

INSTITUTO FEDERAL GOIANO - CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
AGRÁRIAS – AGRONOMIA

ASPECTOS FISIOLÓGICOS, ANATÔMICOS E
PRODUTIVOS EM PLANTAS DE SOJA SOB DUAS
CONDIÇÕES DE IRRADIÂNCIA E UMIDADE DO SOLO

Autor: Gabriel Martins Almeida
Orientador: DSc. Alan Carlos Costa

Rio Verde - GO

Agosto – 2019

INSTITUTO FEDERAL GOIANO - CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
AGRÁRIAS - AGRONOMIA

ASPECTOS FISIOLÓGICOS, ANATÔMICOS E PRODUTIVOS EM
PLANTAS DE SOJA SOB DUAS CONDIÇÕES DE IRRADIÂNCIA E
UMIDADE DO SOLO

Autor: Gabriel Martins Almeida
Orientador: DSc. Alan Carlos Costa

Dissertação apresentada, como parte das exigências para a obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS - AGRONOMIA, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias – Agronomia do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, Linha de pesquisa em Fisiologia, Bioquímica e Pós-Colheita de Produtos

Rio Verde - GO
Agosto – 2019

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

AAL447 Almeida, Gabriel Martins
a Aspectos fisiológicos, anatômicos e produtivos em plantas de soja sob duas condições de irradiância e umidade do solo / Gabriel Martins Almeida; orientador Alan Carlos Costa; co-orientador Adinan Alves Silva. -- Rio Verde, 2019.
71 p.

Dissertação (em Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias - Agronomia) -- Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, 2019.

1. Déficit hídrico. 2. Estresse combinado. 3. Fotossíntese. 4. Grãos de pólen. I. Costa, Alan Carlos, orient. II. Silva, Adinan Alves, co-orient. III. Título.

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
AGRÁRIAS-AGRONOMIA

ASPECTOS FISIOLÓGICOS, ANATÔMICOS E
PRODUTIVOS EM PLANTAS DE SOJA SOB DUAS
CONDIÇÕES DE IRRADIÂNCIA E UMIDADE DO SOLO

Autor: Gabriel Martins Almeida
Orientador: Dr. Alan Carlos Costa

TITULAÇÃO: Mestre em Ciências Agrárias-Agronomia - Área de
Concentração em Produção Vegetal Sustentável no Cerrado

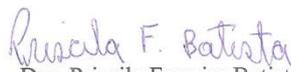
APROVADA em, 20 de agosto de 2019.



Prof. Dr. Eduardo Gusmão Pereira
Avaliador externo
Universidade Federal de Viçosa



Prof^a. Dra. Fernanda dos Santos Farnese
Avaliadora externa
IF Goiano – Campus Rio Verde



Dra. Priscila Ferreira Batista
Avaliadora interna
IF Goiano – Campus Rio Verde



Prof. Dr. Alan Carlos Costa
Presidente da banca
IF Goiano – Campus Rio Verde

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a DEUS, pelo dom da vida, pela saúde e a família.

À minha mãe Ana Paula Martins Dias, pela dedicação incondicional para comigo, o amor e educação que me fora transmitida. Ao meu pai Marco Antônio Almeida e Silva, pelo amor e carinho.

À minha família, em especial aos meus avós maternos João Batista Dias e Olívia Martins Dias e ao meu tio Leandro Martins Dias, pelo apoio, incentivo e sabedoria transmitidos. A meu avô Algemiro Medeiros e minha avó Maria José Almeida pelos exemplos transmitidos.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Rio Verde, pela possibilidade de obtenção do título de Técnico em Agropecuária, a oportunidade de cursar Agronomia e de ser participante do Programa de Iniciação Científica e, também, monitor do Laboratório de Ecofisiologia e Produtividade Vegetal, pela possibilidade de ingressar no mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias – Agronomia.

Ao professor Alan Carlos Costa, pela orientação, dedicação, paciência e amizade durante todos esses anos, desde a graduação.

A Priscila Ferreira Batista e Adinan Alves Silva, pelos ensinamentos e amizade.

A Mariela Melo, pela dedicação e zelo durante a realização do experimento.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Ecofisiologia e Produtividade Vegetal e demais laboratórios Robson Filho, Jônatas Neves, Luciana Minervina, Ariana Bertola, Arthur Almeida, Ailton Filho, Márcio Rosa, Vanessa Camargo (*in memoriam*), Sueisla Rezende, Yasmin Barros, Verônica Barbosa, Dheyne Vieira, Mariela Melo, Emily Carolina Duarte e Maria Fernanda.

BIOGRAFIA DO AUTOR

GABRIEL MARTINS ALMEIDA, filho de Ana Paula Martins Dias e Marco Antônio Almeida e Silva, nasceu no dia 30 de novembro de 1994, na cidade de Rio Verde -GO.

Em janeiro de 2012, ingressou no curso de Bacharelado em Agronomia pelo Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – Goiás, graduando-se em julho de 2017.

Em agosto de 2017, iniciou no curso de mestrado no Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias – Agronomia, no Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, sob a orientação do Professor Alan Carlos Costa.

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS.....	9
LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIACÕES E UNIDADES.....	13
RESUMO.....	16
ABSTRACT.....	18
1. INTRODUÇÃO.....	20
2. OBJETIVOS.....	24
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	25
3.1. Condições experimentais e imposição dos tratamentos.....	25
3.2. Avaliações.....	26
3.2.1. Relações hídricas.....	26
3.2.2. Trocas gasosas.....	26
3.2.3. Respiração noturna e respiração mitocondrial.....	27
3.2.4. Fluorescência e imagem da fluorescência da clorofila <i>a</i> ...	27
3.2.5. Clorofila índice falker [®]	28
3.2.6. Curva A/RFA.....	28
3.2.7. Determinação da fotorrespiração.....	29
3.2.8. Concentração de pigmentos cloroplastídicos.....	29
3.2.9. Determinação do teor de prolina.....	30
3.2.10. Teor de açúcares solúveis totais.....	30
3.2.11. Concentração de malonaldeído (MDA) foliar.....	31
3.2.12. Atividade das enzimas APX, SOD, CAT e POX.....	31
3.2.13. Caracterização morfoanatômica foliar.....	32
3.2.14. Viabilidade de grãos de pólen.....	33
3.2.15. Germinação de grãos de pólen.....	33

3.2.16. Análises biométricas e produção de grãos.....	34
3.3. Desenho experimental e análises estatísticas.....	34
4. RESULTADOS.....	35
4.1. Avaliações 7 dias após imposição dos tratamentos.....	35
4.2. Avaliações 13 dias após imposição dos tratamentos.....	39
4.3. Avaliações ao final do ciclo da cultura.....	53
5. DISCUSSÃO.....	55
6. CONCLUSÕES.....	62
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63

ÍNDICE DE FIGURAS

Página

<p>Figura 1. Potencial hídrico (ψ_w, A) e osmótico (ψ_s, B) foliar de plantas de soja aos 7 dias após imposição dos tratamentos de 90% e 40% da capacidade de campo (CC) combinadas com 750 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e 1500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Dados são médias de ($n = 5$). Diferenças significativas entre tratamentos são indicadas por asteriscos (** $p \leq 0,01$).</p>	35
<p>Figura 2. Taxa fotossintética (A, A), condutância estomática (g_s, B), taxa transpiratória (E, C), razão entre a concentração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a, D), eficiência do uso da água (EUA, E) e respiração noturna (R_N, F) de plantas de soja aos 7 dias após imposição dos tratamentos de 90% e 40% da capacidade de campo (CC) combinadas com 750 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e 1500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Dados são médias de ($n = 5$). Diferenças significativas entre tratamentos são indicadas por asteriscos (** $p \leq 0,01$).</p>	36
<p>Figura 3. Clorofila <i>a</i> (Cl <i>a</i>, A) e clorofila <i>b</i> (Cl <i>b</i>, B) e clorofila total (Cl Total, C) expressos pelo índice Falker® de plantas de soja aos 7 dias após imposição dos tratamentos de 90% e 40% da capacidade de campo (CC) combinadas com 750 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e 1500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Dados são médias de ($n = 5$). Diferenças significativas entre tratamentos são indicadas por asteriscos (* $p \leq 0,01$ e ** $p \leq 0,01$).</p>	37
<p>Figura 4. Rendimento quântico máximo do FSII (F_v/F_M, A), rendimento quântico efetivo do FSII (Φ_{II}, B), rendimento quântico da dissipação regulada de energia não fotoquímica do FSII (Φ_{NPQ}, C), rendimento quântico de dissipação não regulada de energia não fotoquímica do FSII (Φ_{NO}, D) e taxa de transporte de elétrons (ETR, E) de plantas de soja aos 7 dias após imposição dos tratamentos de 90% e 40% da capacidade de campo (CC) combinadas com 750 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e 1500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Dados são médias de ($n = 5$). Diferenças significativas entre tratamentos são indicadas por asteriscos (* $p \leq 0,01$ e ** $p \leq 0,01$).</p>	38
<p>Figura 5. Fluxo total de elétrons, fluxo de elétrons destinados a carboxilação e oxigenação da</p>	

RuBP (J_T , J_C e J_O) (A), fotorrespiração (P_R , D), razão J_C/J_O (C) e razão J_C/J_T (D) de plantas de soja aos 7 dias após imposição dos tratamentos de 90% e 40% da capacidade de campo (CC) combinadas com $750 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e $1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Dados são médias de ($n = 5$). Diferenças significativas entre tratamentos são indicadas por asteriscos (* $p \leq 0,01$ e ** $p \leq 0,01$).....	39
Figura 6. Potencial hídrico (ψ_w , A) e osmótico (ψ_s , B) de plantas de soja aos 13 dias após imposição dos tratamentos de 90% e 40% da capacidade de campo (CC) combinadas com $750 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e $1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Dados são médias de ($n = 5$). Diferenças significativas entre tratamentos são indicadas por asteriscos (** $p \leq 0,01$).	40
Figura 7. Taxa fotossintética (A) em função da radiação fotossinteticamente ativa (RFA) de plantas de soja aos 13 dias após imposição dos tratamentos de 90% e 40% da capacidade de campo (CC) combinadas com $750 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e $1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Dados são médias de ($n = 5$).	40
Figura 8. Taxa fotossintética bruta máxima (A_{maxB} , A), fotossíntese líquida no ponto de irradiância máxima ($A_{I_{max}}$, B) respiração no escuro (R_E , C), eficiência quântica aparente (ϕ , D), irradiância de compensação (I_{comp} , E) e irradiância de saturação máxima (I_{max} , F) de plantas de soja aos 13 dias após imposição dos tratamentos de 90% e 40% da capacidade de campo (CC) combinadas com $750 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e $1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Dados são médias de ($n = 5$). Diferenças significativas entre tratamentos são indicadas por asteriscos (* $p \leq 0,01$ e ** $p \leq 0,01$).....	42
Figura 9. Rendimento quântico máximo do FSII (F_v/F_M), rendimento quântico efetivo do FSII (Φ_{II}), rendimento quântico de dissipação não regulada de energia não fotoquímica do FSII (Φ_{NO}) e rendimento quântico da dissipação regulada de energia não fotoquímica do FSII (Φ_{NPQ}) de plantas de soja aos 13 dias após imposição dos tratamentos de 90% e 40% da capacidade de campo (CC) combinadas com $750 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e $1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Dados são médias de ($n = 5$). Diferenças significativas entre tratamentos são indicadas por asteriscos (* $p \leq 0,01$ e ** $p \leq 0,01$).	43
Figura 10. Teor de clorofila <i>a</i> (Cl <i>a</i> , A), clorofila <i>b</i> (Cl <i>b</i> , B) e carotenoides (Carot, C) de plantas de soja aos 13 dias após imposição dos tratamentos de 90% e 40% da capacidade de campo (CC) combinadas com $750 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e $1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Dados são médias de ($n = 5$). Diferenças significativas entre tratamentos são indicadas por asteriscos (* $p \leq 0,05$).	44
Figura 11. Conteúdo de malonaldeído (MDA) de plantas de soja aos 13 dias após imposição dos tratamentos de 90% e 40% da capacidade de campo (CC) combinadas com $750 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e $1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Dados são médias de ($n = 5$). Diferenças significativas entre tratamentos são indicadas por asteriscos (** $p \leq 0,01$).	44

- Figura 12.** Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD, A), catalase (CAT, B), peroxidase do ascorbato (APX, C) e peroxidase (POX, D) de plantas de soja aos 13 dias após imposição dos tratamentos de 90% e 40% da capacidade de campo (CC) combinadas com 750 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e 1500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Dados são médias de ($n = 5$). Diferenças significativas entre tratamentos são indicadas por asteriscos (* $p \leq 0,05$ e ** $p \leq 0,01$).45
- Figura 13.** Concentração de prolina (PRO, A), correlação de Pearson entre PRO e ψ_s (B) e açúcares solúveis totais (AST, C) de plantas de soja aos 13 dias após imposição dos tratamentos de 90% e 40% da capacidade de campo (CC) combinadas com 750 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e 1500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Dados são médias de ($n = 5$). Diferenças significativas entre tratamentos são indicadas por asteriscos (* $p \leq 0,05$ e ** $p \leq 0,01$).46
- Figura 14.** Anatomia foliar de plantas de soja aos 13 dias após imposição dos tratamentos de 90% e 40% da capacidade de campo (CC) combinadas com 750 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e 1500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). (EpAd) epiderme adaxial. (EpAb) epiderme abaxial. (PP) parênquima paliçádico. (PE) parênquima esponjoso. Asterisco indica aumento de espaços intracelulares. Barra de escala 200 μm47
- Figura 15.** Espessura de parênquima paliçádico (PP, A), parênquima esponjoso (PE, B), mesofilo (Mes, C) e da folha (EF, D) de plantas de soja aos 13 dias após imposição dos tratamentos de 90% e 40% da capacidade de campo (CC) combinadas com 750 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e 1500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Dados são médias de ($n = 5$). Diferenças significativas entre tratamentos são indicadas por asteriscos (* $p \leq 0,05$ e ** $p \leq 0,01$).48
- Figura 16.** Área foliar (AF, A), área foliar específica (AFE, B), número de folhas (NF, C), massa seca de folhas (MSF, D), número de ramos (NR, E), massa seca de caule (MSC, F), número de vagens (NV, G), massa seca de vagens (MSV, H), altura de planta (AP, I) e correlação de Pearson entre MSF, MSC e A (J) de plantas de soja expostas às seguintes condições contrastantes de água e luz: (K) 90% CC + 750 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA); (L) 40% CC + 750 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de RFA; (M) 90% CC + 1500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de RFA; e 40% CC + 1500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de RFA. Dados são médias de ($n = 5$). Diferenças significativas entre tratamentos são indicadas por asteriscos (* $p \leq 0,05$ e ** $p \leq 0,01$).50
- Figura 17.** Porcentagem de germinação (A) e viabilidade (B) de grãos de pólen de plantas de soja aos 13 dias após imposição dos tratamentos de 90% e 40% da capacidade de campo (CC) combinadas com 750 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e 1500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Dados são médias de ($n = 5$). Diferenças significativas entre tratamentos são indicadas por asteriscos (** $p \leq 0,01$).51
- Figura 18.** Germinação de grãos de pólen (GGP) de plantas de soja aos 13 dias após imposição

dos tratamentos de 90% e 40% da capacidade de campo (CC) combinadas com $750 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e $1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Setas verdes indicam grãos de pólen germinados e vermelhas não germinados.52

Figura 19. Viabilidade de grãos de pólen (VGP) de plantas de soja aos 13 dias após imposição dos tratamentos de 90% e 40% da capacidade de campo (CC) combinadas com $750 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e $1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Setas verdes indicam grãos de pólen viáveis e vermelhas não viáveis.....53

Figura 20. Produção de grãos (PG, A) e correlação de Pearson entre PG, A e GGP (B) de plantas de soja ao final do ciclo. No estágio de desenvolvimento R1 foram impostos os tratamentos de 90% e 40% da capacidade de campo (CC) combinadas com $750 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e $1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA) durante 13 dias. Dados são médias de ($n = 5$). Diferenças significativas entre tratamentos são indicadas por asteriscos (** $p \leq 0,01$).....54

LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIACÕES E UNIDADES

<i>A</i>	Taxa fotossintética	$\mu\text{mol (CO}_2\text{) m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
ABA	Ácido abscísico	
AF	Área foliar	cm^2
$A_{I_{\max}}$	Fotossíntese líquida no ponto máximo de irradiância	$\mu\text{mol (CO}_2\text{) m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
$A_{\max B}$	Taxa fotossintética bruta máxima	$\mu\text{mol (CO}_2\text{) m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
AP	Altura da planta	cm
APX	Ascorbatoperoxidase	$\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot}$
AST	Açúcares solúveis totais	$\text{mg g}^{-1} \text{MF}$
CAT	Catalase	$\mu\text{mol (H}_2\text{O}_2\text{) min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot}$
CC	Capacidade de campo	%
C_i/C_a	Relação entre concentração interna e externa de CO ₂	
<i>Cl_a</i>	Clorofila <i>a</i>	$\mu\text{g mg MF}^{-1}$
<i>Cl_b</i>	Clorofila <i>b</i>	$\mu\text{g mg MF}^{-1}$
Cl _t	Clorofila total	$\mu\text{g mg MF}^{-1}$
CTC	Capacidade de troca de cátions	$\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$
DMSO	Dimetilsulfóxido	
<i>E</i>	Taxa transpiratória	$\text{mmol (H}_2\text{O) m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
EF	Espessura de folha	μm
EpAb	Espessura de epiderme adaxial	μm
EpAd	Espessura de epiderme abaxial	μm
EROs	Espécies reativas de oxigênio	
<i>ETR</i>	Taxa de transporte de elétrons	$\mu\text{mol (elétrons) m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
<i>EUA</i>	Eficiência instantânea do uso da água	$\mu\text{mol (CO}_2\text{) mmol (H}_2\text{O)}^{-1} \text{m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
F _m	Fluorescência máxima	

F_m'	Fluorescência máxima em amostra adaptada à luz	
F_0	Fluorescência inicial	
FSI	Fotossistema	
FSII	Fotossistema II	
F_v/F_M	Rendimento quântico potencial do fotossistema II	
GGP	Germinação de grãos de pólen	%
g_s	Condutância estomática	$\text{mol (H}_2\text{O) m}^{-2} \text{s}^{-1}$
I_{comp}	Irradiância de compensação	$\mu\text{mol (fótons) m}^{-2} \text{s}^{-1}$
I_{max}	Irradiância de saturação máxima	$\mu\text{mol (fótons) m}^{-2} \text{s}^{-1}$
J_C	Elétrons atribuídos às reações de carboxilação da RuBP	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
J_C/J_0		
J_C/J_T		
J_0	Elétrons atribuídos às reações de oxigenase da RuBP	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
J_T	Taxa total de transporte de elétrons	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
m%	Saturação por alumínio	%
MDA	Malonaldeído	$\text{nmol g}^{-1} \text{MF}$
MES	Espessura de mesofilo	μm
MSC	Massa seca do caule	g
MSF	Massa seca da folha	g
MSV	Massa seca de vagem	G
NADPH	Fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina	
NF	Número de folhas	
NG	Número de grãos	
NR	Número de ramos	
PE	Parênquima esponjoso	μm
PG	Produção de grãos	(g.planta^{-1})
POX	Peroxidase	$\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{prot}$
PP	Parênquima paliçádico	nm
P_R	Fotorrespiração	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
PRO	Prolina	$\mu\text{mol g}^{-1} \text{MF}$
R1	Estádio reprodutivo 1 - Emissão das primeiras flores	
R_D	Respiração mitocondrial durante o dia	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
R_E	Respiração no escuro	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
RFA	Radiação fotossinteticamente ativa	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
R_N	Taxa de respiração noturna	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$

Rubisco Ribulose-1,5-bisfosfato Carboxilase - Oxigenasse

RuBP	Ribulose-1,5-bifosfato	
SOD	Superóxido dismutase	U SOD min ⁻¹ mg ⁻¹ prot
v%	Saturação de bases	%
VGP	Viabilidade de grãos de pólen	%
Φ_{II}	Rendimento quântico efetivo de conversão fotoquímica de energia no PSII	
Φ_{NO}	Dissipação de energia não regulada	
Φ_{NPQ}	Rendimento quântico regulado de dissipação de energia	
Θ	Convexidade da curva	
ϕ	Eficiência quântica aparente	$\mu\text{mol (fótons) m}^{-2}\text{s}^{-1}$
Ψ_S	Potencial osmótico foliar	(MPa)
Ψ_W	Potencial hídrico	(MPa)

RESUMO

ALMEIDA, G. M. Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO, agosto de 2019. **Aspectos fisiológicos, anatômicos e produtivos em plantas de soja sob duas condições de irradiância e umidade do solo.** Orientador: DSc. Alan Carlos Costa. Coorientadores: DSc. Adinan Alves Silva, DSc. Priscila Ferreira Batista.

Objetivou-se determinar os efeitos do déficit hídrico (DH) e irradiâncias contrastantes sob a fisiologia, anatomia e produção de grãos de plantas de soja no estágio de desenvolvimento R1. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso com cinco repetições em câmara de crescimento e arranjo dos tratamentos em esquema fatorial 2 x 2: capacidades de campo (CC) de 90 e 40% (DH); e irradiâncias de 750 e 1500 μmol (fótons) $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$. O DH ocasionou menor investimento em biomassa de parte aérea, redução germinação de grãos de pólen, o que associado com a diminuição da assimilação de CO_2 , promoveu menor produção de grãos. Em resposta ao DH, houve incremento da dissipação de energia não fotoquímica, maior concentração de açúcares solúveis totais, prolina e malonaldeído. Na condição de DH sob menor irradiância, as plantas desenvolveram maior espessura de parênquima esponjoso (relacionado com a maior condutância mesofílica do CO_2). Já na condição bem irrigada e de maior irradiância, houve maior espessura de parênquima paliçádico, conferindo a manutenção da eficiência fotossintética. Além disso, houve aumento da atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase, catalase, peroxidase do ascorbato e peroxidase nas folhas em função da maior disponibilidade luminosa. O que conferiu maior gasto energético pelas plantas, refletindo em redução da área foliar, número e massa seca de folhas, número de ramos e massa seca de caule na condição bem irrigada. Interessantemente, essas estratégias de ajustamento osmótico, fotoproteção e defesas

antioxidantes atuam de forma conjunta na condição de DH e maior irradiância.

Palavras-chave: Déficit hídrico; Estresse combinado; Fotossíntese; Grãos de pólen.

ABSTRACT

ALMEIDA, G. M. Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO, August, 2019. **Irradiating energy and water deficit in soybean plants: anatomical, physiological and productive aspects.** Advisor: DSc. Alan Carlos Costa. Co-Advisors: DSc. Adinan Alves Silva, Dsc. Priscila Ferreira Batista.

The objective of this study was to determine the water deficit (WD) and contrasting irradiance effects on physiology, anatomy and grain yield of soybean plants at the R1 development stage. The experimental design was a randomized block with five replications in a growth chamber and a 2 x 2 factorial treatment arrangement: 90 and 40% (WD) field capacities (FC); and 750 and 1500 $\mu\text{mol (photons) m}^{-2} \text{s}^{-1}$ irradiance. The WD caused lower investment in shoot biomass, reduced pollen grain germination, which associated with the reduced CO_2 assimilation, promoted lower grain yield. In response to WD, there was an increasing in the non-photochemical energy dissipation, as well as a higher concentration of total soluble sugars, proline and malonaldehyde. In the WD condition under lower irradiance, the plants developed larger spongy parenchyma thickness (related to higher mesophilic conductance of CO_2). In the well-watered condition and higher irradiance, there was a greater palisade parenchyma thickness, conferring the photosynthetic efficiency maintenance. In addition, there was an increase in the activity of superoxide dismutase, catalase, peroxidase and ascorbate peroxidase antioxidant enzymes in leaves due to higher light availability. This gave higher energy expenditure by plants, reflecting in reduction of leaf area, number and dry mass of leaves, number of branches and dry mass of stem in well-watered condition. Interestingly, these strategies of osmotic adjustment, photoprotection and antioxidant defenses act together in the WD and higher irradiance condition.

Key words: Water deficit; Combined stress; Photosynthesis; Pollen grains.

ASPECTOS FISIOLÓGICOS, ANATÔMICOS E PRODUTIVOS EM PLANTAS DE SOJA SOB DUAS CONDIÇÕES DE IRRADIÂNCIA E UMIDADE DO SOLO

(Normas de acordo com a revista Journal of Agronomy and Crop Science)

1. INTRODUÇÃO

O potencial produtivo da cultura da soja pode ser seriamente comprometido por eventos climáticos extremos, que estão cada vez mais frequentes com o aquecimento global antropogênico (Dai, Zhao, & Chen, 2018; Buezo et al., 2019). Haja vista que demanda por alimentos cresce à medida que a população mundial aumenta e o aquecimento global antropogênico surge como desafio ao incremento da produção (Perkins, Alexander, & Nairn, 2012; Buezo et al., 2019). A soja (*Glycine max* (L.) Merr.) é amplamente utilizada na alimentação humana e animal, pois possui alto teor de óleo e proteína em suas sementes, em torno de 20 e 40%, respectivamente, credenciando-a como fonte de proteína, óleo vegetal e também, matéria-prima para biodiesel (Silva Rodrigues et al., 2010; Hartman, West, & Herman, 2011). O Brasil é o segundo maior produtor mundial (USDA, 2018) e o primeiro na exportação de soja, tendo a região Centro-Oeste como a maior produtora do grão (CONAB, 2018).

As mudanças climáticas desencadeadas pelo aquecimento global têm aumentado a frequência dos veranicos (Marcuzzo, Cardoso, & Faria, 2012), caracterizados pelo déficit hídrico no solo e atmosfera, juntamente com temperaturas e

irradiâncias elevadas. Esses fatores combinados têm limitado o desenvolvimento, a eficiência reprodutiva e, conseqüentemente, a produtividade de várias culturas (Dolferus, & Pacini, 2019), dentre elas a da soja (Salem, Kakani, Koti, & Reddy, 2007; Jumrani, Bhatia, & Pandey, 2018). Neste cenário, muito por conta do aumento da intensidade e duração dos veranicos, secas mais intensas e duradoras vêm ocorrendo (Trenberth et al., 2014; Mora et al., 2017).

No Brasil, a ocorrência de períodos de veranico tem ocasionado grandes perdas ao setor agrícola, marcando as piores secas já registradas (Ribeiro et al., 2018). Na região Centro-Oeste do Brasil, a falta de chuvas em janeiro de 2015 promoveu perdas de até 40% na safra de soja 2014/2015 (Ribeiro et al., 2018). Logo, tem-se trabalhado na seleção de plantas cultivadas, incluindo a soja, que apresentem melhor ajuste fisiológico a essas condições (Dai, Zhao, & Chen, 2018; Buezo et al., 2019; Jumrani, & Bhatia, 2019), como secas mais intensas e, também, altas irradiâncias (Cechin et al., 2018).

O nível de estresse por déficit hídrico pode variar conforme sua duração, intensidade e estágio fenológico da cultura (Buezo et al., 2019). Para a soja, sabe-se que a fase de floração e enchimento de grãos são as mais sensíveis (Lima, Peluzio, Siqueira, & Oliveira Junior, 2017). O déficit hídrico ainda é considerado o estresse que mais compromete os processos fisiológicos das plantas (Rajabi, Ehsanzadeh, & Razmjoo, 2017). Isso é decorrente da redução do conteúdo de água nas células, acarretando em diversas alterações, como a limitação da abertura estomática (Li et al., 2017). O fechamento estomático resulta na queda da assimilação de CO₂ e, conseqüentemente, diminuição do crescimento e produção das plantas (Jumrani, & Bhatia, 2018; Castro, Müller, Almeida, & Costa, 2019).

A redução do rendimento quântico máximo do fotossistema II (FSII) pode ser alterada pelo déficit hídrico com a (Lu et al., 2017). Isso pode acarretar a diminuição da partição de elétrons destinados à carboxilação da Rubisco em função da limitação estomática e, conseqüente incremento da fotorrespiração em plantas sob déficit hídrico (Sousa et al., 2019). Adicionalmente, o estresse pode ocasionar alterações no processo fotossintético pela redução do conteúdo de pigmentos cloroplásticos e da expressão dos genes que codificam a enzima Rubisco (*rbcL* e *rbcS*) (Zhou et al., 2015). Esses danos devem-se, em grande parte, ao estresse oxidativo, que provoca a peroxidação de lipídios de membranas e oxidação de macromoléculas, como ácidos nucleicos e proteínas (Rivas et al., 2017). Nessas condições, o aumento de malonaldeído é um

indicativo de danos celulares (Li, et al., 2017; Batista et al., 2018), e o incremento na atividade de enzimas antioxidantes também podem ser registrados, indicando defesa contra o estresse oxidativo (Yao et al., 2017; Batista et al., 2018). As plantas apresentam diversos mecanismos de defesa ao estresse por déficit hídrico, englobando ajustes fisiológicos, metabólicos e anatômicos. Como por exemplo, a regulação da abertura estomática, proporcionando maior eficiência do uso da água (Buezo et al., 2019; Jumrani, & Bhatia, 2019), além do ajuste osmótico, que propicia a manutenção da turgescência devido ao acúmulo de compostos como a prolina, glicina-betaína e a sacarose (Chaumont, & Tyerman, 2014; Azmat, & Moin, 2019), bem como modificações no sistema radicular, como o maior investimento em raízes finas (Jumrani, & Bhatia, 2019).

Outro fator de estresse abiótico frequente as plantas é o excesso de luz, sendo o principal fator que leva à fotoinibição, que pode ser conceituada como a circunstância em que a entrada de fótons é maior do que a demanda fotossintética, gerando excedente energético (Lu et al., 2017). Esse processo que é caracterizado pela diminuição da eficiência do processo fotossintético, pode ser seguido de uma recuperação (fotoinibição dinâmica), ou até mesmo a danos irreversíveis no aparato fotossintético, podendo levar a planta à morte (fotoinibição crônica) (Huang, Yang, Hu, & Zhang, 2016). O FSII possui papel central na resposta a fotoinibição, pois ele é considerado o componente mais sensível à alta luminosidade (Huang, Yang, Hu, & Zhang, 2016). Isso se deve à sensibilidade da proteína D1, que está localizada no centro de reação do FS II. Uma vez danificada, essa proteína só pode ser reparada se retirada da membrana, paralisando assim o processo fotossintético (Michoux et al., 2016).

Em condições de alta luminosidade, além do processo de fotoinibição, o excesso de energia promove a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs), como o oxigênio singleto, ânion superóxido, radical hidroxila e peróxido de hidrogênio (Perez, & Brown, 2014). Desse modo, a fotoxidação promove a inativação do sistema fotossintético, principalmente por danos às membranas e prejuízos ao reparo do FSII, bem como danos ao FSI (Lu et al., 2017; Lima-Melo et al., 2019), podendo culminar na redução da produtividade da planta em função estresse oxidativo. Estresse esse que pode promover incremento da atividade do sistema antioxidante enzimático, por meio de enzimas como a catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), peroxidase (POX), ascorbato peroxidase (APX) e glutathione redutase (GR) (Lu et al., 2017). Essas enzimas atuam de forma coordenada na proteção de estruturas celulares de plantas sob estresses.

Apesar da capacidade de ajuste das plantas às condições de estresses abióticos, a produtividade das culturas pode ser severamente reduzida nessas condições (Obermeyer, 2017). Embora exista relação direta entre os processos da reprodução vegetal e o produto final das culturas, os grãos e sementes (Jumrani, & Bhatia, 2018), esse tema ainda é pouco estudado sob influência dos estresses ambientais. As condições de restrição hídrica, associada ou não a outros fatores de estresses abióticos, provocam a diminuição da fertilização, abortamento precoce de embriões e, conseqüentemente, um menor número de sementes ou grãos (Boyer & Westgate, 2004; Prasad, Staggenborg, & Ristic, 2008; Djanaguiraman, Prasad, Boyle, & Schapaugh, 2013). O abortamento de tecidos florais (pólen ou ovário) pode ocorrer pela diminuição do potencial hídrico, do fluxo de carboidratos ou nitrogênio, bem como a sinalização hormonal (Prasad, Staggenborg, & Ristic, 2008; Dolferus, & Pacini, 2019). Sob condições adversas, o desenvolvimento do gametófito masculino é uma das etapas mais afetadas (Mesihovic, Iannacone, Firon, & Fragkostefanakis, 2016), sendo a produtividade de várias espécies limitada pela esterilidade do pólen, em função de estresses abióticos (Powell et al., 2012). Apesar de conhecer os efeitos de altas temperaturas na viabilidade e germinação de grãos pólen de soja (Salem, Kakani, Koti, & Reddy, 2007; Djanaguiraman, Prasad, Boyle, & Schapaugh, 2013; Jumrani, Bhatia, & Pandey, 2018), ainda pouco se sabe acerca dos efeitos do déficit hídrico e alta luminosidade sobre estes.

Logo, hipotetizou-se que irradiâncias contrastantes promovem alterações em plantas de soja, bem como respostas distintas ao déficit hídrico em detrimento da intensidade luminosa em variáveis fisiológicas, anatômicas, biométricas e na produção de grãos. Como por exemplo, a redução da performance fotossintética mediante limitação estomática e incremento da fotorrespiração. A maior dissipação de energia não fotoquímica em condição de maior irradiância e ajuste osmótico em condições de déficit hídrico. Maior atividade de enzimas antioxidantes, menor germinação e viabilidade de grãos de pólen e produção de grãos em plantas sob déficit hídrico na condição de maior irradiância. Além disso, o espessamento de mesófilo foliar em condições de déficit hídrico promovendo intercâmbio do CO₂.

2. OBJETIVOS

Determinar as alterações promovidas pelo estresse por déficit hídrico em plantas de soja sob irradiâncias contrastantes nas características fotossintéticas, anatômicas, bioquímicas e produtivas das plantas de soja.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Condições experimentais e imposição dos tratamentos

O experimento foi conduzido em câmara de crescimento sob delineamento de blocos ao acaso com 5 repetições e 4 tratamentos, em que as plantas de soja foram submetidas a duas irradiâncias (750 e $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa, RFA) e dois regimes hídricos (90 e 40% da capacidade de campo, CC). Sendo os seguintes tratamentos: Controle – CT ($750 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de RFA e 90% CC); déficit hídrico – DH ($750 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de RFA e 40% CC); alta irradiância- AI ($1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de RFA e 90% CC); e DH combinado com AI ($1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de RFA e 40% CC). As condições de crescimento na câmara foram de 65% de umidade relativa do ar, temperatura de 25/20°C (dia/noite) e irradiância de $750 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, durante o desenvolvimento das plantas até o momento da imposição dos tratamentos (estádio R1), com fotoperíodo de 12h.

A cultivar de soja utilizada foi a Desafio RR 8473 RSF (Brasmax Seeds, Cambé, Brasil). Essa cultivar possui porte médio (60 a 85 cm de altura), hábito de crescimento indeterminado, ciclo de 110 a 112 dias, duração de floração de 32 a 48 dias, de grupo de maturação 7.4, sementes pequenas, flores brancas e alta exigência em fertilidade. Na região centro-oeste de Goiás a cultivar Desafio destaca-se por apresentar alta produção de grãos, bem como alta adaptabilidade e estabilidade (<http://www.brasmaxgenetica.com.br/>). Foram cultivadas três plantas de soja em vasos com 8,2 Kg de substrato proveniente da mistura de duas partes de solo com uma de areia. Foi corrigida a acidez do substrato em cada vaso mediante aplicação de 4,5 g de calcário dolomítico com poder relativo de neutralização de 150%, 24% de Ca e 15% Mg. Cada vaso foi adubado com 4,6 g de do adubo formulado 10-10-10 (NPK) e 0,32 g do formulado FTE BR12 (S = 3,2%; B = 1,8%; Cu = 0,18%; Mn = 2,0%; Mo = 0,1%;

Zn = 9,0%), conforme resultado da análise físico-química. A análise apresentou os seguintes resultados: pH H₂O = 4,68; P = 0,9 mg.dm⁻³; K = 8 mg.dm⁻³; S = 3,9 mg.dm⁻³; Ca = 0,9 cmol_c.dm⁻³; Mg = 0,4 cmol_c.dm⁻³; Al = 0,2 cmol_c.dm⁻³; H + Al = 3,1 cmol_c.dm⁻³; Na = 1,0 mg.dm⁻³; Fe = 88,4 mg.dm⁻³; Mn = 40,8 mg.dm⁻³; Cu = 0,5 mg.dm⁻³; Zn = 3,1; B = 0,3 mg.dm⁻³; capacidade de troca de cátions (CTC) = 4,3 cmol_c.dm⁻³; saturação de bases (v%) = 30; saturação por alumínio (m%) = 13,5; matéria orgânica = 8,7 g.dm⁻³; argila = 22%; silte = 8% e areia = 70%.

No estágio fenológico R1 iniciou-se os tratamentos, que foram mantidos por 13 dias. A irradiância de 1500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de RFA foi imposta no período das 10 às 16h, enquanto das 7h às 10h e das 16h às 19h a irradiância foi de 750 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de RFA. As plantas que não foram expostas a maior luminosidade receberam a irradiância constante de 750 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de RFA das 7h às 19h. Os regimes hídricos de 90 e 40% da CC foram impostos em cada vaso individualmente utilizando o método gravimétrico para o controle hídrico do substrato, sendo que, no primeiro dia de imposição dos tratamentos as plantas sob DH já estavam a 40% de CC. Após os 13 dias sob os tratamentos as plantas voltaram às condições de 750 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de RFA e de 90% de CC.

3.2. Avaliações

3.2.1. Relações hídricas

O potencial hídrico de antemanhã (Ψ_w) foi medido por meio de uma câmara de pressão do tipo Scholander, no horário entre as 04h e 06h da manhã. Para a avaliação do potencial osmótico foliar (Ψ_s) foi realizada extração do sulco celular das folhas e as leituras realizadas utilizando osmômetro (VAPRO 5600, Elitech, França) (Pask, Pietragalla, Mullan, & Reynolds, 2012). Os valores de Ψ_s foram obtidos utilizando a seguinte fórmula de Van't Hoff's: $\Psi_s = -R.T.C_s$, em que R é a constante universal dos gases (0,08205 L atm.mol⁻¹K⁻¹), T é a temperatura e C_s a concentração da solução. Ambas as análises de Ψ_w e Ψ_s foram realizadas aos 7 e 13 dias após a imposição dos tratamentos (DAIT).

3.2.2. Trocas gasosas

Aos 7 DAIT as trocas gasosas das plantas foram avaliadas para registro das taxas fotossintética [A , $\mu\text{mol (CO}_2\text{) m}^{-2}\text{s}^{-1}$] e transpiratória [E , $\text{mmol (H}_2\text{O) m}^{-2}\text{s}^{-1}$], da condutância estomática [g_s , $\text{mol (H}_2\text{O) m}^{-2}\text{s}^{-1}$] e da relação entre a concentração interna

e externa de CO_2 (C_i/C_a). A eficiência instantânea do uso da água foi obtida pela fórmula $EUA = [A/E, \mu\text{mol} (\text{CO}_2).\text{mmol} (\text{H}_2\text{O})^{-1}\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}]$. Estas avaliações foram realizadas utilizando um analisador de gases no infravermelho portátil com fluorômetro modulado acoplado (IRGA, modelo LI6800xt, Li-Cor, Nebraska, Estados Unidos), com RFA de $1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e temperatura do bloco de 25°C , utilizando a mais recente folha completamente expandida da planta.

3.2.3. Respiração noturna e respiração mitocondrial

A respiração noturna [$R_N, \mu\text{mol} (\text{CO}_2) \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$] foi mensurada aos 7 DAIT antes do amanhecer utilizando o mesmo IRGA mencionado anteriormente. A taxa de respiração mitocondrial durante o dia [$R_D, \mu\text{mol} (\text{CO}_2) \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$] foi estimada a partir da R_N , dividida por dois ($R_N/2$) como estimativa aproximada da respiração diurna [taxa de R_D (CO_2) mitocondrial não fotorrespiratório)], de acordo com (Martins et al., 2014).

3.2.4. Fluorescência e imagem da fluorescência da clorofila *a*

A fluorescência da clorofila *a* foi avaliada aos 7 e 13 DAIT concomitantemente com as medições de trocas gasosas. As imagens da fluorescência da clorofila *a* foram obtidas com auxílio do fluorômetro modulado Imaging-PAM (versão MAXI-Standard, Heinz Walz, Efeltrich, Alemanha). Inicialmente foram determinadas, em folhas adaptadas há pelo menos 30 minutos de escuro, a fluorescência inicial (F_0) e a fluorescência máxima (F_m), em que F_0 é o rendimento da fluorescência mínima, excitado por uma luz vermelha modulada de baixa intensidade ($3 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), e F_m é a fluorescência máxima obtida pela aplicação de um pulso por 0,8s de luz actínica saturante ($>6000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). A partir dos quais foi possível calcular o rendimento quântico potencial do fotossistema II (FSII) ($F_V/F_M = (F_m - F_0)/F_m$). As variáveis da fase lenta de indução da fluorescência foram obtidas sequencialmente com a aplicação de uma iluminação actínica por 30s de e um pulso de luz actínica saturante para a determinação das variáveis: fluorescência em amostra adaptada à luz antes do pulso de saturação (F) e fluorescência máxima em amostra adaptada à luz (F_m'). A partir desses parâmetros foi possível calcular a fluorescência mínima do tecido vegetal iluminado, $F_0' = F_0 / [((F_m - F_0)/F_m) + (F_0/F_m')]$ (Oxborough, & Baker, 1997). O rendimento quântico efetivo de conversão fotoquímica de energia no FSII, $\Phi_{II} = (F_m' - F)/F_m'$; e os rendimentos quântico da dissipação de energia regulada, $\Phi_{NPQ} = (F/F_m') - (F/F_m)$ e da dissipação de energia não regulada, $\Phi_{NO} = F/F_m$, foram calculados de acordo com

Genty, Briantais, & Baker (1989) e Hendrickson, Furbank, & Chow (2004). O Φ_{II} foi utilizado ainda para estimar a taxa aparente de transporte de elétrons, $ETR = \Phi_{II} \cdot RFA \cdot Leaf_{ABS} \cdot 0,5$ (Bilger, Schreiber, & Bock, 1995), em que RFA é o fluxo de fótons ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) incidente sobre a folha; $Leaf_{ABS}$ o valor correspondente à fração de luz incidente que é absorvida pelas folhas (Ehleringer, 1981); e 0,5 o valor correspondente à fração de energia de excitação distribuída para o FSII (Laisk, & Loreto, 1996).

3.2.5. Clorofila índice falker[®]

O teor de clorofila foi avaliado aos 7 DAIT com medidor portátil ClorofiLOG1030[®] (Falker[®], Porto Alegre, Brasil), sendo obtido o teor de clorofila *a* e clorofila *b* expressos no índice Clorofilog.

3.2.6. Curva A/RFA

No décimo terceiro dia após o início dos tratamentos empregou-se uma variação da RFA entre 0 e 2300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de forma decrescente, sendo utilizada a fonte de luz (LI-6800-02B) do LI-6800 com os respectivos valores: 2300, 2100, 1900, 1700, 1500, 1300, 1100, 900, 700, 500, 300, 100, 50, e 0,0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

As medidas tiveram início após 5 minutos de aclimação da folha à condição do primeiro valor da RFA e somente após a estabilização dos parâmetros de *A*, *g_s* e *E*. A concentração de CO₂, a temperatura do bloco e a umidade relativa do ar empregados foram exatamente os mesmos para medições de trocas gasosas.

O ajuste das curvas de A/RFA foi realizado utilizando o modelo de equação descrita por Long, & Hällgren (1993), ajustadas pela função Solver do *Microsoft Excel* (Lobo et al., 2013).

$$A = \frac{\phi \cdot RFA + A_{\max B} - \sqrt{(\phi \cdot RFA + A_{\max B})^2 - 4\phi \cdot A_{\max B} \cdot \Theta}}{2\Theta} - R_e$$

Sendo: *A* = taxa fotossintética líquida, ϕ = rendimento quântico aparente (adimensional), RFA = radiação fotossinteticamente ativa ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), $A_{\max B}$ = taxa fotossintética bruta em condições de saturação de luz ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), Θ = a convexidade da curva (adimensional), R_E = taxa de respiração no escuro ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Em que a partir da curva calculou-se a taxa fotossintética bruta máxima ($A_{\max B}$, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), fotossíntese líquida no ponto de irradiância máxima ($A_{I \max}$, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); respiração no escuro (R_E , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), eficiência quântica aparente (ϕ , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), irradiância de compensação (I_{comp} , $\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e irradiância de saturação

máxima (J_{max} , $F \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (Lobo et al., 2013). Os valores da taxa de respira\u00e7\u00e3o no escuro (R_E) utilizados para ajuste da curva foram obtidos quando a RFA foi de $0,0 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e registrados ap\u00f3s a estabiliza\u00e7\u00e3o dos valores de A , g_s e E . A curva A/RFA das plantas de soja foi mensurada seguindo a sequ\u00eancia das repeti\u00e7\u00f5es, de modo minimizar o efeito do tempo de exposi\u00e7\u00e3o \u00e0 luz nos par\u00e2metros fotossint\u00e9ticos.

3.2.7. Determina\u00e7\u00e3o da fotorrespira\u00e7\u00e3o

A fotorrespira\u00e7\u00e3o foi obtida aos 7 DAIT a partir dos dados de trocas gasosas e fluoresc\u00eancia da clorofila a , de acordo com Epron, Godard, Cornic, & Genty (1995) e Valentini et al. (1995). Para os c\u00e1lculos assumiu-se que o todo o fluxo de el\u00e9trons linear \u00e9 utilizado para a carboxila\u00e7\u00e3o e oxigena\u00e7\u00e3o da ribulose-1,5-bifosfato, desprezando-se outros drenos de energia. De forma que quatro el\u00e9trons s\u00e3o necess\u00e1rios para cada ciclo de carboxila\u00e7\u00e3o ou oxigena\u00e7\u00e3o e, uma mol\u00e9cula de CO_2 \u00e9 lan\u00e7ada a cada dois ciclos de oxigena\u00e7\u00e3o por descarboxila\u00e7\u00e3o da glicina na fotorrespira\u00e7\u00e3o. Assim:

$$J_T = (F_m' - F_s) / F_m' \cdot \text{RFA} \cdot 0,454$$

$$J_C = 1/3 [J_T + 8 (A + R_D)]$$

$$J_O = 2/3 [J_T - 4 (A + R_D)]$$

$$R_P = [J_T - 4 (A + R_D)] / 12$$

Em que J_T \u00e9 a taxa total de transporte de el\u00e9trons atrav\u00e9s do FSII da fotoss\u00edntese e fotorrespira\u00e7\u00e3o; $(F_m' - F_s) / F_m'$ \u00e9 o rendimento qu\u00e2ntico efetivo do fluxo linear de el\u00e9trons pelo FSII; RFA \u00e9 o fluxo de f\u00f3tons ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) incidente sobre a folha; 0,454 representa a propor\u00e7\u00e3o de quanta utilizados pelos centros de rea\u00e7\u00e3o do FSII (Melis, Spangfort, & Andersson, 1987), respectivamente; J_C e J_O s\u00e3o os el\u00e9trons atribuídos \u00e0s rea\u00e7\u00f5es de carboxila\u00e7\u00e3o e oxigenase da RuBP, respectivamente; A \u00e9 a taxa de assimila\u00e7\u00e3o l\u00edquida de CO_2 ; R_P \u00e9 a taxa de produ\u00e7\u00e3o de CO_2 em fotorrespira\u00e7\u00e3o e R_D \u00e9 a taxa de respira\u00e7\u00e3o mitocondrial durante o dia, estimada com base na respira\u00e7\u00e3o noturna (R_N).

3.2.8. Concentra\u00e7\u00e3o de pigmentos cloroplast\u00eddicos

A concentra\u00e7\u00e3o de pigmentos cloroplast\u00eddicos foi determinado aos 13 DAIT por meio da extra\u00e7\u00e3o com dimetilsulf\u00f3xido (DMSO), saturado com carbonato de c\u00e1lcio (CaCO_3), mediante ajustes da metodologia descrita por Castro, M\u00fcller, Almeida, & Costa (2019). Tr\u00eas discos foliares, com di\u00e2metro de 5 mm, foram coletados e incubados em frascos escurecidos e vedados contendo 5 mL da solu\u00e7\u00e3o de extra\u00e7\u00e3o, pelo per\u00edodo

de 24 horas a 65°C em banho-maria. Posteriormente, a absorbância da solução de extração foi determinada nos comprimentos de onda de 480, 649 e 665 nm por meio de um espectrofotômetro UV- VIS (Modelo Evolution 60S, Thermo Scientific, Madison – USA). As concentrações de clorofila *a* ($C_a = 12,19A_{665} - 3,45A_{649}$), *b* ($C_b = 21,99A_{649} - 5,32A_{665}$) e carotenoides totais ($C_t = (1000A_{480} - 2,14C_a - 70,16C_b)/220$) foram calculadas de acordo com Wellburn (1994) e expressos por área.

3.2.9. Determinação do teor de prolina

Aproximadamente 200 mg do tecido foliar fresco previamente macerado em nitrogênio líquido foram extraídas em etanol 80 % aos 13 DAIT de acordo com a adaptação da metodologia descrita por Bates, Waldren, & Teare (1973). O extrato foi centrifugado a 10.000 rpm por 10 min e o sobrenadante coletado em novo tubo. Para a reação foram utilizados 250 µL do extrato, 2mL de solução ácida de ninhidrina (1,25 g de ninhidrina; 30 mL de ácido acético glacial; 20 mL de ácido ortofosfórico 6M), 2 mL de ácido acético glacial, 100 µL de glicina (125 mM) e 2,65 mL de água. As amostras foram incubadas a 90°C por 35 min e, após esse período, colocadas em gelo para paralisar a reação. Foi adicionada a solução 4mL de tolueno, seguindo de agitação por 20s para a completa separação da prolina. O sobrenadante foi utilizado para a leitura a 515 nm em espectrofotômetro (Evolution 60S, Thermo Fischer Scientific®, Madison, Estados Unidos) e as absorbâncias comparadas à curva-padrão de prolina (0 a 100 µg mL⁻¹). Os resultados obtidos foram expressos em µmol g MF⁻¹.

3.2.10. Teor de açúcares solúveis totais

O extrato foi obtido a partir de aproximadamente 200 mg de tecido foliar embebidos em etanol 80% e aquecido a 65°C por 30 minutos aos 13 DAIT. Em seguida foi centrifugado e o sobrenadante coletado em novo tubo. Realizou-se três lavagens do material vegetal para obtenção do extrato final. Utilizou-se extrato etanólico para determinação dos açúcares solúveis totais. A determinação dos teores de açúcares solúveis totais foi realizada utilizando espectrofotômetro (Evolution 60S, Thermo Fischer Scientific®, Madison, Estados Unidos). Os resultados obtidos foram expressos em mg g MF⁻¹. Para a quantificação de açúcares solúveis totais foi empregado o método fenol-sulfúrico (Dubois et al., 1956). A reação consistiu de 250 µL do extrato etanólico, 250 µL de fenol 5%, 1,25 mL de H₂SO₄. A solução foi agitada e mantida em banho maria (30°C) por 20 minutos e realizada leitura em 490 nm. As absorbâncias foram

comparadas à curva-padrão de sacarose (0-50 µg).

3.2.11. Concentração de malonaldeído (MDA) foliar

O conteúdo de MDA foi avaliado aos 13 DAIT para determinar a peroxidação de lipídios utilizando o método proposto por Heath, & Packer (1968). Foram maceradas aproximadamente 160 mg de folhas frescas em almofariz congelado com solução de extração de 2mL de TCA 0,1%. O extrato foi centrifugado a 12000 g, durante 15 minutos a 4°C e, posteriormente, 500 µL do sobrenadante foi adicionado a 1,5mL da solução TBA 0,5% + TCA 20% (p/v) e aquecidos em estufa a 90°C, em tubos hermeticamente fechados, por 20 minutos. A reação foi paralisada em banho de gelo por um minuto, posteriormente foi centrifugado a 3000g por 4 minutos e as leituras realizadas em espectrofotômetro UV-VIS (modelo Evolution 60S, Thermo Fisher Scientific, Madison, EUA), a 440, 532 e 600 nm. A concentração do complexo malonaldeído-ácido tiobarbitúrico (MDA-TBA) produzido foi calculada, utilizando o coeficiente de extinção molar de $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (Heath, & Packer, 1968) através da fórmula: $\text{MDA (nmol ml}^{-1}) = [(A_{532}-A_{600}) / 155000] 10^6$. Os dados de TBARS foram expressos em nmol TBA-MDA g⁻¹ MF.

3.2.12. Atividade das enzimas APX, SOD, CAT e POX

Para a determinação da atividade da dismutase do superóxido (SOD), da catalase (CAT), peroxidase do ascorbato (APX) e peroxidase (POX), foram coletados e macerados aproximadamente 0,3 g de tecido foliar aos 13 DAIT em almofariz com nitrogênio líquido contendo 2mL do seguinte meio de extração: tampão fosfato de potássio (50 mM, pH 6,8), ácido etilenodiaminotetracético (EDTA, 0,1 mM), fluoreto de fenilmetilsulfônico (PMSF, 1 mM) e polivinilpirrolidona (PVP, 2%). O extrato enzimático foi centrifugado a 12000 g durante 15 min a 4°C. O sobrenadante foi utilizado como extrato bruto.

A atividade da SOD foi determinada a partir da metodologia proposta por Del Longo, González, Pastori, & Trippi (1993) mediante a mensuração da capacidade da enzima em reduzir fotoquimicamente o azul de nitrotetrazólio (NBT). A mistura de reação consistiu de tampão fosfato de potássio (50 mM, pH 7,8), metionina (13 mM), NBT (0,075 mM), EDTA (0,1 mM) e riboflavina (0,002 mM). A reação foi iniciada após a adição 50 µL do extrato enzimático em 1,95 mL da mistura da reação. A reação ocorreu a 25°C sob exposição de uma lâmpada de 15 W. Depois de 10 min de exposição

à luz, a luz foi interrompida e a produção de formazana azul, resultado da fotoredução do NBT, foi determinada a 560 nm em espectrofotômetro (Evolution 60S, Thermo Fisher Scientific Inc., MA, EUA) de acordo com Giannopolitis, & Ries (1977). As amostras controle foram mantidas no escuro durante 10 min e medida a absorbância a 560 nm. Os valores obtidos do branco das amostras foram subtraídos dos valores das amostras de cada uma das repetições de cada tratamento exposto à luz. Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima necessária para inibir 50% da fotoredução do NBT (Beauchamp, & Fridovich, 1971).

A atividade da CAT foi determinada pela velocidade da degradação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a 240 nm durante 3 min a 25°C (Havir, & Mc Hale, 1987), com algumas modificações. A reação foi iniciada após adição de 10 μ L do extrato bruto enzimático em 990 μ L do meio de reação contendo tampão de fosfato de potássio (25 mM, pH 7,0) e H_2O_2 (2,5 mM). O coeficiente de extinção molar de $36 M^{-1} cm^{-1}$ (Anderson, Prasad, & Stewart, 1995) foi utilizado para calcular a atividade da enzima.

Para atividade da APX foi utilizada a metodologia proposta por Nakano e Asada (1981). A reação foi iniciada após a adição de 50 μ l do extrato enzimático bruto em 1,95 ml do meio de reação contendo tampão de fosfato de potássio (50 mM, pH 6,0), H_2O_2 (1 mM) e ascorbato (0,8 mM). A atividade da APX foi medida pela taxa de oxidação do ascorbato a 290 nm durante um minuto a 25°C. O coeficiente de extinção molar de $2,8 mM^{-1} cm^{-1}$ (Nakano, & Asada, 1981) foi utilizado para calcular a atividade da APX.

A atividade da POX foi determinada de acordo com Kar, & Mishra (1976). A reação consistiu de 100 μ L do extrato enzimático bruto e 1,9 mL da mistura da reação contendo fosfato de potássio (25mM; pH 6,8), pirogalol (20mM) e peróxido de hidrogênio (20 mM). A absorbância foi mensurada a 420 nm em espectrofotômetro UV-Vis por 1 min a 25°C. O coeficiente de extinção de $0,00247 M^{-1}cm^{-1}$ foi usado para calcular a atividade da POX, que foi expressa em μ mol $min^{-1}mg^{-1}$ de proteína.

A atividade das enzimas foi expressa com base em proteína, cuja concentração foi determinada de acordo com o método de Bradford (Bradford, 1976).

3.2.13. Caracterização morfoanatômica foliar

Amostras (aproximadamente 3 cm^2) da região média de folhas completamente expandidas desenvolvidas durante o período dos tratamentos foram coletadas e fixadas

em solução de Karnofsky (Karnovsky, 1965) aos 13 DAIT. Após 24h, o material foi pré-lavado em tampão fosfato e desidratado em uma série de lavagens com álcool etílico, pré-filtrado e infiltrado em historresina (Leica, Wetzlar, HE, Alemanha), de acordo com a recomendação do fabricante. As amostras foram seccionadas transversalmente a 5 µm de espessura em um micrótomo rotativo (modelo 1508R, LogenScientific, Shangjiao Dashi, Guangzhou, China). As secções foram coradas com azul de toluidina (0,05% em tampão fosfato 0,1M, pH 6,8) (O'Brien, Feder, & McCully, 1964), e em seguida realizadas observações anatômicas da epiderme abaxial e adaxial, parênquima paliçádico e esponjoso e mesofilo foram feitas usando imagens fotografadas com microscópio Olympus (BX61, Olympus, Shinjuku-ku, Japan) acoplado a uma câmera DP-72 usando a opção de campo de luz. As medidas de micromorfometria foram obtidas das imagens anteriores usando o *software* (Image Processing e Analysis in Java, v. 1.47, Bethesda, MD, USA). Dez observações por réplica foram medidas para cada estrutura avaliada.

3.2.14. Viabilidade de grãos de pólen

A coleta dos botões florais para a avaliação da viabilidade dos grãos de pólen foi realizada aos 13 DAIT após a aplicação dos tratamentos, no estágio de desenvolvimento R1. Cinco botões florais e inflorescências foram coletados, fixados em Carnoy e armazenados em freezer a -20°C. Lâminas foram confeccionadas macerando anteras de dois botões florais em carmim acético 1%. A viabilidade do pólen foi estimada por meio da contagem de aproximadamente 300 grãos de pólen por unidade experimental com o auxílio de microscópio biológico binocular (Leica), com objetiva de aumento de 10 x. Os grãos de pólen corados foram considerados viáveis, enquanto os vazios ou fracamente corados foram considerados inviáveis.

3.2.15. Germinação de grãos de pólen

A germinação dos grãos de pólen *in vitro* foi avaliada aos 13 DAIT após a aplicação dos tratamentos no estágio de desenvolvimento R1. O meio de cultivo para a germinação de grãos de pólen da soja foi preparado com solução contendo 15% sacarose, 0,03% Ca(NO₃)₂, 0,01% H₃BO₃ e 0,5% de ágar (Koti et al., 2004). Grãos de pólen maduros recém-coletados foram germinados à temperatura ambiente e registradas as imagens após 30 min. Após a germinação, as lâminas foram avaliadas em microscópio biológico binocular Leica. Os grãos de pólen foram considerados

germinados quando o tamanho do tubo polínico ultrapassou o diâmetro do próprio grão de pólen. Foram contados 100 grãos de pólen por planta.

3.2.16. Análises biométricas e produção de grãos

Aos 13 DAIT as plantas foram mensuradas para a determinação das variáveis biométricas: altura da planta (AP, cm), número de folhas (NF), diâmetro de caule (DC, mm), número de vagens (NV) e número de ramos (NR). Folhas, caules e vagens foram acondicionados em sacos de papel e secos em estufa de circulação forçada de ar (65°C), até peso constante para obtenção da massa seca das folhas (MSF, g), massa seca dos caules (MSC, g) e massa seca de vagens (MSV, g). Usando o software ImageJ foi calculado a área foliar (AF, cm²), e pela razão entre AF e MSF, foi obtido a área foliar específica (AFE, cm² g⁻¹ MSF). Ao fim do ciclo da cultura foram determinados também os parâmetros de produção de grãos (PG, g), massa de 100 grãos (g), número de vagens (NV) e número de grãos (NG).

3.3. Desenho experimental e análises estatísticas

O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso, com quatro tratamentos e 5 repetições. Os dados obtidos foram submetidos às avaliações de homogeneidade (teste de Bartlett) e normalidade do erro (teste de Shapiro-Wilk), seguido de análise de variância, e as médias agrupadas pelo Teste de Scott Knott ($p < 0,05$). Quando necessário, procedeu-se a correlação de Pearson ($p < 0,05$). As análises foram realizadas por meio do *Software* Action Pro.

4. RESULTADOS

4.1. Avaliações 7 dias após imposição dos tratamentos

Os potenciais hídrico (ψ_w) e osmótico (ψ_s) foliar das plantas de soja foram menores nas condições de 40% de capacidade de campo (CC) em ambas as condições de radiação fotossinteticamente ativa (RFA) (Figura 1A-B). Contudo, tanto o ψ_w , como o ψ_s , não diferiram em função das condições luminosas.

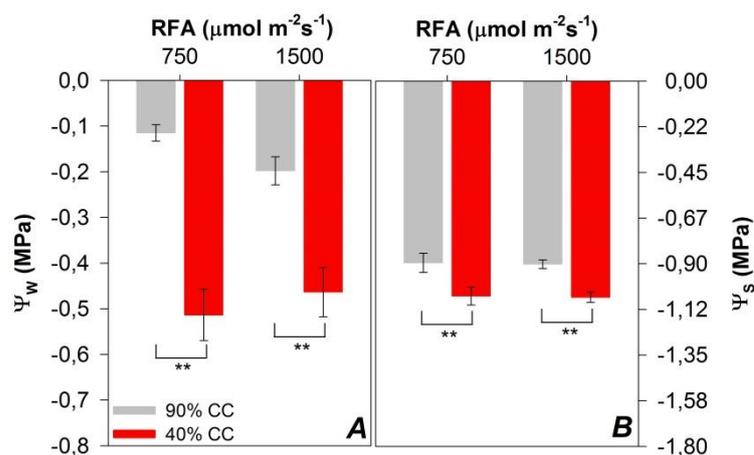


Figura 1. Potencial hídrico (ψ_w , A) e osmótico (ψ_s , B) foliar de plantas de soja aos 7 dias após imposição dos tratamentos de 90% e 40% da capacidade de campo (CC) combinadas com $750 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e $1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Dados são médias de ($n = 5$). Diferenças significativas entre tratamentos são indicadas por asteriscos (** $p \leq 0,01$).

As variáveis relacionadas às trocas gasosas diferiram somente em função dos níveis de umidade do solo. Desse modo, verificou-se menor taxa fotossintética (A), condutância estomática (g_s), taxa transpiratória (E) e razão entre a concentração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a) em plantas sob a condição de déficit hídrico (40% de CC (Figura 2A-D). Destaca-se, que em ambas as irradiâncias, a g_s foi cerca de 90% menor nas plantas expostas ao DH do que nas condições de 90% de CC. Contudo, a eficiência do uso da água (EUA) foi aproximadamente 35% maior nas condições de DH (Figura

2E). Adicionalmente, a respiração noturna (R_N) foi menor em ambos os tratamentos com DH (Figura 2F).

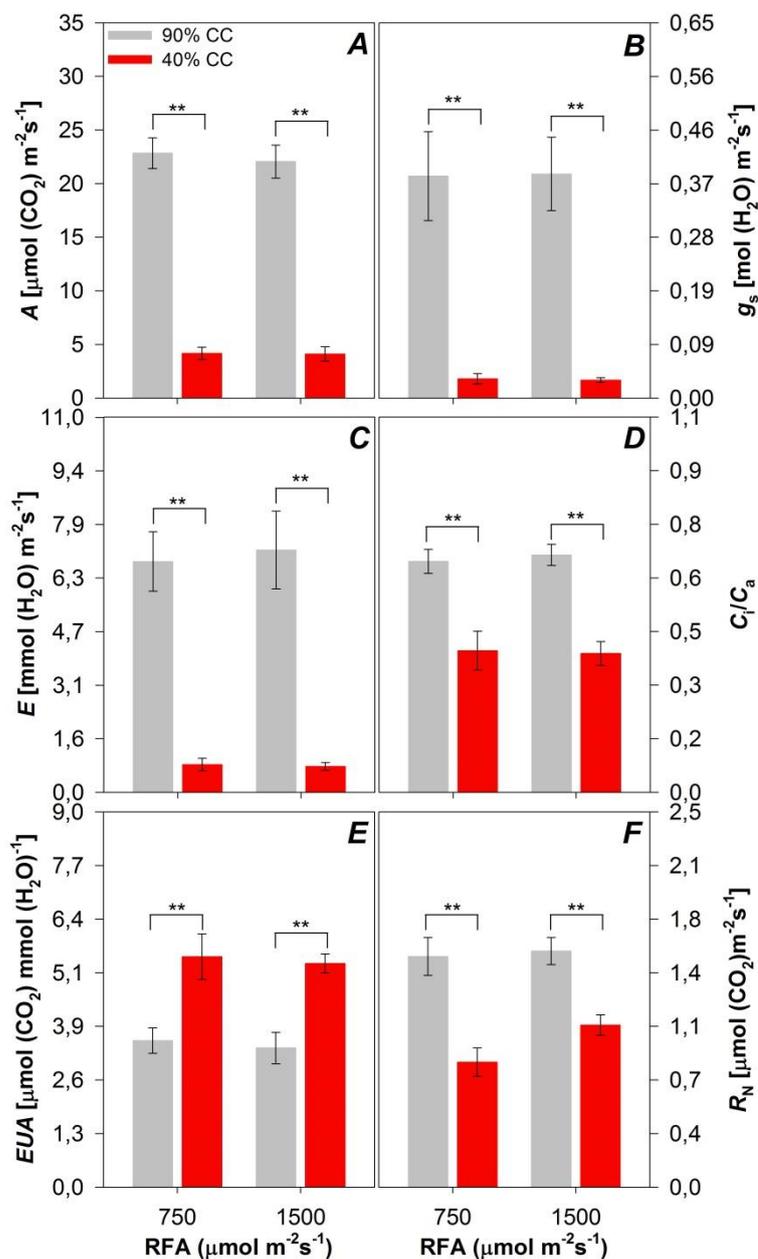


Figura 2. Taxa fotossintética (A, A), condutância estomática (g_s , B), taxa transpiratória (E , C), razão entre a concentração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a , D), eficiência do uso da água (EUA , E) e respiração noturna (R_N , F) de plantas de soja aos 7 dias após imposição dos tratamentos de 90% e 40% da capacidade de campo (CC) combinadas com 750 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e 1500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Dados são médias de ($n = 5$). Diferenças significativas entre tratamentos são indicadas por asteriscos (** $p \leq 0,01$).

O conteúdo de clorofila a (Cl a), b (Cl b) e total (Cl Total) das plantas de soja diferiram somente em função dos níveis de umidade do solo (Figura 3A-C). Menores valores foram observados na condição de 40% da CC.

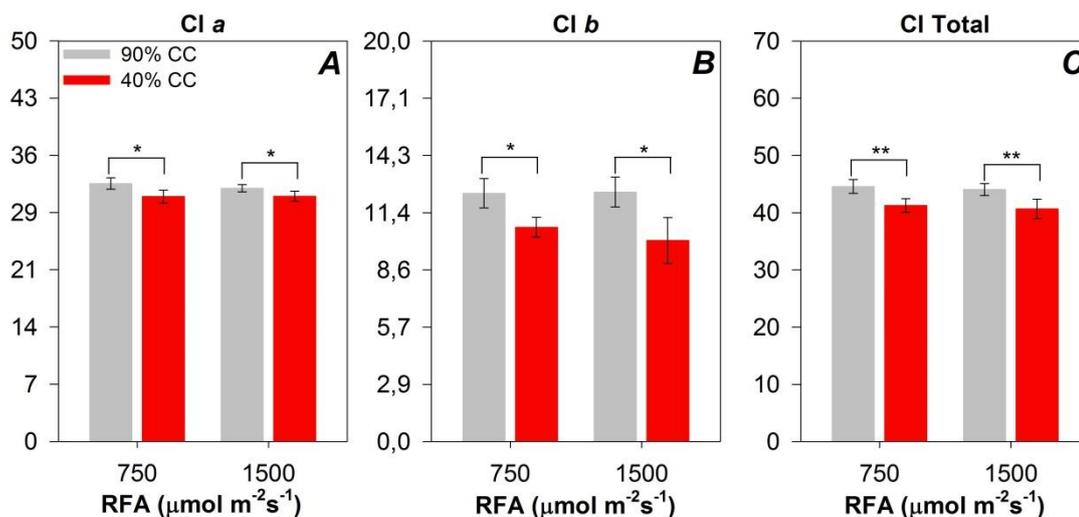


Figura 3. Clorofila *a* (Cl *a*, A) e clorofila *b* (Cl *b*, B) e clorofila total (Cl Total, C) expressos pelo índice Falker® de plantas de soja aos 7 dias após imposição dos tratamentos de 90% e 40% da capacidade de campo (CC) combinadas com 750 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e 1500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Dados são médias de ($n = 5$). Diferenças significativas entre tratamentos são indicadas por asteriscos (* $p \leq 0,01$ e ** $p \leq 0,01$).

O rendimento quântico potencial (F_V/F_M) e efetivo (Φ_{II}) do fotossistema II (FSII), bem como a taxa de transporte de elétrons (ETR) das plantas de soja diferiram em função das diferentes umidades do solo (Figura 4A-B e 4E). Valores inferiores para esses parâmetros foram observados na condição de 40% da CC. Para o rendimento quântico de dissipação não regulada de energia não fotoquímica do FSII (Φ_{NO}), verificou-se significância para a interação umidades do solo \times irradiâncias ($p = 0,006$) (Figura 4D). Desse modo, houve diferença entre as umidades do solo somente na condição de 750 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de RFA, em que maior Φ_{NO} foi verificado para 40% da CC (Figura 4D). Observa-se ainda, que o Φ_{NO} foi maior na irradiância de 750 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de RFA na umidade do solo de 40% da CC que na irradiância de 1500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de RFA (Figura 4D).

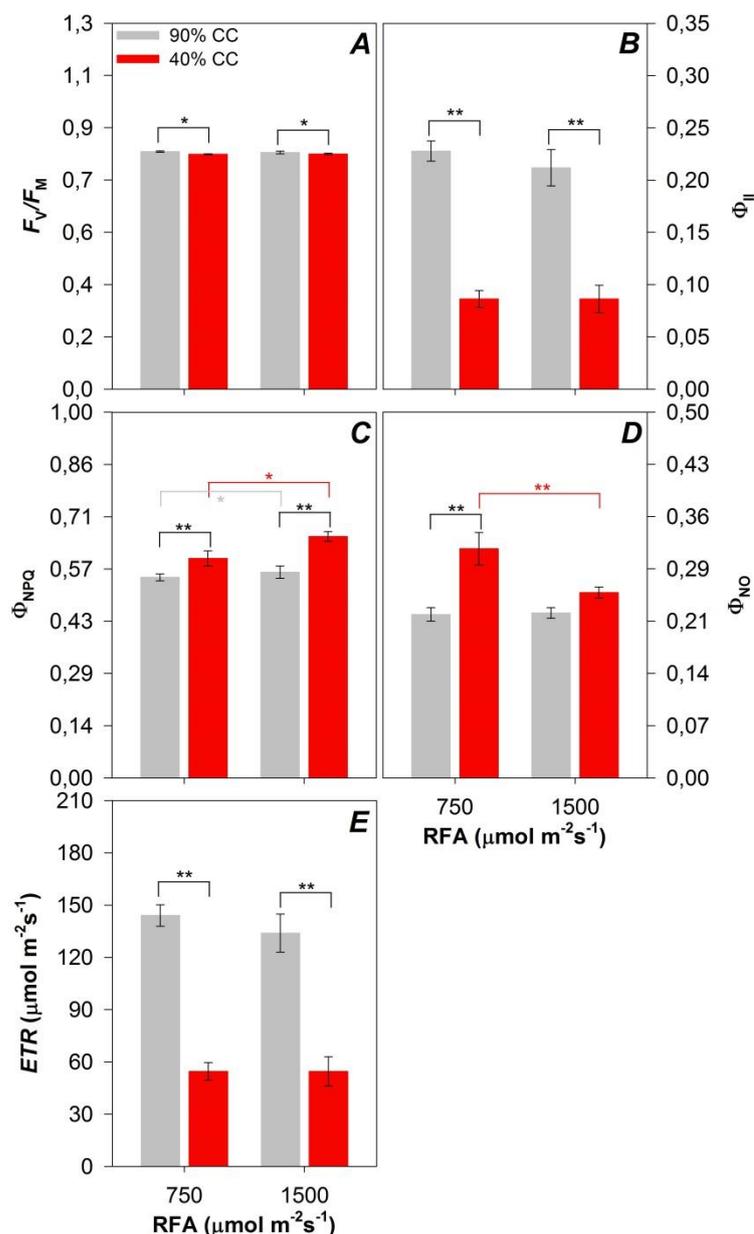


Figura 4. Rendimento quântico máximo do FSII (F_v/F_m , A), rendimento quântico efetivo do FSII (Φ_{II} , B), rendimento quântico da dissipação regulada de energia não fotoquímica do FSII (Φ_{NPQ} , C), rendimento quântico de dissipação não regulada de energia não fotoquímica do FSII (Φ_{NO} , D) e taxa de transporte de elétrons (ETR, E) de plantas de soja aos 7 dias após imposição dos tratamentos de 90% e 40% da capacidade de campo (CC) combinadas com 750 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e 1500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Dados são médias de ($n = 5$). Diferenças significativas entre tratamentos são indicadas por asteriscos (* $p \leq 0,01$ e ** $p \leq 0,01$).

As variáveis relacionadas com a partição de elétrons diferiram em função das diferentes umidades do solo (Figura 5). Sendo que, o fluxo total de elétrons (J_T), o fluxo de elétrons destinados a carboxilação (J_C) e oxigenação (J_O) da Rubisco, as razões J_C/J_O e J_C/J_T e a taxa de fotorrespiração (P_R) foram menores nas condições de 40% da CC

(Figura 5A-F).

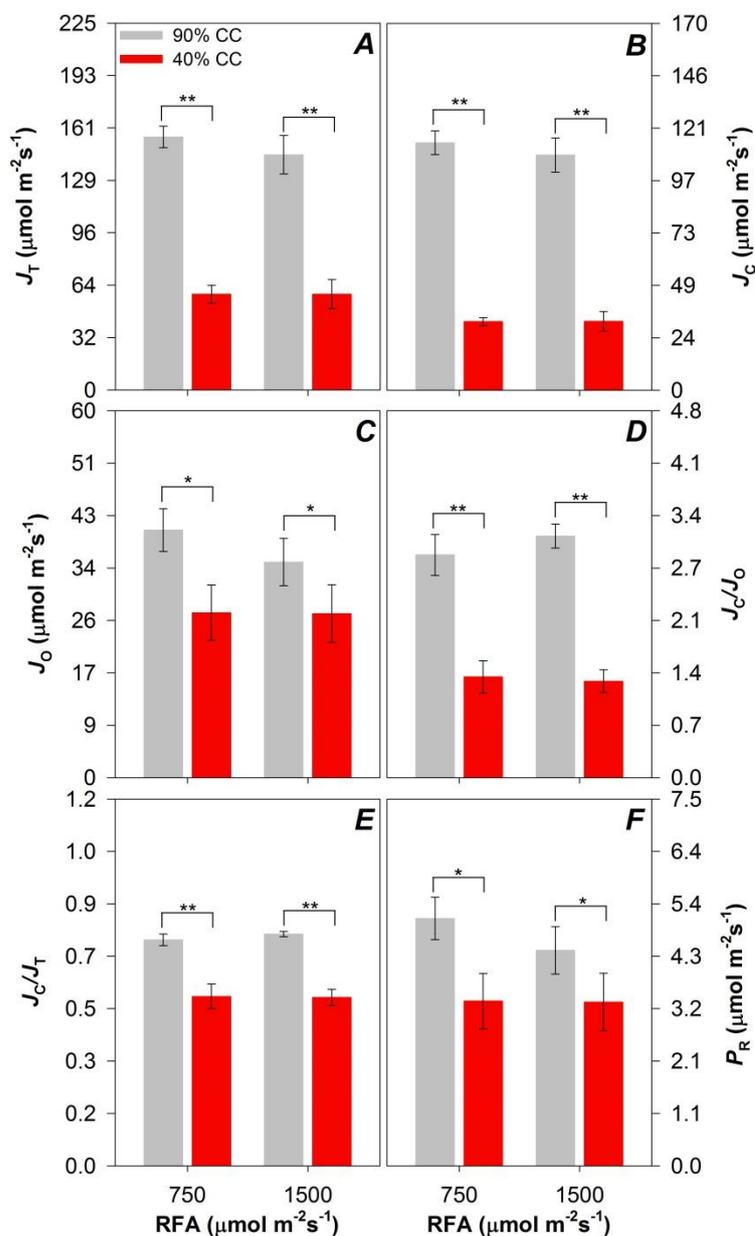


Figura 5. Fluxo total de elétrons, fluxo de elétrons destinados a carboxilação e oxigenação da RuBP (J_T , J_C e J_O) (A), fotorrespiração (P_R , D), razão J_C/J_O (C) e razão J_C/J_T (D) de plantas de soja aos 7 dias após imposição dos tratamentos de 90% e 40% da capacidade de campo (CC) combinadas com 750 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e 1500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Dados são médias de ($n = 5$). Diferenças significativas entre tratamentos são indicadas por asteriscos (* $p \leq 0,01$ e ** $p \leq 0,01$).

4.2. Avaliações 13 dias após imposição dos tratamentos

A interação umidades do solo \times irradiâncias não foi significativa para os parâmetros de ψ_w e ψ_s . Mas, houve diferença entre umidades do solo, com menores

valores observados nas condições de 40% da CC (Figura 6A-B).

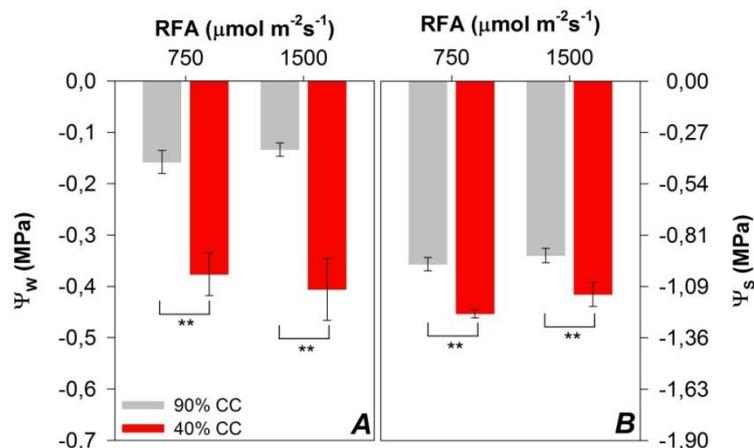


Figura 6. Potencial hídrico (Ψ_w , A) e osmótico (Ψ_s , B) de plantas de soja aos 13 dias após imposição dos tratamentos de 90% e 40% da capacidade de campo (CC) combinadas com 750 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e 1500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Dados são médias de ($n = 5$). Diferenças significativas entre tratamentos são indicadas por asteriscos (** $p \leq 0,01$).

Na curva de A em função da radiação fotossinteticamente ativa (RFA) (A/RFA), os maiores valores registrados foram para as plantas sob as condições de umidade do solo de 90% de CC (Figura 7). Já os menores valores de A foram verificados nas condições de 40% de CC (Figura 7).

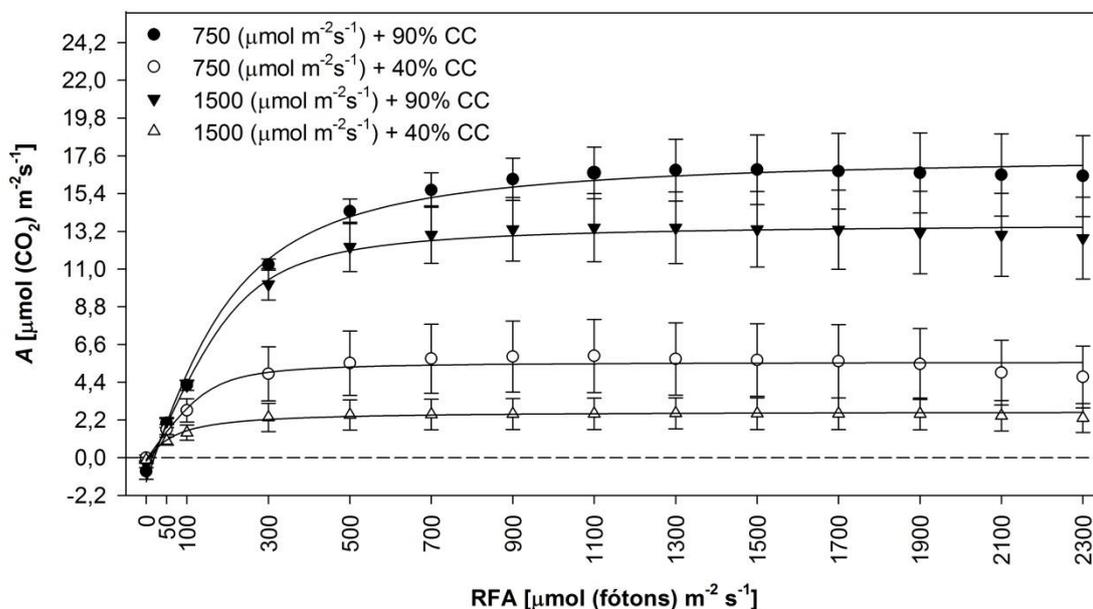


Figura 7. Taxa fotossintética (A) em função da radiação fotossinteticamente ativa (RFA) de plantas de soja aos 13 dias após imposição dos tratamentos de 90% e 40% da capacidade de campo (CC) combinadas com 750 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e 1500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Dados são médias de ($n = 5$).

Para os parâmetros relacionados à curva A/RFA a interação entre umidades do solo x irradiância não foi significativa (Figura 8A-F). A taxa fotossintética bruta máxima (A_{maxB}), a respiração no escuro (R_E), a irradiância de compensação (I_{comp}) e a irradiância de saturação máxima (I_{max} , F) diferiram em função das diferentes umidades do solo, sendo menor na condição de 40% da CC. (Figura 8A). No entanto, não houve diferença entre as irradiâncias. Já a fotossíntese líquida no ponto de maior irradiância ($A_{I_{max}}$) e a eficiência quântica aparente (ϕ) também diferiram em função das diferentes umidades do solo, marcando menores valores na CC de 40%, mas, também se verificou diferença em decorrência das diferentes irradiâncias, em que os menores valores visualizados foram na irradiância de $1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de RFA (Figura 8B e 8D).

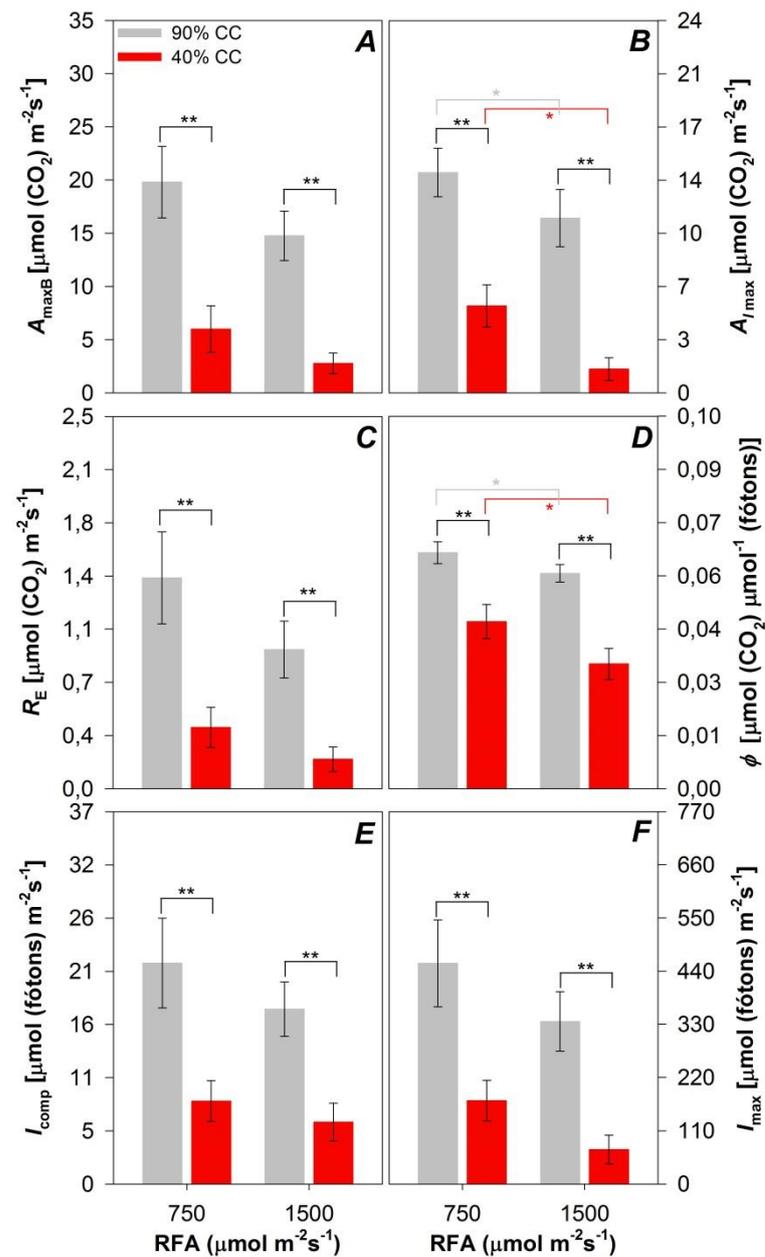


Figura 8. Taxa fotossintética bruta máxima (A_{maxB} , A), fotossíntese líquida no ponto de irradiância máxima ($A_{I_{max}}$, B) respiração no escuro (R_E , C), eficiência quântica aparente (ϕ , D), irradiância de compensação (I_{comp} , E) e irradiância de saturação máxima (I_{max} , F) de plantas de soja aos 13 dias após imposição dos tratamentos de 90% e 40% da capacidade de campo (CC) combinadas com 750 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e 1500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Dados são médias de ($n = 5$). Diferenças significativas entre tratamentos são indicadas por asteriscos (* $p \leq 0,01$ e ** $p \leq 0,01$).

O F_V/F_M , o Φ_{II} e o Φ_{NPQ} foram menores na CC de 40%, diferindo somente em função do fator umidade do solo (Figura 9). A interação entre umidades do solo e irradiâncias não foi significativa. O Φ_{NO} não diferiu em função dos tratamentos (Figura 9).

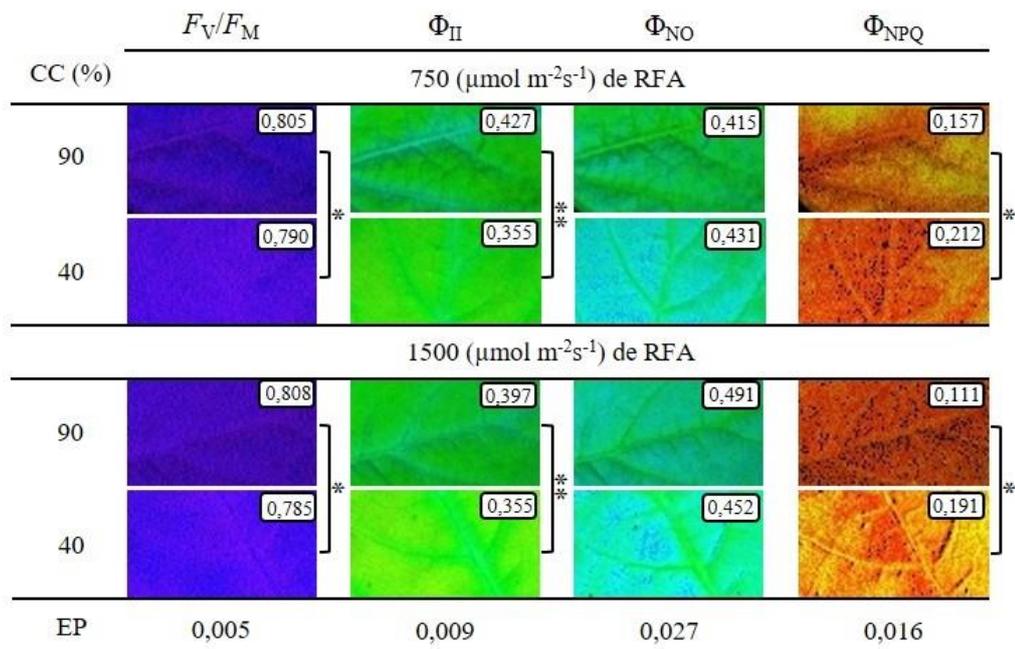


Figura 9. Rendimento quântico máximo do FSII (F_V/F_M), rendimento quântico efetivo do FSII (Φ_{II}), rendimento quântico de dissipação não regulada de energia não fotoquímica do FSII (Φ_{NO}) e rendimento quântico da dissipação regulada de energia não fotoquímica do FSII (Φ_{NPQ}) de plantas de soja aos 13 dias após imposição dos tratamentos de 90% e 40% da capacidade de campo (CC) combinadas com 750 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e 1500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Dados são médias de ($n = 5$). Diferenças significativas entre tratamentos são indicadas por asteriscos (* $p \leq 0,01$ e ** $p \leq 0,01$).

Os teores de Cl *a* e Cl *b* não diferiram entre os tratamentos (Figura 10A-B). Mas, os teores de carotenoides diferiram em função do fator umidade do solo, com menores valores verificados em 40% da CC (Figura 10C).

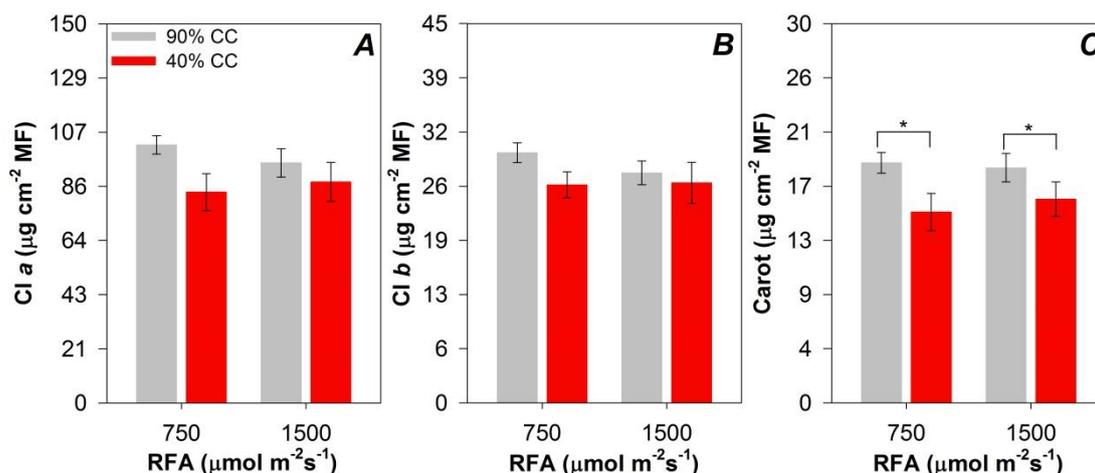


Figura 10. Teor de clorofila *a* (Cl *a*, A), clorofila *b* (Cl *b*, B) e carotenoides (Carot, C) de plantas de soja aos 13 dias após imposição dos tratamentos de 90% e 40% da capacidade de campo (CC) combinadas com 750 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e 1500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Dados são médias de ($n = 5$). Diferenças significativas entre tratamentos são indicadas por asteriscos ($* p \leq 0,05$).

O conteúdo de malonaldeído (MDA) foi superior em plantas de soja nas condições de 40% da CC, ou seja, diferindo somente em detrimento do fator umidade do solo (Figura 11). Quando comparado às plantas CT, o acúmulo de MDA foi de aproximadamente 25% superior nas condições de estresses por DH isolado e combinação de DH+AI.

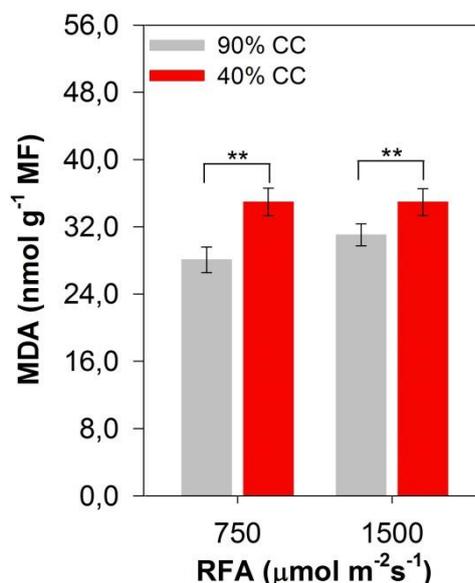


Figura 11. Conteúdo de malonaldeído (MDA) de plantas de soja aos 13 dias após imposição dos tratamentos de 90% e 40% da capacidade de campo (CC) combinadas com 750 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e 1500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Dados são médias de ($n = 5$). Diferenças significativas entre tratamentos são indicadas por asteriscos (** $p \leq 0,01$).

Na avaliação do sistema antioxidante enzimático das plantas de soja, verificou-

se diferença entre os tratamentos para o fator irradiância (Figura 12). Logo, observou-se maior atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase do ascorbato (APX) e peroxidase (POX) na condição luminosa de $1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de RFA (Figura 12A-D). A enzima APX também diferiu em função diferentes umidades do solo, marcando maior atividade na condição de 40% da CC (Figura 12C).

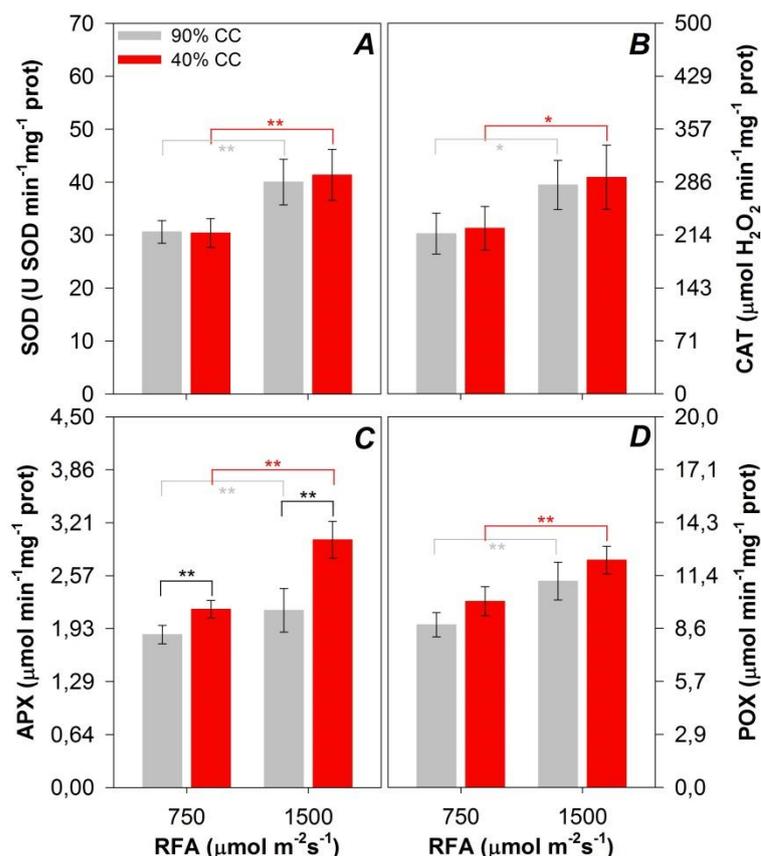


Figura 12. Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD, A), catalase (CAT, B), peroxidase do ascorbato (APX, C) e peroxidase (POX, D) de plantas de soja aos 13 dias após imposição dos tratamentos de 90% e 40% da capacidade de campo (CC) combinadas com $750 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e $1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Dados são médias de ($n = 5$). Diferenças significativas entre tratamentos são indicadas por asteriscos (* $p \leq 0,05$ e ** $p \leq 0,01$).

A concentração do aminoácido prolina (Pro) e dos açúcares solúveis totais (AST) foram maiores na CC de 40%, uma vez que houve diferença somente em função do fator umidade do solo para essas variáveis (Figura 13A e 13C). Além disso, observou-se correlação negativa de Pro e ASR com ψ_s [Pearson – ($p = 0,002$; $R^2 = 0,66$) e ($p = 0,007$; $R^2 = 0,57$), respectivamente (Figura 13B)].

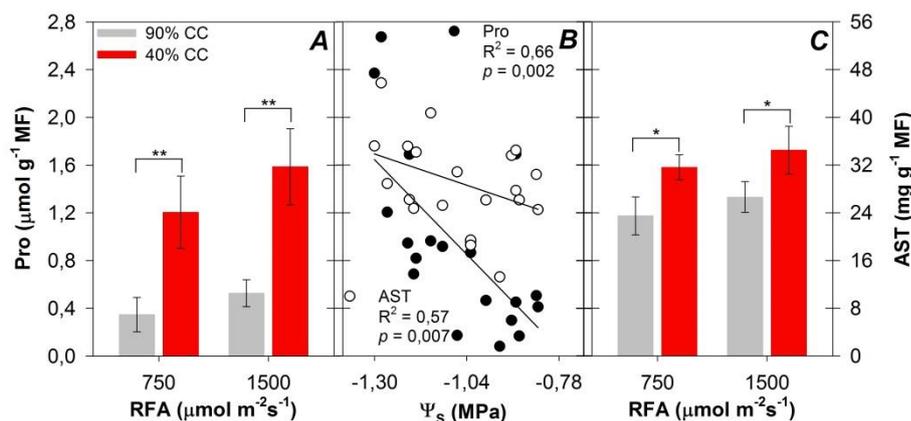


Figura 13. Concentração de prolina (PRO, A), correlação de Pearson entre PRO e Ψ_s (B) e açúcares solúveis totais (AST, C) de plantas de soja aos 13 dias após imposição dos tratamentos de 90% e 40% da capacidade de campo (CC) combinadas com 750 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e 1500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Dados são médias de ($n = 5$). Diferenças significativas entre tratamentos são indicadas por asteriscos (* $p \leq 0,05$ e ** $p \leq 0,01$).

Quanto aos parâmetros anatômicos, verificou-se nas folhas de soja que o parênquima paliádico (PP) é composto por duas a três camadas de células alongadas e estreitas, voltadas para a superfície adaxial da folha, justapostas, com espaços intercelulares reduzidos que ocorrem abaixo da epiderme na face adaxial (EpAd) (Figura 14). Já o parênquima esponjoso é formado por células isodiamétricas de formato irregular, com espaços intercelulares localizados acima da epiderme na face abaxial (Figura 14). O mesofilo (MES) é heterogêneo com organização dorsiventral. Observou-se que o cultivo das plantas de soja na condição de 90% da CC e 1500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de RFA ocasionou aumento nos espaços intercelulares na região do PP em relação às demais condições (Figura 14).

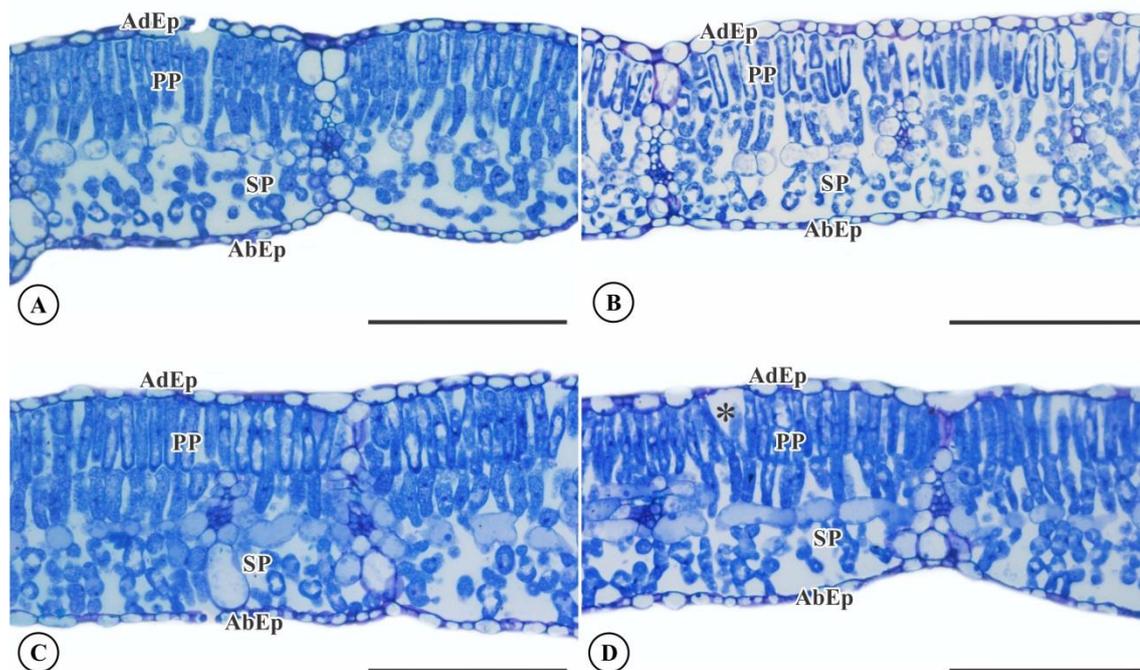


Figura 14. Anatomia foliar de plantas de soja aos 13 dias após imposição dos tratamentos de 90% e 40% da capacidade de campo (CC) combinadas com $750 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e $1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). (EpAd) epiderme adaxial. (EpAb) epiderme abaxial. (PP) parênquima paliçádico. (PE) parênquima esponjoso. Asterisco indica aumento de espaços intracelulares. Barra de escala $200 \mu\text{m}$.

Não houve diferença na espessura da epiderme adaxial (EpAd) e epiderme abaxial (EpAb) das folhas de soja em função dos tratamentos impostos. Sendo que, os valores médios e de erro padrão para EpAd e EpAb foram, respectivamente, de $(11,52 \pm 0,66)$ e $(10,49 \pm 0,74)$. Contudo, a interação entre os fatores umidades do solo \times irradiâncias foi significativa para as espessuras de: parênquima paliçádico (PP; $p < 0,001$), parênquima esponjoso (PE; $p = 0,003$), mesofilo (Mes; $p < 0,001$) e foliar (EF; $p < 0,001$) (Figura 15A-D). Logo, observa-se que na irradiância de $1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de RFA, a espessura de PP foi maior para as plantas mantidas na umidade do solo de 90% da CC do que nas de 40% da CC (Figura 15A). Adicionalmente, nota-se, na CC de 90%, maior espessura de PP das plantas de soja na condição de $1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de RFA em relação a de $750 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de RFA (Figura 15A). Já a espessura de PE, na condição de $750 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de RFA, foi maior em plantas na condição de umidade do solo de 40% da CC (Figura 15B). Verificou-se também, que a espessura de PE das plantas foi maior na umidade do solo de 40% da CC quando mantidas sob a irradiância de $750 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de RFA, quando contrastada a de $1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de RFA (Figura 15B). A EF e a espessura de Mes foram maiores na condição de 40% da CC na irradiância de $750 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de RFA, e o inverso foi verificado na irradiância de $1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de RFA

(Figura 15C-D). Além disso, registra-se, na umidade do solo de 90% da CC, maior EF e espessura de Mes para as plantas submetidas à irradiância de 1500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de RFA (Figura 15C-D). Já as plantas sob a CC de 40%, maior espessura de Mes e EF foram observadas na condição luminosa de 750 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de RFA (Figura 15C-D).

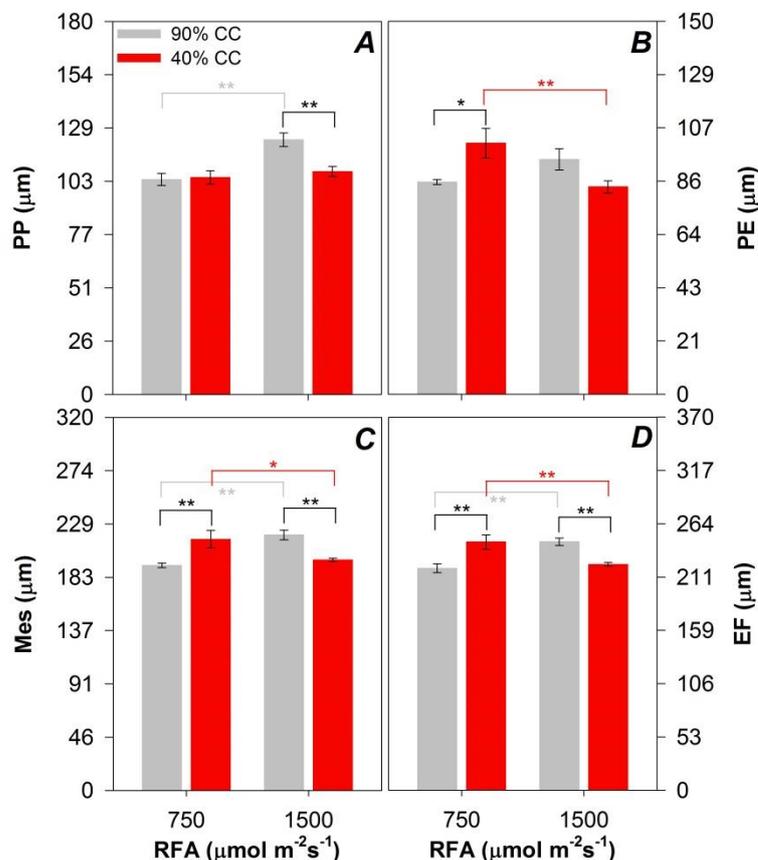


Figura 15. Espessura de parênquima paliçádico (PP, A), parênquima esponjoso (PE, B), mesofilo (Mes, C) e da folha (EF, D) de plantas de soja aos 13 dias após imposição dos tratamentos de 90% e 40% da capacidade de campo (CC) combinadas com 750 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e 1500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Dados são médias de ($n = 5$). Diferenças significativas entre tratamentos são indicadas por asteriscos (* $p \leq 0,05$ e ** $p \leq 0,01$).

As características biométricas das plantas de soja diferiram em função dos tratamentos, exceto o diâmetro de caule (média = 5,77; erro padrão = 0,31). A interação entre umidades do solo \times irradiâncias foi significativa para a área foliar (AF; $p = 0,002$), número de folhas (NF; $p = 0,025$), massa seca de folhas (MSF; $p = 0,021$), número de ramos (NR; $p = 0,004$), massa seca de caule (MSC; $p = 0,037$) e massa seca de vagens (MSV; $p = 0,0341$). Verificou-se, que na condição luminosa de 750 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de RFA, a AF, NF, MSF e NR das plantas de soja foram menores na umidade do solo de 40% da CC (Figura 16A e 16C-E). E, dentre as plantas sob 90% da CC, maior AF, NF, MSF e NR foram observados na irradiância de 750 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de RFA (Figura 16A e 16C-E). A MSC foi menor na umidade do solo de 40% da CC em ambas as condições

de irradiância (Figura 16F). Verifica-se ainda, para MSC, maiores valores no tratamento de 90% da CC e $750 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de RFA (Figura 16F). Já para MSV, valores inferiores foram registrados em detrimento da umidade do solo de 40% da CC em ambas as irradiâncias (Figura 16H). As variáveis de área foliar específica (AFE), número de vagens (NV) e altura de planta (AP) diferiram somente em função da umidade do solo, com menores valores registrados para a CC de 40% (Figura 16B, 16G e 16I). Adicionalmente, observou-se que a MSF e MSC correlacionaram-se positivamente com a A [Pearson – ($p < 0,001$; $R^2 = 0,75$) e ($p < 0,001$; $R^2 = 0,71$), respectivamente, (Figura 16J)].

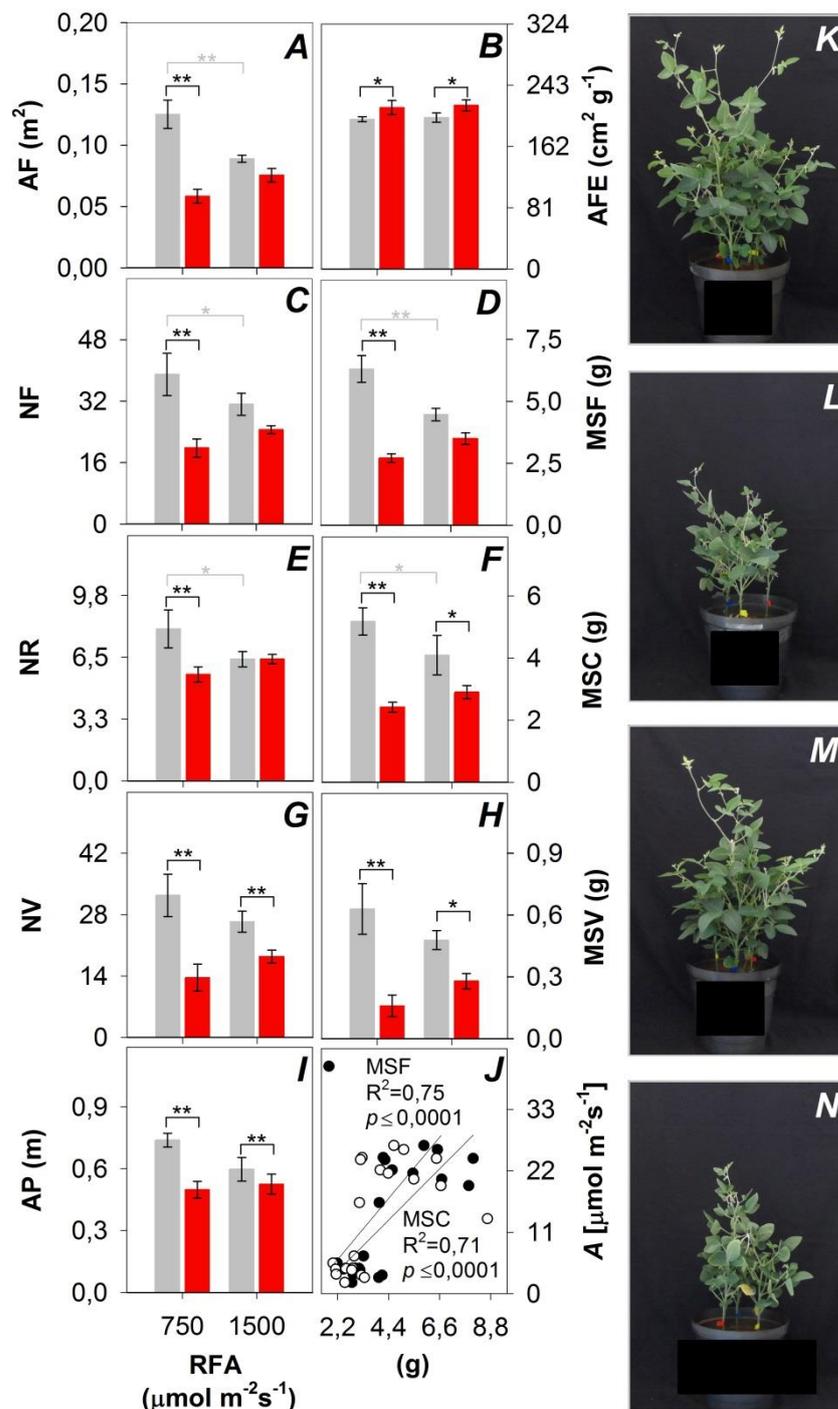


Figura 16. Área foliar (AF, A), área foliar específica (AFE, B), número de folhas (NF, C), massa seca de folhas (MSF, D), número de ramos (NR, E), massa seca de caule (MSC, F), número de vagens (NV, G), massa seca de vagens (MSV, H), altura de planta (AP, I) e correlação de Pearson entre MSF, MSC e A (J) de plantas de soja expostas às seguintes condições contrastantes de água e luz: (K) 90% CC + 750 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA); (L) 40% CC + 750 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de RFA; (M) 90% CC + 1500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de RFA; e 40% CC + 1500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de RFA. Dados são médias de ($n = 5$). Diferenças significativas entre tratamentos são indicadas por asteriscos (* $p \leq 0,05$ e ** $p \leq 0,01$).

A porcentagem de germinação (GGP) e a viabilidade dos grãos de pólen (VGP) das plantas de soja também foram determinadas no décimo terceiro dia de estresse (Figura 17, 18 e 19). A porcentagem de GGP diferiu somente em função do fator umidade do solo, em que, destacam-se menores valores para as plantas sob a CC de 40% (Figura 17A). Por outro lado, não foi verificada diferença entre os tratamentos para a VGP, registrando valor médio de 94% (Figura 17B).

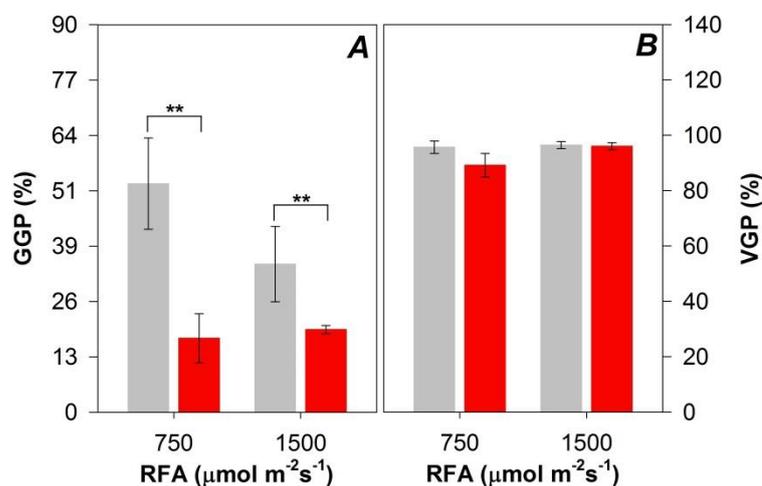


Figura 17. Porcentagem de germinação (A) e viabilidade (B) de grãos de pólen de plantas de soja aos 13 dias após imposição dos tratamentos de 90% e 40% da capacidade de campo (CC) combinadas com 750 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e 1500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Dados são médias de ($n = 5$). Diferenças significativas entre tratamentos são indicadas por asteriscos (** $p \leq 0,01$).

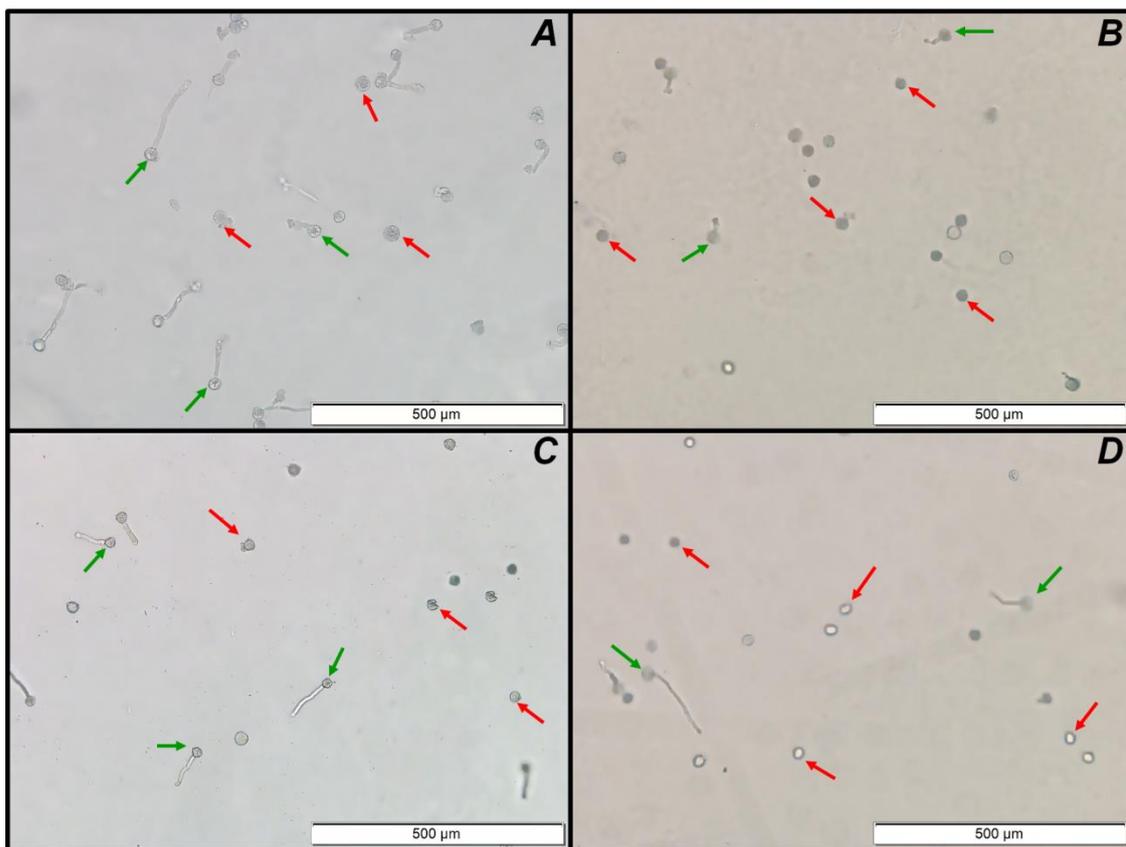


Figura 18. Germinação de grãos de pólen (GGP) de plantas de soja aos 13 dias após imposição dos tratamentos de 90% e 40% da capacidade de campo (CC) combinadas com $750 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e $1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Setas verdes indicam grãos de pólen germinados e vermelhas não germinados.

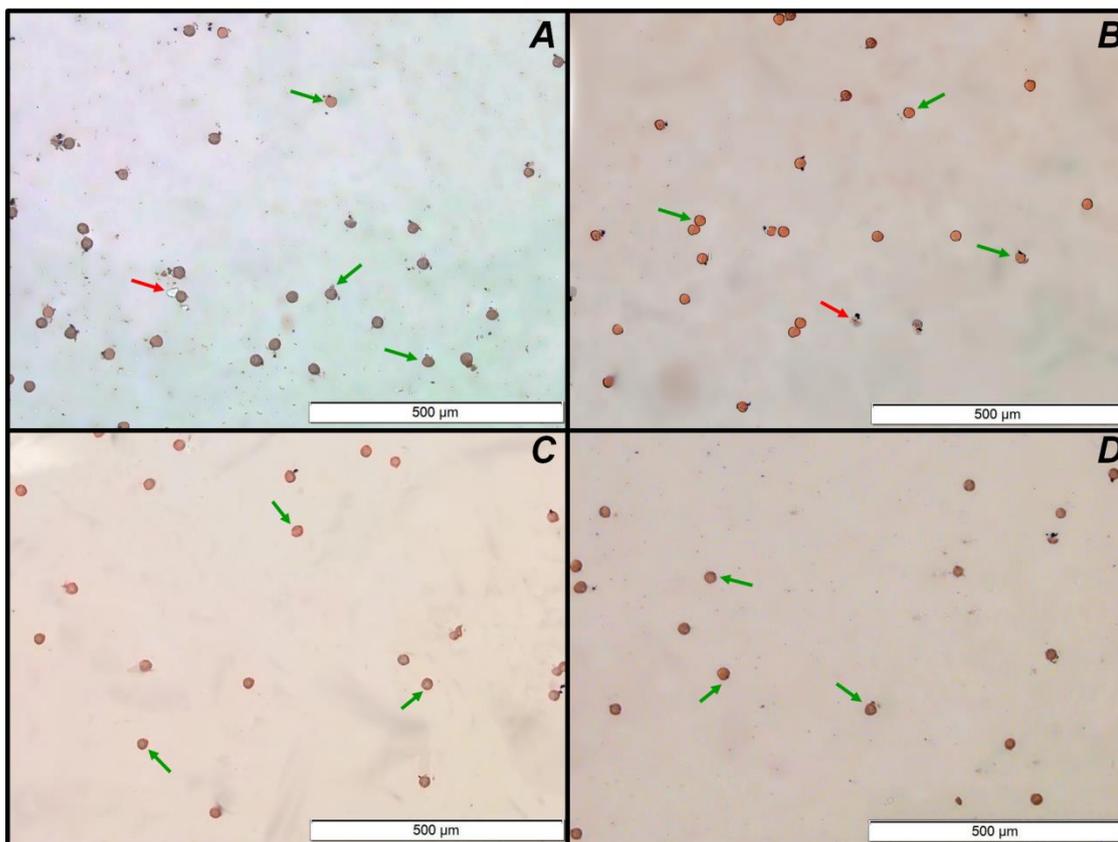


Figura 19. Viabilidade de grãos de pólen (VGP) de plantas de soja aos 13 dias após imposição dos tratamentos de 90% e 40% da capacidade de campo (CC) combinadas com $750 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e $1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Setas verdes indicam grãos de pólen viáveis e vermelhas não viáveis.

4.3. Avaliações ao final do ciclo da cultura

A interação umidade do solo \times irradiâncias não foi significativa para a produção de grãos (PG) (Figura 20A). Contudo, nota-se menor PG para as plantas cultivadas na umidade do solo de 40% da CC, uma vez que houve diferença somente para o fator umidade do solo (Figura 20A). Por fim, as variáveis de A e GGP correlacionaram-se positivamente com a PG [Pearson – ($p = 0,001$; $R^2 = 0,69$) e ($p < 0,01$; $R^2 = 0,54$), respectivamente, (Figura 20B)].

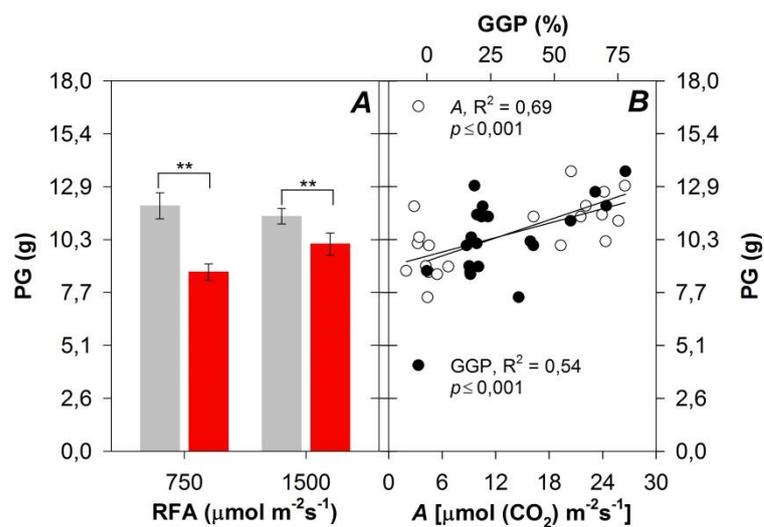


Figura 20. Produção de grãos (PG, A) e correlação de Pearson entre PG, A e GGP (B) de plantas de soja ao final do ciclo. No estágio de desenvolvimento R1 foram impostos os tratamentos de 90% e 40% da capacidade de campo (CC) combinadas com 750 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e 1500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA) durante 13 dias. Dados são médias de ($n = 5$). Diferenças significativas entre tratamentos são indicadas por asteriscos ($** p \leq 0,01$).

5. DISCUSSÃO

A redução dos valores de potencial hídrico (Ψ_w) em função da condição de menor umidade do solo (40% da capacidade de campo, CC) deveu-se à diminuição do conteúdo de água nos tecidos foliares (Figura 1A e Figura 6A). Castro, Müller, Almeida, & Costa (2019), também observaram diminuição do Ψ_w em condições de 40% de CC em três cultivares de soja, incluindo a Desafio[®], a mesma utilizada neste estudo. Assim como o Ψ_w , o potencial osmótico (Ψ_s) foliar também reduziu nas condições de 40% da CC, e pode ter duas explicações possíveis (Figura 1B e Figura 6B). O primeiro fator que pode levar a redução do Ψ_s é a diminuição dos teores de água na célula, acarretando assim, em aumento da concentração de solutos. O segundo deve-se ao fato que maiores valores de Ψ_s pode ser um indicativo do acúmulo de compostos osmoticamente ativos nas células. Sendo essa uma importante estratégia para manutenção da turgescência (Batista et al., 2018; Castro, Müller, Almeida, & Costa, 2019). Esse ajustamento osmótico é importante para que as plantas continuem absorvendo água, mesmo em condições de restrição hídrica (Monteiro, Cruz, Nardin, & dos Santos, 2014). Dentre os vários compostos acumulados, destacam-se as poliaminas, açúcares solúveis, cálcio, potássio, ácidos orgânicos, glicina e prolina (Pro) (Khan, & Komatsu, 2016; Castro, Müller, Almeida, & Costa, 2019).

O aumento na concentração de Pro e açúcares solúveis totais (AST) na umidade do solo de 40% da CC (Figura 13A e 13C), demonstrou ser uma estratégia para mitigar os efeitos deletérios do estresse por déficit hídrico (DH) (Batista et al., 2018; Castro, Müller, Almeida, & Costa, 2019). Isso pôde ser verificado neste estudo mediante a correlação entre aumento da concentração de Pro e AST com o Ψ_s das plantas (Figura 13B). Além de atuar como osmólito, destaca-se o papel antioxidante da Pro como um mecanismo não enzimático contra as espécies reativas de oxigênio

(EROs) em plantas sob DH (Rivas et al., 2017), removendo o radical OH e transformando-o em uma molécula de água (Azmat & Moin, 2019).

A redução da assimilação de CO₂ das plantas de soja foi verificada aos 7 DAIT (Figura 2A), bem como da taxa fotossintética bruta máxima (A_{maxB}) e fotossíntese líquida no ponto de irradiância máxima ($A_{I_{max}}$) aos 13 DAIT (Figura 8A-B), em grande parte em virtude do fechamento estomático, demonstrado pela queda em condutância estomática (g_s) (Figura 2B). A limitação da abertura estomática em condições de DH evita a perda de água da folha para atmosfera, o que resultou na diminuição da taxa transpiratória (E) e o aumento da eficiência do uso da água (EUA) (Figura 2C e 2E). Além disso, a diminuição da razão entre a concentração interna e externa de CO₂ (C_i/C_a) (Figura 2D), é um indicativo de que não houve dano evidente ao ciclo de Calvin Benson e, conseqüentemente, a enzima Rubisco (Castro, Müller, Almeida, & Costa, 2019). A redução da concentração de CO₂ na câmara subestomática é mais um indicativo do fechamento estomático (Buezo et al., 2019).

Corroborando com os resultados de trocas gasosas, a diminuição do fluxo total de elétrons (J_T) e fluxo de elétrons destinados a carboxilação da RuBP (J_C) e as menores razões entre J_C/J_O e J_C/J_T evidenciam a diminuição da atividade de carboxilação pela Rubisco na condição de DH (Figura 5A-B e 5D-E). Apesar do fluxo de elétrons destinados a oxigenação da RuBP (J_O) e taxa de fotorrespiração (P_R) ter diferido entre os tratamentos (Figura 5C e 5F), a baixa relação C_i/C_a , associado com menores valores de J_C/J_O e J_C/J_T nas condições de DH, são indicativo de maior proporção de elétrons para a assimilação do O₂ em detrimento do CO₂. Sabe-se que a P_R é um importante dreno de excesso de elétrons em condições de estresse (Bai et al., 2008; Silva, Silveira, Ribeiro, & Vieira, 2015), evitando dano ao aparato fotossintético, mediante o consumo do ATP gerados na etapa fotoquímica (Rivas et al., 2017; Sousa et al., 2019). O aumento da respiração noturna (R_N) também tem sido reportado como importante dreno alternativo de elétrons (Rivas et al., 2017). Contudo, neste estudo, não foi observado aumento da R_N e P_R (Figuras 2F e 5F), demonstrando não serem importantes drenos de elétrons nessa condição de estresse.

A redução da A_{maxB} , $A_{I_{max}}$, irradiância de compensação (I_{comp}) e saturação máxima (I_{max}) luminosa em função da menor umidade do solo (40% da CC) indicam que a capacidade fotossintética das plantas foi limitada (Figura 8A-B e 8E-F). Além disso, diminuição mais acentuada para I_{max} e da eficiência quântica aparente (ϕ) foi verificada sob a condição luminosa de 1500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de RFA em ambas umidades

do solo (Figura 8B e 8D), apontando que a diminuição da eficiência fotossintética ocorreu em função da restrição hídrica e, também, pela condição de maior irradiância. Os valores considerados ideais de ϕ variam de 0,04 a 0,06 (Lobo et al., 2013., Dalmagro et al., 2014; Yao et al., 2017), sendo verificados valores abaixo de 0,04 nas plantas de soja sob DH e $1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de RFA.

A estreita diferença entre as umidades do solo para o rendimento quântico máximo do FSII (F_V/F_M) e a manutenção dos valores desse parâmetro próximo a 0,80 (Figuras 4A e 9), demonstram que não houve fotoinibição das plantas (Maxwell & Johnson, 2000). Isso também foi observado por Castro, Müller, Almeida, & Costa (2019) e Sousa et al. (2019), em plantas de soja sob déficit hídrico. Corroborando com esses resultados, a redução do teor pigmentos cloroplastídicos (clorofila *a* e *b*) aos 7 DAIT (Figura 3A-B), e de carotenoides aos 13 DAIT (Figura 10C), não foi de nível elevado. Com isso, as plantas apresentaram menor eficiência fotoquímica nas condições de menor umidade do solo, como observado pelos valores de rendimento quântico efetivo do FSII (Φ_{II}) e *ETR* (Figura 3B e 3E). A dissipação do excedente de energia luminosa ocorreu por vias não fotoquímicas, como observado rendimento quântico de dissipação não regulada de energia não fotoquímica do FSII (Φ_{NO}) e rendimento quântico da dissipação regulada de energia não fotoquímica do FSII (Φ_{NPQ}), principalmente aos 7 DAIT (Figura 3C-D). A dissipação de energia não fotoquímica ocorre mediante o ciclo das xantofilas, que é ativado pela protonação do lúmen do tilacoide (Ruban, 2016), o que leva a de-epoxidação da violaxantina, formando zeaxantina através da anteraxantina (Kromdijk et al., 2016; Mathur, Jain, & Jajoo, 2018). Assim, a dissipação regulada de energia associada ao ciclo das xantofilas, verificado pelo Φ_{NPQ} , atua evitando a formação de radicais livres (Kramer, Johnson, Kiirats, & Edwards, 2004). E a dissipação de energia constitutiva e da própria fluorescência, mediante o Φ_{NO} , indicando que a conversão fotoquímica de energia e os mecanismos reguladores de proteção foram ineficientes (Kramer, Johnson, Kiirats, & Edwards, 2004). Assim, o Φ_{NPQ} atuou como mecanismo de proteção do aparato fotossintético ao excesso de energia de excitação, com o objetivo de evitar a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) nas condições de DH e maior irradiância (Cardona, Shao, & Nixon, 2018). Interessantemente, na condição de DH sob $750 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de RFA, os valores de Φ_{NO} foram maiores do que na condição de $1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de RFA sob a mesma umidade do solo (Figura 3D), evidenciando maior nível de dano ao aparato fotossintético nessa condição.

Na etapa fotoquímica, o FSI é um dos principais sítios de formação de EROs, seja pela menor regeneração do NADP^+ , devido a limitação estomática e redução da A em função do DH, ou pelo excesso de irradiância (Lu et al., 2017; Buezo et al., 2019). Uma vez que a ferredoxina do FSI é um redutor muito forte, pode com facilidade fotoreduzir o oxigênio molecular a ânion superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$), competindo com a formação de NADPH (Asada, 1999). Neste estudo, observou-se maior atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) em plantas de soja em detrimento da maior irradiância (Figura 12A). Sendo que, a elevação de sua atividade é indicativo do incremento da formação de $\text{O}_2^{\bullet-}$. A SOD é considerada a primeira linha de defesa a danos causados por EROs na etapa fotoquímica, dismutando o $\text{O}_2^{\bullet-}$ em H_2O_2 (Smirnoff, 2000; Locato, Cimini, & De Gara, 2018).

Possivelmente, o aumento da quantidade de H_2O_2 , neste estudo, não se deu em função do incremento da P_R . Uma vez que, os valores de P_R não se elevaram em função da condição de DH (Figura 5F). No entanto, a maior concentração de malonaldeído (MDA) nas condições de DH (Figura 11), é indicativo de possível dano as membranas pela peroxidação de lipídeos (Spicher, Glauser, & Kessler, 2016). O aumento da P_R é uma estratégia das plantas capaz de minimizar a produção de EROs no cloroplasto, por também ser um dreno de ATP produzido na etapa fotoquímica e, assim, mantendo-a em funcionamento (Allan, Clark, Hoover, & Shelp, 2009). Contudo, a formação de H_2O_2 a níveis tóxicos, geralmente, ocorre com a exposição das plantas a condições de estresse por maiores períodos (Bai et al., 2008; Silva, Silveira, Ribeiro, & Vieira, 2015).

O aumento de H_2O_2 nos peroxissomos é controlado principalmente pela atividade da enzima catalase (CAT), que é a proteína mais abundante nessa organela (Foyer, & Noctor, 2003). A atividade da CAT diferiu somente entre as diferentes irradiâncias (Figura 12B), confirmando que o H_2O_2 não se elevou a níveis muito tóxicos em função da P_R . Além da CAT, a peroxidase do ascorbato (APX) e a peroxidase (POX) também atuam na remoção do H_2O_2 (Abedi, & Pakniyat, 2010). Assim, mediante o aumento da atividade da APX nas plantas de soja em função do DH e da maior irradiância (Figura 12C), hipotetiza-se que a maior produção de H_2O_2 ocorreu nos cloroplastos. Adicionalmente, também foi observado por Silva, Silveira, Ribeiro, & Vieira (2015), maior atividade da APX mediante aumento na expressão do gene que codifica essa proteína, compensando a deficiência da atividade da CAT, que atua predominantemente no peroxissomo. Estes resultados corroboraram com a maior atividade da SOD nas plantas sob maior irradiância.

A atividade da POX também aumentou em função do estresse luminoso (Figura 12D), bem como observado para SOD, CAT e APX. Essa enzima atua na decomposição do H_2O_2 , utilizando-o como acceptor de elétrons provenientes da oxidação de compostos fenólicos (Jóźwiak, & Politycka, 2019). Vital et al. (2019) verificaram, em experimento com a mesma cultivar de soja deste estudo, aumento da atividade da POX, contudo, em função do estresse por alta temperatura.

Tomadas em conjunto, destaca-se o papel fotoprotetor do sistema antioxidante das plantas de soja, principalmente em função da condição de maior irradiância ($1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de RFA), como evidenciado pela maior atividade da CAT, APX, SOD e POX, sem redução da A . Contudo, aos 13 DAIT, na condição de 40% da CC e $1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de RFA, a $A_{I \text{ max}}$ foi reduzida pela maior irradiância. Evidenciando menor capacidade fotossintética das plantas de soja em condições saturantes de irradiância.

Neste estudo, a redução da germinação dos grãos de pólen (GGP) das plantas de soja em função da umidade do solo de 40% da CC (Figuras 17A e 18), ocorreu mesmo sem a redução da viabilidade dos grãos de pólen (VGP) (Figuras 17B e 19). Logo, levantou-se a seguinte questão: por que grãos de pólen viáveis germinaram em menor proporção em condições de DH? Uma hipótese possível é a redução dos teores de água nos tecidos da planta, em função do déficit hídrico. Além disso, destaca-se que nem sempre a redução do ψ_w foliar se dá de maneira similar com a dos tecidos florais, incluindo os grãos de pólen (Westgate, Passioura, & Munns, 1996). Bem como, não necessariamente, a redução do ψ_w está vinculada com a diminuição do teor de água nos tecidos. Ainda assim, sabe-se que a ocorrência do DH durante a fase reprodutiva pode afetar a germinação e o crescimento do tubo polínico de plantas (Alqudah, Samarah, & Mullen, 2011). Contudo, os efeitos do déficit hídrico nos grãos de pólen de soja ainda são pouco estudados. Adicionalmente, sabe-se que nessas condições adversas, o ajuste osmótico das células de grãos de pólen se faz necessário, para que assim, possa ocorrer a germinação, mediante o crescimento do tubo polínico (Obermeyer, 2017). Desse modo, acredita-se que, sob condição de restrição hídrica, esse ajuste osmótico não tenha ocorrido de modo adequado, mediante a dessecação dos grãos de pólen ainda nos tecidos da antera. A sinalização da ocorrência de fatores de estresses como o déficit hídrico e a alta irradiância nos grãos de pólen é realizada pela planta mãe enquanto ainda estão fixados à antera, e pode ser induzido o ajuste do *status* hídrico dos grãos de pólen (Dolferus, & Pacini, 2019). O nível desse ajuste depende das características dos grãos de pólen de cada espécie, podendo ser recalcitrantes (não tolera a dessecação) ou

ortodoxos (maior tolerância à dessecação) (Dolferus, & Pacini, 2019). No entanto, ainda não existem relatos se os grãos de pólen de plantas de soja são recalcitrantes ou ortodoxos.

Haja vista a redução da GGP em condições de DH sugere-se que os grãos de pólen de soja sejam recalcitrantes. Por ser tratar de uma espécie autógama, no momento em que as flores se abrem a fertilização já ocorreu. Isso diminui o tempo de exposição dos grãos de pólen a condições ambientais desfavoráveis (Prasad, Staggenborg, & Ristic, 2008; Djanaguiraman, Prasad, Boyle, & Schapaugh, 2013; Obermeyer, 2017). Desse modo, essa característica reprodutiva pode ser mais um indicativo de que os grãos de pólen das plantas de soja são recalcitrantes. Ressaltasse que, neste estudo, as únicas condições desfavoráveis foram a de DH e o contraste com irradiância mais elevada, uma vez que a umidade relativa do ar durante todo experimento foi mantida a 60%.

A diminuição dos parâmetros biométricos de área foliar (AF), número de folhas (NF) e massa seca de folhas (MSF), número de ramos (NR) e massa seca de caule (MSC) em função do estresse por DH e a condição luminosa de $1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de RFA (Figura 16A e 16C-F), deveram-se principalmente à limitação da assimilação de CO_2 em detrimento da restrição hídrica. Já a redução em detrimento da maior irradiância, mesmo na umidade do solo de 90% da CC, deve-se a maior demanda energética pelas plantas mediante maior atividade do metabolismo antioxidante. Corroborando com estes resultados, Castro, Müller, Almeida, & Costa (2019) em experimento com diferentes cultivares de soja, incluindo a Desafio®, também verificaram diminuição da área foliar em função do estresse por DH.

O efeito de diferentes intensidades luminosas sob os parâmetros morfológicos foliares das plantas tem sido bastante estudado (Wu, Gong, & Yang, 2017). A maior espessura foliar (EF) na condição de maior irradiância e umidade do solo deram-se em função da maior espessura de parênquima paliçádico (PP) (Figura 15A e 15D), o que está associado com a manutenção da eficiência fotossintética em condições de maior luminosidade (Hussain et al., 2019). Já a maior EF na condição de menor irradiância e 40% da CC, ocorreu por conta da maior espessura de parênquima esponjoso (PE) (Figura 15B), e tem como função colaborar com o intercâmbio gasoso, especialmente do CO_2 no mesofilo, mediante maiores espaços intracelulares, haja vista a redução da g_s das plantas expostas aos tratamentos com DH. Isso também foi observado por Makbul, Güler, Durmuş, & Güven (2011) em plantas de soja submetidas ao DH, denotando-se maior espessura de PE e EF. O que está associado a maior condutância mesofílica em

condições de DH, refletindo também maior área foliar específica (Buezo et al., 2019). Entretanto, quando o estresse foi combinado, as alterações anatômicas foram diferenciais, com menores valores de espessura de PP, PE e de mesofilo, acarretando em limitação do intercâmbio gasoso e, conseqüentemente, redução de produção de fotoassimilados, refletindo no crescimento das plantas.

A redução da altura de planta (AP) e do número de ramos (NR) das plantas de soja em função dos estresses por DH e a condição de maior irradiância (Figura 16E e 16I), bem como a menor MSF e MSC verificada, deu-se, principalmente, em detrimento da diminuição da A. Isso pode ser observado pela alta correlação entre as variáveis (Figura 16J), em que o decréscimo na assimilação de CO₂ resultou em menor alocação de fotoassimilados para formação de folhas e ramos. O menor número de vagens (NV) e massa seca de vagens (MSV) aos 13 DAIT foi reflexo dos efeitos dos tratamentos (Figura 16G-H), principalmente, do déficit hídrico nas características fotossintéticas e de reprodução.

Já a diminuição da produção de grãos (PG) das plantas de soja em função do DH (Figura 20A), ocorreu principalmente pela diminuição da A, que apresentou alta correlação com a PG (Figura 20B). Essa diminuição da PG também se correlacionou com o menor número de GGP das plantas de soja nessas condições de estresse (Figura 20B), indicando que a redução da GGP afetou diretamente a PG das plantas de soja. Os valores de PG por planta em condições de 90% da CC neste estudo foram compatíveis com os encontrados por Jumrani, & Bhatia (2018), contudo esses autores encontraram maior redução da PG em condições de DH.

6. CONCLUSÕES

O déficit hídrico (DH) em ambas as condições de irradiância (750 e 1500 $\mu\text{mol de m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de RFA) reduz o desempenho fotossintético das plantas de soja e, também, promove o incremento da dissipação de energia luminosa mediante mecanismos não fotoquímicos. O acúmulo de prolina e açúcares solúveis totais nas plantas de soja são maiores em decorrência do estresse por DH, bem como o incremento da espessura do parênquima esponjoso. Já sob nas condições de alta irradiância, há o aumento da atividade das enzimas antioxidantes e da espessura de parênquima paliçádico. O DH também reduz a germinação de grãos de pólen das plantas de soja que, associado com a redução da assimilação de CO_2 , promove a redução da produção de grãos. Interessantemente, essas estratégias de ajustamento osmótico e mecanismos antioxidantes atuam de forma conjugada na combinação do déficit hídrico com a maior irradiância. Assim, as condições luminosas contrastantes promovem diferentes respostas fisiológicas, anatômicas e biométricas de plantas de soja, bem como respostas distintas ao estresse por déficit hídrico.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abedi, T., & Pakniyat, H. (2010). Antioxidant enzymes changes in response to drought stress in ten cultivars of oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 46, 27-34.
- Allan, W. L., Clark, S. M., Hoover, G. J., & Shelp, B. J. (2009). Role of plant glyoxylated reductases during stress: a hypothesis. *Biochemical Journal*, 423, 15-22.
- Alqudah, A. M., Samarah, N. H., & Mullen, R. E. (2011). Drought stress effect on crop pollination, seed set, yield and quality. In *Alternative farming systems, biotechnology, drought stress and ecological fertilisation* (pp. 193-213). Springer, Dordrecht.
- Anderson, M. D., Prasad, T. K., & Stewart, C. R. (1995). Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedlings. *Plant physiology*, 109, 1247-1257.
- Asada, K. (1999). The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annual review of plant biology*, 50, 601-639.
- Azmat, R., & Moin, S. (2019). The remediation of drought stress under VAM inoculation through proline chemical transformation action. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 193(February), 155-161. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2019.03.002>
- Bai, J., Xu, D. H., Kang, H. M., Chen, K., & Wang, G. (2008). Photoprotective function of photorespiration in *Reaumuria soongorica* during different levels of drought stress in natural high irradiance. *Photosynthetica*, 46, 232.
- Bates, L. S., Waldren, R. P., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil*, 39, 205-207.
- Batista, P. F., Costa, A. C., Müller, C., Silva-Filho, R. O., Silva F. B., Merchant A,

- Mendes, G. C., Nascimento, K.J.T. (2018). Nitric oxide mitigates the effect of water deficit in *Crambe abyssinica*. *Plant Physiol Biochem*, 129, 310-322.
- Beauchamp, C., & Fridovich, I. (1971). Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical biochemistry*, 44, 276-287.
- Bilger, W., Schreiber, U., & Bock, M. (1995). Determination of the quantum efficiency of photosystem II and of non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in the field. *Oecologia*, 102, 425-432.
- Boyer, J. S., & Westgate, M. E. (2004). Grain yields with limited water. *Journal of experimental botany*, 55, 2385-2394.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72, 248-254.
- Buezo, J., Sanz-Saez, Á., Moran, J. F., Soba, D., Aranjuelo, I., & Esteban, R. (2019). Drought tolerance response of high-yielding soybean varieties to mild drought: physiological and photochemical adjustments. *Physiologia plantarum*, 166, 88-104.
- Cardona, T., Shao, S., & Nixon, P. J. (2018). Enhancing photosynthesis in plants: the light reactions. *Essays in biochemistry*, 62, 85-94.
- Carmody, M., Waszczak, C., Idänheimo, N., Saarinen, T., & Kangasjärvi, J. (2016). ROS signalling in a destabilised world: a molecular understanding of climate change. *Journal of plant physiology*, 203, 69-83.
- Castro, J. N., Müller, C., Almeida, G. M., & Costa, A. C. (2019). Physiological tolerance to drought under high temperature in soybean cultivars. *Australian Journal of Crop Science*, 13, 976-987.
- Cechin, I., Gonzalez, G. C., Corniani, N., & Fumis, T. D. F. (2018). A sensibilidade das plantas de girassol (*Helianthus annuus* L.) à radiação UV-B é alterada pelo suprimento de nitrogênio. *Ciencia Rural*. doi.org/10.1590/0103-8478cr20170369
- Chaumont, F., & Tyerman, S. D. (2014). Aquaporins: highly regulated channels controlling plant water relations. *Plant physiology*, 164, 1600-1618.
- Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB). *Acompanhamento safra brasileira grãos*, v. 6 Safra 2015/16 - Décimo Primeiro levantamento, Brasília, p. 1-140, 2018.
- Costa, A. C., Rosa, M., Megguer, C. A., Silva, F. G., Pereira, F. D., & Otoni, W. C. (2014). A reliable methodology for assessing the in vitro photosynthetic

- competence of two Brazilian savanna species: *Hyptis marrubioides* and *Hancornia speciosa*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 117, 443-454.
- Dai, A., Zhao, T., & Chen, J. (2018). Climate Change and Drought: a Precipitation and Evaporation Perspective. *Current Climate Change Reports*, 4, 301-312.
- Dalmagro, H. J., Lobo, F. D. A., Vourlitis, G. L., Dalmolin, Â. C., Antunes, M. Z., Ortíz, C. E. R., & Nogueira, J. D. S. (2014). The physiological light response of two tree species across a hydrologic gradient in Brazilian savanna (Cerrado). *Photosynthetica*, 52, 22-35.
- Del Longo, O. T., González, C. A., Pastori, G. M., & Trippi, V. S. (1993). Antioxidant defences under hyperoxygenic and hyperosmotic conditions in leaves of two lines of maize with differential sensitivity to drought. *Plant and Cell Physiology*, 34, 1023-1028.
- Djanaguiraman, M., Prasad, P. V., Boyle, D. L., & Schapaugh, W. T. (2013). Soybean pollen anatomy, viability and pod set under high temperature stress. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 199, 171-177. doi:10.1111/jac.12005
- Dolferus, R., & Pacini, E. (2019). Pollen developmental arrest: maintaining pollen fertility in a world with a changing climate?. *Frontiers in plant science*, 10, 679.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. T., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, 28, 350-356.
- Ehleringer, J. (1981). Leaf absorptances of Mohave and Sonoran desert plants. *Oecologia*, 49, 366-370.
- Epron, D., Godard, D., Cornic, G., & Genty, B. (1995). Limitation of net CO₂ assimilation rate by internal resistances to CO₂ transfer in the leaves of two tree species (*Fagus sylvatica* L. and *Castanea sativa* Mill.). *Plant, Cell & Environment*, 18, 43-51.
- Foyer, C. H., & Noctor, G. (2003). Redox sensing and signaling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. *Physiologia Plantarum*, 119, 355-364.
- Genty, B., Briantais, J. M., & Baker, N. R. (1989). The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 990, 87-92.
- Giannopolitis, C. N., & Ries, S. K. (1977). Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. *Plant physiology*, 59, 309-314.

- Hartman, G. L., West, E. D., & Herman, T. K. (2011). Crops that feed the World 2. Soybean—worldwide production, use, and constraints caused by pathogens and pests. *Food Security*, 3, 5-17.
- Havir, E. A., & McHale, N. A. (1987). Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. *Plant Physiology*, 84, 450-455.
- Heath, R. L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of biochemistry and biophysics*, 125, 189-198.
- Hendrickson, L., Furbank, R. T., & Chow, W. S. (2004). A simple alternative approach to assessing the fate of absorbed light energy using chlorophyll fluorescence. *Photosynthesis research*, 82, 73.
- Huang, W., Yang, Y. J., Hu, H., & Zhang, S. B. (2016). Moderate photoinhibition of photosystem II protects photosystem I from photodamage at chilling stress in tobacco leaves. *Frontiers in plant science*, 7, 182.
- Hussain, S., Iqbal, N., Brestic, M., Raza, M. A., Pang, T., Langham, D. R., ...& Liu, W. (2019). Changes in morphology, chlorophyll fluorescence performance and Rubisco activity of soybean in response to foliar application of ionic titanium under normal light and shade environment. *Science of the Total Environment*, 658, 626-637.
- Józwiak, W., & Politycka, B. (2019). Effect of Selenium on Alleviating Oxidative Stress Caused by a Water Deficit in Cucumber Roots. *Plants*, 8, 217.
- Jumrani, K., & Bhatia, V. S. (2019). Identification of drought tolerant genotypes using physiological traits in soybean. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 25, 697-711.
- Jumrani, K., Bhatia, V. S., & Pandey, G. P. (2018). Screening soybean genotypes for high temperature tolerance by in vitro pollen germination, pollen tube length, reproductive efficiency and seed yield. *Indian journal of plant physiology*, 23, 77-90.
- Jumrani, K., & Bhatia, V. S. (2018). Combined effect of high temperature and water-deficit stress imposed at vegetative and reproductive stages on seed quality in soybean. *Indian journal of plant physiology*, 23, 227-244.
- Kar, M., & Mishra, D. (1976). Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant physiology*, 57, 315-319.
- Khan, M. N., & Komatsu, S. (2016). Proteomic analysis of soybean root including

- hypocotyl during recovery from drought stress. *Journal of proteomics*, 144, 39-50.
- Koti, S., Reddy, K. R., Reddy, V. R., Kakani, V. G., & Zhao, D. (2004). Interactive effects of carbon dioxide, temperature, and ultraviolet-B radiation on soybean (*Glycine max* L.) flower and pollen morphology, pollen production, germination, and tube lengths. *Journal of Experimental Botany*, 56, 725-736.
- Kramer, D. M., Johnson, G., Kiirats, O., & Edwards, G. E. (2004). New fluorescence parameters for the determination of Q A redox state and excitation energy fluxes. *Photosynthesis research*, 79, 209.
- Kromdijk, J., Głowacka, K., Leonelli, L., Gabilly, S. T., Iwai, M., Niyogi, K. K., & Long, S. P. (2016). Improving photosynthesis and crop productivity by accelerating recovery from photoprotection. *Science*, 354, 857-861.
- Laisk, A., & Loreto, F. (1996). Determining photosynthetic parameters from leaf CO₂ exchange and chlorophyll fluorescence (ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase specificity factor, dark respiration in the light, excitation distribution between photosystems, alternative electron transport rate, and mesophyll diffusion resistance. *Plant Physiology*, 110, 903-912.
- Larcher, W. (2003). *Physiological plant ecology: ecophysiology and stress physiology of functional groups*. Springer Science & Business Media.
- Li, J., Cang, Z., Jiao, F., Bai, X., Zhang, D., & Zhai, R. (2017). Influence of drought stress on photosynthetic characteristics and protective enzymes of potato at seedling stage. *Journal of The Saudi Society of Agricultural Sciences*, 16, 82-88. doi.org/10.1016/j.jssas.2015.03.001
- Lima, A. M. N., Peluzio, J. M., Siqueira, F. L. T., & Oliveira Junior, W. P. (2017). Efeito do déficit hídrico e época de semeadura sobre os teores e rendimentos de óleo e proteína em cultivares de soja no Tocantins. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 116.
- Lima-Melo, Y., Akebcara, V. T., Lobo, A. K., Suosa, R. H., Tikkanen, M., Aro, E. M., ...& Gollan, P. J. (2019). Photoinhibition of photosystem I provides oxidative protection during imbalanced photosynthetic electron transport in *Arabidopsis thaliana*. *Frontiers in plant science*, 10, 916.
- Lobo, F. D. A., De Barros, M. P., Dalmagro, H. J., Dalmolin, Â. C., Pereira, W. E., De Souza, E. C., ...& Ortíz, C. R. (2013). Fitting net photosynthetic light-response curves with Microsoft Excel—a critical look at the models. *Photosynthetica*, 51, 445-456.

- Locato, V., Cimini, S., & De Gara, L. (2018). ROS and redox balance as multifaceted players of cross-tolerance: epigenetic and retrograde control of gene expression. *Journal of experimental botany*, 69, 3373-3391.
- Long, S. P., & Hällgren, J.- E. (1993). Measurement of CO₂ assimilation by plants in the field and laboratory. *Photosynthesis and productivity in a changing environment: a Field and laboratory manual*. London: Chapman and Hall, 129-167.
- Lu, T., Meng, Z., Zhang, G., Qi, M., Sun, Z., Liu, Y., & Li, T. (2017). Sub-high temperature and high light intensity induced irreversible inhibition on photosynthesis system of tomato plant (*Solanum lycopersicum* L.). *Frontiers in plant science*, 8, 365. doi.org/10.3389/fpls.2017.00365
- Makbul, S., Güler, N. S., Durmuş, N., & Güven, S. (2011). Changes in anatomical and physiological parameters of soybean under drought stress. *Turkish Journal of Botany*, 35, 369-377.
- Marcuzzo, F. F. N., Cardoso, M. R. D., & Faria, T. G. (2012). Chuvas no cerrado da região centro-oeste do Brasil: análise histórica e tendência futura. *Ateliê Geográfico*, 6, 112-130.
- Martins, S. C. V., Galmés, J., Cavatte, P. C., Pereira, L. F., Ventrella, M. C., & DaMatta, F. M. (2014). Understanding the low photosynthetic rates of sun and shade coffee leaves: Bridging the gap on the relative roles of hydraulic, diffusive and biochemical constraints to photosynthesis. *PLoS ONE*, 9(4), 1–10.
- Mathur, S., Jain, L., & Jajoo, A. (2018). Photosynthetic efficiency in sun and shade plants. *Photosynthetica*, 56, 354-365.
- Maxwell K & Johnson GN (2000) Chlorophyll Fluorescence: A Practical Guide. *Journal Experimental Botany*, 51:659-668.
- Melis, A., Spangfort, M., & Andersson, B. (1987). Light-absorption and electron-transport balance between photosystem II and photosystem I in spinach chloroplasts. *Photochemistry and Photobiology*, 45, 129-136.
- Mesihovic, A., Iannaccone, R., Firon, N., & Fragkostefanakis, S. (2016). Heat stress regimes for the investigation of pollen thermotolerance in crop plants. *Plant Reprod.* 29, 93–105.
- Michoux, F., Ahmad, N., Wei, Z. Y., Belgio, E., Ruban, A. V., & Nixon, P. J. (2016). Testing the role of the N-terminal tail of D1 in the maintenance of photosystem II in tobacco chloroplasts. *Frontiers in plant science*, 7, 844.

- Monteiro, J. G., Cruz, F. J. R., Nardin, M. B., & dos Santos, D. M. M. (2014). Crescimento e conteúdo de prolina em plântulas de guandu submetidas a estresse osmótico e à putrescina exógena. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 49, 18-25.
- Mora, C., Dousset, B., Caldwell, I. R., Powell, F. E., Geronimo, R. C., Bielecki, C. R., ... & Lucas, M. P. (2017). Global risk of deadly heat. *Nature Climate Change*, 7, 501.
- Nakano, Y., & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and cell physiology*, 22, 867-880.
- Navarro Junior, H. M., & Costa, J. A. (2002). Contribuição relativa dos componentes do rendimento para produção de grãos em soja. *Pequisa Agropecuária Brasileira*, 37, 269-274.
- Obermeyer, G. (2017). Water transport in pollen. In *Pollen Tip Growth* (pp. 13-34). Springer, Cham.
- Oxborough, K., & Baker, N. R. (1997). Resolving chlorophyll a fluorescence images of photosynthetic efficiency into photochemical and non-photochemical components—calculation of qP and Fv-/Fm-; without measuring Fo. *Photosynthesis research*, 54, 135-142.
- Perez, I. B., & Brown, P. J. (2014). The role of ROS signaling in cross-tolerance: from model to crop. *Frontiers in plant science*, 5, 754.
- Perkins, S. E., Alexander, L. V., & Nairn, J. R. (2012). Increasing frequency, intensity and duration of observed global heatwaves and warm spells. *Geophysical Research Letters*, 39, 1-5.
- Powell, N., Ji, X., Ravash, R., Edlington, J., & Dolferus, R. (2012). Yield stability for cereals in a changing climate. *Functional Plant Biology*, 39, 539-552.
- Prasad, P. V. V., Staggenborg, S. A., & Ristic, Z. (2008). Impacts of drought and/or heat stress on physiological, developmental, growth, and yield processes of crop plants. *Response of crops to limited water: Understanding and modeling water stress effects on plant growth processes, (response of crops)*, 301-355.
- Rajabi, A., Ehsanzadeh, P., & Razmjoo, J. (2017). Partial Relief of Drought-Stressed Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) in Response to Foliar-Applied Zinc. *Pedosphere*. doi.org/10.1016/S1002-0160(17)60438-7
- Ribeiro, I. O., Andreoli, R. V., Kayano, M. T., Sousa, T. R., Medeiros, A. S., Godoi, R. H. M., ... & Souza, R. A. F. (2018). Biomass burning and carbon monoxide patterns in Brazil during the extreme drought years of 2005, 2010, and 2015.

- Environmental pollution*, 243, 1008-1014. doi.org/10.1016/j.envpol.2018.09.022
- Rivas, R., Frosi, G., Ramos, D. G., Pereira, S., Benko-Iseppon, A. M., & Santos, M. G. (2017). Photosynthetic limitation and mechanisms of photoprotection under drought and recovery of *Calotropis procera*, an evergreen C3 from arid regions. *Plant physiology and biochemistry*, 118, 589-599. doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.07.026
- Ruban, A. V. (2016). Non photochemical chlorophyll fluorescence quenching: mechanism and effectiveness in protecting plants from photodamage. *Plant Physiology*, 170, 1903-439.
- Salem, M. A., Kakani, V. G., Koti, S., & Reddy, K. R. (2007). Pollen-based screening of soybean genotypes for high temperatures. *Crop Science*, 47, 219-231. doi:10.2135/cropsci2006.07.0443
- Silva Rodrigues, J. I., de Miranda, F. D., Ferreira, A., Borges, L. L., da Silva Ferreira, M. F., Good-God, P. I. V., ...& Moreira, M. A. (2011). Mapeamento de QTL para conteúdos de proteína e óleo em soja. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 45, 472-480.
- Silva, E. N., Silveira, J. A., Ribeiro, R. V., & Vieira, S. A. (2015). Photoprotective function of energy dissipation by thermal processes and photorespiratory mechanisms in *Jatropha curcas* plants during different intensities of drought and after recovery. *Environmental and Experimental Botany*, 110, 36-45.
- Smirnoff, N. (2000). Ascorbate biosynthesis and function in photoprotection. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. SERIES B: Biological Sciences*, 355, 1455-1464.
- Sousa, L. F., de Menezes-Silva, P. E., Lourenço, L. L., Galmés, J., Cruvinel Guimarães, A., Ferreira da Silva, A., ... & dos Santos Farnese, F. (2019). Improving water-use efficiency by changing hydraulic and stomatal characteristics in soybean exposed to drought: the involvement of nitric oxide. *Physiologia plantarum*. doi.org/10.1111/ppl.12983
- Spicher, L., Glauser, G., and Kessler, F. (2016). Lipid antioxidant and galactolipid remodeling under temperature stress in tomato plants. *Front. Plant Sci.* 7:167.
- Tossi, V., Cassia, R., Bruzzone, S., Zocchi, E., & Lamattina, L. (2012). ABA says NO to UV-B: a universal response?. *Trends in plant science*, 17, 510-517.
- Trenberth, K. E., Dai, A., Van Der Schrier, G., Jones, P. D., Barichivich, J., Briffa, K. R., & Sheffield, J. (2014). Global warming and changes in drought. *Nature Climate*

Change, 4, 17.

- USDA – United States Department of Agriculture. *World Agricultural Production. Circular Series WAP 03-07*. 30p. 2018.
- Valentini, R., Epron, D., De Angelis, P., Matteucci, G., & Dreyer, E. (1995). In situ estimation of net CO₂ assimilation, photosynthetic electron flow and photorespiration in Turkey oak (*Q. cerris* L.) leaves: diurnal cycles under different levels of water supply. *Plant, Cell & Environment*, 18, 631-640.
- Vital, R. G., Müller, C., da Silva, F. B., Batista, P. F., Merchant, A., Fuentes, D., ... & Costa, A. C. (2019). Nitric Oxide Increases the Physiological and Biochemical Stability of Soybean Plants under High Temperature. *Agronomy*, 9, 412.
- Wellburn, A. R. (1994). The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of plant physiology*, 144, 307-313.
- Westgate, M. E., Passioura, J. B., & Munns, R. (1996). Water status and ABA content of floral organs in drought-stressed wheat. *Functional PlantBiology*, 23, 763-772.
- Wu, Y., Gong, W., & Yang, W. (2017). Shade inhibits leaf size by controlling cell proliferation and enlargement in soybean. *Scientific reports*, 7, 9259.
- Yao, X., Zhou, H., Zhu, Q., Li, C., Zhang, H., Wu, J. J., & Xie, F. (2017). Photosynthetic response of soybean leaf to wide light-fluctuation in maize-soybean intercropping system. *Frontiers in plant science*, 8, 1695.
- Zhou, L., Xu, H., Mischke, S., Meinhardt, L. W., Zhang, D., Zhu, X., ...& Fang, W. (2014). Exogenous abscisic acid significantly affects proteome in tea plant (*Camellia sinensis*) exposed to drought stress. *Horticulture research*, 1, 14029.