVA, 2013).

Devido a água representar cerca de 90% do peso da planta da soja, atuando em todos os processos fisiológicos e bioquímicos existentes nesta cultura, a disponibilidade de água no solo é um fator determinante para o seu correto desenvolvimento, principalmente nas fases de germinação-emergência e floração-enchimento de grãos (FARIAS et al., 2009). A falta de água conduz ao fechamento de estômatos, limitação de trocas gasosas, redução da turgescência e do potencial hídrico total, causando a murcha da planta (OLIVEIRA, 2016).

Na tentativa de encontrar soluções que possam reduzir os impactos na morfologia e fisiologia das plantas, causados pelo estresse hídrico, têm sido citados o uso de produtos formulados que se propõe a estimular as plantas à autodefesa contra os agentes abióticos estressores. Entre essas, destaca-se o uso de compostos denominados bioestimulantes, bioativadores ou biorreguladores, obtidos, principalmente, por meio de fermentação biológica de extratos de alga marinha da espécie *Ascophyllum nodosum*. Esses compostos podem realizar a regulação ou modificar os processos fisiológicos das plantas, através de estímulos ao

crescimento vegetal e mitigação dos efeitos ocasionados pelos estresses abióticos, aumentando a sua produtividade (YAKHIN et al., 2017).

Os biorreguladores, podem ser aplicados em sementes, plantas ou diretamente no solo sobre o sulco de semeadura ou de plantio, favorecendo a sinalização nas plantas para a produção de substâncias elicitoras ou osmoprotetoras, produzindo alterações no metabolismo celular, bem como favorecendo a estruturação da parede celular e da cutícula em folhas e caules. Desta maneira, espera-se que estas plantas, submetidas ao tratamento com estes bioprodutos possam suportar os efeitos dos estresses abióticos, principalmente salinos e hídricos, mantendo níveis aceitáveis de produtividade e qualidade final dos frutos e das sementes produzidas. Estes produtos aumentam a atividade antioxidante nas plantas, especialmente quando estas estão sob estresse hídrico, temperaturas severas e ação de herbicidas (ZHANG & SCHMIDT, 2000).

Dada à dinâmica da necessidade diária de água das plantas de soja e aos inúmeros fatores que os afetam, ainda existe certa carência em pesquisas que evidenciem a utilização destes compostos à base de fermentados de extratos de algas, comprovando sua eficácia na mitigação ou diminuição dos efeitos negativos do estresse hídrico às plantas. Portanto, espera-se que os resultados desta pesquisa, possam elucidar a influência de dois biorreguladores à base de extratos de algas, denominados Seed⁺ e Crop⁺, na mitigação dos efeitos negativos sobre características morfofisiológicas em função da falta de água para as plantas. Também para elucidar o efeito do déficit hídrico em fases importantes do desenvolvimento da soja e a eficiência dos compostos biorreguladores em manter elevada produtividade nestas condições.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 ASPECTOS GERAIS DA SOJA

2.1.1 Origem da espécie *Glycine max* L., e sua ecofisiologia

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é uma planta herbácea, pertencente à classe Magnoliopsida (dicotiledôneas), ordem Fabales, família Fabaceae (leguminosa), subfamília Faboideae, e gênero *Glycine* e tem como centro de origem à China. É uma planta do metabolismo fotossintético tipo C3, dessa forma, a via metabólica é considerada menos eficiente que as vias metabólicas das plantas C4 e CAM, devido a uma perda considerável de fotossintatos através da fotorrespiração (STRECK, 2005).

Sua morfologia é caracterizada por raiz pivotante, caule herbáceo e folha trifoliolada. Possui ciclo anual, apresentando grande capacidade adaptativa a diversos ecossistemas, o que propiciou a disseminação do seu cultivo nos diferentes ambientes agricultáveis do mundo. A faixa de temperatura ótima do solo para germinação de sementes de soja está entre 20 a 30°C sendo 25°C considerada como ideal para rápida e uniforme emergência das plântulas (EMBRAPA, 2000; SILVA, 2013).

Para o seu crescimento e desenvolvimento, a cultura tem como exigência a faixa de temperaturas ótimas entre 20°C e 30°C, sendo considerada como ideal a temperatura de 30°C. O crescimento vegetativo da soja é baixo ou nulo em temperaturas abaixo de 10°C, e acima de 40°C ocorrem efeitos adversos no metabolismo reduzindo o crescimento da planta, sendo agravado em condições de déficit hídrico (FONTANA et al., 2001; FARIAS et al., 2007). A soja tem o florescimento induzido apenas em temperaturas acima de 13°C e, em condições de altas temperaturas a soja adianta o florescimento ocasionando a diminuição da altura da planta (FONTANA et al., 2001).

Durante o ciclo de desenvolvimento da cultura, a sua fenologia é influenciada por diversos fatores, que podem atrasar ou antecipar o seu ciclo de desenvolvimento e afetar a produtividade final. Dentre os fatores que podem interferir no desenvolvimento, destaca-se: fotoperíodo, temperatura, estresse hídrico e outros fatores que possam vir a provocar estresses fisiológicos (ZANON et al., 2018).

2.1.2 Importância econômica da cultura da soja

A soja é considerada a grande responsável pelo surgimento da agricultura comercial brasileira, acelerando a mecanização das lavouras, modernizando o transporte, e expandindo a fronteira agrícola. Dessa forma, ela colaborou com a tecnologia e a produção de outras culturas, além de patrocinar o desenvolvimento da avicultura e da suinocultura brasileira (DALL'AGNOL, 2000). O “complexo soja” se destaca pela sua expressiva participação na exportação e também para o suprimento do mercado interno. Por ser um grão rico em proteínas, a cultura da soja é cultivada como alimento tanto para os seres humanos quanto para os animais. Sendo o farelo de soja e o óleo de soja, os dois produtos mais utilizados (MISSÃO, 2006).

O Brasil é considerado o segundo maior produtor mundial de soja e na safra 2019/2020, ocorreu um crescimento de 2,7% da área plantada da soja brasileira, em relação à safra passada, saindo de 35.874 mil hectares para 36.843,6 mil hectares, na atual. A produção estimada na safra 2019/2020 atingiu 120,4 milhões de toneladas, apresentando um acréscimo de 4,7%, em relação à safra agrícola de 2018/2019. Na região Sul do Brasil ocorreu um incremento na área plantada de 1,7% em relação ao exercício anterior, saindo do patamar de 11.879,6 mil hectares para 12.085,1 mil hectares, na temporada 2019/2020. Porém, problemas climáticos prejudicaram o rendimento, resultando em uma produção de 8,8% menor que a última safra. No RS, a safra foi encerrada com média de produtividade de 1.839 kg/há, chegando a uma redução de 44,6% em relação à safra passada, confirmando o registro da pior seca dos últimos anos no estado (CONAB, 2020).

2.2 ESTRESSE HÍDRICO

2.2.1 Estresse hídrico nas culturas agrícolas

Os fatores que induzem estresse nas plantas cultivadas podem ser ‘bióticos’, resultante de organismos vivos, como fungos e insetos, ou ‘abióticos’, resultantes de fatores não vivos, como seca, temperatura extremas, salinidade, poluentes, entre outros (KRANNER et al., 2010). O estresse abiótico é a principal razão de perda de safra em todo o mundo, reduzindo rendimentos médios para a maioria das plantas em mais de 50% (BRAY et al., 2000; WANG et al., 2003).

Uma das principais causas da variação da produtividade das culturas no Brasil tem sido a ocorrência de déficit hídrico, que pode ocorrer em períodos críticos do ciclo de

desenvolvimento das culturas (BROWN et al., 1985). No RS, terceiro maior produtor nacional, é comum ocorrer períodos de deficiência hídrica durante o período de cultivo, devido a variabilidade na distribuição das chuvas, causando oscilações na produtividade entre anos e locais, tornando a precipitação o principal limitador de altas produtividades no RS (SENTELHAS et al., 2015; ZANON et al., 2016). As plantas possuem capacidade de ajustar absorção de água e a transpiração, quando o ajuste chega ao ponto máximo do seu limite é considerado como déficit hídrico, ou seja, quando a transpiração da planta é afetada pela disponibilidade de água no solo (FARIAS et al., 2007).

Devido às perdas de água para a atmosfera, as plantas raramente estão em plena hidratação. Durante os períodos de seca, sofrem déficits hídricos que levam à inibição do crescimento e da fotossíntese (TAIZ & ZEIGER, 2009). A redução da transpiração pode ter consequências como à queda prematura das folhas, de flores e legumes, resultando por fim, em redução no rendimento de grãos (BONATO, 2000; EMBRAPA, 2002).

Durante períodos de estresse hídrico, há um aumento no nível do ácido abscísico, com o objetivo de causar o fechamento estomático para reduzir as perdas de água. O fechamento dos estômatos ocorre através da perda de solutos das células-guarda que se desidratam. Essa perda de solutos inicia quando o ácido abscísico atinge os estômatos, indicando que as células do mesófilo estão passando um déficit hídrico (HAVEN et al., 2001). Em condições de moderado estresse hídrico, os estômatos logo se fecham, minimizando a perda de água por transpiração; com isso, a temperatura da folha aumenta, e os processos fotoquímicos perdem eficiência para transformar a energia luminosa em energia química (CHAVES et al., 2003). Dessa forma, a redução na parte aérea pode ser considerada como a primeira reação das plantas submetidas à falta d'água (LARCHER, 2006; TAIZ, ZEIGER, 2009). Outra consequência devido ao déficit hídrico é o estímulo à expansão das raízes, as quais aprofundam no solo em busca de umidade (GONÇALVES, 2013; SCALON et al., 2011). Devido a isto, as plantas investem no desenvolvimento do sistema radicular, aumentando o comprimento das raízes (FITTER & HAY, 1987).

Uma maneira de avaliar a atividade do processo fotossintético é através da medição da fluorescência da clorofila *a*. É uma técnica que avalia a eficiência fotoquímica do fotossistema II (FS II) (STRASSER et al., 2000; BAKER & ROSENQVIST, 2004). Em plantas cultivadas em condições ótimas de crescimento e desenvolvimento, a eficiência quântica máxima do FSII (Fv/Fm), pode variar entre 0,75 a 0,85. Assim, o valor de 0,75 e 0,85 mostra que, em plantas saudáveis, quando o fóton atinge o FSII, existe a probabilidade de 75 a 85% que este fóton seja

capaz de reduzir Q_A . Porém, quando ocorre uma alteração no fator ambiental, proporcionando estresse nas plantas, essa relação diminui (CAMPOSTRINI, 2001).

O estresse hídrico pode promover um aumento na formação de espécies reativas de oxigênio podendo desencadear assim um estresse oxidativo (HONG-BO et al., 2008). Isto ocorre porque durante a transferência de elétrons, quando a ferredoxina está reduzida, elétrons podem ser transferidos do fotossistema I (PS I) para o oxigênio, levando a formação do radical superóxido, este processo é conhecido como reação de Mehler, a qual provoca mais reações na cadeia, gerando mais espécies reativas de oxigênio, como peróxido de hidrogênio, superóxido, e radicais hidroxila, causando o estresse oxidativo (BEN AHMED et al., 2009). Em caso de estresse severo, pode ocorrer um aumento na produção de EROs, o que irá desencadear uma sequência de eventos, iniciada pela peroxidação dos lipídeos, avançando para a degradação das membranas e a morte celular (JALEEL et al., 2009).

As plantas podem desenvolver estratégias para a proteção dos danos oxidativos, como o sistema de defesa não-enzimático, composto por carotenóides, ascorbato, glutathione, α -tocoferóis, e aqueles enzimáticos, como a superóxido dismutase, catalisando a reação do radical superóxido à H_2O_2 ; catalase que produz água e oxigênio a partir da água; e enzimas do ciclo ascorbato-glutathione, como a ascorbato peroxidase e as peroxidases (BEN AHMED et al., 2009; JALEEL et al., 2009). Em experimentos com girassol, foi observado maior atividade dessas enzimas antioxidantes nas folhas, porém sem incremento da atividade enzimática no sistema radicular, demonstrando que, o mesmo nível de estresse pode não ter atingido as raízes da planta, evidenciando as diferentes respostas do metabolismo dos órgãos vegetais quanto à ativação do mecanismo antioxidante (CARNEIRO, 2011).

Sob condições normais, os sistemas antioxidantes eliminam ou diminuem a reação do oxigênio reativo, impedindo a transformação em produtos mais tóxicos para as células. As células fotossintéticas podem tolerar níveis elevados de oxigênio porque os mecanismos endógenos varrem e removem os produtos tóxicos antes que os danos às células ocorram (NAVARI-ISSO & RASCIO, 1999). Embora uma série de mecanismos reguladores tenha sido evoluída dentro da célula da planta para limitar a produção destas moléculas tóxicas, os danos oxidativos continuam sendo um problema potencial, uma vez que causam perturbações no metabolismo, como a perda de coordenação entre os processos de produção (fonte) e de utilização de energia (dreno) durante a fotossíntese em folhas verdes sob ambientes estressantes (REDDY et al., 2004).

2.3 USO DE BIOESTIMULANTES NA AGRICULTURA

Devido à frequente ocorrência de estresse abióticos durante o ciclo da cultura da soja na região sul do Brasil, novas tecnologias baseadas no uso de bioestimulantes com a finalidade de minimizar essas perdas, têm sido indicadas. Os bioestimulantes de plantas são substâncias ou microrganismos que podem ser adicionados via solo, tratamento de sementes e/ou via parte aérea com o objetivo de melhorar a eficiência nutricional das plantas, o seu crescimento e desenvolvimento e características de qualidade da cultura e, podem apresentar um possível efeito na tolerância aos estresses abióticos (DU JARDIM, 2015).

Os bioestimulantes são considerados produtos que, quando aplicados nas plantas, aumentam a produtividade e a resistências das plantas aos estresses hídricos e climáticos (RUSSO & BERLYN, 1990). Essas substâncias são eficientes, favorecendo um bom desempenho dos processos vitais da planta permitindo a obtenção de maiores produtividades e qualidade (CASILLAS et al., 1986; ZHANG & SCHMIDT, 2000). Os bioestimulantes quando aplicados exogenamente possuem ações similares aos grupos de hormônios vegetais conhecidos (CASTRO & VIEIRA, 2001). As auxinas, giberelinas e citocininas estão entre os principais hormônios vegetais de uso exógeno (TAIZ & ZEIGER, 2009).

Pesquisas realizadas com plantas de soja submetidas à aplicação de biorreguladores apresentaram maior desenvolvimento e massa seca de raízes, e estas foram mais resistentes aos efeitos do estresse osmótico por salinidade em função da maior concentração de compostos osmoprotetores em plantas tratadas (TOORCHI et al., 2009). O uso de bioestimulante na cultura do algodão aumentou a porcentagem de emergência das plântulas e a velocidade de crescimento radicular, além de originar plântulas mais vigorosas (VIEIRA & SANTOS, 2005; ALBRECHT et al., 2009).

Em experimento realizado na cultura do feijão, a combinação da aplicação de bioestimulantes via sementes e via foliar resulta em maior produtividade da cultura em relação a aplicação somente via semente ou via foliar (LANA et al., 2009). Em milho, a aplicação do bioestimulante foi mais eficiente, ou seja, aumentou o rendimento da cultura, quando realizada no tratamento de sementes, em comparação com a pulverização na semeadura e via foliar (DOURADO NETO et al., 2004).

Os bioestimulantes comerciais Seed⁺ e Crop⁺ são constituídos pela mistura formulada de macronutrientes, micronutrientes e fermentados de extratos de algas marinhas. A alga mais amplamente utilizada para a produção de extratos comerciais é a alga marrom *Ascophyllum nodosum* (L.) que tem proporcionado resultados positivos na indução de resistência ao déficit

hídrico em soja (MARTYNENKO et al., 2016). A alga *Ascophyllum nodosum* é constituída por citocininas, auxinas, ácido abscísico, giberelinas, betaína e alginatos (TARAKHOVSKAY et al., 2007; MACKINNON et al., 2010) existindo ainda compostos não identificados que possuem atividade similar à de alguns hormônios vegetais e que também podem estimular sua produção nas plantas (RAYORATH et al., 2008). *A. nodosum* apresenta altas taxas de glicina-betaína (GB) e prolina, por isso consegue sobreviver em oceanos com alto teor de sais em solução. Com o uso de fermentados de extratos da alga em bioestimulantes, pretende-se fornecer estes compostos osmoprotetores para as plantas.

3 **ARTIGO 1 - Respostas da soja a aplicação de bioestimulantes em condições de deficiência hídrica**

Soy responses to the application of biostimulants in water deficiency conditions

RESUMO: O uso de bioestimulantes vegetais tem se difundido na agricultura brasileira, promovendo um adequado desenvolvimento das culturas e aumento da produtividade. Porém, os estudos destas substâncias em plantas sob estresse abiótico, especialmente a deficiência hídrica, ainda são incipientes. Objetivou-se avaliar a influência da deficiência hídrica e o efeito da utilização de bioestimulantes com aplicação via sementes e/ou parte aérea nos parâmetros da fluorescência da clorofila *a* e nos componentes de rendimento e produtividade da soja. Os experimentos foram conduzidos nas safras agrícolas 2017/18 e 2018/19, á campo, na área experimental da Empresa Biomonte Pesquisa e Desenvolvimento, em Santa Maria, RS. Utilizou-se o delineamento experimental blocos ao acaso, com os tratamentos distribuídos em esquema fatorial 2 x 6, referentes a presença ou ausência de deficiência hídrica e seis manejos com bioestimulantes (testemunha; TS – tratamento de sementes; TS + V5; TS + V5 + R1; V5; R1), com quatro repetições. Conclui-se que, o uso de bioestimulantes via tratamento de sementes e/ou via parte aérea amenizam as perdas de produção ocasionadas pela incidência de deficiência hídrica no período do florescimento, ocasionando aumento na produtividade e na atividade fotossintética das plantas, com a avaliação de fluorescência da clorofila.

Palavras-chave: *Glycine max* L.. *Ascophyllum nodosum*. Componentes de rendimento. Produtividade.

ABSTRACT: The use of plant biostimulants has been widespread in Brazilian agriculture, promoting an adequate development of crops and increased productivity. However, studies of these substances in plants under abiotic stress, especially water deficiency, are still incipient. The objective was to evaluate the influence of water deficiency and the effect of the application

of biostimulants with application via seeds and / or aerial part on the parameters of chlorophyll *a* fluorescence and on the components of soybean yield and productivity. The experiments were conducted in the 2017/18 and 2018/19 agricultural seasons, in the field, in the experimental area of the Biomonte Research and Development Company, in Santa Maria, RS. A randomized block design was used, with treatments distributed in a 2 x 6 factorial scheme, referring to the presence or absence of water deficiency and six managements with biostimulants (control; TS - seed treatment; TS + V5; TS + V5 + R1; V5; R1), with four repetitions. It is concluded that the use of biostimulants via seed treatment and / or aerial part mitigate as production losses caused by the occurrence of water deficiency in the flowering period, causing an increase in the productivity and in the photosynthetic activity of the plants, with the evaluation of chlorophyll fluorescence.

Key-words: *Glycine max* L.. *Ascohyllum nodosum*. Yield componentes. Productivity.

INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max*) é uma das principais culturas oleaginosas do mundo e possui um grande valor econômico. Porém, a produção agrícola está sujeita a ação de diferentes adversidades climáticas, como temperatura baixas ou elevadas, baixa luminosidade e excesso ou falta de chuvas, sendo este último, o fator climático mais limitante para a produção de grãos (FIORENZE *et al.*, 2011). As perdas de produtividade da soja causada pela deficiência hídrica dependem do clima da região e a variabilidade do ano durante o crescimento da soja. A cultura da soja possui demanda hídrica que varia entre 450 e 800 mm durante o seu ciclo, com maior necessidade entre o florescimento e o enchimento de grãos, podendo apresentar nesse período demanda hídrica de até 7,4 mm dia⁻¹ (GAVA *et al.*, 2015). Assim, restrição hídrica nesse período da cultura acarreta em redução na produtividade da soja.

Diante desta problemática uma série de pesquisas tem sido desenvolvida, como estratégias de manejo da cultura que possibilite reduzir os efeitos negativos que a deficiência

hídrica causa no rendimento da soja. Dentre as tecnologias para melhorar a tolerância à seca nas plantas é o uso de bioestimulantes vegetais que estão ganhando grande aceitação no mercado (JITHESH *et al.*, 2012). Dentre esses bioestimulantes vegetais aceitos, estão os extratos a base da alga marinha *Ascophyllum nodosum*. Os bioestimulantes vegetais atuam na fisiologia das plantas através de diferentes vias, melhorando o crescimento das culturas, a produção, a qualidade, a absorção de nutrientes, tolerância a estresses abióticos e a vida de prateleira dos produtos colhidos (DU JARDIM, 2015).

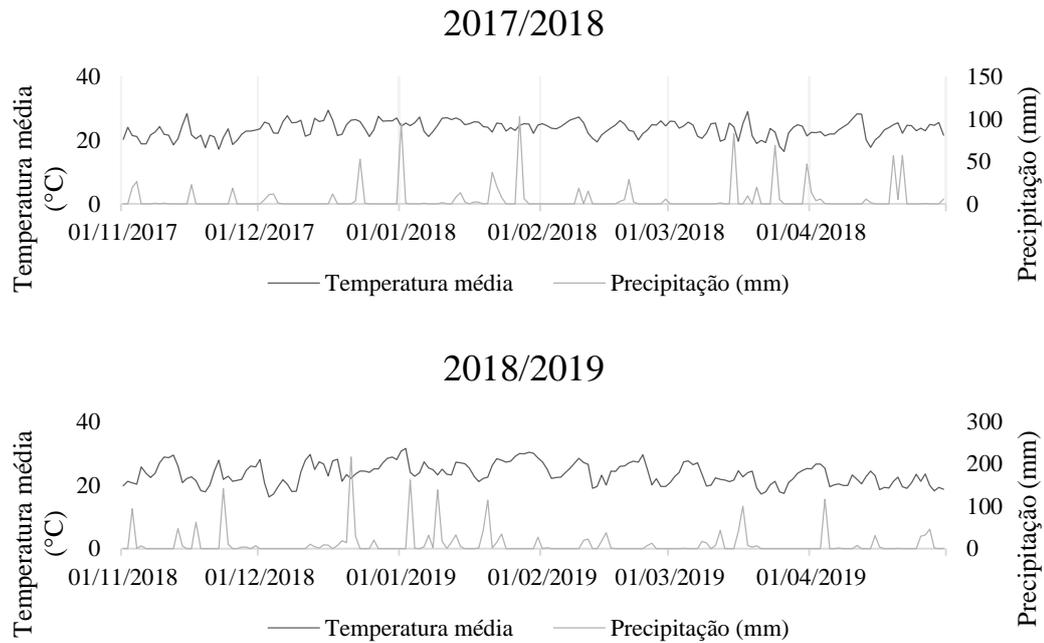
Submetidas a estresses abióticos, as plantas apresentam mudanças nas características dos sinais de fluorescência, quantificados nas folhas através da fluorescência inicial (F0), máxima (Fm) e variável (Fv) da clorofila *a*, além do rendimento quântico potencial (Fv/Fm). O estudo de parâmetros de fluorescência permite analisar, qualitativa e quantitativamente, a absorção e o uso de energia luminosa, além de detectar possíveis danos no aparelho fotossintético da planta (AZEVEDO NETO *et al.*, 2011). Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi determinar a influência da deficiência hídrica e o efeito da aplicação de bioestimulantes via tratamento de sementes e via parte aérea nas respostas fotossintéticas e produtivas da cultura da soja.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos nos períodos agrícolas de novembro a abril, das safras 2017/2018 e 2018/2019, à campo, na área experimental da Empresa Biomonte Pesquisa e Desenvolvimento, em Santa Maria, RS, cuja coordenadas geográficas são 29°39,059' Sul e 53°57,413' Oeste e altitude de 180,0 metros. De acordo com a classificação de Köppen, o clima é do tipo Cfa e Cfb, úmido em todas as estações do ano, verão quente e moderadamente quente, com predominância de Cfa (KUINCHTNER & BURIOL, 2001). Os dados de precipitação pluvial e temperatura média, referentes ao período de duração dos experimentos foram

coletados diariamente através da Estação Meteorológica Instalada da área experimental (Figura 1).

Figura 1: Dados de precipitação pluvial e temperatura média, no período de execução dos experimentos.



A cultivar utilizada nos experimentos foi a BMX Ponta IPRO (7166 IPRO), de ciclo de maturação: 6.6; hábito de crescimento: indeterminado; média exigência em fertilidade e adaptada em áreas agrícolas da região central do estado do Rio Grande do Sul. O manejo fitossanitário da cultura foi realizado de acordo com as recomendações técnicas para a cultura da soja no estado do Rio Grande do Sul. A adubação da cultura baseou-se na análise do solo utilizado levando em conta recomendações da ROLAS (Rede Oficial de Laboratório de Análise de Solos) para a cultura da soja.

Foi adotado o delineamento blocos ao acaso, em esquema fatorial 2 x 6, sendo ausência ou presença (2) da restrição hídrica e seis manejos com bioestimulantes, com 4 repetições,

totalizando 48 unidades experimentais, representadas por 5 fileiras de plantas espaçadas 0,5 metros, com 3 metros de comprimento (9 m²). Os tratamentos estão representados na Tabela 1.

Tabela 1 - Tratamentos que serão utilizados nos experimentos de campo, na cultura da soja.

| | Tratamentos | Déficit hídrico | Momento da aplicação |
|------|--|-----------------|----------------------|
| T 1 | Sem tratamento | Ausência | - |
| T 2 | Seed ^{+®} | Ausência | TS |
| T 3 | Seed ^{+®} + Crop ^{+®} | Ausência | TS + V5 |
| T 4 | Seed ^{+®} + Crop ^{+®} + Crop ^{+®} | Ausência | TS + V5 + R1 |
| T 5 | Crop ^{+®} | Ausência | V5 |
| T 6 | Crop ^{+®} + Crop ^{+®} | Ausência | V5 + R1 |
| T 7 | Sem tratamento | Presença | - |
| T 8 | Seed ^{+®} | Presença | TS |
| T 9 | Seed ^{+®} + Crop ^{+®} | Presença | TS + V5 |
| T 10 | Seed ^{+®} + Crop ^{+®} + Crop ^{+®} | Presença | TS + V5 + R1 |
| T 11 | Crop ^{+®} | Presença | V5 |
| T 12 | Crop ^{+®} + Crop ^{+®} | Presença | V5 + R1 |

Para compor os tratamentos, foram utilizados dois bioestimulantes vegetais – um aplicado via tratamento de sementes (TS) (Seed^{+®}) e outro com aplicação via parte aérea (Crop^{+®}), nos estádios de quinto nó e início do florescimento, caracterizado pelos estádios V5 e R1 de acordo com a escala de Fehr e Caviness (1977), aplicado com pulverizador costal a CO₂, com vazão de 150 L há⁻¹. Sendo o primeiro (Seed⁺), considerado um fertilizante de origem vegetal obtido através da fermentação e tratamento químico de *Ascophyllum nodosum* e o segundo (Crop⁺), obtido a partir de concentrados da alga *Ascophyllum nodosum* (MISRA *et al.*, 2017).

Para limitar a entrada de água pela chuva, nas unidades experimentais, foram confeccionadas 24 “mini estufas” de plástico polipropileno, do tamanho das unidades experimentais com altura de 1,5 metros, onde foi submetido a deficiência hídrica na soja, entre os estádios R2 (florescimento pleno) e R6 (grão verde ou vagem cheia), de acordo com a escala fenológica proposta por Fehr & Caviness (1977). Foram confeccionadas valas de 0,5 m de profundidade no entorno com objetivo de reduzir a possibilidade de entrada de água por fluxo lateral.

A umidade do solo (ausência ou presença de deficiência hídrica) foi monitorada por sensores HidroFarm e tensiômetros. Os sensores Hidro Farm, da marca Falker, permitem a medição da umidade volumétrica do solo pela tecnologia ISAF. O equipamento informa diretamente o valor da umidade volumétrica do solo, em porcentagem (FARACO *et al.*, 2016). Para as unidades experimentais que não foram submetidas a deficiência hídrica, a reposição da água era realizada assim que o aparelho registrava a umidade volumétrica 17,6% (1% acima da umidade crítica para o tipo de solo e a cultura utilizada (16,6%)). Através do monitoramento com tensiômetros na área experimental, a irrigação era realizada quando a tensão da água ultrapassava a faixa de 70 kPa (faixa de cor vermelho – deficiência hídrica). A irrigação das unidades experimentais foi realizada por gotejamento em cada linha de semeadura da soja. As unidades experimentais com deficiência hídrica, foram mantidas com umidade volumétrica abaixo de 16,6% e tensão de água entre 20 e 30 kPa.

Os parâmetros de fluorescência da clorofila a: fluorescência inicial (F_0), fluorescência máxima (F_m), razão fluorescência variável/fluorescência inicial (F_v/F_0) foram medidos com o fluorômetro de pulso modulado (JUNIOR-PAM, Walz, Effeltrich, Alemanha), no período entre 3:00 h e 8:00 h. As folhas foram pré-adaptadas no escuro por 30 minutos e determinado os parâmetros do estado adaptado ao escuro, fluorescência inicial (F_0) e posteriormente, a fluorescência máxima (F_m) por meio de um pulso de luz saturante ($10.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) por 0,6 segundos, determinando a fluorescência máxima (F_m). A eficiência fotoquímica máxima do PSII (F_v/F_m) foi calculada através da razão da fluorescência variável ($F_m - F_0$) e a fluorescência máxima e a razão F_v/F_0 através da razão da fluorescência variável ($F_m - F_0$) e a fluorescência inicial. A avaliação foi realizada no estágio R2 (florescimento pleno), de acordo com Fehr e Caviness (1977).

Os componentes da produção foram determinados quando as plantas atingiram maturação plena. Inicialmente, determinou-se o número de legume planta⁻¹ e o número de grãos legume⁻¹,

através da coleta aleatório de 10 plantas na área útil de cada unidade experimental. No estádio R9 (maturação de colheita), as plantas foram colhidas manualmente e avaliados o peso de mil grãos (PMG) e o rendimento de grãos nas unidades experimentais onde, foi calculada a produtividade em kg há⁻¹.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância conforme o modelo matemático do delineamento blocos ao acaso com arranjo fatorial, realizando-se o desdobramento das variáveis que apresentaram resposta significativa à interação entre os fatores estudados. O efeito da deficiência hídrica e do manejo com bioestimulantes foram avaliados aplicando-se o teste de Tukey para agrupamento das médias, com 0,05 de probabilidade de erro ($p < 0,05$), utilizando-se o programa Sisvar® 5.6 (FERREIRA, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Respostas fotossintéticas

Neste presente trabalho, obtidos os parâmetros de F_0 e de F_m , optou-se por discutir a relação F_v/F_m (relação entre a taxa de fluorescência variável e a máxima), o qual é considerado o atributo mais frequentemente medido em pesquisas de estresse. Incrementos nos valores da relação F_v/F_m indicam um aumento na eficiência de conversão fotossintética do PSII (MEHTA *et al.*, 2011). Em plantas fisiologicamente equilibradas, ou seja, plantas em condições sem estresse, os valores de F_v/F_m estão em aproximadamente 0,75 (SHU *et al.*, 2013), sendo que valores inferiores a este podem indicar que as plantas foram expostas a algum tipo de estresse biótico ou abiótico que reduziu a capacidade fotoquímica do fotossistema II (KALAJI, 2008). Neste contexto, verifica-se pela Tabela 2 que, diante dos tratamentos com diferentes condições hídricas, os valores no parâmetro eficiência quântica do fotossistema II (PSII – F_v/F_m) obtiveram uma variação de 0,827 (sem deficiência hídrica) e 0,793 (com deficiência hídrica) elétrons quantum⁻¹, apresentando diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre as unidades

experimentais com e sem deficiência hídrica. De maneira geral, a redução na água disponível do solo influenciou a eficiência fotoquímica do fotossistema II, através da medida da relação Fv/Fm, portanto as plantas sob estresse podem ter sofrido algum dano no seu aparato fotossintético.

O comportamento encontrado no presente estudo, também foi relatado por Molinari *et al.* (2007), com plantas de cana-de-açúcar submetidas ao estresse hídrico, os quais apresentaram quedas no rendimento quântico da fotoquímica do fotossistema. Caires *et al.* (2010) afirmaram que a deficiência hídrica é capaz de afetar os níveis da clorofila e a sua fluorescência, corroborando com os resultados encontrados neste trabalho. Já Jumrani & Bhatia (2019) impondo estresse hídrico e térmico na soja, também encontrou redução nos valores da relação Fv/Fm em comparação com as plantas sem estresse abiótico. Redução nesses parâmetros em plantas com deficiência hídrica é comum, pois o excesso de energia resulta em danos fotoinibitórios ao aparato fotossintético e redução na eficiência na fotossíntese (EL-MAGEED *et al.*, 2016).

Analisando-se o efeito dos tratamentos bioestimulantes via tratamento de sementes e/ou via aplicação de parte aérea, houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos. Onde, verificaram-se que o tratamento que apresentou o menor valor da relação Fv/Fm, foi o tratamento sem nenhuma aplicação de bioestimulante (0,788) e o com o maior valor Fv/Fm foi o tratamento com aplicação via tratamento de sementes de Seed⁺ e duas aplicações via parte aérea de Crop⁺ (0,826). As plantas de soja sem aplicação de bioestimulantes apresentaram maior sensibilidade na relação Fv/Fm, onde se observaram os menores valores dessa relação, indicando maiores danos ao aparato fotossintético. Já, as plantas de soja que receberam aplicação do bioestimulante via tratamento de sementes e duas aplicações do bioestimulante via parte aérea indicam a incidência de menores danos ao aparato fotossintético, tornando as plantas mais tolerantes a restrição hídrica, buscando alcançar maiores índices de

produtividade (Tabela 2). A aplicação de bioestimulantes a base de extrato de algas, mantem a eficiência fotoquímica dos fotossistemas e atua na ativação de mecanismos protetores a danos oxidativos do fotossistema II (SANTANIELLO et al., 2017).

Tabela 2 - Média da eficiência quântica potencial (Fv/Fm) das plantas de soja submetidas a diferentes manejos com bioestimulantes e dois níveis do fator D (déficit hídrico). Santa Maria/RS, 2020

| Eficiência quântica potencial do FSII (Fv/Fm) | | | |
|---|-----------|-------------------------------|---------|
| Fator A (manejos bioestimulantes) | | Fator D (deficiência hídrica) | |
| Fator A | Média | Fator D | Média |
| A1 | 0,788 d | Sem déficit H | 0,827 a |
| A2 (1 PA) | 0,805 c | Com déficit H | 0,793 b |
| A3 (2 PA) | 0,815 abc | | |
| A4 (TS) | 0,806 bc | | |
| A5 (TS + 1 PA) | 0,821 ab | | |
| A6 (TS + 2 PA) | 0,826 a | | |
| CV (%) | | 1,05 | |

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si, pelo teste Tukey ($p > 0,05$). Fator A sem tratamento; fator A2 – uma aplicação em parte aérea; fator A3 – duas aplicações em parte aérea; fator A4 – aplicação em tratamento de sementes; fator A5 – aplicação em tratamento de sementes e uma aplicação em parte aérea; fator A6 – aplicação em tratamento de sementes e duas aplicações em parte aérea).

Respostas produtivas

A partir da ANOVA verificou-se efeito significativo da interação entre os fatores tratamentos com e sem o bioestimulante aplicados via tratamento de sementes Seed⁺ e via parte aérea Crop⁺ e as condições hídricas para a variável produtividade (PROD) (kg há⁻¹) em nível de 5% de probabilidade, não ocorrendo resposta significativa para número de legumes (NL), número de grãos legume (NGL) e para peso de mil sementes (PMS) ($p > 0,05$). Quanto aos

efeitos isolados dos fatores deficiência hídrica e bioestimulantes foi observado resposta significativa para as variáveis NL, NG e PMS, ambos em nível de 5% de probabilidade (Tabela 3). Desse modo, pode-se afirmar que as respostas observadas com relação a estas variáveis analisadas, aos tratamentos com bioestimulantes via tratamento de sementes e/ou via parte aérea variou em função da condição hídrica que ela se encontrava.

Para a variável NL não foi observado significância para os efeitos da interação aplicação de bioestimulantes x ausência ou presença da restrição hídrica (Tabela 3), nos experimentos I (safra 2017/2018) e II (safra 2018-2019). De maneira geral, pode-se observar que as médias de legumes por planta foram superiores quando as plantas receberam aplicação do bioestimulante via tratamento de sementes (Seed⁺) e/ou via parte aérea (Crop⁺), se comparadas as plantas sem aplicação de bioestimulante, porém, sem interação significativa com as diferentes condições hídricas do solo.

Quando analisado a condição hídrica, sem levar em consideração os manejos bioestimulantes, também houve diferença significativa ($p < 0,05$) onde, os tratamentos sem a restrição hídrica apresentaram superioridade, com média de 67,250 legumes planta⁻¹ comparado a 62,708 legumes planta⁻¹ nas unidades experimentais com deficiência hídrica, no experimento I. Já no experimento II, os tratamentos sem deficiência hídrica apresentaram superioridade, com média de 99,291 legumes planta⁻¹ comparado a 67,958 legumes planta⁻¹ nas unidades experimentais com deficiência hídrica, contribuindo com um aumento de 31,5% (Tabela 3). Esses resultados corroboram com os encontrados por Klahold *et al.*, (2006), onde verificaram incremento em relação a testemunha, no NLP, na cultura da soja, em função da aplicação de bioestimulantes via semente e via parte aérea.

O resultado obtido com os presentes experimentos I e II de aumento da formação e/ou fixação de legumes nas plantas apresentam importância efetiva para manter ou incrementar a produtividade da cultura da soja. Isso ocorreu provavelmente devido ao menor abortamento de

legumes no estágio reprodutivo da cultura. Sendo esse, um período crítico a ocorrência de deficiência hídrica, porém, a aplicação dos bioestimulantes mitigaram essas perdas, com relação a variável NLP. Em condições de lavouras comerciais, a taxa de abortamento de legumes varia de 40 a 80%, sendo que estresses bióticos e abióticos, como deficiência hídrica, desfolhamento, entre outros, tendem a aumentar a taxa de abortamento de legumes (THOMAS & COSTA, 2010).

Tabela 3 - Médias do número de legumes planta⁻¹ das plantas submetidas a diferentes manejos com bioestimulantes e os níveis do fator D (deficiência hídrica), nas safras de 2017/2018 e 2018/2019. Santa Maria/RS, 2020

| Safrá 2017/2018 | | | |
|-----------------------------------|-----------|-------------------------------|----------|
| Fator A (manejos bioestimulantes) | | Fator D (deficiência hídrica) | |
| Fator A | Média | Fator D | média |
| A1 | 44,625d | Sem déficit H | 67,250 a |
| A2 (1 PA) | 68,500 b | Com déficit H | 62,708 b |
| A3 (2 PA) | 69,250 b | | |
| A4 (TS) | 58,125c | | |
| A5 (TS + 1 PA) | 72,625 ab | | |
| A6 (TS + 2 PA) | 76,750 a | | |
| CV (%) | | 6,27 | |
| Safrá 2018/2019 | | | |
| Fator A (manejos bioestimulantes) | | Fator D (deficiência hídrica) | |
| Fator A | Média | Fator D | média |
| A1 | 64,250 b | Sem déficit H | 99,291 a |
| A2 (1 PA) | 59,750 b | Com déficit H | 67,958 b |
| A3 (2 PA) | 66,125 b | | |
| A4 (TS) | 76,000 b | | |
| A5 (TS + 1 PA) | 92,250 b | | |
| A6 (TS + 2 PA) | 143,375 a | | |
| CV (%) | | 29,97 | |

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si, pelo teste Tukey ($p > 0,05$). Fator A – sem tratamento; fator A2 – uma aplicação em parte aérea; fator A3 – duas aplicações em parte aérea; fator A4 – aplicação em tratamento de sementes; fator A5 – aplicação em tratamento de sementes e uma aplicação em parte aérea; fator A6 – aplicação em tratamento de sementes e duas aplicações em parte aérea).

Para o componente de rendimento número de grãos legume⁻¹, a análise estatística demonstrou que não houve interação significativa entre os tratamentos com diferentes condições hídricas no solo e aplicação de bioestimulantes, nos experimentos I e II (Tabela 4). De maneira geral, observa-se que no Experimento I (safra 2017/2018) houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey entre os diferentes manejos com bioestimulantes sem levar em consideração a condição hídrica (ausência e presença de deficiência hídrica) onde, os tratamentos com aplicação de Seed⁺ e Crop⁺ (uma e duas aplicações) apresentaram os maiores valores médios de número de grãos legume⁻¹ quando comparado com as plantas que não receberam aplicação de bioestimulante (testemunha). No experimento II (safra 2018/2019), os diferentes manejos com bioestimulantes (via tratamento de sementes Seed⁺ e via aplicação foliar Crop⁺) não apresentou diferença estatística significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Com relação ao fator deficiência hídrica analisado isoladamente, observa-se diferença significativa ($p < 0,05$) onde, as unidades experimentais sob a ausência de deficiência hídrica apresentaram os maiores valores, com média de 2,416 grãos legume⁻¹ (Experimento I) e 2,517 grãos legume⁻¹ (Experimento II) comparado a 2,295 grãos legume⁻¹ e 2,356 grãos legume⁻¹, respectivamente (Tabela 4). O resultado obtido no experimento II não apresentou variação, não sendo verificadas diferenças significativas quanto ao incremento no NGL com a aplicações dos bioestimulantes (Tabela 4).

Tabela 4 - Médias do número de grãos legume⁻¹ das plantas submetidas a diferentes manejos com bioestimulantes e dois níveis do fator D (déficit hídrico), na safra agrícola 2017/18. Santa Maria/RS, 2020

| Safra 2017/2018 | | | |
|-----------------------------------|----------|---------------------------|---------|
| Fator A (manejos bioestimulantes) | | Fator D (déficit hídrico) | |
| Fator A | Média | Fator D | média |
| A1 | 2,100 d | Sem déficit H | 2,416 a |
| A2 (1 PA) | 2,310 bc | Com déficit H | 2,295 b |
| A3 (2 PA) | 2,430 ab | | |
| A4 (TS) | 2,260 c | | |
| A5 (TS + 1 PA) | 2,460 a | | |
| A6 (TS + 2 PA) | 2,540 a | | |
| CV(%) | | 3,93 | |
| Safra 2018/2019 | | | |
| Fator A (manejos bioestimulantes) | | Fator D (déficit hídrico) | |
| Fator A | Média | Fator D | média |
| A1 | 2,377 a | Sem déficit H | 2,517 a |
| A2 (1 PA) | 2,496 a | Com déficit H | 2,356 b |
| A3 (2 PA) | 2,405 a | | |
| A4 (TS) | 2,522 a | | |
| A5 (TS + 1 PA) | 2,362 a | | |
| A6 (TS + 2 PA) | 2,460 a | | |
| CV(%) | | 5,41 | |

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si, pelo teste Tukey ($p > 0,05$). Fator A – sem tratamento; fator A2 – uma aplicação em parte aérea; fator A3 – duas aplicações em parte aérea; fator A4 – aplicação em tratamento de sementes; fator A5 – aplicação em tratamento de sementes e uma aplicação em parte aérea; fator A6 – aplicação em tratamento de sementes e duas aplicações em parte aérea).

Na estimativa da produtividade, a análise estatística apresentou interação significativa entre os fatores manejo com bioestimulantes e condição hídrica do solo, nos experimentos I e II (Tabela 5). Sendo que, o desdobramento na análise estatística ($p < 0,05$) permitiu distinguir que a aplicação via tratamento de sementes Seed⁺ combinado com aplicação via parte aérea Crop⁺ nos estádios V5 e V5 + R1 foram superiores aquelas realizadas apenas no tratamento de sementes (TS). Por outro lado, o tratamento de sementes superou a ausência de tratamento (testemunha)

nas unidades experimentais onde as plantas estavam ou não sob influência da deficiência hídrica, com relação a variável produtividade (kg há⁻¹), no experimento I (safra 2017/2018). Nas UE sob influência da deficiência hídrica, todos os tratamentos aplicados isolados ou combinados, apresentaram maior rendimento de produtividade comparado a testemunha sem aplicação de bioestimulante (Tabela 5).

A menor produtividade nas parcelas controle com deficiência hídrica com relação aos demais tratamentos, ocorreu provavelmente devido à menor produção dos fotoassimilados e gasto com energia para proteção contra o estresse. Isso faz com que ocorra redução na quantidade de recursos para formar flores e encher grão, resultando em menor produtividade (AKRAN et al., 2019). Porém, quando as plantas submetidas a deficiência hídrica receberam a aplicação dos bioestimulantes apresentaram produtividade superiores as plantas controle, com o estresse imposto, indicando auxílio às plantas para evitar os efeitos negativos da seca.

Quando analisamos o Experimento II (safra 2018/2019), observa-se que, todos os manejos sem deficiência hídrica foram superiores as unidades experimentais onde as plantas apresentavam o estresse abiótico imposto. Nas unidades experimentais com deficiência hídrica, nota-se que, quando realizado o manejo com bioestimulante via aplicação foliar, a produtividade da cultura apresentou-se mais elevada comparado ao manejo apenas com tratamento de sementes e a testemunha sem aplicação, apresentando diferença estatística significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Dessa forma, é visível o benefício da aplicação de bioestimulantes na cultura da soja visando manter a produtividade quando as plantas estão impostas a adversidades climáticas, como a deficiência hídrica em estádios críticos para a cultura (Tabela 5). Resultados que corroboram com os encontrados por Bertolin *et al.*, (2010), os quais observaram que a aplicação de bioestimulantes proporciona incremento na produtividade de grãos tanto em aplicação via sementes quanto via foliar, além do aumento no número de legumes planta⁻¹.

Os resultados diferenciados expressos dentro de cada experimento (safra agrícola), provavelmente são reflexos de um comportamento climático distinto entre as duas safras, como a temperatura. O que permite inferir um conjunto de fatores ecofisiológicos que em conjunto, ou isoladamente, podem interferir na performance dos bioestimulantes via tratamento de sementes e/ou aplicação via parte aérea. Klahold *et al.* (2006) constataram em seu experimento que a aplicação de um biorregulador via tratamento de sementes e/ou via foliar proporcionou incremento no número de vagens, no número de grãos e na produção por planta, na cultura da soja. A composição dos produtos à base da alga marinha atuam na melhoria da eficiência no uso de recursos como água e nutrientes, gerando alterações fisiológicas e bioquímicas que resultam em maior tolerância a situações estressantes, gerando acréscimos na produtividade (VA OOSTEN *et al.*, 2017).

Tabela 5 - Produtividade (kg ha^{-1}) da soja submetidas a diferentes manejos com bioestimulantes e níveis do fator D (déficit hídrico), na safra agrícola 2017/18. Santa Maria/RS, 2020

| Nível do Fator D (déficit hídrico) | | | |
|------------------------------------|--------------|----------------|---------------|
| D1 (sem) | | D2 (com) | |
| Fator A | Média | Fator A | Média |
| A1 | 3297,425 c A | A1 | 3143,812 c B |
| A2 (1 PA) | 3609,825 b A | A2 (1 PA) | 3504,267 a A |
| A3 (2 PA) | 3603,755 b A | A3 (2 PA) | 3476,830 ab B |
| A4 (TS) | 3360,060 c A | A4 (TS) | 3300,150 bc A |
| A5 (TS + 1 PA) | 3700,845 b A | A5 (TS + 1 PA) | 3461,687 ab B |
| A6 (TS + 2 PA) | 3907,597 a A | A6 (TS + 2 PA) | 3579,467 a B |
| CV(%) | | 2,43 | |
| Nível do Fator D (déficit hídrico) | | | |
| D1 (sem) | | D2 (com) | |
| Fator A | Média | Fator A | Média |
| A1 | 3909,600 c A | A1 | 3270,370 b B |
| A2 (1 PA) | 4393,102 b A | A2 (1 PA) | 4117,365 a B |
| A3 (2 PA) | 4399,485 b A | A3 (2 PA) | 4254,697 a B |
| A4 (TS) | 4270,000 b A | A4 (TS) | 3342,535 b B |
| A5 (TS + 1 PA) | 4618,560 a A | A5 (TS + 1 PA) | 4255,477 a B |
| A6 (TS + 2 PA) | 4669,812 a A | A6 (TS + 2 PA) | 4285,435 a B |
| CV(%) | | 1,96 | |

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si, pelo teste Tukey ($p > 0,05$). Fator A – sem tratamento; fator A2 – uma aplicação em parte aérea; fator A3 – duas aplicações em parte aérea; fator A4 – aplicação em tratamento de sementes; fator A5 – aplicação em tratamento de sementes e uma aplicação em parte aérea; fator A6 – aplicação em tratamento de sementes e duas aplicações em parte aérea).

Para o componente de rendimento PMS (peso de mil sementes) não houve interação significativa ($p < 0,05$) entre os fatores tratamentos bioestimulantes e condições hídricas do solo, nos experimentos I (safra 2017/2018) e II (safra 2018/2019) (Tabela 6). Onde, as unidades experimentais sem a deficiência hídrica apresentaram média de 166,139 g e 168,6 g de PMS nos experimentos I e II, respectivamente e, as UE com o estresse abiótico, média de 164,466 g e 166,894 g de PMS nos experimentos I e II, respectivamente. Com relação aos tratamentos com bioestimulantes, a aplicação de Seed⁺ isolado, Crop⁺ isolado e as combinações apresentaram os maiores valores comparado as unidades experimentais sem aplicação de bioestimulantes (testemunha), nos dois experimentos (safra 2017/2018 e safra 2018/2019). Sendo que, quando comparado a testemunha (sem aplicação de bioestimulantes) e as UE's com aplicação de Seed⁺ via tratamento de sementes e duas aplicações de Crop⁺ ocorreu um aumento em torno de 20 gramas a cada 1000 sementes de soja, nos experimentos I e II. Isto pode estar relacionado ao melhor desempenho dos demais componentes de rendimento que as plantas de soja obtiveram nos tratamentos com a aplicação dos bioestimulantes, proporcionando melhores condições na produção de fotoassimilados e translocação para as sementes.

Tabela 6 - Médias do valor de PMS (peso de mil sementes) das plantas submetidas a diferentes manejos com bioestimulantes e dois níveis do fator D (deficiência hídrica), na safra agrícola 2017/18. Santa Maria/RS, 2020

| Safra 2017/2018 | | | |
|-----------------------------------|-----------|---------------------------|-----------|
| Fator A (manejos bioestimulantes) | | Fator D (déficit hídrico) | |
| Fator A | Média | Fator D | Média |
| A1 | 152,862 d | Sem déficit H | 166,139 a |
| A2 (1 PA) | 162,562 c | Com déficit H | 164,466 b |
| A3 (2 PA) | 167,066 b | | |
| A4 (TS) | 155,666 d | | |
| A5 (TS + 1 PA) | 175,153 a | | |
| A6 (TS + 2 PA) | 178,506 a | | |
| CV(%) | | 2,02 | |
| Safra 2018/2019 | | | |
| Fator A (manejos bioestimulantes) | | Fator D (déficit hídrico) | |
| Fator A | Média | Fator D | média |
| A1 | 152,641 e | Sem déficit H | 168,6 a |
| A2 (1 PA) | 169,086 c | Com déficit H | 166,894 b |
| A3 (2 PA) | 173,180 b | | |
| A4 (TS) | 160,83 d | | |
| A5 (TS + 1 PA) | 172,391 b | | |
| A6 (TS + 2 PA) | 178,291 a | | |
| CV(%) | | 0,56 | |

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si, pelo teste Tukey ($p > 0,05$). Fator A – sem tratamento; fator A2 – uma aplicação em parte aérea; fator A3 – duas aplicações em parte aérea; fator A4 – aplicação em tratamento de sementes; fator A5 – aplicação em tratamento de sementes e uma aplicação em parte aérea; fator A6 – aplicação em tratamento de sementes e duas aplicações em parte aérea).

CONCLUSÕES

A aplicação de bioestimulantes isolados e/ou associados via tratamento de sementes e parte aérea apresentou melhorias na resposta fotossintética e produtiva da soja, quando imposto o estresse abiótico para a cultura. Devido aos frequentes períodos de deficiência hídrica que ocorrem na região Central do Rio Grande do Sul, especialmente no período de florescimento

da soja, se confirma como uma ferramenta para manter a produtividade da mesma, aumentando a sua tolerância a períodos com restrições hídricas.

REFERÊNCIAS

AKRAN, N. A.; ASHRAF, M.; AL-QURAINY, F. Aminolevulinic acid-induced changes in some key physiological attributes and activities of antioxidant enzymes in sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants under saline regimes. **Scientia Horticulturae**, v.142, p.143–148, 2012.

AZEVEDO NETO, A. D.; PEREIRA, P. P. A.; COSTA, D. P.; SANTOS A. C. C. Fluorescência da clorofila como ferramenta possível para a seleção de tolerância à salinidade em girassol. **Revista Ciência Agronômica**, v.42, p.893-897, 2011. <https://doi.org/10.1590/S1806-66902011000400010>

BAKER, N.R.; ROSENQVIST, E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve Crop production strategies: na examination of future possibilities. **Journal of Experimental Botany, Oxford**, v.55, p.1607-1621, 2004 <https://doi.org/10.1093/jxb/erh196>

BERTOLIN, D.C.; ESTÁQUIO DE SÁ, M.; ARF, O.; JUNIOR, E.F.; COLOMBO, A. de S.; CARVALHO, F.L.B.M. Aumento da produtividade de soja com a aplicação de bioestimulantes. **Bragantia**, v. 69, p. 339-347, 2010.

CAIRES, A.R.L.; SCHERER, M.D.; SANTOS, T.S.B.; PONTIM, B.C.A.; GAVASSONI, W.L.; OLIVEIRA, S.L. Water stress response of conventiona and transgenic soybean monitored by chorophyll a fluorescence. *Jounal of Fluorescence, Marylan*, v.20, p.645-649, 2010. <http://doi.org/10.007/s10895-009-0594-4>

DU JARDIM. Plant biostimulants: definition concept, main categories and regulation. **Scientia Horticulturae**, p. 3-14, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021>

EL-MAGEED, T.A.A.; SEMIDA, W.M.; MOHAMED, G.F.; RADY, M.M. Combined effect of foliar-applied salicylic acid and deficit irrigation on physiological– anatomical responses;

and yield of squash plants under saline soil. **South African Journal of Botany**, v.106 p.8-16, 2016.

FARACO, J. R.; CASTRO, N.M.R.; LOUZADA, J.A.; SILVA, P.R.F.; SCHOENFELD, R.; MAASS, M.B.; PAGLIARINI, N. Rendimento de grãos e eficiência do uso de água da cultura do milho em áreas de cultivo de arroz inundado com diferente manejo de irrigação e drenagem. **Irriga**, Botucatu. Edição Especial, Grandes Culturas, p. 274-290, 2016. <https://doi.org/10.15809/irriga.2016v1n1p274-290>

FEHR, W. R.; CAVINESS, C. E. Stages of soybean development. Ames, Iowa: **Yowa State University of Science and Technology**, Cooperative Extension Service, n.80, p.11, 1977.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n.6, p.1039-1042, 2011.

FIGUEIREDO, S. L.; PIVETTA, L. G.; FANO, A.; MACHADO, F. R.; GUIMARÃES, V. F. Comportamento de genótipos de soja submetidos a déficit hídrico intenso em casa de vegetação. **Revista Ceres**, Viçosa, v.58, n.3, p.342-349, 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-737X2011000300015>

GAVA, R.; FRIZZONE, J.A.; SNYDER, R.L.; JOSE, J.V.; FRAGA JR, E.F.; PERBONI, A. Estresse hídrico em diferentes fases da cultura da soja. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, v. 9, n. 6, p. 349-359, 2015

JITHESH, M.N.; WALLY, O.S.D; MANFIELD Eu; CRITCHLEY, A.T.; HILTZ, D.; PRITHIVIRAJ, B. Physiological and transcriptomics analyses reveal that *Ascophyllum nodosum* extracts induce salinity tolerance in Arabidopsis by regulating the expression of stress responsive genes. **HortScience**, v. 47, p. 704-709, 2012.

KALAJI, H. M.; GUO, P. Chlorophyll fluorescence: a useful tool in barley plant breeding programs, **Nova Science Publishers**, c. 12, p. 469 463, 2008

- KLAHOLD, C. A.; GUIMARÃES, V. F.; ECHER, M. M.; KLAHOLD, A.; ROBINSON L. C., BECKER, A. Resposta da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) à ação de bioestimulante. **Acta Scientiarum**. Agronomy, Maringá, v. 28, n. 2, p. 179-185, 2006.
- KUINCHTNER, A.; BURIOL, G.A. Clima do Estado do Rio Grande do Sul segundo a classificação climática de Köppen e Thornthwaite. **Disciplinarum Scientia**, v.2, p.171-182, 2001.
- JUMRANI, K.; BHATIA, V.S. Interactive effect of temperature and water stress on soybean physiological and biochemical processes. **Plant Physiology and Molecular Biology**, v. 25, p. 667-681, 2019.
- MANAVALAN L.P.; GUTTIKONDA S.K.; TRAN L.S.; NGUYEN, H.T. Abordagens fisiológicas e moleculares para melhorar a resistência à seca na soja. **Fisiologia vegetal e celular**. Vol. 50, p. 1260-1276, 2009.
- MEHTA, P.; KRASLAVSKY, V.; BHARTI, S.; ALLAKHVERDIEV, S. I.; JAJOO, A. Analysis of salt stress induced changes in Photosystem II heterogeneity by prompt fluorescence and delayed fluorescence in wheat (*Triticum aestivum*) leaves. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v.104, p.308-313, 2011
- MISRA, V.; MALL, A.K.; SHIVASTAVA, A.K. Effectiveness of Cytozyme Products Over Yields and Juice Quality in Sugarcane Ratoon Crop. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**. Vol. 6, p. 2294-2299, 2017.
- MOLINARI, H.B.C.; MARUR, C.J.; DAROS, E.; CAMPOS M.K.F.; CARVALHO, J.F.R.P.; BESPALHOK-FILHO, J.C.; PEREIRA, L.F.P.; VIEIRA, L.G.E. Evaluation of the stress-induced production of proline in transgenic sugarcane (*Saccharum* spp.): osmotic adjustment chlorophyll fluorescence and oxidative stress. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.130, p. 218-229, 2007.

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

SHU, S.; YUAN, LY; GUO, SR; SUN, J.; YUAN, YH Effects of exogenous spermine on chlorophyll fluorescence, antioxidant system and ultrastructure of chloroplasts in *Cucumis sativus* L. under salt stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.63, p.209-216, 2013.

THOMAS, A. L., COSTA, J. A. Desenvolvimento da planta de soja e potencial de rendimento de grãos. In: THOMAS, A. L., COSTA, J. A. (Org.). Soja: manejo para alta produtividade de grãos. Porto Alegre: Evangraf, 2010.

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

4 ARTIGO 2 - Respostas fisiológicas e bioquímicas a aplicação de bioestimulantes em soja, sob deficiência hídrica

Physiological and biochemical responses to the application of biostimulants in soybean, under water deficiency

RESUMO: Bioestimulantes vegetais a base da alga *Ascophyllum nodosum* tem se difundido na agricultura brasileira, com objetivo de promover um adequado crescimento e desenvolvimento das culturas e aumento na produtividade. Porém, os efeitos dessas substâncias em plantas sob restrição hídrica, ainda são incipientes. O presente trabalho buscou elucidar o efeito dos bioestimulantes como alternativa de mitigar os efeitos da deficiência hídrica, sobre parâmetros fisiológicos e bioquímicos da cultura. O experimento foi conduzido na safra agrícola 2018/19, á campo, na área experimental da Empresa Biomonte Pesquisa e Desenvolvimento, em Santa Maria, RS. Utilizou-se o delineamento experimental blocos ao acaso, com os tratamentos distribuídos em esquema fatorial 2 x 2, referentes a presença ou ausência da restrição hídrica e manejos com bioestimulantes (tratamento controle e aplicação via sementes + aplicação nos estádios V5 e R1 das plantas), com quatro repetições. Conclui-se que, a aplicação de bioestimulantes à base da alga marinha *Ascophyllum nodosum* podem aumentar a capacidade de defesa das plantas de soja contra os danos induzidos pelo estresse ambiental imposto, através da indução a maior atividade de enzimas antioxidantes das plantas, contra as espécies reativas de oxigênio. Porém não foram encontradas diferenças nas variáveis analisadas com relação ao aparato fotossintético das plantas.

Palavras-chave: *Ascophyllum nodosum*. Aparato fotossintético. Enzimas antioxidantes. Pigmentos fotossintéticos.

ABSTRACT: The use of vegetable biostimulants based on the seaweed *Ascophyllum nodosum* has been widespread in Brazilian agriculture, with the objective of promoting an adequate growth and development of crops and an increase in productivity. However, the effects of these

substances on plants under water restriction are still incipient. The present study sought to elucidate the effect of biostimulants based on the seaweed *Ascophyllum nodosum* as an alternative to mitigate the effects of water deficiency, on physiological and biochemical parameters of soybean culture. The experiment was conducted in the 2018/19 agricultural harvest, in the field, in the experimental area of the Biomonte Research and Development Company, in Santa Maria, RS. A randomized block design was used, with treatments distributed in a 2 x 2 factorial scheme, referring to the presence or absence of water restriction and two managements with biostimulants (control treatment and application via TS seeds + application in the V5 stage + application in the R1 stage of soybean plants), with four replications. It is concluded that the application of biostimulants based on the seaweed *Ascophyllum nodosum* can effectively increase the defense capacity of soybean plants against the damage induced by the imposed environmental stress, by inducing the greater activity of antioxidant enzymes of the plants, against the Oxygen-reactive species. However, no differences were found in the variables analyzed in relation to the photosynthetic part of plants.

Key-words: *Ascophyllum nodosum*. Photosynthetic apparatus. Antioxidant enzymes. Photosynthetic pigments.

INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max L.*) é considerada uma das principais culturas oleaginosas do mundo e possui um grande valor econômico e social. Porém, a produção agrícola está sujeita a ação de diferentes adversidades do clima, como o estresse abiótico provocado pela deficiência hídrica. A cultura da soja possui demanda hídrica que varia entre 450 e 800 mm durante o seu ciclo, com maior necessidade entre o florescimento e o enchimento de grãos, podendo apresentar nesse período demanda hídrica de até 7,4 mm dia⁻¹ (GAVA *et al.*, 2015). Assim, sob a presença de deficiência hídrica, as plantas de soja promovem o fechamento estomático, interrompendo dessa forma o fluxo de CO₂ e a água através da transpiração, limitando a

assimilação e a disponibilidade de CO₂, o qual mantém o balanço hídrico (SILVA *et al.*, 2015). Uma maneira de avaliar as mudanças no aparato fotossintético das plantas é através da avaliação da fluorescência de clorofila, a qual revela o nível de excitação da energia que dirige a fotossíntese e fornece subsídios para estimar a inibição ou o dano provocado no processo de transferência de elétrons do PSII (SANTOS *et al.*, 2010).

Uma série de pesquisas tem sido desenvolvida, com o intuito de buscar estratégias de manejo para a cultura da soja, que possibilite reduzir os efeitos que a restrição hídrica causa na atividade fotossintética e bioquímica, através do uso de bioestimulantes à base de algas marinhas, as quais são consideradas mitigadoras de danos provocados pelos estresses abióticos nas plantas. Bioestimulantes são definidos como qualquer substância ou mistura de substâncias de origem natural ou microrganismo que melhore a condição das culturas sem causar efeitos colaterais adversos (DU JARDIM, 2015).

As algas marinhas sintetizam os hormônios vegetais e, comercialmente são utilizadas como bioestimulantes de plantas com o objetivo de aumento de produção (STIRK *et al.*, 2003). Dentre as macroalgas, pode-se mencionar os produtos à base de *Ascophyllum nodosum*, que têm sido utilizados para aplicações via tratamento de sementes, aplicações via solo ou foliares por exibirem ação semelhantes aos hormônios vegetais. A alga *Ascophyllum nodosum* é constituída por citocininas, auxinas, ácido abscísico, giberelinas, betaína e alginatos (MACKINNON *et al.*, 2010) e, os extratos de *Ascophyllum nodosum* são considerados como os mais utilizados (XU & LESKOVAR, 2015). Diversos são os trabalhos que demonstram efeitos positivos no uso do extrato comercial da alga *Ascophyllum nodosum* na tolerância das plantas aos estresses hídricos (SPANN & LITTLE, 2011; MARTYNENKO *et al.*, 2016).

Embora os benefícios da aplicação de bioestimulantes são comprovados em diversas culturas, o seu uso na agricultura ainda é divergente, o que mostra a necessidade de novas pesquisas para melhor avaliar os seus efeitos (KOYAMA *et al.*, 2012). Levando em

consideração os fatos explanados, o presente trabalho buscou elucidar o efeito dos bioestimulantes a base de *Ascophyllum nodosum* como alternativa de mitigar os danos provocados pela deficiência hídrica, sobre parâmetros fisiológicos da soja.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no período agrícola de novembro a abril, da safra 2018/2019, á campo, na área experimental da Empresa Biomonte Pesquisa e Desenvolvimento, em Santa Maria, RS, cujas coordenadas geográficas são 29°39,059' Sul e 53°57,413' Oeste e altitude de 180,0 metros. O solo da área experimental é classificado como Argissolo Vermelho Distrófico Arênico. De acordo com a classificação de Köppen, o clima é do tipo Cfa e Cfb, úmido em todas as estações do ano, verão quente e moderadamente quente, com predominância de Cfa. Os dados de precipitação pluvial e temperatura média, referentes ao período de duração do experimento foram coletados diariamente através da Estação Meteorológica Instalada da área experimental (Figura 2).

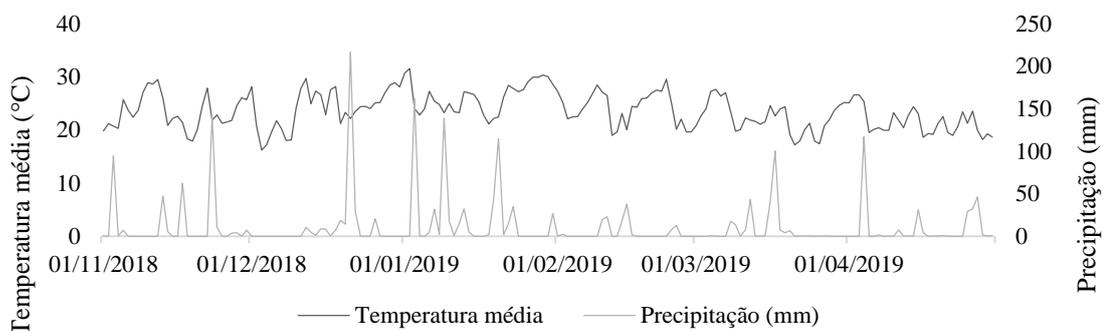


Figura 2: Dados de precipitação pluvial e temperatura média, no período de execução dos experimentos.

A cultivar utilizada no experimento foi a BMX Ponta IPRO (7166 IPRO), de ciclo de maturação: 6.6; hábito de crescimento: indeterminado; média exigência em fertilidade e adaptada em áreas agrícolas da região central do estado do Rio Grande do Sul. O manejo fitossanitário da cultura foi realizado de acordo com as recomendações técnicas para a cultura da soja no estado do Rio Grande do Sul. A adubação da cultura baseou-se na análise do solo

utilizado levando em conta recomendações da ROLAS (Rede Oficial de Laboratório de Análise de Solos) para a cultura da soja.

Foi adotado um delineamento em blocos ao acaso, em esquema fatorial 2 x 2, sendo ausência ou presença (2) da restrição hídrica e plantas com o manejo de bioestimulantes e plantas sem esse manejo (controle), com 4 repetições, totalizando 16 unidades experimentais, representadas por 5 fileiras de plantas espaçadas 0,5 metros, com 3 metros de comprimento (9 m²). Os tratamentos estão representados na Tabela 7.

Tabela 7 - Tratamentos utilizados no experimento, na cultura da soja. Santa Maria/RS, 2020

| | Tratamentos | Restrição hídrica | Momento da aplicação |
|-----|---|-------------------|----------------------|
| T 1 | Sem tratamento | Ausência | - |
| T 2 | Seed ⁺ + Crop ⁺ + Crop ⁺ | Ausência | TS + V5 + R1 |
| T 3 | Sem tratamento | Presença | - |
| T 4 | Seed ⁺ + Crop ⁺ + Crop ⁺ | Presença | TS + V5 + R1 |

Para compor os tratamentos, foram utilizados dois bioestimulantes vegetais – um aplicado via tratamento de sementes (TS) (Seed⁺) e outro com aplicação via parte aérea (Crop⁺), nos estádios de quinto nó e início do florescimento, caracterizado pelos estádios V5 e R1 de acordo com a escala de Fehr e Caviness (1977), aplicado com pulverizador costal a CO₂, com vazão de 150 L há⁻¹. Sendo o primeiro (Seed⁺), considerado um fertilizante de origem vegetal obtido através da fermentação e tratamento químico de *Ascophyllum nodosum* e o segundo (Crop⁺), obtido a partir de concentrados da alga *Ascophyllum nodosum* (MISRA et al., 2017).

Para limitar a entrada de água pela chuva, nas unidades experimentais, foram confeccionadas 24 “mini estufas” de plástico polipropileno, do tamanho das unidades experimentais com altura de 1,5 metros, onde foi submetido a deficiência hídrica na soja, entre os estádios R2 (florescimento pleno) e R6 (grão verde ou vagem cheia), de acordo com a escala fenológica proposta por Fehr; Caviness (1977). Foram confeccionadas valas de 0,5 m de

profundidade no entorno com objetivo de reduzir a possibilidade de entrada de água por fluxo lateral.

A umidade do solo (ausência ou presença de deficiência hídrica) foi monitorada por sensores HidroFarm e tensiômetros. Os sensores Hidro Farm, da marca Falker, permitem a medição da umidade volumétrica do solo pela tecnologia ISAF. O equipamento informa diretamente o valor da umidade volumétrica do solo, em porcentagem (FARACO *et al.*, 2016). Para as unidades experimentais que não foram submetidas a deficiência hídrica, a reposição da água era realizada assim que o aparelho registrava a umidade volumétrica 17,6% (1% acima da umidade crítica para o tipo de solo e a cultura utilizada (16,6%)). Através do monitoramento com tensiômetros na área experimental, a irrigação era realizada quando a tensão da água ultrapassava a faixa de 70 kPa (faixa de cor vermelho – deficiência hídrica). A irrigação das unidades experimentais foi realizada por gotejamento em cada linha de semeadura da soja. As unidades experimentais com deficiência hídrica, foram mantidas com umidade volumétrica abaixo de 16,6% e tensão de água entre 20 e 30 kPa.

As avaliações das variáveis relacionadas à fotossíntese foram aferidas no terço média da planta, através do último folíolo completamente desenvolvido. As plantas de soja encontravam-se no estágio R2 de desenvolvimento no momento da leitura os dados, que ocorreram no período das 10:30 h, 12:30 h e 14:30 h, em dia ensolarado. O equipamento utilizado foi o medidor portátil Infra Red Gas Analyzer (IRGA). As variáveis determinadas foram: assimilação de CO₂ ($A - \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); condutância estomática de vapores de água ($G_s - \text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e taxa transpiratória ($E - \text{nmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$).

Para determinação da atividade de enzimas oxidativas, amostras de folhas foram maceradas em nitrogênio líquido. Onde, 0,5 g de amostra foi homogeneizada em 3 mL de tampão fosfato de sódio (pH 7,8) 0,05 M, contendo 1 mM de EDTA e 2% (w/v) de polivinilpirrolidona (PVP). O homogeneizado foi centrifugado a 13.000 x g por 20 min. a 4°C

e o sobrenadante foi utilizado para a determinação da atividade das enzimas e concentração de proteínas. A atividade da enzima guaiacol peroxidase foi determinada segundo Zeraik *et al.* (2008), utilizando-se o guaiacol como substrato. A atividade da superóxido dismutase (SOD) foi determinada de acordo com o método espectrofotométrico, descrito por Giannopolitis; Ries (1977). As folhas foram coletadas no estágio R2 (pleno florescimento) de acordo com Fehr e Caviness (1977).

Foram retiradas amostras em forma de disco das folhas das plantas de soja, utilizando um furador de papel comum. Imediatamente, estas amostras foram colocadas em tubos de reação (eppendorff) e congeladas em nitrogênio líquido para serem analisadas posteriormente. A clorofila total e os carotenoides foram extraídos segundo o método de Hiscox; Israelstan (1979) e estimados usando a equação de Lichtenthaler (1987). Amostras frescas de folhas (0,05 g) foram incubadas à 65°C com dimetilsulfóxido (DMSO), até ocorrer a extração completa dos pigmentos. As absorbâncias da solução foram medidas em espectrofotômetro a 663, 645 e 470 nm para clorofila *a*, clorofila *b* e carotenoides, respectivamente.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância conforme o modelo matemático do delineamento blocos ao acaso com arranjo fatorial, realizando-se o desdobramento das variáveis que apresentaram resposta significativa à interação entre os fatores estudados. O efeito da deficiência hídrica e do manejo com bioestimulantes foram avaliados aplicando-se o teste de Tukey para agrupamento das médias, com 0,05 de probabilidade de erro ($p < 0,05$), utilizando-se o programa Sisvar® 5.6 (FERREIRA, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Parâmetros fisiológicos

Para que a cultura consiga mitigar os possíveis danos causados devido à restrição hídrica, as plantas passam por alterações fisiológicas com o objetivo de manter a água no seu interior, como o fechamento estomático, mediando pelo ácido abscísico (ABA), sendo essa uma das

primeiras respostas das plantas a deficiência hídrica. No presente trabalho, nota-se que as plantas submetidas à restrição hídrica foram as que apresentaram os menores valores de condutância estomática (gs) (0,185 e 0,250 mol H₂O m⁻² s⁻¹ na leitura realizadas às 10:30 h; 0,0825 e 0,1125 mol m⁻² s⁻¹ na leitura realizadas às 12:30 h e 0,06 e 0,09 mol m⁻² s⁻¹ na leitura realizadas às 14:30 h) (Tabela 8). Porém, a partir da ANOVA não se verificou interação significativa e nem diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre os manejos com e sem bioestimulantes via tratamento de sementes e via parte aérea da cultura da soja. Contudo, os valores da condutância estomática nas unidades experimentais com restrição hídrica e manejo com bioestimulantes foram maiores que aquelas que não receberam esse manejo, indicando menor fechamento estomático e conseqüentemente menor eficiência de uso da água (mais CO₂ absorvido por unidade de água transpirada), pois o fechamento estomático inibe a transpiração que diminui as concentrações intercelulares de CO₂ (TAIZ; ZEIGER, 2017) (Tabela 8). Martynenko et al., (2016), relataram efeito positivo do extrato de alga marinha na resistência ao estresse e na recuperação de plantas de soja, através da avaliação da condutância estomática, corroborando com os resultados encontrados no presente estudo.

A resposta fisiológica encontrada entre os tratamentos com restrição hídrica visa evitar a perda de água excessiva pelo processo da transpiração da cultura. A redução progressiva da condutância estomática de plantas em condições de baixa umidade do solo, apresenta-se como uma resposta às perdas de água (PAIVA et al., 2005). Assim, as unidades experimentais sem restrição hídrica proporcionaram maior abertura estomática, proporcionando condições para as plantas realizarem o processo fisiológico, sem influências negativas sobre a abertura dos estômatos. No trabalho em questão, a Gs (condutância estomática) foi menor nos tratamentos em virtude da condição de restrição hídrica às quais as plantas de soja foram submetidas. Corroborando com os resultados encontrados por Silva et al., 2010, onde, a menor disponibilidade de água reduziu a condutância estomática em plantas de feijão-caupi.

Tabela 8 - Médias do valor de Gs (condutância estomática) das plantas submetidas a diferentes manejos com bioestimulantes e dois níveis do fator D (restrição hídrica) e três leituras. Santa Maria/RS, 2020

| Leitura às 10:30 h | | | |
|-----------------------|------------|-----------------------|------------|
| Sem restrição hídrica | | Com restrição hídrica | |
| Fator A | Média | Fator D | Média |
| A1 | 0,365 a | A1 | 0,185 a |
| A2 | 0,315 a | A2 | 0,250 a |
| CV(%) | | 25,18 | |
| Leitura às 12:30 h | | | |
| Sem restrição hídrica | | Com restrição hídrica | |
| Fator A | Média | Fator D | Média |
| A1 | 0,3325 a A | A1 | 0,0825 a B |
| A2 | 0,175 b A | A2 | 0,1125 a B |
| CV(%) | | 20,61 | |
| Leitura às 14:30 h | | | |
| Sem restrição hídrica | | Com restrição hídrica | |
| Fator A | Média | Fator D | Média |
| A1 | 0,255 a A | A1 | 0,06 a B |
| A2 | 0,1875 b A | A2 | 0,09 a B |
| CV(%) | | 12,77 | |

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si, pelo teste Tukey ($p > 0,05$). Fator A 1 – sem tratamento; fator A2 – aplicação em tratamento de sementes e duas aplicações em parte aérea.

O fechamento estomático teve um reflexo direto nos valores de transpiração (E), onde, a transpiração (E) das plantas de soja irrigadas apresentou-se significativamente superior ($p < 0,05$) com relação a transpiração das plantas que estavam sob restrição hídrica (Tabela 9). E, as plantas que receberam o manejo com bioestimulante via tratamento de sementes e via parte aérea apresentaram uma elevação nos valores de E, nas unidades experimentais o qual o estresse abiótico estava imposto, comparado as plantas controle. Esse resultado corrobora em partes com o encontrado por Chavarria et al. (2015), que verificaram reduções de E (90%) na soja em unidades experimentais que não receberam a aplicação de água no solo.

Em situação de ótima disponibilidade hídrica, as plantas normalmente apresentam altas taxas de transpiração. Quando a água no solo vai se tornando escassa, as plantas iniciam o processo de redução da taxa transpiratória com intuito de reduzir a perda de água. Isso justifica o aumento na transpiração (E) e também da condutância estomática (Gs) nas unidades experimentais onde as plantas de soja receberam a irrigação e, não passaram por restrição hídrica. E, nas unidades experimentais com aplicação de bioestimulantes à base de *A. nodosum*, comparado as unidades experimentais controle.

Valores adequados de E, matem as atividades metabólicas das plantas. Dessa forma, proporcionam um equilíbrio térmico nas folhas, evitando que as altas temperaturas internas causem danos irreversíveis (ERGO et al., 2018; SHUKLA et al., 2017), como a formação de EROs. As plantas que foram tratadas com os bioestimulantes, apresentaram E superiores as plantas testemunha sob restrição hídrica. O extrato da alga marinha *A. nodosum* pode atuar na regulação da temperatura das folhas, através do aumento na eficiência do controle estomático (MARTYNENKO et al., 2016).

Tabela 9 - Médias do valor de E (taxa transpiratória - $\text{nmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) das plantas submetidas a diferentes manejos com bioestimulantes e dois níveis do fator D (restrição hídrica) e três leituras. Santa Maria/RS, 2020

| Leitura às 10:30 h | | | |
|-----------------------|-----------|-----------------------|-----------|
| Sem restrição hídrica | | Com restrição hídrica | |
| Fator A | Média | Fator D | Média |
| A1 | 5,41 a | A1 | 3,215 a |
| A2 | 4,687 a | A2 | 3,28 a |
| CV(%) | | 17,27 | |
| Leitura às 12:30 h | | | |
| Sem restrição hídrica | | Com restrição hídrica | |
| Fator A | Média | Fator A | Média |
| A1 | 6,045 a A | A1 | 1,985 a B |
| A2 | 4,617 b A | A2 | 2,40 a B |
| CV(%) | | 18,75 | |

| Leitura às 14:30 h | | | |
|-----------------------|-----------|-----------------------|-----------|
| Sem restrição hídrica | | Com restrição hídrica | |
| Fator A | Média | Fator A | Média |
| A1 | 5,892 a A | A1 | 2,275 a B |
| A2 | 4,922 b A | A2 | 2,592 a B |
| CV(%) | | 11,07 | |

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si, pelo teste Tukey ($p > 0,05$). Fator A1 – sem tratamento; fator A2 – aplicação em tratamento de sementes e duas aplicações em parte aérea.

A Tabela 10 apresenta os valores de A (assimilação líquida de CO₂) das plantas de soja sob restrição hídrica e/ou sob aplicação de bioestimulantes. Em geral, é possível observar que, os valores de A apresentaram diferença estatística significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade entre as plantas que estavam sob a influência da restrição hídrica e plantas que estavam sob ambiente irrigado, nas leituras realizadas às 12:30 h e 14:30 h. Confirmando com esse resultado, Machado Júnior et al. (2017), verificaram redução no valor A ao submeter as plantas de soja a um estresse hídrico considerado moderado (50% da capacidade de campo). Porém, no presente experimento, os valores não dependeram dos manejos com bioestimulantes, onde este fator não apresentou diferença significativa nas unidades experimentais e, conseqüentemente, influência sobre os resultados. Contudo, nas leituras realizadas às 10:30 h e 12:30 h, os valores de A nas plantas que receberam a aplicação de bioestimulante via tratamento de sementes e parte aérea apresentaram aumento comparado as plantas testemunhas, nas unidades experimentais com restrição hídrica. Essas respostas são indicativas de que a aplicação de bioestimulantes à base de *Ascophyllum nodosum* pode promover aumento da taxa fotossintética das plantas de soja sob restrição hídrica, comparado com plantas controle. Bioestimulantes à base de extratos da alga marinha *A. nodosum* demonstraram efeitos positivos na eficiência fotossintética de diversas espécies de plantas,

como soja, tomate e gramíneas, em situações estressoras (ELANSARY et al., 2017; GONI et al., 2018; SANTANIELLO et al., 2017).

Em geral, os valores de A das plantas sob a deficiência hídrica diminuíram em torno de 45%, independentemente das mesmas estarem sob a aplicação de bioestimulantes ou não. A menor produção de fotossíntese com esta condição hídrica está ligada com uma quantidade menor de concentração interna de CO₂, no momento que as plantas estavam com menor condutância estomática. Dessa maneira, a redução da fotossíntese líquida na cultura da soja está relacionada ao estresse hídrico, limitando assim, a assimilação de CO₂ (SILVA et al., 2015).

Tabela 10 - Médias do valor de A (assimilação líquida de CO₂ - $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) das plantas submetidas a diferentes manejos com bioestimulantes e dois níveis do fator D (restrição hídrica) e três leituras. Santa Maria/RS, 2020

| Leitura às 10:30 h | | | | |
|-----------------------|------------|-----------------------|------------|--|
| Sem restrição hídrica | | Com restrição hídrica | | |
| Fator A | Média | Fator D | Média | |
| A1 | 20,512 a A | A1 | 15,522 a A | |
| A2 | 18,865 a A | A2 | 17,300 a A | |
| CV(%) | | | 17,92 | |
| Leitura às 12:30 h | | | | |
| Sem restrição hídrica | | Com restrição hídrica | | |
| Fator A | Média | Fator D | Média | |
| A1 | 19,867 a A | A1 | 6,32 a B | |
| A2 | 16,037 b A | A2 | 7,01 a B | |
| CV(%) | | | 13,90 | |
| Leitura às 14:30 h | | | | |
| Sem restrição hídrica | | Com restrição hídrica | | |
| Fator A | Média | Fator D | Média | |
| A1 | 18,365 a A | A1 | 7,027 a B | |
| A2 | 13,12 b A | A2 | 6,902 a B | |
| CV(%) | | | 15,14 | |

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si, pelo teste Tukey ($p > 0,05$). Fator A1 – sem tratamento; fator A2 – aplicação em tratamento de sementes e duas aplicações em parte aérea.

Atividade das enzimas oxidativas

As plantas quando expostas a condições de estresse biótico e abiótico impostas às plantas induzem a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), podendo causar dessa forma, danos às estruturas celulares e acarretar a morte das plantas (BARBOSA et al., 2014). Quando as ERO's são formadas devem ser desintoxicadas para minimizar possíveis danos celulares, através de mecanismos de desintoxicação. Para eliminação desses compostos, as plantas apresentam enzimas antioxidantes contra os radicais livres, constituindo uma importante defesa primária (CARNEIRO et al., 2011), como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX).

Analisando a Tabela 11, sob condição de restrição hídrica foi possível observar um aumento na atividade da SOD, em ambos os fatores D (plantas controle e manejo com bioestimulantes), apresentando atividade enzimática mais expressiva que as plantas irrigadas pois, plantas não estressadas não necessitam gastar energia com mecanismo de defesa. Quando analisamos os manejos com bioestimulantes (TS + aplicação foliar e testemunha) observa-se que houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro, nas diferentes condições hídricas, sendo que, as plantas com o manejo bioestimulante a base da alga marinha *Ascophyllum nodosum*, apresentaram maior atividade significativa da SOD em relação as plantas controle. Isso pode ser indicativo que o dano provocado pelas espécies reativas de oxigênio sob o estresse devido à restrição hídrica, pode ter sido amenizado pela adição dos bioestimulantes, em pares, devido à presença de substâncias as quais auxiliam na regulação do processo metabólico das plantas e estimula a atividade das enzimas, como os hormônios vegetais auxinas e citocininas, presentes nos bioestimulantes à base da alga *Ascophyllum nodosum*. Pandey et al., 2016, relata que plantas que recebem a aplicação de bioestimulantes apresentam maiores níveis de SOD que plantas controle, melhorando assim a eficiência do mecanismo de defesa antioxidativo.

A enzima superóxido dismutase (SOD) é considerada a primeira linha de defesa contra as ERO's causada por estresses ambientais, como deficiência hídrica, com aumentos transitórios na atividade da SOD, sendo associadas ao aumento da tolerância ao estresse (ZHANG et al., 2008). Dessa forma, os resultados encontrados no presente experimento sugerem que a aplicação dos bioestimulantes podem aumentar a capacidade de defesa das plantas de soja contra o estresse oxidativo provocado pela restrição hídrica.

Tabela 11 - Médias dos valores de SOD (enzima superóxido dismutase - U mg⁻¹ proteína) das plantas submetidas a diferentes manejos com bioestimulantes e dois níveis do fator D (restrição hídrica). Santa Maria/RS, 2020

| Atividade da SOD – superóxido dismutase | | | |
|---|----------|-----------------------|-----------|
| Sem restrição hídrica | | Com restrição hídrica | |
| Fator A | Média | Fator D | Média |
| A1 | 6,22 b B | A1 | 10,221b A |
| A2 | 8,29 a B | A2 | 11,51 a A |
| CV(%) | | 5,78 | |

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si, pelo teste Tukey (p>0,05). Fator A1 – sem tratamento; fator A2 – aplicação em tratamento de sementes e duas aplicações em parte aérea.

Outra enzima antioxidante importante para proteger as células dos efeitos danosos provocados pela restrição hídrica é a guaiacol peroxidase (POD). Nas plantas de soja, a atividade da enzima guaiacol peroxidase (POD) na parte aérea foi estimulada com a aplicação dos bioestimulantes tanto na ausência quanto na presença da restrição hídrica, em relação as plantas controle (Tabela 12), indicando que os bioestimulantes em questão apresentam potencial de ativar o sistema antioxidante das plantas de soja, da cultivar estudada, independente da presença ou não do fator estressante.

De acordo com Bradacova et al., (2016), o efeito protetor gerado pelos pela aplicação de bioestimulante a base de extrato de alga marinha, pode estar associado aos micronutrientes da composição que atuam como cofatores de enzimas antioxidantes. Além disso, a alga *Ascophyllum nodosum* apresenta em sua composição aminoácidos, como prolina. Prolina protege as plantas contra o dano oxidativo provocado pelos EROs (ALIA et al., 2001), atuando como uma enzima antioxidante (SIGNORELLI et al., 2013). Sob restrição hídrica, foi observado aumento no acúmulo de prolina até 100 vezes em comparação com plantas sem restrição hídrica (VERSLUES & SHARMA, 2010), aumentando a tolerância ao estresse abiótico, diminuindo a peroxidação lipídica da membrana celular enquanto aumenta a atividade de enzimas antioxidantes (NAYYAR & WALIA, 2003). Da mesma forma, a aplicação exógena de prolina ou produtos que contenham o aminoácido, causa um aumento significativo nos pigmentos fotossintéticos clorofila e carotenóides (ZALI & EHSANZADEH, 2018).

Tabela 12 - Médias dos valores de POD (enzima guaiacol peroxidase - U mg⁻¹ proteína) das plantas submetidas a diferentes manejos com bioestimulantes e dois níveis do fator D (restrição hídrica). Santa Maria/RS, 2020

| Atividade da POD – guaiacol peroxidase | | | |
|--|--------------|-----------------------|-------------|
| Sem restrição hídrica | | Com restrição hídrica | |
| Fator A | Média | Fator D | Média |
| A1 | 140,8625 b B | A1 | 216,830 b A |
| A2 | 157,9825 a B | A2 | 270,130 a A |
| CV(%) | | 5,78 | |

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si, pelo teste Tukey (p>0,05). Fator A1 – sem tratamento; fator A2 – aplicação em tratamento de sementes e duas aplicações em parte aérea.

Conteúdo de pigmentos

As concentrações dos pigmentos fotossintéticos mantem a eficiência fotossintética das plantas, os quais são responsáveis por absorver energia luminosa utilizada na etapa fotoquímica da fotossíntese. Sob deficiência hídrica, pode ocorrer degradação dos pigmentos fotossintéticos como alternativa de reduzir a absorção de energia luminosa afim de evitar danos provocados pelo excesso de elétrons livres. No presente experimento, foram observadas variações nos níveis de disponibilidade hídrica fornecidos às plantas de soja e no manejo de bioestimulantes. Dessa maneira, o pigmento clorofila total, houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos com e sem bioestimulantes e com e sem restrição hídrica. Sendo que, o tratamento onde as plantas de soja não estavam sob influência da restrição hídrica, porém, com o manejo de bioestimulante, apresentou a maior concentração de clorofila total (5,0525) (Tabela 13) em comparação as plantas sem a presença do estresse ambiental e sem aplicação de bioestimulante (plantas controle). Essa maior concentração de clorofila pode vir a proporcionar as plantas uma maior absorção de energia luminosa, levando a uma maior produção da cultura.

As plantas sob restrição hídrica, apresentaram menor conteúdo de clorofila em ambos os manejos (com e sem bioestimulantes). Porém, houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre eles, onde o menor valor encontrado foi das plantas sem a presença desse manejo (3,03) (Tabela 13). Portanto, a aplicação de produtos à base da alga marinha *Ascophyllum nodosum* pode promover respostas favoráveis para este parâmetro, tanto na presença como na ausência da restrição hídrica. Diversos estudos apontam que bioestimulantes a base do extrato da alga marinha podem aumentar o teor de clorofilas totais em plantas sob estresse ou não (GONI et al., 2018; BULGARI et al., 2019; SAEGER et al., 2019). As clorofilas são fundamentais no processo fotossintético, por serem responsáveis pela captação da energia luminosa e no direcionamento ao centro de reação dos fotossistemas (TAIZ; ZEIGER, 2010). A degradação da clorofila é iniciada pela senescência, porém, pode ser influenciada por fatores

externos tais como o estresse hídrico, sendo um dos sintomas evidentes a clorose e/ou o amarelecimento das folhas, levando a acelerar a degradação da clorofila. A degradação da clorofila, pode ocasionar uma considerável redução na taxa fotossintética e conseqüentemente redução na produtividade (SANTOS et al., 2012).

Em relação ao conteúdo de carotenoides (Tabela 13), que são considerados pigmentos acessórios pois, transferem a luz absorvida para a clorofila, houve diferença significativa entre os tratamentos, exceto entre os tratamentos controle (sem bioestimulantes) quando comparada a presença ou a ausência da restrição hídrica. Quando comparado a aplicação ou não dos bioestimulantes na cultura na soja, independente da condição hídrica do solo, houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos, onde as plantas sem o estresse ambiental imposto e com o manejo de bioestimulantes apresentou o maior conteúdo desse pigmento (0,5375). Devido os carotenóides serem considerados além de pigmentos fotossintéticos que absorvem energia luminosa, constituintes do sistema de defesa antioxidante não enzimático das plantas, os maiores teores encontrados nos tratamentos com bioestimulantes indicam uma maior tolerância a deficiência hídrica, pois esses pigmentos eliminam o excesso de energia luminosa, evitando dessa forma, a ligação de elétrons livres com moléculas de oxigênio e prevenindo à formação de EROs e danos oxidativos (HONG-HAI et al., 2016).

Tabela 13 - Médias dos valores dos conteúdos de pigmentos das plantas submetidas a diferentes manejos com bioestimulantes e dois níveis do fator D (restrição hídrica). Santa Maria/RS, 2020

| Clorofila total | | | |
|-----------------------|------------|-----------------------|-----------|
| Sem restrição hídrica | | Com restrição hídrica | |
| Fator A | Média | Fator D | Média |
| A1 | 4,1275 b A | A1 | 3,03 b B |
| A2 | 5,0525 a A | A2 | 3,775 a B |
| CV(%) | | 6,80 | |

| Carotenoides | | | |
|-----------------------|------------|-----------------------|-----------|
| Sem restrição hídrica | | Com restrição hídrica | |
| Fator A | Média | Fator D | Média |
| A1 | 0,450 b A | A1 | 0,435 b A |
| A2 | 0,5375 a A | A2 | 0,485 a B |
| CV(%) | | 5,57 | |

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si, pelo teste Tukey ($p > 0,05$). Fator A1 – sem tratamento; fator A2 – aplicação em tratamento de sementes e duas aplicações em parte aérea.

CONCLUSÕES

A aplicação de bioestimulantes à base da alga marinha *Ascophyllum nodosum* foi efetiva na amenização dos efeitos maléficos provocados pela restrição hídrica, provavelmente devido ao estímulo das enzimas antioxidantes das plantas, promovendo menores danos oxidativos às plantas. Os dados encontrados indicam que a aplicação dos bioestimulantes podem efetivamente aumentar a capacidade de defesa das plantas de soja contra os danos induzidos pelo estresse ambiental imposto. Porém, não apresentou diferença na avaliação dos danos ao aparato fotossintética das plantas de soja, com relação aos bioestimulantes, apresentando diferenças apenas com relação a restrição hídrica.

REFERÊNCIAS

- ALÍA, R.; MORO-SERRANO, J.; NOTIVOL, E. Genetic variability of Scots pine (*Pinus sylvestris*) provenances in Spain: Growth traits and survival. **Silva Fennica** 35(1): 27–38, 2001.
- BARBOSA, M.R.; SILVA, M.M.A.; WILLADINO, L.; ULISSE, C.; CAMARA, T.R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, p. 453-460, 2014.
- BRADÁČOVÁ, K.; WEBER, N.F.; MORAD-TALAB, N.; MAHMOOD, A.; IMRAN, M.; WEINMANN, M.; NEUMANN, G. Micronutrients (Zn/Mn), seaweed extracts, and plant

growth-promoting bacteria as cold-stress protectants in maize. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v.3, p.1 – 19, 2016.

BULGARI, R.; FRANZONI, G.; FERRANTE, A. Biostimulants application in horticultural crops under abiotic stress conditions. **Agronomy**, v.9, 2019.

CARNEIRO, M.M.L.C.; DEUNER, S.; OLIVEIRA, P.V.; TEIXEIRA, S.B.; CAMILA P.S, C.P.; BACARIN, M.A.; MORAES, D.M. Atividade antioxidante e viabilidade de sementes de girassol após estresse hídrico e salino. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 33, n.4, p. 752-761, 2011.

CHAVARRIA, G.; DURIGON, M. R.; KLEIN, V. A.; KLEBER, H. Restrição fotossintética de plantas de soja sob variação de disponibilidade hídrica. **Ciência Rural**, v. 45, n. 8, p. 1387-1393, 2015.

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

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

FARACO, J. R; CASTRO, N.M.R.; LOUZADA, J.A.; SILVA, P.R.F.; SCHOENFELD, R.; MAASS, M.B.; Pagliarini, N. Rendimento de grãos e eficiência do uso de água da cultura do milho em áreas de cultivo de arroz inundado com diferente manejo de irrigação e drenagem. **Irriga**, Botucatu. Edição Especial, Grandes Culturas, p. 274-290, 2016.

FEHR, W. R.; CAVINESS, C. E. Stages of soybean development. Ames, Yowa: Yowa State University of Science and Technology, Cooperative Extension Service, n.80, p.11, 1977.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n.6, p.1039-1042, 2011.

GAVA, R.; FRIZZONE, J.A.; SNYDER, R.L.; JOSE, J.V.; FRAGA JR, E.F.; PERBONI, A. Estresse hídrico em diferentes fases da cultura da soja. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, v. 9, n. 6, p. 349-359, 2015.

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

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

HISCOX, J. D.; ISRAELSTAM, G. F. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. **Canadian Journal of Botany**. 57, 1332-1334, 1979.

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

MACHADO, J, C, S; SILVA, C, R DA; SANCHES, M, C; HAMAWAKI, O, T; SOUSA, L, B. Parâmetros fisiológicos da soja de hábito de crescimento determinado e indeterminado, submetido a níveis de umidade do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 52, n. 6, p. 419-425, 2017.

MACKINNON, S, L; HILTZ, D; UGARTE, R; CRAFT, C, A. Improved methods of analysis for betaines in *Ascophyllum nodosum* and its commercial seaweed extracts. **Journal of Applied Phycology** 22: 489-494, 2010.

MARTYNENKO, A.; SHOTTON, K.; ASTATKIE, T.; PETRASH, G.; FOWLER, C.; NEILY, W. Thermal imaging of soybean response to drought stress: the effect of *Acophyllum nodosum* seaweed extract. **SpringerPlus**, 1393. 2016.

MISRA, V.; MALL, A.K.; SHIVASTAVA, A.K. Effectiveness of Cytozyme Products Over Yields and Juice Quality in Sugarcane Ratoon Crop. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. Vol. 6, p. 2294-2299, 2017.

NAYYAR, H., WALIA, D.P. Water stress induced proline accumulation in contrasting wheat genotypes as affected by calcium and abscisic acid. *Biologia Plantarum* 46(2): 275–279, 2003.

PAIVA, A. S.; FERNANDES, E.J.; RODRIGUES, T.J.D; TURCO, J.E.P. Condutância estomática em folhas de feijoeiro submetido a diferentes regimes de irrigação. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola*, v. 25, n. 01, p. 161-169, 2005.

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

SAEGER, J.D.; PRAET, S.V.; VEREECKE, D.; PARK, J.; JACQUES, S.; HAN, T.; DEPUYDT, S. Toward the molecular understanding of the action mechanism of *Ascophyllum nodosum* extracts on plants. *Journal of Applied Phycology*, 2019.

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

SANTOS, C. M.; GONÇALVES, E. R.; ENDRES, L.; GOMES, T. C. A.; JADOSKI, C. J.; NASCIMENTO, L. A.; SANTOS, E. D. Atividade fotossintética em alface (*Lactuca sativa* L.) submetidas a diferentes compostagens de resíduos agroindustriais. *Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia*, v.3, p.95-102, 2010.

SIGNORELLI, S., CORPAS, F.J., BORSANI, O., BARROSO, J.B., MONZA, J. Water stress induces a differential and spatially distributed nitro-oxidative stress response in roots and leaves

of *Lotus japonicus*. **Plant Science: An International Journal of Experimental Plant Biology** 201: 137–146, 2013.

SILVA, F. G.; DUTRA, W. F.; DUTRA, A. F.; OLIVEIRA, I. M.; FILGUEIRAS, L. M.; MELO, A. S. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila em plantas de berinjela sob lâminas de irrigação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 19, n. 10, p. 946-952, 2015.

SILVA, C.D.S.; SANTOS, P.A.A.; LIRA, J.M.S.; SANTANDA, M.C.; SILVA JR, C.D. Curso diário das trocas gasosas em plantas de feijão-caupi submetidas a deficiência hídrica. **Revista Caatinga**, vol. 23, n. 4, p. 7-13, 2010.

STIRK, W.A.; NOVAK, O.; STRNAD, M. E Van Staden, J. Cytokinins in macroalgae. **Plant Growth Regulation**, vol. 41, n. 1, p. 13-24, 2003.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819 p.

XU, C.; LESKOVAR, D, I. Efeitos de extratos de algas marinhas de *A. nodosum* sobre o crescimento de espinafre, fisiologia e valor nutricional sob estresse hídrico. **Scientia Horticulturae**, 183, 39-47, 2015.

YAKHIN, O.I.; LUBYANOV, A.A.; YAKHIN, I.A.; BROWN, P.H. Biostimulants in plant Science: a global perspective. **Frontiers in Plant Science**, v.7, n. 2049, p.1-32, 2017.

ZALI, A.G., EHSANZADEH, P. Exogenous proline improves osmoregulation, physiological functions, essential oil, and seed yield of fennel. **Industrial Crops and Products** 111: 133–140, 2018.

ZERAIK, A. E.; SOUZA, F. S.; FATIBELLO-FILHO, O. Desenvolvimento de um spot test para o monitoramento da atividade da peroxidase em um procedimento de purificação. **Química Nova**, v. 31, n. 4, p. 731-734, 2008.

ZHANG, F-L.; NIU, B.; WANG, Y-C.; CHEN, F.; WANG, S-H.; XU, Y.; JIANG, L-D.; GAO, J.; WU, J.; TANG, L. & JIA, Y-J. A novel betaine aldehyde dehydrogenase gene from *Jatropha*

curcas, encoding an enzyme implicated in adaptation to environmental stress. **Plant Science**, 174:510-518, 2008.

5 DISCUSSÃO GERAL

A cultura da soja apresenta grande importância econômica no Brasil e no mundo. Cada vez mais, buscam-se melhorias para o sistema produtivo da cultura, com o intuito de aumentar a produtividade. Porém, muitas vezes as expectativas de grandes produções esbarram em fatores abióticos, como os estresses ambientais, os quais podem reduzir significativamente a produção da cultura.

A variação da produtividade das culturas agrícolas no Brasil apresenta como uma das principais causas a ocorrência da deficiência hídrica, que pode ocorrer em períodos críticos ao ciclo de desenvolvimento e produção das culturas, como ocorreu no período 2019/2020, na cultura da soja. Em campo, deficiências hídricas expressivas provocam alterações fisiológicas na planta, como o fechamento estomático e o enrolamento dos folíolos devido à desidratação dos tecidos. Este comportamento de redução da transpiração, pode ter como consequência a queda prematura das folhas, de flores e legumes, resultando por fim, em redução no rendimento de grãos (BONATO, 2000; EMBRAPA, 2002).

A necessidade cada vez maior de produzir com qualidade, maior produção e a diminuição dos impactos ambientais exigem conhecimentos sobre novas tecnologias que possam vir a mitigar o efeito negativo que o estresse hídrico causa na morfofisiologia e na produtividade das culturas, dentre essas, o uso de produtos formulados com o propósito de estimular às plantas a defesa contra os efeitos negativos causados pelos estresses abióticos. Assim, o uso de produtos à base de algas marinhas, como a *Ascophyllum nodosum*, vêm sendo estudado há algum tempo, e ganhou forças diante da possibilidade de mitigar os efeitos causados pelos fatores estressores.

Assim, para contribuir com estudos sobre produtos que possam contribuir com a diminuição dos danos provocados por fatores estresses, como a deficiência hídrica, este trabalho reúne, dois artigos científicos. No primeiro intitulado “Respostas da soja a aplicação de bioestimulantes em condições de deficiência hídrica”, o objetivo foi determinar a influência da deficiência hídrica e o efeito da aplicação de bioestimulantes via tratamento de sementes e via parte aérea nas respostas fotossintéticas e produtivas da cultura da soja. Onde, demonstramos que a aplicação de bioestimulantes isolados e/ou associados via tratamento de sementes e parte aérea apresentou melhorias nas respostas fotossintéticas e produtiva da cultura, quando foi imposto o estresse abiótico, apresentado assim, uma ferramenta para manter a produtividade da mesma, aumentando a sua tolerância a períodos com restrições hídricas.

O segundo artigo intitulado “Respostas fisiológicas e bioquímicas a aplicação de bioestimulantes em soja, sob deficiência hídrica” apresentou como objetivo elucidar o efeito dos bioestimulantes a base de *Ascophyllum nodosum* como alternativa de mitigar os danos provocados pela deficiência hídrica, sobre parâmetros fisiológicos da soja. Onde, foi possível aferir que a aplicação de bioestimulantes à base da alga marinha *Ascophyllum nodosum* foi efetiva na amenização dos efeitos prejudiciais provocados pela restrição hídrica, provavelmente devido ao estímulo das enzimas antioxidantes das plantas, promovendo menores danos oxidativos às plantas. Indicando que, a aplicação dos bioestimulantes podem efetivamente aumentar a capacidade de defesa das plantas de soja contra os danos induzidos pelo estresse ambiental imposto.

Com base nos resultados dos dois trabalhos, é possível inferir que, a aplicação de produtos formulados à base da alga *Ascophyllum nodosum*, com aplicação via tratamento de sementes e/ou aplicação via parte aérea, promovem uma melhoria na capacidade das plantas de mitigar os efeitos prejudiciais provocados pela deficiência hídrica nas plantas. Seja por manter o processo de fotossíntese sem restrições ou aumento ou, pelo aumento da capacidade de defesa das plantas. Assim, esse estudo busca elucidar o uso de algumas alternativas com o intuito de diminuir os efeitos prejudiciais provocados pelo estresse abiótico nas plantas de soja, frente aos problemas provocados pela ocorrência de estiagem especialmente no estado do Rio Grande do Sul.

6 CONCLUSÃO

Este trabalho foi conduzido com base na hipótese de que o tratamento de sementes e/ou aplicação via parte aérea da cultura da soja com os bioestimulantes a base de *Ascophyllum nodosum* poderia mitigar os efeitos negativos causados pela deficiência hídrica nos períodos críticos da cultura.

Os resultados obtidos nos experimentos, confirmam esta hipótese, pois houve efeito significativo da aplicação dos bioestimulantes estudados, sobre as variáveis morfofisiológicas analisadas, como atividade fotossintética, mecanismos de defesa para redução da formação de EROs, entre outros. E, o rendimento final obteve um acréscimo no seu valor com a aplicação dos bioestimulantes comparado com ao tratamento controle.

Quando as plantas são cultivadas em ambiente favorável ao seu crescimento e desenvolvimento, é menos aparente os efeitos benéficos dos bioestimulantes a base de extrato de *A. nodosum* sobre as plantas. Porém, quando submetidas a condições de estresses abióticos, no caso a deficiência hídrica, as plantas tratadas com esses produtos mostram um desempenho superior, pois desenvolveram um sistema de defesa contra os danos provocados pelo ambiente imposto.

Dessa forma, bioestimulantes à base de extrato de *A. nodosum*, aplicados anterior à indução ou ocorrência do estresse abiótico, aumentam a tolerância das plantas de soja à deficiência hídrica. Sobretudo quando é realizado o manejo com aplicação via tratamento de sementes e aplicações via parte aérea das plantas.

7 REFERÊNCIAS

- ALBRECHT, L. P.; BRACCINI, A. L.; ÁVILA, M. R.; BARBOSA, M. C.; RICCI, T. T.; ALBRECHT, A. J. P. Aplicação de biorregulador na produtividade do algodoeiro e qualidade de fibra. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 10, p. 191-198, 2009.
- BAKER, N.R.; ROSENQVIST, E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve Crop production strategies: an examination of future possibilities. **Journal of Experimental Botany**, 55 (403): 1607-1621, 2004.
- BEN AHMED, C. H.; ROUINA, B.B; SENSOY, S.; BOUKHRIS, M. Changes in gas exchange, proline accumulation and antioxidative enzyme activities in three olive cultivars under contrasting water availability regimes. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v.67, n.2, p. 345-352, dez. 2009.
- BONATO, E.R. **Estresses em soja**. Passo Fundo, Embrapa Trigo, 2000. 254p.
- BRAY, E.A.; BAILEY-SERRES J., WERETILNYK E.; GRUISSEM W.; BUCHANNA B.; JONES R. Responses to abiotic stress. **Biochemistry and molecular biology of plantas**. P. 1158-1203, 2000.
- BROW, E.A.; CAVINES, C.E.; BROWN, D.A. Responses of selected soybean cultivars to soil moisture deficit. **Agronomy Journal**, v.77, n.2, p.274-278, 1985.
- CAMPOSTRINI, E.; YAMANISHI, O.K. Influence of mechanical root restriction on gas-exchange of four papaya genotypes **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 13, n.2, p.129-138, 2001.
- CARNEIRO, M. M. L. C. Trocas Gasosas e Metabolismo **Antioxidativo em Plantas de Girassol em Resposta ao Déficit Hídrico**. 2001. 43f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia vegetal) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2011.
- CASILLAS, V. J. C.; LONDOÑO, I. J.; GUERRERO, A. H.; BUITRAGO, G. L. A. Análisis cuantitativo de la aplicacion de cuatro bioestimulants en el cultivo del rabano (*Raphanus sativus* L.). *Acta Agronomica*, Palmira, v. 36, n. 2, p. 185-195, 1986
- CASTRO, P.R.C.; VIEIRA, E.L. **Aplicações de reguladores vegetais na agricultura tropical**. Guaíba: Agropecuária, 2001. 132p.
- CHAVES, M. M. Maroco, J. P.; PEREIRA, J.S. Understanding plant response to drought: from genes to rhe whole plant. **Functional Plant Biology**, 30: 239-264, 2003.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. Série histórica de área e produção plantada por unidades da federação. Disponível em <https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/gaos/boletim-da-safra-de-gaos>. Acesso em: 05 ago 2020.
- DALL'GNOL, A. The impact of soybeans on the brazilian economy. In: Technical information for agriculture. São Paulo: **Máquinas Agrícolas Jacto**, 2000.

DOURADO NETO, D.; DARIO, G. J. A.; VIEIRA JÚNIOR, P. A.; MANFRON, P. A.; MARTIN, T. N.; BONNECARRÉRE, R. A. G.; CRESPO, P. E. N. Aplicação e influência do fitorregulador no crescimento das plantas de milho. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**, Uruguaiana, v. 11, n. 1, p. 93-102, 2004.

DU JARDIM. Plant bioestimulants: definition concept, main categories and regulation. **Scientia Horticulturae**, p. 3-14, 2015.

EMBRAPA. Exigências hídricas. In: **Tecnologias de produção de soja: Paraná-2003**. Londrina: Embrapa Soja, 2002. p.28-30. (Sistemas de Produção; 2).

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

FAOSTAT Database – Crop production (FAO). Acessado em: 10 mar. 2020, In: http://www.fao.org/faostat/en/#rankings/countries_by_commodity.

FARIAS, J. R. B. et al. **Ecofisiologia da Soja**. Londrina: Embrapa CNPSO, 9p. (Circular Técnica, no. 48), 2007.

FARIAS, J. R. B.; NEUMAIER, N.; NEPOMUCENO, A. L. Soja. In: MONTEIRO, J. E. B. A. **Agrometeorologia dos Cultivos: O fator meteorológico na produção agrícola**. 1. ed. Brasília: INMET, p.263-277, 2009.

FIOREZE, S. L. et al. Comportamento de genótipos de soja submetidos a déficit hídrico intenso em casa de vegetação. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 58, n.3, p. 342-349, maio/jun. 2011.

FITTER, A. H.; HAY, R. K. M. **Environmental Physiology of Plants**. New York: Academic Press. 1987. 422p.

FONTANA, D. C. et al. **Monitoramento e previsão da safra de soja 1999/2000 no Brasil**. Porto Alegre: CEPARM/UFRGS, 2001. 121p.

GONÇALVES, J. G. R. **Identificação de linhagens de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) tolerantes à seca**. 2013. 82f. Tese (Doutorado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas, 2013.

HAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. O movimento de água e solutos nas plantas. In: HAVEN, P.H.; EVERT, F.F.; EICHHORN, S.E. **Biologia Vegetal**. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. Cap.31, p.720-739. 2001.

HONG-BO, S. et al. Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. **Comptes Rendus Biologies**, Paris, v.331, n.3, p.215-225, jan. 2008.

ISODA, A. Adaptive responses of soybean and cotton to water stress I. Transpiration changes in relation to stomatal area and stomatal conductance. **Plant Production Science**, Tokyo, v.8, p.16-26, 2005.

- JALEEL, C. A. et al. Antioxidant defense responses: physiological plasticity in higher plants under abiotic constraints. **Acta Physiology Plant**, Poznan, v.31, n.3, p.427-436, 2009.
- KRAMER, P. J. **Water relations of plants and soils**. New York: Academic Press, 1995. 495p.
- LANA, A. M. Q.; LANA, R. M. Q.; GOZUEN, C. F.; BONOTTO, I.; TREVISAN, L. R. Aplicação de reguladores de crescimento na cultura do feijoeiro. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 25, n. 1, p. 13-20, 2009
- LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos: RIMA, 531p, 2006.
- LICHTENTHALER, H.K. Vegetation stress: na introduction to the stress concept in plants. **Journal of Plant Physiology**, v. 148, p. 4-14, 1996.
- MACKINNON, SL; HILTZ, D; UGARTE, R; CRAFT, CA. 2010.Improved methods of analysis for betaines in *Ascophyllum nodosum* and its commercial seaweed extracts. **Journal of Applied Phycology** 22: 489-494.
- MARTYNENKO, A.; SHOTTON, K.; ASTATKIE, T.; PETRASH, G.; FOWLER, C.; NEILY, W.; CRITCHLEY, A. T. Thermal imaging of soybean response to drought stress: the effect of *Ascophyllum nodosum* seaweed extract. SpringerPlus, v. 5, n. 1, p. 1393, 2016.
- MISSÃO, M. R. Soja: Origem, classificação, utilização e uma visão abrangente do mercado. Maringá Management: **Revista de Ciências Empresariais**, v.3, n.1, p. 7-15, 2006.
- NAVARI-IZZO, F., RASCIO, N. Plant response to water-deficit conditions. In: PESSARAKLI, M. (ed.). **Handbook of plant and crop stress**. New York: M. Dekker, p. 231-270. 1999.
- OLIVEIRA, A.M. Resistência de tomateiros a germinivírus e a estresse hídrico. 2016. 80p. **Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.**
- RAYORATH, P; JITHESH, MN; FARID, A; KHAN, W; PALANISAMY, R; HANKINS, SD; CRITCHLEY, AT; PRITHIVIRAJ, B. Extracts of the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* induce gibberelic acid (GA3) – independent amylase activity in barley. *Journal função do uso de extrato de alga (Ascophyllum nodosum)*. **Revista Verdede Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável** 6: 7-11, 2008.
- REDDY A.R., CHAITANYA K.V., VIVEKANANDAN M. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. **Journal Plants Physiology**, 161: 1189-1202, 2004.
- RUSSO, R.O.; BERLYN, G.P. The use of organic biostimulants to help low input sustainable agriculture **Journal of Sustainable Agriculture**, New York, v.1, n.2, p.19-42, 1990.
- SCALON, S.P.Q.; MUSSURY, R.M. MELLHO, EUZÉBIO, V. L.; KODAMA, F.M.; KISSMANN, C. Estresse hídrico no metabolismo e crescimento inicial de mudas de Mutambo (*Guazuma ulmifolia* Lam.). **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.21, n.4, p. 655-662, 2011.

SENTELHAS, P.C., R. BATTISTI, G.M.S. CÂMARA, J.R.B. FARIAS, A.C. HAMPF, and C. NENDEL. The soybean yield gap in Brazil: Magnitude, causes and possible solutions for sustainable production. **Journal of Agricultural Science**. 153:1394–1411, 2015.

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

STRASSER, R.J., TSIMILLI-MICHAEL, M. SRIVASTAVA, A. The fluorescenc transiente as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. In **Probing Photosynthesis: Mechanisms, Regulation and Adaptation**, eds M. Yunus, U. Pather, P. Mohanly, London, Taylor and Francis, p. 445-483, 2000.

STRECK, Nereu Augusto. **Climate change and agroecosystems: the effect of elevated atmospheric CO₂ and temperature on crop growth, development, and yield**. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 35, n. 3, p.730-740, maio/jun. 2005.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 848p.

TARAKHOVSKAY, ER; MASLOV, YI; SHISHOVA, MF. 2007. Phytohormones in algae. **Russian Journal of Plant Physiology** 54: 163-170

TOORCHI, M.; YUKAWA, K.; NOURI, M.Z.; KOMATSU, S. Proteomics approach for identifying osmotic-stress-related proteins in soybeans roots. **Peptides**, v.30, n.12, p.2108-2117, 2009.

VIEIRA, E. L.; SANTOS, C. M. G. Efeito de bioestimulante no crescimento e desenvolvimento inicial de plantas de algodoeiro. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 17, p. 1-8, 2005.

WANG W X, VINO CUR B, ALTMAN A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance, **Planta**, vol. 218, p. 1- 14, 2003.

ZANON, A. J.; STRECK, N.A.; GRASSINI, P. Climate and management factors influence soybean yield potential in a subtropical environment. **Agronomy Journal**, v. 108, p. 1447-1454, 2016.

ZANON, A. J.; TAGLIAPIETRA, E. L.; BEXAIRA, K. P.; JUNIOR, A. J. D.; WEBER, P. S. **Ecofisiologia da soja: visando altas produtividades**. Santa Maria, 2018, 136p.

ZHANG, X.; SCHMIDT, R.E. Hormone-containing products impact on antioxidant status of tall fescue and creeping bentgrass subjected to drought. **Crop Science**, Madison, v.40, p.1344-1349, 2000.