



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS**  
**CAMPUS DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**  
**ÁREA: PRODUÇÃO VEGETAL**



**JULIANY MAYRA TEIXEIRA DE MOURA BARROS**

**TESE DE DOUTORADO**

**APLICAÇÃO FOLIAR DE 24-EPIBRASSINOLÍDEO NA ATENUAÇÃO DO  
ESTRESSE HÍDRICO EM PLANTAS DE SOJA NAS FASES DE FLORAÇÃO E  
ENCHIMENTO DOS GRÃOS**

Rio Largo - AL

2023

JULIANY MAYRA TEIXEIRA DE MOURA BARROS

**APLICAÇÃO FOLIAR DE 24-EPIBRASSINOLÍDEO NA ATENUAÇÃO DO  
ESTRESSE HÍDRICO EM PLANTAS DE SOJA NAS FASES DE FLORAÇÃO E  
ENCHIMENTO DOS GRÃOS**

Tese apresentada à coordenação do Programa de Pós-Graduação em Agronomia: Produção Vegetal, CECA/UFAL, como requisito para obtenção do grau de Doutora em Agronomia.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Vilma Marques Ferreira

Rio Largo - AL

2023

**Catálogo na Fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Campus de Engenharias e Ciências Agrárias**  
Bibliotecário Responsável: Erisson Rodrigues de Santana - CRB4 - 1512

B277a Barros, Juliany Mayra Teixeira de Moura.

Aplicação foliar de 24-epibrassinolídeo na atenuação do estresse hídrico em plantas de soja nas fases de floração e enchimento dos grãos. / Juliany Mayra Teixeira de Moura Barros. – 2023.

112f.: il.

Orientadora: Vilma Marques Ferreira.

Tese (Doutorado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de concentração em Produção Vegetal, Campus de Engenharias e Ciências Agrárias, Universidade Federal de Alagoas. Rio Largo, 2023.

Inclui bibliografia

1. *Glycine max.* 2. Seca. 3. Brassinosteróides. 4. Trocas gasosas. 5. Clorofilas.  
I. Título.

CDU: 633.34

## **TERMO DE APROVAÇÃO**

**Juliany Mayra Teixeira de Moura Barros  
(Matrícula 2018104170)**

**“APLICAÇÃO FOLIAR DE 24-EPIBRASSINOLÍDEO NA ATENUAÇÃO DO  
ESTRESSE HÍDRICO EM PLANTAS DE SOJA NAS FASES DE FLORAÇÃO E  
ENCHIMENTO DOS GRÃOS”**

Tese apresentada e avaliada pela banca examinadora em vinte e seis de abril de 2023, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal do Programa de Pós-graduação em Agronomia (Produção Vegetal) do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias da UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS.

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Vilma Marques Ferreira  
Presidente

---

Prof. Dr. Gilberto Costa Justino  
Membro

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Claudiana Moura dos Santos  
Membro

---

Prof. Dr. José Vieira Silva  
Membro

Rio Largo - AL  
Abril-2023

*Mas aqueles que esperam no  
Senhor renovam as suas forças.  
Voam alto como águias; correm e  
não ficam exaustos, andam e não  
se cansam. Isaías 40:31*

## AGRADECIMENTOS

A **Deus**, por nunca me deixar desistir, estando sempre ao meu lado e me fortalecendo para alcançar os meus sonhos. Obrigada por todas as vitórias que o Senhor tem me concedido, mesmo diante de tantos obstáculos que a vida me levou, chegar até aqui é uma dádiva de Deus!

Ao meu esposo **Heidson** por ser meu alicerce, incentivando-me e nunca me deixando desistir, mesmo que para mim pareça impossível vencer; você sempre mostra que existe força dentro de mim e eu posso sim lutar mais um pouco! Agradeço por sua paciência e amor.

Aos meus filhos **Vinícius** e **Bernardo**, por vocês estou finalizando e concretizando sonhos que para mim seriam impossíveis, mas por vocês eu continuo lutando!

Aos meus avós (pais) **Divanilde Teixeira** e **Pedro Moura** que me criaram como filha, por todos os seus esforços para que eu pudesse estudar e estar aqui hoje, sem os quais isso não seria possível. Agradeço a Deus por terem vocês comigo. Amo vocês.

À minha orientadora **Profª. Dra. Vilma Marques** pela oportunidade de ser orientada pela senhora, por sua paciência, compreensão, incentivo para eu continuar minha jornada, bem como todo conhecimento compartilhado comigo. Obrigada pelas maravilhosas aulas de fisiologia.

À minha irmã **Cláudia Thaysa** que desde sempre me falava que eu seria doutora, sei que era Deus falando por ti. Obrigada por me ouvir e me incentivar a não desistir!

À minha irmã **Juciana Moura**, que mesmo longe sempre me dá forças para prosseguir.

À minha tia **Lucilene Moura** por me incentivar e não me deixar desistir nunca, por estar comigo nos momentos em que mais precisei e poder contar sempre com a senhora.

Aos meus amigos: **Gleica, Dailson, Jailma e Tião** por sempre estarem ao meu lado nas disciplinas e experimentos. Obrigada por sempre estarem dispostos a ajudar. Agradeço a Deus por vocês.

A **Profª. Dra Claudiana**, por compartilhar seu conhecimento e contribuir na melhoria de nossa aprendizagem, obrigada por me incentivar a continuar a minha caminhada.

A **todos os professores do CECA** que passaram pela minha trajetória e que contribuíram com seus conhecimentos, além de toda paciência e incentivo para que eu pudesse prosseguir e chegar até aqui.

Aos **membros da banca examinadora, Prof. Dr. José Vieira, Prof. Dr. Gilberto Justino e Profª. Dra. Claudiana Moura** pela disposição e dedicação em contribuir para com a melhoria do meu trabalho.

Aos **funcionários do CECA**, em especial ao **Gustavo**, por toda disposição, prestatividade, alegria e gentileza em ajudar a nós discentes sempre! A **todos do CECA** que me ajudaram direta ou indiretamente!

Ao **Técnico do Laboratório de Fisiologia Vegetal, Paulo**, por toda contribuição nas análises, auxílio prestado nos experimentos, até mesmo em casa de vegetação.

Aos alunos de iniciação científica **Rafael, Neto, Nathaly e Marcos**, e colegas de laboratório **Jônatas e André** pela ajuda no decorrer dos experimentos e análises.

À **Universidade Federal de Alagoas** pela oportunidade de continuar meus estudos e por adquirir conhecimento, fruto de uma gama de excelentes profissionais.

À **Coordenação de Pessoal de Ensino Superior (Capes)**, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao **Laboratório de Fisiologia Vegetal** que sempre assiste os alunos com todos equipamentos possíveis para as análises.

À **UFAL Campus Arapiraca** e amigo agrônomo **Dr. Ricardo Barros** pela doação das sementes de soja.

## RESUMO

A soja é uma das culturas agrícolas mais importantes para o agronegócio mundial, responsável pela produção de grãos, farelo e óleo de soja. Nos diferentes ambientes de cultivo, a seca é um dos fatores mais limitantes à produtividade dessa cultura. Com a finalidade de diminuir os efeitos negativos do estresse hídrico, a aplicação foliar de 24-epibrassinolídeo (EBL) tem sido utilizada em diversas culturas, no entanto, estudos ainda são escassos em sojicultura nas fases de floração e enchimento do grão. Diante disso, esse trabalho tem como objetivo avaliar a eficiência do EBL sobre o crescimento e mecanismos fisiológicos em soja nas fases de floração e enchimento do grão sob deficiência hídrica e reidratação. Os experimentos foram desenvolvidos em casa de vegetação utilizando-se a cultivar IMA 84114RR. O delineamento experimental utilizado em ambos os experimentos foi em blocos inteiramente casualizados, em esquema fatorial 2x2 (Regimes hídricos x Aplicação com EBL) com sete repetições. Os regimes hídricos, plantas irrigadas e sob estresse hídrico seguido de reidratação, foram impostos quando, no experimento I, as plantas de soja estavam na fase de floração e após pré-tratamento com EBL, enquanto que no experimento II, as plantas estavam na fase de enchimento de grãos. Na fase de floração, o EBL promoveu melhor recuperação na altura da planta, número de folhas e diâmetro do caule em relação às plantas sem EBL, não foi observado efeito do EBL para área foliar. O EBL contribuiu com a maior produção de massa seca foliar e do caule das plantas, porém não melhorou a produtividade da soja. Em plantas irrigadas, o EBL promoveu melhores processos metabólicos como trocas gasosas, eficiência fotossíntese e síntese de clorofila. As plantas tratadas com EBL sob deficiência hídrica apresentaram redução da condutância estomática e fotossíntese semelhantes às sem EBL. As plantas com EBL apresentaram aumento na transpiração e concentração interna de CO<sub>2</sub> sob estresse hídrico. A eficiência quântica máxima do fotossistema II (Fv/Fm) não alterou em plantas com e sem EBL independente do estresse. No tocante à fase de enchimento do grão, a aplicação foliar do EBL em soja não atenuou as trocas gasosas das plantas estressadas, no entanto, melhorou na recuperação pós o estresse. Além disso, o EBL atenuou os danos causados pelo déficit hídrico sobre TRA e ΦPSII, o que contribuiu com maior massa seca das plantas, número de vagens e de grãos, bem como o tamanho dos grãos.

**Palavras-chave:** *Glycine max*. Seca. Brassinosteróides. Trocas gasosas. Fotossistema II. Clorofilas. Recuperação.

## ABSTRACT

Soybean is one of the most important agricultural crops for world agribusiness, responsible for the production of grains, bran and soybean oil. In different cultivation environments, drought is one of the most limiting factors to the productivity of this crop. In order to reduce the negative effects of water stress, the foliar application of 24-epibrassinolide (EBL) has been used in several crops, however, studies are still scarce in soybeans in the flowering and grain filling phases. Therefore, this work aims to evaluate the efficiency of EBL on growth and physiological mechanisms in soybean in the flowering and grain filling stages under water deficit and rehydration. The experiments were carried out in a greenhouse using the cultivar IMA 84114RR. The experimental design used in both experiments was in completely randomized blocks, in a 2x2 factorial scheme (Water regimes x Application with EBL) with seven replicates. The water regimes, irrigated plants and under water stress followed by rehydration, were imposed when, in experiment I, the soybean plants were in the flowering phase and after pre-treatment with EBL, while in experiment II, the plants were in the flowering phase. In the grain filling phase, EBL promoted better recovery in plant height, number of leaves and stem diameter in relation to plants without EBL, no effect of EBL was observed for leaf area. The EBL contributed with the highest production of leaf and stem dry mass of the plants, but it did not improve soybean productivity. In irrigated plants, EBL promoted better metabolic processes such as gas exchange, photosynthesis efficiency and chlorophyll synthesis. Plants treated with EBL under water stress showed a reduction in stomatal conductance and photosynthesis similar to those without EBL. Plants with EBL showed increased transpiration and internal CO<sub>2</sub> concentration under water stress. The maximum quantum efficiency of photosystem II (Fv/Fm) did not change in plants with and without EBL regardless of stress. Regarding the grain filling phase, the foliar application of EBL in soybean did not attenuate the gas exchanges of the stressed plants, however, it improved post-stress recovery. In addition, EBL attenuated the damage caused by water deficit on TRA and ΦPSII, which contributed to higher plant dry mass, number of pods and grains, as well as grain size.

**Keywords:** *Glycine max.* Dry. Brassinosteroids. Gas exchange. Photosystem II. Chlorophylls. Recovery.

## LISTA DE FIGURAS

### CAPITULO II

|   |    |
|---|----|
| Figura 1. Médias diárias de temperatura do ar (A), radiação diária (B) e DPV (C) durante o período de cultivo. Umidade do solo (%) durante os dias de deficiência hídrica seguidos de reidratação. ....   | 48 |
| Figura 2. Altura de plantas (A), Diâmetro do caule (B), Número de folhas (C) e Área foliar (D) em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de florescimento e posterior reidratação. Crescimento de plantas de soja acompanhado da fase inicial do estágio vegetativo até final do estágio de maturação. Cada ponto indica o valor médio de sete repetições e barras indicam erro padrão. .... | 53 |
| Figura 3. Teor relativo de água na folha (TRA) (A e B), potencial hídrico foliar amanhecer, $\Psi_w$ (C e D) e potencial hídrico foliar meio-dia, $\Psi_w$ (E e F) em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de florescimento e posterior reidratação. Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ....  | 55 |
| Figura 4. Condutância estomática (gs) (A e B), transpiração (C e D), Taxa Fotossintética (E e F) e concentração interna de CO <sub>2</sub> (Ci) em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de florescimento e posterior reidratação. ....   | 58 |
| Figura 5. Eficiência quântica efetiva do fotossistema II, $\Phi_{PSII}$ (A e B), Eficiência quântica máxima do fotossistema II, Fv/Fm (C e D), índice SPAD (E e F) e Clorofila Total (G e H) em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de florescimento e posterior reidratação. ....  | 60 |
| Figura 6. Atividade das enzimas antioxidantes Ascorbato-peroxidase (APX) - (A e B) e Catalase (CAT) - (C e D), teor de malondialdeído (MDA) - (E e F) e extravasamento de eletrólitos - (G e H) em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de florescimento e posterior reidratação. ....   | 63 |
| Figura 7. Massa seca de folhas (MSF) (A), massa seca do caule (MSC) (B), massa seca da raiz (MSR) (C) e massa seca total (MST) (D) em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de florescimento e posterior reidratação. ....  | 65 |

### CAPITULO III

|   |    |
|---|----|
| Figura 1. Médias diárias de temperatura do ar (A), radiação diária (B) e DPV (C) durante o período de cultivo. Umidade do solo (%) durante os dias de deficiência hídrica seguidos de reidratação. Seta indica o estresse máximo. ....  | 87 |
| Figura 2. Altura de plantas (A), Diâmetro do caule (B), Número de folhas (C) e Área foliar (D) em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de enchimento dos grãos e posterior reidratação. ....   | 91 |
| Figura 2. Teor relativo de água na folha (TRA) (A e B), Potencial hídrico foliar amanhecer, $\Psi_w$ (C e D) e potencial hídrico foliar meio-dia, $\Psi_w$ (E e F) em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de enchimento dos grãos e posterior reidratação. .... | 93 |
| Figura 3. Condutância estomática (gs) (A e B), transpiração (C e D), Taxa Fotossintética (E e F) e Concentração interna de CO <sub>2</sub> (Ci) em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-  |    |

|   |     |
|---|-----|
| epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de enchimento dos grãos e posterior reidratação. ....  | 95  |
| Figura 4. Eficiência quântica efetiva do fotossistema II, $\Phi$ PSII (A e B), Eficiência quântica máxima do fotossistema II, Fv/Fm (C e D), índice SPAD (E e F) e Clorofila Total (G e H) em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de enchimento dos grãos e posterior reidratação. .... | 97  |
| Figura 5. Massa seca de folhas (MSF) (A), massa seca do caule (MSC) (B), massa seca da raiz (MSR) (C) e massa seca total (MST) (D) em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de enchimento dos grãos e posterior reidratação. ....   | 99  |
| Figura 6. Número de vagens sadias – NVS (A); Número de grãos – NG (B); Massa de mil grãos – MMG (C); Diâmetro dos grãos – DG (D) e Rendimento dos grãos– RG (E) em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de enchimento dos grãos e posterior reidratação. ....                            | 101 |

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO II

|   |    |
|---|----|
| Tabela 1. Os tratamentos de irrigação foram definidos em função da reposição de água (T), conforme abaixo: .....  | 45 |
| Tabela 2. Análise de variância da altura de plantas (AP), diâmetro do caule (DC), número de folhas (NF) e área foliar (AF) aos 75 DAS em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de florescimento e posterior reidratação. ....   | 52 |
| Tabela 3. Análise de variância da altura de plantas (AP), diâmetro do caule (DC), número de folhas (NF) e área foliar (AF) aos 90 DAS em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de florescimento e posterior reidratação. ....   | 54 |
| Tabela 4. Análise de variância dos atributos fisiológicos: Teor relativo de água (TRA), potencial hídrico foliar $\Psi_w$ predawn e meio dia, fotossíntese (A), condutância estomática (gs), transpiração (E), eficiência quântica máxima do fotossistema II (Fv/Fm), eficiência quântica efetiva do fotossistema II ( $\Phi$ PSII), Índice SPAD e Clorofila Total (Cl total) em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de florescimento e posterior reidratação. .... | 56 |
| Tabela 5. Análise de variância da atividade das enzimas antioxidantes Ascorbato-peroxidase (APX), Catalase (CAT), teor de Malondialdeído (MDA) e extravasamento de eletrólitos em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de florescimento e posterior reidratação. ....  | 62 |
| Tabela 6. Significâncias e valores médios dos parâmetros de NVS – Número de vagens sadias; NS – Número de grãos; MMG – Massa de mil grãos; e DG – Diâmetro do grão em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de florescimento e posterior reidratação. ....  | 64 |

### CAPÍTULO III

|   |    |
|---|----|
| Tabela 1. Os tratamentos de irrigação foram definidos em função da reposição de água (T)... | 84 |
| Tabela 2. Resumo da análise de variância da altura de plantas (AP), diâmetro do caule (DC), |    |

|   |     |
|---|-----|
| número de folhas (NF) e área foliar (AF) aos 75 DAS, em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de enchimento dos grãos e posterior reidratação. ....   | 90  |
| Tabela 3. Resumo da análise de variância da altura de plantas (AP), diâmetro do caule (DC), número de folhas (NF) e área foliar (AF) aos 90 DAS em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de enchimento dos grãos e posterior reidratação. ....  | 90  |
| Tabela 4. Análise de variância dos atributos fisiológicos: Teor relativo de água na folha (TRA), potencial hídrico foliar $\Psi_w$ predawn e meio dia, fotossíntese (A), condutância estomática (gs), transpiração (E), eficiência quântica máxima do fotossistema II (Fv/Fm) meio dia, eficiência quântica efetiva do fotossistema II ( $\Phi_{PSII}$ ), Índice SPAD e Clorofila Total (Cl total) em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de enchimento dos grãos e posterior reidratação. .... | 92  |
| Tabela 5. Resumo da análise de variância da massa seca de folhas (MSF), massa seca do caule (MSC), massa seca da raiz (MSR) e massa seca total (MST) em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de enchimento dos grãos e posterior reidratação. ....   | 98  |
| Tabela 6. Significâncias e valores médios dos parâmetros de NVS – Número de vagens sadias; NS – Número de grãos; MMG – Massa de mil grãos; DG – Diâmetro do grão; RG – Rendimento dos grãos em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de enchimento dos grãos e posterior reidratação. ..  | 100 |

## SUMÁRIO

|   |    |
|---|----|
| CAPITULO I.....   | 11 |
| 1 INTRODUÇÃO GERAL .....  | 11 |
| 2 REVISÃO DE LITERATURA.....  | 13 |
| 2.1 Soja: Origem e Distribuição Geográfica .....  | 13 |
| 2.2 Importância econômica da soja .....   | 14 |
| 2.3 Caracterização Botânica da Soja .....   | 15 |
| 2.4 Fenologia da Soja .....   | 17 |
| 2.5 Caracterização fisiológica das plantas sob estresse por déficit hídrico.....  | 19 |
| 2.6 A deficiência hídrica na cultura da soja .....  | 22 |
| 2.7 Fitormônio: Brassinosteroides (BRs) .....   | 23 |
| 2.8 Sinalização dos Brassinosteroides .....   | 26 |
| 2.9 Aplicação de 24-Epibrassinolídeo (EBL) e respostas das plantas sob estresse hídrico....                                   | 27 |
| 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....  | 29 |
| CAPÍTULO II.....  | 40 |
| RESUMO .....  | 40 |
| 1 INTRODUÇÃO .....  | 43 |
| 2 MATERIAL E MÉTODOS.....   | 44 |
| 2.1 Material vegetal e condições experimentais .....  | 44 |
| 2.2 Diluição e Aplicação do Regulador Vegetal 24-Epibrassinolideo .....   | 46 |
| 2.3 Imposição do Regime Hídrico .....   | 46 |
| 2.4 Análises morfológicas .....   | 48 |
| 2.5 Análises fisiológicas.....  | 49 |
| 2.6 Massa seca e produtividade .....  | 51 |
| 2.7 Análise estatística.....  | 51 |
| 3 RESULTADOS .....  | 52 |
| 3.1 Atributos morfológicos.....   | 52 |
| 3.2 Mecanismos fisiológicos das plantas em resposta à interação ao estresse hídrico e EBL .                                   | 54 |
| 3.3 Massa seca e produtividade .....  | 64 |
| 4. DISCUSSÃO .....  | 65 |
| 4.1 Características morfológicas da soja após aplicação de EBL e submetidas a deficiência hídrica seguida de reidratação..... | 66 |
| 4.2 Características fisiológicas da soja após aplicação de EBL durante a deficiência hídrica e reidratação .....              | 66 |
| 4.3 Massa seca e produção em plantas pré-tratadas com EBL .....   | 70 |

|   |     |
|---|-----|
| 5. CONCLUSÕES .....   | 72  |
| 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....                                     | 73  |
| CAPÍTULO III .....  | 79  |
| RESUMO: .....   | 79  |
| 1. INTRODUÇÃO .....   | 81  |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS .....   | 83  |
| 2.1 Material vegetal e condições experimentais .....                    | 83  |
| 2.2 Diluição e Aplicação do Regulador Vegetal 24-Epibrassinolídeo ..... | 84  |
| 2.3 Imposição do Regime Hídrico .....                                   | 84  |
| 2.4 Análises morfológicas .....   | 86  |
| 2.5 Análises fisiológicas .....   | 86  |
| 2.6 Acúmulo de massa seca e produção .....                              | 87  |
| 2.7 Análise estatística .....   | 88  |
| 3. RESULTADOS .....   | 89  |
| 3.1 Características Morfológicas .....                                  | 89  |
| 3.2 Características fisiológicas .....                                  | 90  |
| 3.3 Acúmulo de massa seca e produção .....                              | 97  |
| 4. DISCUSSÃO .....  | 100 |
| 4.1 Morfologia da soja .....  | 101 |
| 4.2 Características fisiológicas .....                                  | 102 |
| 4.3 Acúmulo de massa seca e produção .....                              | 105 |
| 5. CONCLUSÕES .....   | 107 |
| 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....   | 108 |
| 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....                                     | 109 |

## CAPITULO I

### 1 INTRODUÇÃO GERAL

As altas temperaturas, luminosidade, salinidade, bem como a escassez hídrica consistem nos fatores abióticos mais limitantes à produção vegetal. O estresse por déficit hídrico constitui-se como principal causador da diminuição da produtividade nas culturas (KAPOOR et al., 2020). A utilização de culturas tolerantes à seca, bem como de técnicas que minimizem os danos ocasionados pela restrição hídrica vêm sendo importantes formas alternativas para a produção de culturas em regiões de baixa precipitação como as regiões áridas e semi-áridas do mundo (ABDALLAH et al., 2014; HSIE et al., 2015; KAPOOR et al., 2020).

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é uma das mais importantes oleaginosas cultivadas mundialmente, com múltipla utilização, desde produtos como o óleo vegetal e a proteína texturizada, utilizados na alimentação humana, até farelo, fonte de proteína em rações animais. Além disso, é utilizada na indústria de biocombustíveis, o que tem despertado o interesse de diversos países (BOEREMA et al., 2016). Entretanto, a cultura é considerada sensível às condições de deficiência hídrica, fato que compromete os períodos de semeadura, emergência e enchimento dos grãos e, portanto, o rendimento, podendo as plantas tolerarem apenas pequenos períodos de seca (MORANDO et al., 2014; GALÃO et al., 2014; PARDO et al., 2015).

Dentre os estádios fenológicos, o estágio reprodutivo é o que influencia significativamente a produtividade final nas plantas. A fase de floração da soja destaca-se pelas atividades metabólicas intensas para a finalização do processo de acúmulo de matéria seca, bem como para seu desenvolvimento reprodutivo (SEIXAS et al., 2020). Ademais, o estágio de enchimento do grão também se caracteriza pela sensibilidade à seca, uma vez que, nessa fase existem diversas alterações tanto metabólicas quanto em sua morfologia cuja deficiência hídrica interfere consideravelmente nesses processos (HOSSAIN et al., 2014).

A disponibilidade hídrica nestes estádios é fator determinante a sua produtividade, pois a ocorrência de seca durante as fases de floração e enchimento dos grãos desencadeiam diversas alterações fisiológicas nas plantas de soja, iniciando-se pelo primeiro mecanismo de defesa em resposta ao déficit hídrico, o fechamento estomático,

e em seguida o enrolamento das folhas, o que promove a senescência foliar precoce, bem como abortamento de flores e vagens e, conseqüentemente, redução do rendimento dos grãos (SEIXAS et al., 2020; EMBRAPA, 2013).

O uso exógeno de bioreguladores como o 24-epibrassinolídeo (EBL) na soja, nesses estágios, pode influenciar dependendo da concentração da substância em possíveis efeitos de alívio da planta em resposta à seca. Sabe-se que esses produtos químicos são absorvidos pelas plantas, translocados e se acumulam em diferentes partes das plantas, onde participam das atividades celulares, o que acaba levando a uma melhor produção agrícola (ALI et al., 2019; KHAN et al., 2020). Entretanto, essas informações em soja nas fases de floração e enchimento do grão ainda são pioneiras com poucos estudos existentes, em especial sob condições de deficiência hídrica. O que torna esse estudo de grande relevância, na busca da compreensão das interações entre o bioestimulante e a soja sob deficiência hídrica.

Entre os reguladores vegetais, os brassinosteroides (BRs) destacam-se em razão de sua abrangente atuação nas plantas. Os BRs pertencem ao grupo dos hormônios esteroidais, essenciais à regulação dos processos fisiológicos, bem como de crescimento e desenvolvimento das plantas, tais como a divisão e o alongamento celular, diferenciação celular, fotomorfogênese, além do desenvolvimento reprodutivo, germinação de sementes e senescência foliar. Além disso, atua na modulação da expressão gênica, e em especial na resistência a estresses bióticos e abióticos (WEI; LI, 2016; TAIZ et al., 2017; SHARMA; KAUR; PATI, 2017; TANVEER et al., 2019).

Pesquisas realizadas têm mostrado resultados bastante satisfatórios em relação às respostas das plantas submetidas às condições abióticas adversas, melhorando a produtividade das culturas, e confirmando o grande potencial dos brassinosteroides na atenuação dos estresses abióticos (VARDHINI, 2012; BAJGUZ, 2013; LIMA; LOBATO et al., 2017; TANVEER et al., 2019).

A aplicação exógena de EBL pode contribuir na melhoria da capacidade fotossintética das plantas sob estresse hídrico. Essas melhorias podem estar relacionadas a fatores estomáticos ou não estomáticos, ou uma combinação destes, que resultam no aumento das quantidades de pigmentos fotossintéticos, melhoria dos parâmetros de trocas gasosas, teor relativo de água, eficiência quântica do fotossistema II, como relatada em estudos de diferentes culturas (TALAAT; SHAWKY, 2016; LIMA; LOBATO, 2017; ANWAR et al., 2018; TANVEER et al., 2019; KHAN et al., 2020).

Esses conjuntos de informações sugerem que o BR não só aliviou o efeito antagônico do estresse hídrico, mas também aumento do crescimento e rendimento da planta. Porém em plantas de soja nas fases de floração e enchimento do grão essas respostas ainda são pouco estudadas e precisam ser investigadas.

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência do biorregulador 24-epibrassinolídeo sobre o crescimento e mecanismos fisiológicos em soja nas fases de floração e enchimento do grão sob deficiência hídrica e reidratação.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Soja: Origem e Distribuição Geográfica**

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é originária da Ásia, sendo a China o centro de origem, cuja extensão do rio Yangtse era o principal local onde se desenvolviam as plantas ancestrais (MUNDSTOCK; THOMAS, 2005; EMBRAPA, 2016; GAZZONI, 2016).

A soja atualmente cultivada é bastante distinta de seus ancestrais, as quais eram plantas rasteiras (DALL'AGNOL, 2007). Tal evolução ocorreu com o surgimento de plantas provenientes de cruzamentos naturais entre espécies selvagens de soja, posteriormente, domesticadas e melhoradas geneticamente por cientistas da antiga China (DALL'AGNOL, 2007; EMBRAPA, 2016), sendo há mais de cinco mil anos explorada no Oriente (EMBRAPA, 2016).

Em 1940, o cultivo como forrageira esteve no auge, sendo a China o maior produtor e exportador mundial (DALL'AGNOL, 2007; QIU; CHANG, 2010). Entretanto, com a revolução chinesa, ocorreu que houve um declínio em suas exportações, passando os Estados Unidos a ocupar esse *status* (QIU; CHANG, 2010). Diante disso, as áreas destinadas aos grãos expandiram fortemente nos EUA, Brasil e Argentina, enquanto que as áreas cultivadas para forragem aos poucos retrocederam (DALL'AGNOL, 2007).

Posteriormente, a cultura da soja se espalhou para os demais continentes, em virtude do seu fácil crescimento, adaptabilidade geográfica e, principalmente, pela ampla utilização na alimentação humana, animal, industrial e medicinal, por ser fonte rica em proteína e óleo ambos de baixo custo (EMBRAPA, 2004; WU et al., 2004).

No Brasil, a introdução da soja iniciou-se no estado da Bahia e, em seguida, expandiu-se fortemente para a região Sul, em razão da semelhança climática com os Estados Unidos (DALL'AGNOL, 2007). Até 1960, o cultivo da soja era realizado em sucessão ao trigo, em épocas de verão, a partir dessa década ocorreu o estabelecimento econômico da cultura no Brasil (EMBRAPA, 2004).

## **2.2 Importância econômica da soja**

A soja é a mais importante oleaginosa cultivada mundialmente. Por ser plantada em larga escala, bem como ter seus valores controlados pelo mercado mundial, é considerada uma *commodity*, sendo, portanto, a principal cultura agrícola comercializada internacionalmente (ESCOBAR et al., 2020).

O destaque da soja se deve a sua múltipla utilização, desde produtos alimentícios humano e animal como o óleo vegetal e farelo como fonte de proteína em rações animais, bem como na indústria de biocombustíveis (KOHLHEPP, 2010; BOEREMA et al., 2016).

O grão é fonte rica em proteínas e óleo, apresentando em torno de 40 e 20%, respectivamente (BEZERRA et al., 2015). Atualmente é considerado o quarto produto agrícola mais consumido na alimentação humana, ficando atrás somente do milho, trigo e arroz (FAO, 2015; EMBRAPA, 2014). No cenário mundial, o Brasil é o maior produtor de soja com 38 milhões de hectares plantados em 2021, e mais de 141 milhões de toneladas produzidas na safra de 2021, sendo os Estados Unidos o segundo maior produtor (CONAB, 2021). O estado do Mato Grosso é o maior produtor brasileiro com 35,947 milhões de toneladas produzidas, seguido do Rio Grande do Sul com 20,164, Paraná com 19,872 e Goiás com 13,720 milhões de toneladas (EMBRAPA, 2021).

O Brasil destaca-se, ainda, como o maior exportador de grãos de soja, com 83,42 milhões de toneladas no ano de 2021, com estimativa de 87,58 milhões de toneladas para 2022. No mundo, os principais importadores de soja são a China com aquisição em torno de 100 milhões de toneladas por ano, seguida da União Europeia (CONAB, 2021).

O cultivo da soja no Brasil abrange tanto a produção destinada à exportação do grão, bem como a sua industrialização em produtos como farelo ou óleo (SILVA et al., 2011). A soja brasileira ocupa importante lugar no agronegócio, isso se deve ao alto teor de proteína, bem como alto padrão de qualidade associado ao desenvolvimento tecnológico dos programas de melhoramento genético, os quais permitem a sua inserção

nos mercados mais exigentes como União Europeia e Japão (CONAB, MAPA, 2011; NOGUEIRA; SEDIYAMA; GOMES, 2015).

A valorização da soja no mercado mundial despertou o interesse dos agricultores e diversos fatores foram responsáveis pelo o sucesso da soja, dentre os quais, a substituição da gordura animal pelo óleo e gordura vegetais, bem como incentivos à pesquisa, além de facilidades na mecanização da cultura (EMBRAPA, 2004; DALL'AGNOL, 2007). Com isso, o governo brasileiro passou a investir fortemente em tecnologias voltadas para a “tropicalização” da soja, isto é, sua adaptação às altas temperaturas as quais são características do Brasil, o que permitiu a expansão da cultura às demais regiões do mundo. No cenário atual, o Brasil, os Estados Unidos e a Argentina são os países que dominam a produção mundial da soja (CONAB, 2021).

### 2.3 Caracterização Botânica da Soja

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill), conhecida popularmente como Ervilha-oleaginosa-do-Japão, Fava-da-Manchúria, Feijão Chinês e Feijão-soja, é uma planta herbácea pertencente ao reino Plantae, à classe Dicotyledoneae ou Magnoliopsida, ordem Fabales, família Fabaceae ou Leguminosae, subfamília Faboideae (Papilionoideae), gênero *Glycine*, espécie *Glycine max*, e apresenta-se como *Glycine max* (L.) Merrill em sua forma domesticada, cujo mecanismo de fixação de carbono é do tipo C3 (SEDIYAMA, 2009; HAY, et al., 2017; JUNG et al., 2020).

*G. max* é uma planta que possui ciclo anual, de estrutura ereta, autógama, isto é, realiza autopolinização e autofecundação em razão da presença de flores masculinas e femininas, bem como por estas permanecerem fechadas são classificadas como cleistógama, uma forma de autogamia (NOGUEIRA et al., 2013; GAZZONI, 2016). Além disso, possui uma baixa taxa de polinização cruzada, em torno de 2%, sendo a hibridização realizada principalmente pelas abelhas (GAZZONI, 2016). A espécie possui variabilidade em suas características morfológicas, as quais são influenciadas pelo ambiente (SEDIYAMA, 2009; NOGUEIRA et al., 2013).

As plantas de soja possuem altura que varia de 30 a 200 centímetros, podendo apresentar maior ou menor quantidade de ramificações (SEDIYAMA, 2009). Em relação às cultivares comerciais do Brasil, estas possuem crescimento mais limitado, chegando a atingir 50 a 90 centímetros de altura (BEZERRA et al., 2015).

O caule é tipo herbáceo, ereto de cor esverdeada e flexível, ramoso e hispido em razão da presença de pelos duros e espessos, os quais possuem coloração acinzentada, existindo também em tons de amarronzados (BEZERRA et al., 2015; SEDIYAMA; OLIVEIRA; SEDIYAMA, 2016). Nas extremidades do caule ocorre a presença de inflorescência racemosa ou monopodial podendo ser axial ou terminal, cuja presença ou posição são determinantes para o tipo de crescimento das plantas classificado em determinado, semideterminado e indeterminado (NOGUEIRA et al., 2009).

Em relação ao crescimento determinado, este ocorre em plantas cujo crescimento vegetativo é paralisado em seguida ao florescimento, podendo, algumas vezes aumentar 10% do tamanho final. Já no semideterminado, após o florescimento, as plantas atingem em torno de 70% do seu tamanho final, e por fim, no crescimento indeterminado, mesmo depois do florescimento, as gemas vegetativas são mantidas, permitindo, assim, o desenvolvimento dos nós e alongamento do caule (NOGUEIRA et al., 2009).

O sistema radicular da soja é do tipo difuso, isto é, a raiz principal apresenta-se pouco desenvolvida, com um eixo principal e grande quantidade de raízes secundárias, sendo axial fasciculado, podendo atingir 1,80 metros de comprimento, cuja maioria encontra-se na camada de 15 centímetros de profundidade (BORÉM, 2005; SEDIYAMA; OLIVEIRA; SEDIYAMA, 2016). Ademais, em suas raízes é frequente a associação simbiótica com as bactérias *Bradyrhizobium japonicum* e *Bradyrhizobium elkani*, responsáveis pela fixação biológica de nitrogênio e formação de nódulos que são ligados à epiderme através dos filamentos (SEDIYAMA; OLIVEIRA; SEDIYAMA, 2016).

A soja apresenta durante seu ciclo três tipos de folhas, desde as cotiledonares ou embrionárias, folhas unifoliadas e as trifolioladas (BORÉM, 2005; NEPOMUCENO et al., 2008). As folhas são do tipo alternadas, longamente pecioladas, possuindo três folíolos ovalados, cujo tamanho varia de 0,5 a 12,5 centímetros (EMBRAPA, 2014). O formato das folhas pode ser de quatro tipos: lanceolada, triangular, oval arredondada e estreita, e sua coloração varia entre verde pálida e verde escura, ficando amareladas na proporção em que os frutos amadurecem, bem como dependendo da variedade (GOMES, 1990; BORÉM, 2005; NEPOMUCENO et al., 2008; EMBRAPA, 2014).

As flores de soja são completas, ocorrendo em racinos curtos, terminais ou axilares, com cores brancas, amarelo, violácea ou roxa, de acordo com a constituição genética, cujos órgãos masculinos e femininos ficam protegidos na corola (BORÉM, 2005; SEDIYAMA; OLIVEIRA; SEDIYAMA, 2016). A quantidade de flores depende

da variedade, apresentando, em média entre 2 a 35 por racemo, com 3 a 8 milímetros de diâmetro (BORÉM, 2005; SEDIYAMA, 2009). A floração inicia-se quando a planta apresenta entre 10 a 12 folhas trifolioladas, ao mesmo tempo em que apresenta flor totalmente expandida, marcando o início da sua fase reprodutiva (BORÉM, 2005; SEDIYAMA; OLIVEIRA; SEDIYAMA, 2016).

Os frutos da soja possuem tamanho médio entre 25 a 75 milímetros, e classificam-se como vagem com formato achatado, reto, arredondado ou curvado, deiscentes, com presença de pubescências em tons de cinza claro ou escuro, marrom claro, médio e escuro, a depender da existência ou não dos pigmentos antociânicos, caroteno ou xantofila (SEDIYAMA; OLIVEIRA; SEDIYAMA, 2016).

As sementes da soja possuem formatos variados podendo ser esférica, esférica-achatada, alongada ou alongada-achatada, além disso, o tegumento que reveste a semente possui variações na forma, tamanho e coloração que vão desde amarela, amarela esverdeada, verde, marrom clara, média e escura, preta, com listras pretas no tegumento marrom, além de marrom avermelhado entre outras (SEDIYAMA, 2013). A quantidade de sementes por vagem varia entre 1 a 5 sementes, com maior frequência 3 sementes por fruto (SEDIYAMA; OLIVEIRA; SEDIYAMA, 2016).

## **2.4 Fenologia da Soja**

O termo fenologia vem do grego *phaenein*, que significa exibir, surgir ou tornar-se visível, é o estudo das mudanças externas visíveis das plantas no decorrer do seu desenvolvimento vegetativo e reprodutivo (MUJICA et al., 1998). Os estádios fenológicos são as transformações realizadas desde o princípio da germinação das sementes, bem como, posterior brotação, florescimento e finalizando com a maturação das novas sementes contidas nos frutos. As pesquisas fenológicas proporcionam aos estudiosos maior conhecimento no que se refere a relação dos aspectos morfofisiológicos das plantas para com o meio ambiente, tal relação é de suma importância, pois a partir desse conhecimento pode-se realizar o planejamento das épocas de colheita, manejo das diversas pragas e doenças, além do estabelecimento da irrigação e defensores agrícolas, bem como no uso de fertilizantes (VENTURA et al., 2009; WISE et al., 2011; NOGUEIRA et al., 2013).

No tocante à sojicultura, o conhecimento fenológico favorece a compreensão dos diferentes estágios e desenvolvimento, bem como suas necessidades durante o ciclo, garantindo maiores rendimentos de grãos e, portanto, maior desempenho e

produtividade, além de permitir uma padronização do desenvolvimento da cultura (CÂMARA, 1998).

O desenvolvimento da soja é dividido em dois períodos: vegetativo e reprodutivo, cujo primeiro tem início com a semeadura até o florescimento, isto é, surgimento da primeira flor na haste principal, enquanto o reprodutivo ocorre a partir da floração até a maturação (MUNDSTOCK; THOMAS, 2005; BORÉM; ALMEIDA; KIIHL, 2009).

Fehr e Caviness (1977) descreveram detalhadamente a metodologia dos estádios de desenvolvimento, sendo até hoje a mais utilizada mundialmente (FEHR; CAVINESS, 1977). Os estádios vegetativo e reprodutivo descritos pelos autores são designados pelas letras V e R, respectivamente, e seguidos por números ou letras para sua identificação (BORÉM; ALMEIDA; KIIHL, 2009).

A soja alcança determinado estágio de desenvolvimento a partir do momento em que 50% das plantas o atingem, sendo que o estágio inicial abrange a emergência da plântula, a qual é representada por (VE) – emergência, designado, assim, devido ao aparecimento dos cotilédones acima da superfície do solo. Logo em seguida, estabelecem-se os estádios (VC) – com a presença dos cotilédones completamente abertos, posteriormente, (V1) – cujo primeiro nó, apresentam-se as folhas unifolioladas completamente desenvolvidas, seguidamente de (V2) o qual é caracterizado pelo segundo nó, isto é primeira folha trifoliolada completamente desenvolvida. Tais estádios vegetativos continuam sucessivamente e finalizam a partir do aparecimento da primeira flor (FEHR; CAVINESS, 1977).

Com o término do estágio vegetativo, com o surgimento da primeira flor, dá-se início ao estágio reprodutivo denominado de (R1) e caracterizado pela iniciação do florescimento, apresentando uma flor aberta, não importando em qual nó do caule ou haste principal. Em seguida ao estágio (R1), tem-se os estádios (R2) - florescimento pleno, (R3) - início da formação das vagens, (R4) - vagens completamente desenvolvidas, (R5) - início do enchimento do grão, (R6) - grão cheio ou completo, (R7) - início da maturação e por fim o estágio (R8) – caracterizado como estágio de maturação plena que apresenta em torno de 95% das vagens com coloração madura (FEHR; CAVINESS, 1977).

A fase de floração é marcada pela intensa e rápida atividade metabólica, tanto para seu processo final de acúmulo de matéria seca destinada às partes vegetativas, quanto para seu deslocamento essencial ao desenvolvimento reprodutivo. A disponibilidade hídrica neste estágio é fator determinante a sua produtividade, pois a

ocorrência de seca durante as fases de floração e enchimento dos grãos desencadeiam diversas alterações fisiológicas nas plantas de soja, iniciando-se pelo primeiro mecanismo de defesa em resposta ao déficit hídrico, o fechamento estomático, e em seguida o enrolamento das folhas, o que promove a senescência foliar precoce, bem como abortamento de flores e vagens e, conseqüentemente, redução do rendimento dos grãos (SEIXAS et al., 2020; EMBRAPA, 2013; NEUMAIER, et al., 2000).

No tocante ao estágio reprodutivo, este se apresenta bastante sensível à deficiência hídrica, visto que, neste momento ocorrem diversas e rápidas mudanças metabólicas e morfológicas, que abrangem desde o tamanho, peso e cor das sementes, além de vários processos celulares os quais compreendem a expansão celular e, posteriormente, o estágio de início da dessecação. De modo que, o estágio reprodutivo apresenta-se como bastante exigente quanto à disponibilidade hídrica para a formação dos frutos, bem como enchimento das sementes, caracterizando-se tais etapas essenciais para a obtenção de uma excelente produção vindoura (DOGAN et al., 2007; AGRAWAL et al., 2008; HOSSAIN et al., 2014).

## **2.5 Caracterização fisiológica das plantas sob estresse por déficit hídrico**

Com as mudanças climáticas globais, a água tem se tornado o recurso mais limitante para a produtividade vegetal. O estresse hídrico é definido como um fator externo o qual atua sobre as plantas de maneira desvantajosa, sendo o mesmo causado pela escassez ou pelo excesso de água. Por conseguinte, a produtividade das plantas está diretamente relacionada com a disponibilidade hídrica, sendo determinante para a distribuição das espécies vegetais. Em função disso, muitas espécies têm desenvolvido uma série de adaptações morfofisiológicas, bioquímicas e moleculares necessárias a sua sobrevivência em meio a essa escassez de água (DIAZ-LÓPEZ et al., 2012; TAIZ et al., 2017).

A tolerância à seca é um dos mecanismos de resistência ao déficit hídrico o qual permite à planta manter seu metabolismo, mesmo com potencial hídrico de seus tecidos reduzido, bem como resulta na capacidade antioxidante das plantas em inativar as espécies reativas de oxigênio. Esse mecanismo resulta geralmente em modificações nas plantas tais como mudanças nos processos morfofisiológicos, bioquímicos e moleculares, os quais resultam em distúrbios no funcionamento vegetal tais como redução do acúmulo de massa, crescimento das plantas, dimensão e número de folhas,

além de diminuição do crescimento do caule (ANGELOVA, 2000; VELLINI et al., 2008; PINCELLI, 2010; TAIZ et al., 2017; KAPOOR et al., 2020).

A área foliar também é uma variável sensível às baixas condições hídricas do solo. Sua redução permite uma diminuição da transpiração evitando, assim, a perda de água, entretanto, concomitante pode diminuir a taxa fotossintética e, portanto, reduzir a produtividade das culturas. Logo, o estresse por déficit hídrico ocasiona redução nos processos fisiológicos como transpiração, fotossíntese e condutância estomática (GONÇALVES et al., 2010; TAIZ et al., 2017; KAPOOR et al., 2020).

A fotossíntese nas plantas C3 é particularmente sensível à deficiência hídrica, visto que, a fim de conservar água no interior da planta, ocorre o fechamento estomático, que afeta a assimilação do carbono atmosférico e, conseqüentemente, a fixação pela enzima ribulose 1,5 bifosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco), ocorrendo, portanto, a diminuição da fotossíntese e da produtividade das culturas (LAWLOR; TEZARA, 2009; GALMÉS et al., 2011; TAIZ et al., 2017).

O estresse por déficit hídrico também ocasiona redução das clorofilas, essenciais ao processo fotossintético, cuja função é a captação da energia luminosa através dos complexos coletores de luz para os centros de reações fotoquímicas. As análises do teor estimado de clorofila nos permite avaliar a integridade dos aparatos internos das células em meio ao processo fotossintético, sendo esperado que plantas que mantêm maiores conteúdos de pigmentos fotossintéticos, sob condições hídricas reduzidas, possuem maior capacidade de tolerar tal condição (O'NEILL; SHANAHAN; SCHEPERS, 2006; TAIZ et al., 2017).

A análise da fluorescência da clorofila é utilizada na compreensão dos mecanismos fotossintéticos alterados por estresses abióticos, a qual indica se a energia absorvida pelas clorofilas está sendo utilizada pelo fotossistema II, avaliando o desempenho fotossintético. Sendo assim, a redução da relação  $F_v/F_m$  é um indicador de fotoinibição quando as plantas estão submetidas a qualquer tipo de estresse, podendo representar uma regulação protetora reversível ou uma inativação irreversível do PSII. Sob condições de déficit hídrico, a capacidade fotossintética é reduzida e, em consequência disso, menores quantidades de energia luminosa são aproveitadas para a produção de energia química, ocorrendo, portanto, um aumento da suscetibilidade à fotoinibição, a qual é caracterizada por reduções no rendimento quântico do fotossistema II (MAXWELL; JOHNSON, 2000; SILVA et al., 2007; OUKARROUM et al., 2007; SALES et al., 2013).

A deficiência hídrica juntamente com a alta luminosidade provocam nas plantas uma desordem de energia devido ao excesso de elétrons nos sistemas de transporte dos tilacóides, bem como dos fotossistemas, o que gera uma alta excitação nos centros de reação dos fotossistemas II e I (PSII e PSI), aumentando, assim, a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) nos cloroplastos (CARVALHO, 2008).

Nesse sentido, as condições adversas como deficiência hídrica, altas temperatura e luminosidade, concederam às plantas o desenvolvimento de respostas metabólicas. Em especial, plantas submetidas a estresse hídrico, associado à alta luminosidade, apresentam excesso de elétrons, em razão da redução da taxa fotossintética. O excesso de elétrons faz com que estes reajam com o oxigênio molecular ( $O_2$ ) aumentando a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs). As principais formas de EROs são: radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), radical hidroxila ( $OH^{\cdot}$ ) e oxigênio singlete ( $^1O_2$ ) (CARVALHO, 2008; TAIZ et al., 2017).

Quando em altas concentrações, as EROs ocasionam a fotoinibição, fotoxidação, bem como a peroxidação dos lipídeos das membranas, além da desnaturação de proteínas (CARVALHO, 2008; TAIZ et al., 2017).

O estresse oxidativo corresponde ao efeito negativo da ação das EROs, causador dos danos fotoinibitórios e fotoxidativo em plantas sob condições deficiência hídrica (ASADA, 1999). Em virtude do estresse oxidativo ocorre a peroxidação dos lipídios das membranas, a qual é responsável por formar vários produtos secundários que intensificam o dano, cujo principal é o ácido malondialdeído (MDA). O MDA é um poderoso marcador molecular que caracteriza e determina a peroxidação lipídica das membranas celulares de plantas sob condições de estresse abióticos (GILL; TUTEJA, 2010; SHARMA et al., 2012). Esses produtos formados pela peroxidação lipídica reagem com o DNA e proteínas promovendo desarranjo em suas moléculas, o que gera danos irreversíveis como a perda do funcionamento celular, em especial, a permeabilidade seletiva, bem como a perda da fluidez das membranas, aumento do extravasamento, inativação dos receptores das membranas (GILL; TUTEJA, 2010; SHARMA et al., 2012).

A inativação das EROs é realizada pelo sistema antioxidante, formado principalmente pelas enzimas: superóxido desmutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) (ASADA, 1999). A primeira barreira enzimática do estresse oxidativo é a enzima superóxido dismutase, a qual é encontrada em todos os compartimentos celulares, desde mitocôndrias, cloroplastos, peroxissomas,

glioxissomas, apoplasto, bem como citosol. Além disso, sua produção ocorre em todos os lugares cuja cadeia transportadora de elétrons se encontra (GILL; TUTEJA, 2010). A SOD é uma metaloproteína multimérica que possui função única de eliminar a toxidez causada pelo radical  $O_2^{\bullet-}$ , de modo que, do produto de sua quebra forma-se o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), substância menos tóxica à célula, a qual é eliminada em seguida através das enzimas catalase e ascorbato peróxidase (GILL; TUTEJA, 2010; SHARMA et al., 2012).

A segunda enzima de proteção é a catalase, uma enzima tetramérica que contém um grupo heme. Essa enzima possui um sistema de prevenção mais simplificado atuando diretamente na eliminação do peróxido de hidrogênio. A principal localização da CAT é nos peroxissomos, mas também pode ser encontrada nos glioxissomos, citosol e mitocôndrias (GARA, 2004; ASADA 2006; CARVALHO, 2008).

Por fim, a proteção oxidativa é finalizada com a presença da enzima ascorbato peroxidase, a qual é encontrada em plantas superiores, clorófitas e algas vermelhas, cuja localização nos vegetais ocorre no citosol, membranas dos peroxissomos, bem como cloroplastos (ASADA, 1999; GILL; TUTEJA, 2010). A APX é pertencente à classe I da super-família de heme-peroxidases, grupo prostético da protoporfirina, cuja regulação é realizada pelo sinal redox de  $H_2O_2$ . A enzima APX possui uma alta especificidade pelo ascorbato como substrato redutor. Além disso, a mesma tem a função de catalisar a redução do peróxido de hidrogênio onde ocorre a oxidação de ascorbato em monodeidroascorbato (MDHA) e  $H_2O$ , sendo o ascorbato regenerado pelo ciclo Halliwell-Asada (ASADA, 1999; GARA, 2004; GILL; TUTEJA, 2010; SHARMA et al., 2012).

## **2.6 A deficiência hídrica na cultura da soja**

A soja é uma das mais importantes culturas em todo o mundo, por ser fonte de óleo vegetal, bem como de proteína. Estudos acerca de *Glycine max* (L.) Merr vem sendo bastante ampliados em virtude do seu crescimento de cultivo, bem como da sensibilidade às condições de seca, uma vez que esta afeta consideravelmente o rendimento dos grãos de soja, de modo que as plantas podem vir a tolerar ou não pequenos períodos de baixa disponibilidade hídrica (MORANDO et al., 2014; GALÃO et al., 2014; IQBAL et al., 2019).

Segundo EMBRAPA (2013) a demanda hídrica na cultura da soja aumenta de acordo com seu desenvolvimento, a qual se situa entre 450 a 850 mm de água durante

seu ciclo de vida, de modo que, a redução da disponibilidade hídrica acarreta sérios prejuízos no rendimento da cultura, principalmente nos estádios de maior consumo de água como a germinação das sementes, floração e enchimento do grão (PARDO et al., 2015; BARBIERI et al., 2020).

O déficit hídrico pode ocasionar danos à cultura da soja em determinados estádios de desenvolvimento, principalmente, durante a produção e desenvolvimento das sementes, ocasionando redução na duração das fases, bem como no número e tamanho das sementes, além de ocorrer alterações na sua composição química (ALBRECHT et al., 2008; KRISHNAN et al., 2014). Além disso, a falta de água durante a fase de florescimento é um dos principais causadores de abortamento floral, impedindo a antese (CASAGRANDE et al., 2001).

O estágio reprodutivo também chamado de pós-florescimento é bastante sensível à seca, de modo que, a falta de água nesta etapa afeta diretamente o rendimento dos grãos em virtude do grande abortamento de flores mediante o estresse. Ademais, é frequente a diminuição no número e tamanho de grãos, em razão do menor período de enchimento de grãos, bem como a perda da qualidade dos mesmos e aceleração da senescência foliar, comprometendo a produtividade da sojicultura (NEUMAIER et al., 2000).

Diante dos problemas ocasionados pela restrição hídrica na cultura da soja, diversas pesquisas têm sido realizadas com a finalidade de minimizar os danos ocasionados à sua produção. Isto pode favorecer o seu cultivo mesmo em regiões de disponibilidade hídrica reduzida, tornando-as plantas mais tolerantes e promovendo menores perdas sob tais condições ambientais. Dentre estas pesquisas têm se destacado a utilização de biorreguladores vegetais, os quais vêm obtendo excelentes resultados a partir de sua aplicação exógena.

## **2.7 Fitormônio: Brassinosteroides (BRs)**

Os hormônios são definidos como mensageiros químicos cuja produção dá-se em uma célula que controla os processos celulares em outra célula, através de proteínas específicas as quais funcionam como receptores ligados a rotas de transdução de sinais e, semelhantemente aos hormônios animais, a maior parte dos hormônios vegetais ativam respostas em células-alvo em pequenas concentrações (DAVIES, 1995; TAIZ et al., 2017).

O termo hormônio deriva do grego *horman* que significa estímulo, sua utilização em fisiologia vegetal foi proveniente do conceito de hormônio animal abrangendo um local específico de síntese, condução pelo sistema vascular até às células-alvo, bem como o controle das respostas fisiológicas nas células em questão por meio da concentração do hormônio (TREWAVAS; CLELAND, 1983).

A regulação do desenvolvimento vegetal ocorre por meios de diversos fitormônios. Inicialmente eram conhecidos cinco tipos de hormônios vegetais tais como as auxinas (Axs), giberelinas (GAs), citocininas (CKs), etileno (Et), ácido abscísico (ABA). Mediante estudos realizados há pouco tempo, outros hormônios denominados de novos hormônios foram descobertos como os jasmonatos (JAs), brassinosteroides (BRs), ácido salicílico (SA) e poliaminas (PELEG; BLUMWALD, 2011; TAIZ; ZIEGER, 2004; TAIZ et al., 2017).

Em relação aos brassinosteroides, estes têm se destacado em razão de sua múltipla atividade nas plantas. Os BRs pertencem ao grupo dos hormônios esteroidais, relatados há muito tempo em espécies animais, sendo, recentemente, encontrados em vegetais, os quais biossintetizam diversos esteroides com funções hormonais (STEFFENS, 1991; KIM; WANG, 2010; FRIDMAN; SAVALDI-GOLDSTEIN, 2013).

Inicialmente, os brassinosteroides foram denominados brassinas, em razão da primeira atividade promotora do crescimento ter sido encontrada em extrato de pólen de *Brassica napus* (canola). Análises de raio X permitiram classificá-la como a substância mais bioativa. Estudos posteriores puderam designá-la brassinolídeo, um composto esteróide poli-hidroxilado semelhante aos hormônios esteroides animais (KIM; WANG, 2010; ALI, 2017; TAIZ et al., 2017).

Os BRs são bastante distribuídos no reino vegetal desde gimnospermas, algas, monocotiledôneas e dicotiledoneas, são sintetizados em diversos locais das plantas, desde flores, folhas, raízes, cujas maiores concentrações são encontradas em sementes imaturas, pólen e nos frutos (GOMES, 2011; ALI, 2017; TAIZ et al., 2017).

Pesquisas acerca dos brassinosteroides exógenos foram realizadas, das quais puderam identificar que plantas mutantes deficientes em BRs encontrados em *Arabidopsis thaliana* possuíam vários defeitos em seu crescimento, como nanismo, coloração verde-escura em suas folhas, bem como retardamento da floração e esterilidade masculina (KIM; WANG, 2010). Mediante a isso, os brassinosteroides destacaram-se, passando a serem considerados como hormônios essenciais aos processos fisiológicos, bem como em diversos processos de desenvolvimento, desde a

divisão e o alongamento celular, diferenciação, fotomorfogênese, desenvolvimento reprodutivo, germinação das sementes, senescência foliar, além de modulação da expressão gênica e resistência a estresses (KIM; WANG, 2010; FRIDMAN; SAVALDI-GOLDSTEIN, 2013; WEI; LI, 2016; TAIZ et al., 2017).

Devido a sua grande importância e visando o aumento da estabilidade do BR, bem como a redução dos custos de sua síntese, muitos análogos foram produzidos. Atualmente, cerca de 69 compostos esteroides foram isolados de 64 espécies vegetais dentre elas, 53 angiospermas (12 monocotiledôneas e 41 dicotiledôneas), bem como 6 gimnospermas, 1 pteridófito (*Equisetum arvense*), 1 briófito (*Marchantia polymorpha*), além de 3 espécies de algas (*Chlorella vulgaris*, *Cystoseira myrica* e *Hydrodictyon reticulatum*) (BAJGUZ, 2011; ALI, 2017).

Os brassinosteroides derivam de hidroxilados de colestano, cujas substituições nos anéis A e B, bem como de um grupo alquilo da cadeia lateral C-17, desencadeiam variações estruturais podendo ser classificados como C<sub>27</sub>, C<sub>28</sub> ou C<sub>29</sub> BR, a depender do comprimento da cadeia (BAJGUZ; TRETYN, 2003).

Os BRs derivam da rota sintética de óleos vegetais por meio da oxidação, hidroxilação, bem como redução de campesterol, dando origem ao brassinolídeo, composto precursor dos brassinosteroides (KLAHRE, 1998; CHUNG; CHOE, 2013). A síntese dos BRs ocorre a partir do campesterol e silosterol, localizados nas membranas vegetais em altas concentrações, em cuja rota de biossíntese, o esterol campesterol é convertido em campestanol, sendo posteriormente convertido em catasterona, e esta em brassinolídeo (ALI, 2017; TAIZ et al., 2017).

Os brassinosteroides também têm relações com outros hormônios vegetais, as quais vêm sendo amplamente estudadas, de modo que, os BRs atuam juntamente com outros fitormônios através de uma complexa rede de sinalização por meio de modulação de níveis e sensibilidade desses (MÜSSIG et al., 2002; BAJGUZ, 2014). Atualmente, sabe-se que existem mecanismos específicos de ação coordenada entre os brassinosteroides e demais hormônios vegetais, desde o ácido jasmônico, ácido abscísico, giberelina, auxina e etileno, ácido jasmônico, ácido abscísico, ácido giberélico, auxina e etileno (BAJGUZ, 2014).

Através dos hormônios vegetais várias outras substâncias com a mesma função na planta são produzidas sinteticamente. Pesquisas realizadas atualmente têm-se utilizado bastante de biorreguladores, substâncias sintéticas com ação de regular o crescimento de sementes e plantas semelhantemente a dos fitormônios. Os biorreguladores vêm sendo

muito utilizados na forma de bioestimulante, isto é, a combinação do biorregulador com aminoácidos, nutrientes, vitaminas, entre outros (KLOEPPER, 2014).

Os brassinolídeos 24-epibrassinolídeo e o 28-homobrassinolideo são os BRs mais utilizados em pesquisas. Tais biorreguladores se destacaram por apresentar os melhores resultados encontrados nos bioensaios. Em virtude da maior estabilidade encontrada e menores custos para sua produção, tanto o 24-epibrassinolídeo quanto o 28-homobrassinolideo são os biorreguladores em maior uso atualmente (ALI, 2017). De acordo com Saini; Sharma; Pati (2015), o 24-epibrassinolídeo é o BR que mais apresentou respostas positivas na germinação das sementes, desenvolvimento das plântulas e principalmente na atenuação dos efeitos causados pelos estresses bióticos e abióticos nas plantas.

## **2.8 Sinalização dos Brassinosteroides**

Estudos acerca da sinalização dos BRs ainda são recentes, sendo essenciais para a compreensão do mecanismo que promove à resistência às plantas. Atualmente sabe-se que a sinalização abrange a percepção do receptor de membrana contido na célula, sendo, posteriormente, ativada várias reações de fosforilação (FRIDMAN; SAVALDI-GOLDSTEIN, 2013; HU, YU; 2014; SAINI; SHARMA, 2015). Os BRs são transportados e utilizados em regiões próximas à célula, sendo translocados do seu local de síntese para a membrana plasmática onde ocorre a percepção, através de transporte intracelular de forma passiva ou ativa, além disso, em razão do cross-talk com outros hormônios, os BRs podem atuar em distâncias maiores (FRIDMAN; SAVALDI-GOLDSTEIN, 2013; SAINI; SHARMA, 2015; WEI; LI, 2016).

Muitas alterações moleculares complexas iniciam-se após a percepção dos BRs na superfície da célula. O BR é percebido pela BRI1, principal receptor brassinosteroid-insensitive 1, domínio extracelular da membrana plasmática de três quinases receptoras leucinerina (LRR), a qual funciona com o seu co-receptor BAK1, bem como dois homólogos BRI1-LIKE 1 (BRL1) e (BRL3). Após a ligação do BR ao domínio extracelular de BRI1 ocorre a ativação do domínio citoplasmático de quinase, o qual fosforila um regulador negativo e posterior BRI1 quinase inibidor 1 (BKI1). Na transmissão do sinal pela membrana plasmática, uma cascata de alterações moleculares ocorre degradando a quinase GSK3, insensitive brassinosteroid2 (BIN2), sendo este o principal inibidor da via (FRIDMAN; SAVALDI-GOLDSTEIN, 2013; WEI; LI, 2016).

Na presença de baixas concentrações de BR, os níveis de BIN2 elevam, ocorrendo fosforilação e inibição dos fatores homólogos de transcrição, brassinazole resistente1 (BZR1) e BRI1-EMS-supressor1 (BES1)/BZR2. Entretanto, ao ocorrer aumento na concentração do hormônio, alterações conformacionais no BRI1 são realizadas, promovendo uma cascata de autofosforilação e trans-fosforilação. Após a fosforilação do BRI1, este se dissocia da membrana plasmática, de modo que o BRI1 atrai o seu co-receptor da quinase 1 associada a BRI1 (BAK1), um LRR-RLK, diferente do BRI1, que torna ativo o receptor, desencadeando, portanto, a degradação do BIN2. Tal degradação ocasiona a desfosforilação de BZR1 e BES1/BZR2 por uma proteína fosfatase 2A (PP2A), acumulando-se no núcleo onde ocorre a homo ou heterodimerização, bem como a ligação do DNA a cis-elements, regulando a expressão de diversos genes (FRIDMAN; SAVALDI-GOLDSTEIN, 2013; WEI; LI, 2016).

O produto resultante da biossíntese do BR é o brassinolideo (BL), cujos estudos atuais revelam que os domínios extracelulares de BAK1 E SERK1 estão relacionados de maneira direta na ligação do brassinolideo no momento do reconhecimento com o receptor. Além disso, pesquisas têm sugerido que as alterações moleculares acerca da sinalização do BR podem estar envolvidas nas respostas de tolerância aos diferentes estresses (KRISHNA, 2003; FRIDMAN; SAVALDI-GOLDSTEIN, 2013; WEI; LI, 2016).

## **2.9 Aplicação de 24-Epibrassinolideo (EBL) e respostas das plantas sob estresse hídrico**

Dentre as principais características dos BRs estão o aumento da resistência das plantas aos estresses bióticos e abióticos, incluindo patógenos, altas ou baixas temperaturas, altas salinidades, restrição hídrica, além de amenizar as deficiências nutricionais, bem como a ação de diversos metais nas plantas. Diversos estudos têm mostrado resultados bastante significativos em relação às respostas das plantas submetidas às condições adversas, confirmando o grande potencial dos brassinosteroides na atenuação dos estresses (KRISHNA, 2003; JAVID et al., 2011; VARDHINI, 2012; BAJGUZ, 2013).

Os mecanismos de ação dos brassinosteroides mediante aos diversos tipos de estresses ainda permanecem parcialmente indefinidos, isso se deve à complexidade da integração de sinais de BRs, isto é, as ativações gênicas, em diversas outras redes de

sinalização que estão associadas ao processo de alívio dos estresses (SHARMA; KAUR; PATI, 2017).

Diferentes trabalhos mostram resultados positivos na aplicação exógena de 24-Epibrassinolídeo (EBL) na recuperação do crescimento e produção das plantas sob estresse hídrico. Khan et al. (2020) estudando trigo observaram que o EBL melhorou o crescimento da planta tanto em condições normais como de seca. Em plantas estressadas o EBL melhorou a altura das plantas e produção dos grãos. Xiong et al. (2016) também observaram aumento na altura da planta em ervilhas e na sua produtividade após aplicação exógena de EBL sob estresse hídrico.

A aplicação exógena de EBL pode contribuir na melhoria da capacidade fotossintética das plantas sob estresse hídrico. Essas melhorias podem estar relacionadas a fatores estomáticos ou não estomáticos, ou uma combinação destes como relatada em estudos de diferentes culturas (TALAAT; SHAWKY, 2016; LIMA; LOBATO, 2017; ANWAR et al., 2018; TANVEER et al., 2019; KHAN et al., 2020). Segundo Tanveer et al. (2019) a aplicação de EBL pode melhorar o processo de captação de luz e fixação de carbono sob estresse hídrico, melhorando o conteúdo de clorofila, fluorescência da clorofila e também pelo desencadeamento das atividades de enzimas envolvidas na fotossíntese.

Em estudo em feijão-caupi, Lima e Lobato (2017) relataram que a aplicação de EBL em plantas sob estresse hídrico contribuiu no aumento das taxas de clorofilas e melhorou a eficiência de trocas gasosas no processo de fixação de carbono, além de manter maior eficiência do PSII. Os autores sugerem que o EBL contribuiu com a maior eficiência da captura de energia luminosa e melhoria na cadeia de transporte de elétrons. Em trigo sob estresse hídrico a aplicação foliar de EBL melhorou positivamente a acumulação de osmólitos, aumentou as quantidades de pigmentos fotossintéticos e melhorou os parâmetros de trocas gasosas (KHAN et al., 2020). Thussagunpanit et al. (2015) estudaram os mecanismos de ação da EBL em plantas de arroz e relataram um aumento significativo de  $\Phi$ PSII nas plantas tratadas com EBL. Em plantas de milho sob estresse hídrico, a aplicação exógena de BR aumentou o acúmulo de clorofila, a atividade da amilase, a condutância estomática, capacidade fotossintética e a estabilidade da membrana (TALAAT; SHAWKY, 2016).

Em tomate sob estresse salino, as plantas pré-tratadas com EBL apresentaram maior síntese de clorofilas e carotenoides, bem como melhora nas trocas gasosas como condutância estomática, fotossíntese e concentração intercelular de CO<sub>2</sub>. Além de

melhorar também o funcionamento da eficiência quântica máxima do (Fv/Fm), e efetiva do fotossistema II ( $\Phi$ PSII), além da taxa de transporte de elétrons (ETR) (AHANGER et al., 2020). O BR estimula a resistência ao brassinazol 1 (BZR1)/BRI1-EMS Suppressor 1 (BES1), fatores de transcrição que ativam milhares de genes direcionados ao BR, regulando assim as atividades das enzimas antioxidantes, o conteúdo de clorofila, a capacidade fotossintética e aumentam o crescimento da planta sob estresse (ANWAR et al. 2018).

Zhao et al. (2016) estudando trigo sob estresse hídrico e térmico observaram que as menores reduções na fotossíntese e Fv/Fm foram em plantas pré-tratadas com EBL. Nesse estudo, os autores observaram que o EBL melhorou a eficiência da fixação de carbono fotossintético e aumentou o estado de ativação da enzima fotossintética Rubisco, sugerindo que o EBL está envolvido na regulação de ativação da RubisCO, o que protegeu o aparato fotossintético de plantas de trigo sob estresse. De acordo a Anwar et al. (2018), o EBL promove o acúmulo de clorofilas e melhora a capacidade fotossintética ao regular uma variedade de enzimas, incluindo clorofilase e RubisCO, além de níveis de transcrição e codificação de genes envolvidos na clorofila e fotossíntese em plantas sob estresse.

### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHANGER, M.A., MIR, R.A., ALYEMENI, M.N. & AHMAD, P. Combined effects of brassinosteroid and kinetin mitigates salinity stress in tomato through the modulation of antioxidant and osmolyte metabolism. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.147, p. 31–42, 2020.

ALI, B. Practical applications of brassinosteroids in horticulture - Some field perspectives. **Scientia Horticulturae**, v. 225, p. 15–21, 2017.

ANGELOVA, M. B.; PASHOVA, S. B.; SLOSKOSKA, L. S. Comparison of antioxidant enzyme biosynthesis by free and immobilized *Aspergillus nidulans* cells. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 26, p. 544-549, 2000.

ANWAR, A., LIU, Y., DONG, R., BAI, L., YU1, X., LI1, Y. The physiological and molecular mechanism of brassinosteroid in response to stress: a review. **Biological Research**, v. 51, 2018.

ASADA, K. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of reactive oxygens and dissipation of excess photons. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, v. 50, p. 601-639, 1999.

BAJGUZ, A. Brassinosteroides - ocorrência e estruturas químicas em plantas. Em: **brassinosteróides: uma classe de hormônio vegetal** . Springer, Dordrecht, 2011. p. 1-27.

BAJGUZ, ANDRZEJ; HAYAT, SHAMSUL. Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses. **Plant physiology and biochemistry**, v. 47, n. 1, p. 1-8, 2009.

BAJGUZ, ANDRZEJ; PIOTROWSKA-NICZYPORUK, ALICJA. Interactive effect of brassinosteroids and cytokinins on growth, chlorophyll, monosaccharide and protein content in the green alga *Chlorella vulgaris* (*Trebouxiophyceae*). **Plant physiology and biochemistry**, v. 80, p. 176-183, 2014.

BAJGUZ, A.; PIOTROWSKA-NICZYPORUK, A. Synergistic effect of auxins and brassinosteroids on the growth and regulation of metabolite content in the green alga *Chlorella vulgaris* (*Trebouxiophyceae*). **Plant physiology and biochemistry**, v. 71, p. 290-297, 2013.

BAJGUZ, Andrzej; TRETYN, Andrzej. The chemical characteristic and distribution of brassinosteroids in plants. **Phytochemistry**, v. 62, n. 7, p. 1027-1046, 2003.

BARBIERI, J. D. Influência da Cobertura do Solo na Evapotranspiração e Coeficientes Duplos de Safra na Soja. **Journal of Experimental Agriculture International**, p. 111-125, 2020.

BEZERRA, A.R.G.; et al. Botânica e Fenologia. In: SEDIYAMA, T.; SILVA, F.; BORÉM, A. (Ed.) **Soja: do plantio à colheita**. UFV, Viçosa, 2015, p. 09-26.

BOEREMA, A.; PEETERS, A.; SWOLFS, S.; VANDEVENNE, F.; JACOBS, S.; STAES, J.; MEIRE, P. Annelies et al. Soybean Trade: Balancing Environmental and Socio-Economic Impacts of an Intercontinental Market. **Plos One**, v. 11, n. 5, p. 1-13, 2016.

CARVALHO, M.H.C. de. Drought stress and reactive oxygen species. **Plant Signal Behav**, v. 3, p. 156-165, 2008.

CHOUDHARY, S. P.; YU, J. Q.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K.; TRAN, L. S. P. Benefits of brassinosteroid crosstalk. **Trends in plant science**, v. 17, n. 10, p. 594-605, 2012.

CHUNG, Yuhee; CHOE, Sunghwa. The regulation of brassinosteroid biosynthesis in Arabidopsis. **Critical reviews in plant sciences**, v. 32, n. 6, p. 396-410, 2013.

CONAB & MAPA (2011). **Acompanhamento da safra brasileira: grãos**, nono levantamento, Agosto 2011.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Perspectivas para agropecuária (Safra 2021/2022)**, v. 9, p. 85, 2021. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>, acesso em 12/10/2021.

DALL'AGNOL, A.; ROESSING, A. C.; LAZZAROTTO, J. J.; HIRAKURI, M. H.; OLIVEIRA, A. B. **O complexo agroindustrial da soja brasileira**. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 12 p. (Circular Técnica, 43).

DAVIES, P. J. The plant hormone concept: concentration, sensitivity and transport. In: **Plant hormones**. Springer, Dordrecht, 1995. p. 13-38.

DESOKY, E. S. M.; MANSOUR, E.; ALI, M. M. A.; YASIN, M. A. T.; ABDUL-HAMID, M. I. E.; RADY, M. M.; ALI, E. F. Exogenously Used 24-Epibrassinolide

Promotes Drought Tolerance in Maize Hybrids by Improving Plant and Water Productivity in an Arid Environment. **Plants**, 10, 354, 2021. <https://doi.org/10.3390/plants10020354>

DIAZ-LOPEZ, L. GIMENO, V. SIMON, I. GARCÍA-SÁNCHEZ, F. *Jatropha curcas* seedlings show a water conservation strategy under drought conditions based on decreasing leaf growth and stomatal conductance. **Agricultural water management**, v. 105, p. 48-56, 2012.

DOBRIKOVA, A. G.; VLADKOVA, R. S.; RASHKOV, G. D.; TODINOVA, S. J.; KRUMOVA, S. B.; APOSTOLOVA, E. L. Effects of exogenous 24-epibrassinolide on the photosynthetic membranes under non-stress conditions. **Plant physiology and biochemistry**, v. 80, p. 75-82, 2014.

DONG, S.; JIANG, Y.; DONG, Y.; WANG, L.; WANG, W.; MA, Z.; YAN, C.; MA, C.; LIU, L. A study on soybean responses to drought stress and rehydration. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v.26, n.8, p.2006-2017, 2019.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **A história da soja**. 2016. Disponível em:<<https://www.embrapa.br/web/portal/soja/cultivos/soja1/historia>>. Acesso em: 25 fev. 2019.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Soja em números** (safra 2020/21). 2021. Disponível em:< <https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos> >. Acesso em: 02 nov. 2021.

EMBRAPA. Brazilian Agricultural Research Corporation. Brazilian system of soil  
EMBRAPA. **Tecnologias de Produção de Soja – Região Central do Brasil 2014**. Londrina: Embrapa, 2013. 265 p. (Sistemas de produção, 16).

ESCOBAR, N. Pegadas espacialmente explícitas de commodities agrícolas: mapeando as emissões de carbono incorporadas às exportações de soja do Brasil. **Mudança Ambiental Global**, v. 62, p. 102067, 2020.

FAO, Food and Agriculture Organisation. OECD/FAO (2015), “**Panorama Agrícola OECD-FAO**”, estatísticas agrícolas da OECD (base de dados). Disponível em:<[dx.doi.org/10,1787/agr-outldata-em](https://dx.doi.org/10.1787/agr-outldata-em)> Acesso em mar de 2019.

FRIDMAN, Y.; SAVALDI-GOLDSTEIN, S. Brassinosteroids in growth control: how, when and where. **Plant science**, v. 209, p. 24-31, 2013.

GALÃO, O. F. Differences of fatty acid composition in Brazilian genetic and conventional soybeans (*Glycine max* (L.) Merrill) grown in different regions. **Food research international**, v. 62, p. 589-594, 2014.

GALMÉS, J.; RIBAS-CARBO, M.; MEDRANO, H.L.; FLEXAS, J. Rubisco activity in Mediterranean species is regulated by the chloroplastic CO<sub>2</sub> concentration under water stress. **Journal of Experimental Botany**, v.62, n.2, p. 653-665, 2011.

GARA D. L. Class III peroxidases and ascorbate metabolism in plants. **Phytochem Rev**, 3:195–205, 2004.

GAZZONI, D. L. **Soybean and bees**. Londrina: **Embrapa Soja**, 2016. Disponível em: <https://www.embrapa.br/soja/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1056599/soybean-and-bees>. Acesso em: 11 mar. 2019.

GILL, S. S., TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, p. 909–930, 2010.

GOMES, M. M. A. Physiological effects related to brassinosteroid application in plants. In: **Brassinosteroids: a class of plant hormone**. Springer, Dordrecht, 2011. p. 193-242.

GONÇALVES, E.R. FERREIRA, V.M.; SILVA, J.V.; ENDRES, L.; BARBOSA, T.P.; DUARTE, W.G. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila a em variedades de cana-de-açúcar submetidas à deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 14, n. 4, p.378-386, 2010.

HAY, W. T.. Hay, W. T., Bihmidine, S., Mutlu, N., Le Hoang, K., Awada, T., Weeks, D. P., ... & Long, S. P. (2017). Enhancing soybean photosynthetic CO<sub>2</sub> assimilation using a cyanobacterial membrane protein, ictB. **Journal of plant physiology**, v. 212, p. 58-68, 2017.

HU, YANRU; YU, DIQIU. BRASSINOSTEROID INSENSITIVE2 interacts with ABSCISIC ACID INSENSITIVE5 to mediate the antagonism of brassinosteroids to abscisic acid during seed germination in Arabidopsis. **The Plant Cell**, v. 26, n. 11, p. 4394-4408, 2014.

HUANG, L.; ZHANG, L.; ZENG, R.; WANG, X.; ZHANG, H.; WANG, L.; ZHANG, H.; WANG, L.; LIU, S.; WANG, X.; CHEN, T. Brassinosteroid priming improves peanut drought tolerance via eliminating inhibition on genes in photosynthesis and hormone signaling. **Genes**, v. 11, n. 8, p. 919, 2020.

IQBAL, N., HUSSAIN, S., RAZA, MA, YANG, CQ, SAFDAR, ME, BRESTIC, M., LIU, J.. Drought tolerance of soybean (*Glycine max* L. Merr.) by improved photosynthetic characteristics and an efficient antioxidant enzyme activities under a split-root system. **Frontiers in physiology**, v. 10, p. 786, 2019.

JAVID, M. G.; SOROOSHADEH, A.; MORADI, F.; SANAVY, S. A. M. M.; ALLAHDADI, I. The role of phytohormones in alleviating salt stress in crop plants. **Aust J Crop Sci**. 5: 726:734, 2011.

JUNG, YOUNG SUNG. Uma breve história e análise espectroscópica das isoflavonas de soja. **Food Science and Biotechnology** , p. 1-13, 2020.

KAPOOR, D. O impacto da seca no metabolismo das plantas: como explorar os mecanismos de tolerância para aumentar a produção agrícola. **Ciências Aplicadas** , v. 10, n. 16, pág. 5692, 2020.

KHAMSUK, O., SONJAROON, W., SUWANWONG, S., JUTAMANEE, K., SUKSAMRARN, A. Effects of 24-epibrassinolide and the synthetic brassinosteroid mimic on chili pepper under drought. **Acta Physiol. Plant.** 40 (6), 106, 2018.

KHAN, I., AWAN, S. A., IKRAM, R., RIZWAN, M., AKHTAR, N., YASMIN, H.; SAYYED, R.Z.; ALI, S.; ILYAS, N. Effects of 24-epibrassinolide on plant growth, antioxidants defense system, and endogenous hormones in two wheat varieties under drought stress. **Physiologia Plantarum**, p. 1-11, 2020. Doi: <https://doi.org/10.1111/ppl.13237>.

KIM, T.; WANG, Z. Transdução do sinal brassinoesteróide de receptores quinases para fatores de transcrição. **Revisão anual de biologia vegetal**, v. 61, p. 681-704, 2010.

KLAHRE, U. The Arabidopsis DIMINUTO/DWARF1 gene encodes a protein involved in steroid synthesis. **The Plant Cell**, v. 10, n. 10, p. 1677-1690, 1998.

KRISHNA P. Brassinosteroid-mediated stress responses. **Journal Plant Growth Regulation**. 22:289–97, 2003.

LAWLOR, D.W.; TEZARA, W. Causes of decreased photosynthetic rate and metabolic capacity in water-deficient leaf cells: a critical evaluation of mechanisms and integration of processes. **Annals of Botany**, v.103, p.561-579, 2009.

LIMA, J. V.; LOBATO, A. K. S. Brassinosteroids improve photosystem II efficiency, gas exchange, antioxidant enzymes and growth of cowpea plants exposed to water deficit. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, 23(1), 59-72, 2017.

MAXWELL, K.; JOHNSON, G.N. Chlorophyll fluorescence: a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, v.51, 2000.

MAZORRA, L. M., NUNEZ, M., HECHAVARRIA, M., COLL, F., SÁNCHEZ-BLANCO, M. J. Influence of brassinosteroids on antioxidant enzymes activity in tomato under different temperatures. **Biologia Plantarum**, v. 45, n. 4, p. 593-596, 2002.

MORANDO, R. A. O.; SILVA, L. C.; CARVALHO, M. P. A. Pinheiro. Déficit hídrico: efeito sobre a cultura da soja. **J. Agron. Sci.** 3, 114-129, 2014.

MUJICA, A.; JACOBSEN, S.E.; IZQUIERDO, J.; MARATHEE, J. **Libro de campo prueba americana y europea de la quinoa**. Red de Cooperación Técnica en Producción de Cultivos Alimenticios de la Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe. Puno: FAO, 1998. p.19,21.

MUNDSTOCK, C. M.; THOMAS, A. L. **Soja: Fatores que afetam o crescimento e o rendimento de grãos**. Porto Alegre: Evangraf, 2005. 31 p.

MÜSSIG, C.; FISCHER, S.; ALTMANN, T. Expressão gênica regulada por brassinosteroides. **Fisiologia Vegetal**, v. 129, n. 3, p. 1241-1251, 2002.

NEUMAIER, Norman et al. **Estádios de desenvolvimento da cultura de soja**. Embrapa Soja-Capítulo em livro científico (ALICE), 2000.

NOGUEIRA, A. P. O.; SEDIYAMA, T.; GOMES, J.D. **Avanços no melhoramento genético da cultura da soja nas últimas décadas**. In: LEMES, E; CASTRO, L.; ASSIS, R. (Org.) Doenças da soja: Melhoramento Genético e Técnicas de Manejo. Campinas: Millennium Editora, 2015, p. 159-178.

O'NEILL, P.M.; SHANAHAN, J.F.; SCHEPERS, J.S. Use of chlorophyll fluorescence assessments to differentiate corn hybrid response to variable water conditions. **Crop Science**, v. 46, n. 2, p. 681-687, 2006.

OUKARROUM, A. S. G.; MADIDI, S. E.; STRASSER, R. J. Probing the responses of barley cultivars (*Hordeum vulgare* L.) by chlorophyll a fluorescence OLCJIP under drought stress and re-watering. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 60, p. 438-446, 2007.

PELEG, Z; BLUMWALD, E. Hormone balance and abiotic stress tolerance in crop plants. **Current Opin Plant Biology**, 14:290-295, 2011.

PINCELLI, R. P. **Tolerância à deficiência hídrica em cultivares de cana-de-açúcar avaliada por meio de variáveis morfofisiológicas**. 65f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas, UNESP, Botucatu, 2010.

QIU, LiJuan et al. **A origem e história da soja**. A soja: botânica, produção e usos, p. 1-23, 2010.

SAINI, SHIVANI; SHARMA, ISHA; PATI, PRATAP KUMAR. Papéis versáteis do brassinosteróide em plantas no contexto de sua homeostase, sinalização e crosstalks. **Fronteiras na ciência das plantas**, v. 6, p. 950, 2015.

SALES, C.R.G., RIBEIRO, R.V., SILVEIRA, J.A.G. MACHADO, E. C., MARTINS, M. O., LAGÔA, A. M. M. A. Superoxide dismutase and ascorbate peroxidase improve the recovery of photosynthesis in sugarcane plants subjected to water deficit and low substrate temperature. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 73, p. 326-336, 2013.

SEDIYAMA. T. **Tecnologias de produção e usos da soja**. Londrina: Mecenaz, 2009.

SEIXAS, C. D. S. **Tecnologias de produção de soja**. Embrapa Soja-Sistema de Produção (INFOTECA-E), 2020.

SHAHANA, T.; RAO, P.A.; RAM, S.S.; SUJATHA, E. Mitigation of drought stress by 24- epibrassinolide and 28-homobrassinolide in pigeon pea seedlings. **Int. J. Multidisciplinar**. 3, 904–911, 2015.

SHARMA, A., THAKUR, S., KUMAR, V., KESAVAN, A.K., THUKRAL, A.K., BHARDWAJ, R. 2017. 24-epibrassinolide stimulates imidacloprid detoxification by modulating the gene expression of *Brassica juncea* L. **BMC Plant Biology**, v. 17, p. 56, 2017.

SHARMA, ISHA; KAUR, NAVDEEP; PATI, PRATAP K. Brassinosteroids: uma opção promissora na decifração de estratégias corretivas para tolerância ao estresse abiótico em arroz. **Fronteiras na ciência das plantas**, v. 8, p. 2151, 2017.

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

SILVA, M.A.; JIFON, J.L.; SILVA, J.A.G.; SHARMA, V. Use of physiological parameters as fast tools to screen for drought tolerance in sugarcane. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 19, p. 193-201, 2007.

STEFFENS, G. L. 1991 U.S. Department of Agriculture brassins Project: 1970-1980. In Brassinosteroids: Chemistry, Bioactivity and Applications, H. G. Cutler, T. Yokota and G. Adam, **American Chemical Society**, Washington, DC, pg. 2-17.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888 p.

TALAAT NB, SHAWKY BT. Dual application of 24-epibrassinolide and spermine confers drought stress tolerance in maize (*Zea mays* L.) by modulating polyamine and protein metabolism. **Journal Plant Growth Regulation**. 35:518–33, 2016.

TANVEER, M.; SHAHZAD, B.; SHARMA, A.; KHAN, E. A. 24-Epibrassinolide application in plants: An implication for improving drought stress tolerance in plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 135, p. 295-303, 2019.

THUSSAGUNPANIT, J., JUTAMANEE, K., KAVEETA, L., CHAI-ARREE, W., PANKEAN, P., HOMVISASEVONGSA, S., SUKSAMRARN, A. 2015. Comparative effects of brassinosteroid and brassinosteroid mimic on improving photosynthesis, lipid peroxidation, and rice seed set under heat stress. **Journal Plant Growth Regulation**, 34 (2), 320–331.

TREWAVAS, Anthony J.; CLELAND, Robert E. Is plant development regulated by changes in the concentration of growth substances or by changes in the sensitivity to growth substances?. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 8, n. 10, p. 354-357, 1983.

VARDHINI, B. V.; SUJATHA, E.; RAO, S. S. R. Influence of brassinosteroids on metabolites of *Raphanus sativus* L. **Journal of Phytology**, v. 4, n. 2, 2012.

VELLINI, A. L. T. T.; ALVES, N. F.; PAVANI, P. L. C. A.; BONINE, L. C. SCARPINATI, C. A. V.; APARECIDO, E.; RINALDO CESAR, P.. Respostas fisiológicas de diferentes clones de eucalipto sob diferentes regimes de irrigação. **Revista Árvore**, v. 32, n. 4, p.651-663, 2008.

VENTURA, F., MARLETTO, V., TRAINI, S., TOMEI, F., BOTARELLI, L., ROSSI, P.. Validation of development models for winter cereals and maize with independent agrophenological observations in the BBCH scale. **Italian Journal of Agrometeorology**. v. 3, p. 17-26, 2009.

WEI, Z.; LI, J. Os brassinosteróides regulam o crescimento, o desenvolvimento e a simbiose das raízes. **Planta molecular**, v. 9, n. 1, p. 86-100, 2016.

WU, ZHISHAN. O pulgão da soja na China: uma revisão histórica. **Anais da Sociedade Entomológica da América**, v. 97, n. 2, p. 209-218, 2004.

XIONG, J.-L., KONG, H.-Y., AKRAM, N.A., BAI, X., ASHRAF, M., TAN, R.-Y., ZHU, H., SIDDIQUE, K.H., XIONG, Y.-C., TURNER, N.C. 24-epibrassinolide increases growth, grain yield and  $\beta$ -ODAP production in seeds of well-watered and moderately water-stressed grass pea. **Plant Growth Regulation**, 78, 217–231, 2016.

ZHANG, M.; ZHAI, Z.; TIAN, X. Brassinolide alleviated the adverse effect of water deficits on photosynthesis and the antioxidant of soybean (*Glycine max* L.). **Plant Growth Regulation**, 56:257–264. <https://doi.org/10.1007/s10725-008-9305-4>

ZHAO, Z. XU, H., ZHANG, P., SU, ZHAO, H. Effects of 2,4-epibrassinolide on photosynthesis and Rubisco activase gene expression in *Triticum aestivum* L. seedlings under a combination of drought and heat stress. **Plant Growth Regulation**, v. 81, p. 377–384, 2017.

## CAPÍTULO II

### INFLUÊNCIA DA APLICAÇÃO FOLIAR DE 24-EPIBRASSINOLÍDEO NO CRESCIMENTO E MECANISMOS FISIOLÓGICOS EM SOJA NA FASE DE FLORAÇÃO SOB DEFICIÊNCIA HÍDRICA E REIDRATAÇÃO

#### RESUMO

A deficiência hídrica em soja é um dos principais fatores que limitam a produtividade da cultura em todo mundo. A aplicação foliar de 24-epibrassinolídeo (EBL) tem sido usada em diferentes culturas para reduzir os efeitos adversos do estresse hídrico, contudo, estudos ainda são escassos na cultura da soja na fase de floração. Diante disso, esse trabalho tem como objetivo avaliar a eficiência do biorregulador (EBL) sobre o crescimento e mecanismos fisiológicos em soja na fase de floração sob deficiência hídrica e reidratação. O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação utilizando-se a cultivar IMA 84114RR. O delineamento experimental utilizado foi em blocos inteiramente casualizados, em esquema fatorial 2x2 (Regimes hídricos x Aplicação com EBL) com sete repetições. Os regimes hídricos, plantas irrigadas e sob estresse hídrico seguido de reidratação, foram impostos quando as plantas de soja estavam na fase de floração e após pré-tratamento com EBL. Ao longo do experimento foram realizadas análises morfológicas, fisiológicas e de produtividade. O EBL mitigou o efeito do estresse hídrico no crescimento da parte aérea das plantas de soja, que após estresse hídrico seguido de reidratação apresentaram melhor recuperação na altura da planta, número de folhas e diâmetro do caule em relação às plantas sem EBL. O EBL contribuiu com a maior produção de massa seca foliar e do caule das plantas, porém o EBL não melhorou a produtividade da soja. Em plantas irrigadas, o EBL promoveu melhores processos metabólicos como trocas gasosas, eficiência fotossintética e síntese de clorofila o que deve ter contribuído no aumento da biomassa da parte aérea. As plantas tratadas com EBL sob deficiência hídrica apresentaram redução da condutância estomática e fotossíntese semelhantes às sem EBL. As plantas com EBL apresentaram aumento na transpiração e concentração interna de CO<sub>2</sub> sob estresse. A eficiência quântica máxima do fotossistema II (Fv/Fm) não alterou em plantas com e sem EBL independente do estresse. A aplicação foliar do EBL em soja na fase de florescimento amenizou os danos causados pelo déficit hídrico, fato evidenciado devido à redução dos danos fisiológicos como teor relativo de água, potencial hídrico foliar, eficiência

quântica efetiva do fotossistema II ( $\Phi$ PSII) e clorofila total. Dessa forma, o EBL aliviou parcialmente o efeito prejudicial do estresse hídrico em soja na fase de floração, aumentando a atividade das enzimas antioxidantes e reduzindo o extravasamento de eletrólitos e peroxidação lipídica.

**Palavras-chave:** *Glycine max.* Seca. Brassinosteróides. Fotossistema II. Clorofilas. Biomassa.

## ABSTRACT

Soybean water deficit is one of the main factors that limit crop productivity worldwide. The foliar application of 24-epibrassinolide (EBL) has been used in different cultures to reduce the adverse effects of water stress, however, studies are still scarce in the soybean crop in the flowering phase. Therefore, this work aims to evaluate the efficiency of the bioregulator (EBL) on the growth and physiological mechanisms in soybean in the flowering phase under water deficit and rehydration. The experiment was carried out in a greenhouse using the cultivar IMA 84114RR. The experimental design used was in completely randomized blocks, in a 2x2 factorial scheme (Water regimes x Application with EBL) with seven replications. The water regimes, irrigated plants and under water stress followed by rehydration, were imposed when the soybean plants were in the flowering phase and after pre-treatment with EBL. Throughout the experiment, morphological, physiological and productivity analyzes were carried out. EBL mitigated the effect of water stress on the growth of the aerial part of soybean plants, which after water stress followed by rehydration showed better recovery in plant height, number of leaves and stem diameter in relation to plants without EBL. The EBL contributed with the highest production of leaf and stem dry mass of the plants, but the EBL did not improve soybean productivity. In irrigated plants, EBL promoted better metabolic processes such as gas exchange, photosynthetic efficiency and chlorophyll synthesis, which may have contributed to the increase in shoot biomass. Plants treated with EBL under water stress showed a reduction in stomatal conductance and photosynthesis similar to those without EBL. Plants with EBL showed increased transpiration and internal CO<sub>2</sub> concentration under stress. The maximum quantum efficiency of photosystem II (Fv/Fm) did not change in plants with and without EBL regardless of stress. The foliar application of EBL in soybean in the flowering phase alleviated the damage caused by water deficit, a fact evidenced by the reduction of physiological damage such as relative water content, leaf water potential, photosystem II effective quantum efficiency ( $\Phi$ PSII) and total chlorophyll. In this way, EBL partially alleviated the harmful effect of water stress on soybean in the flowering phase, increasing the activity of antioxidant enzymes and reducing electrolyte leakage and lipid peroxidation.

**Keywords:** *Glycine max.* Drought. Brassinosteroids. Photosystem II. Chlorophylls. Biomass.

## 1 INTRODUÇÃO

A soja é uma das culturas mais importantes para o agronegócio mundial. Isso se deve, pois, a cultura possui vasta utilização, com predomínio no complexo soja que abrange a produção de grãos, farelo e óleo de soja, mas também na indústria com a produção de cosméticos, produtos farmacêuticos e siderúrgico (RIBEIRO; SILVA, 2022).

O Brasil destaca-se como o maior produtor e exportador global de grãos de soja, seguido dos Estados Unidos e Argentina. A soja no Brasil é a principal cultura em extensão de área e volume de produção, representando aproximadamente 50% dos 250 milhões de toneladas de grãos produzidos em 2020 no país (CONAB, 2021).

A seca constitui um dos grandes problemas da atualidade que afeta boa parte das áreas de lavouras de soja em todo o mundo, promovendo perdas significativas na produção de grãos (PEREIRA et al., 2019). Na cultura da soja entre os estádios fenológicos estão os períodos de floração e enchimento de grãos, os mais afetados pela seca, podendo reduzir o rendimento dessa cultura entre 30 a 80% (BUEZO et al., 2019). Além disso, a exposição das plantas de soja ao déficit hídrico pode induzir alterações nos processos metabólicos que são afetados negativamente como o crescimento, as trocas gasosas, causando danos aos centros de reações dos fotossistemas I e II (PSI e PSII), bem como inibição da biossíntese de clorofilas (BUEZO et al., 2019), o que promove a redução da biomassa e produtividade da cultura.

Sob condições edafoclimáticas desfavoráveis são selecionados genótipos mais tolerantes à seca e, ao mesmo tempo, vêm-se buscando soluções práticas que amenizem os efeitos do estresse hídrico nas plantas, como o uso de reguladores vegetais, a exemplo da aplicação exógena de brassinosteróides que tem desempenhado papel importante na tolerância ao estresse hídrico em diversas culturas (VARDHINI et al., 2017; TANVEER et al., 2019), como algodão (AHMED et al., 2017), feijão-caupi (LIMA; LOBATO, 2017), pimenta (KHAMSUK et al., 2018), amendoim (HUANG et al., 2020) e trigo (KHAN et al., 2020). Esses estudos demonstram que a utilização desse hormônio pode minimizar os danos fisiológicos e de produção causados pela redução da disponibilidade hídrica em ambientes de cultivo.

Os brassinosteroides são fitormônios vegetais esteroides que desempenham funções importantes em vários processos fisiológicos como divisão e expansão celular, alongamento de caule (NOLAN et al., 2020), além de melhorar as respostas das plantas na adaptação ao estresse abiótico (RIBEIRO et al., 2019; TANVEER et al., 2019;

NOLAN et al., 2020). Entre os brassinosteróides, um dos mais utilizados em estudos em plantas é 24-epibrassinolídeo (EBL), visto que, é um dos que apresenta maior estabilidade, bem como menor custo em sua síntese (VARDHINI et al., 2017; SELDIMIROVA et al., 2017; TANVEER et al., 2019).

O 24-epibrassinolídeo (EBL) tem sido proposto como um tipo de brassinosteróide que aumenta a resistência das plantas ao estresse hídrico por ter um papel protetor do conteúdo de clorofila, na atividade fotoquímica do PSII (DOBRIKOVA et al., 2014; LIMA; LOBATO, 2017; SIDDIQUI et al., 2018) e exibir múltiplas ações em processos essenciais, incluindo as trocas gasosas nas plantas (PEREIRA et al., 2019; KHAN et al., 2020).

Na cultura da soja, os efeitos positivos da utilização de brassinosteróide na defesa contra o estresse hídrico vêm sendo investigados em diferentes estágios de crescimento. A exemplo, a aplicação exógena de 24-epibrassinolídeo em plantas de soja no estágio fenológico V6 cultivadas em condições semi-hidropônicas, que promoveu aumento na taxa de transporte de eletros (ETR) e a eficiência fotossintética em plantas hidratadas e estressadas (PEREIRA et al., 2019). Em plântulas de soja, esse fitormônio amenizou os efeitos adversos da seca promovendo aumento da germinação, comprimento das plântulas e na produção de matéria seca, além de maiores atividades das enzimas antioxidantes o que reduziu danos à membrana (RIBEIRO et al., 2019). Apesar dessas pesquisas, informações de mecanismos fisiológicos adaptativos à limitação hídrica em plantas de soja na fase de florescimento e sua interação com o brassinosteróide ainda são escassas, o que torna esse estudo de grande relevância, para compreender como essa espécie ajusta seu mecanismo fisiológico em associação ao biorregulador.

Diante disso, esse trabalho tem como objetivo avaliar a eficiência do biorregulador 24-epibrassinolídeo sobre o crescimento e mecanismos fisiológicos em soja na fase de floração sob deficiência hídrica e reidratação.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Material vegetal e condições experimentais**

O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação localizada a 09°28'02"S; 35°49'43"W e 127 m de altitude. O experimento foi realizado no período compreendido entre setembro e dezembro de 2019, utilizando a cultivar IMA 84114RR de hábito de

crescimento determinado. As sementes foram obtidas pela Universidade Federal de Alagoas - *Campus Arapiraca*.

A semeadura ocorreu em vasos de 20 litros e acompanhado seu desenvolvimento até o final da fase reprodutiva. Para o tratamento das sementes de soja, utilizou-se o inoculante comercial turfoso Masterfix®, da empresa Stoller do Brasil Ltda, que contém duas estirpes SEMIA 5019 (*Bradyrhizobium elkanii*) e SEMIA 5079 (*Bradyrhizobium japonicum*). A semeadura foi realizada 1 hora após a inoculação (EMBRAPA, 2013).

A irrigação das mudas de soja durante o experimento foi realizada a cada dois dias. A umidade do solo foi mantida próxima à capacidade de campo até os 35 dias após semeadura (DAS), que coincidiu com o final da fase vegetativa, período em que foi realizada a redução gradativa da irrigação até a supressão total, aos 50 DAS, fase de floração plena R2 (Tabela 1).

Nesse experimento, a deficiência hídrica foi implantada no período de florescimento das plantas de soja. Assim, além do estresse gradativo, aos 50 dias DAS iniciou-se o estresse máximo por quatro dias (54 DAS), até que as plantas apresentassem aspecto de murcha, seguidas de quatro dias de reidratação (58 DAS). As aplicações de 24-epibrassinólídeo (EBL), via foliar, ocorreram aos 35, 40, 45 e 50 DAS, antes da supressão hídrica total (Tabela 1), caracterizando o estresse hídrico no estágio de florescimento.

**Tabela 1.** Os tratamentos de irrigação foram definidos em função da reposição de água (T), conforme abaixo:

| Nº de aplicações          | Aplicações de EBL |                |                |                |
|---------------------------|-------------------|----------------|----------------|----------------|
|                           | 1 <sup>a</sup>    | 2 <sup>a</sup> | 3 <sup>a</sup> | 4 <sup>a</sup> |
| Épocas de aplicação (DAS) | 35                | 40             | 45             | 50             |
| Reposição de água (T)     | 100%              | 80%            | 70%            | 50%            |

Fonte: Autora, 2023.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos inteiramente casualizados, em esquema fatorial 2x2 (Regimes hídricos x Aplicação de EBL) com sete repetições. Os regimes hídricos foram irrigação durante todo o cultivo (controle) e supressão da irrigação com posterior reidratação das plantas (estresse hídrico). As análises fisiológicas foram realizadas quando as plantas estavam na fase de floração no estresse máximo (54 DAS) e reidratação (58 DAS). Após o período de estresse as plantas

estressadas foram reirrigadas a 100% (T) até a maturação (106 DAS), ou época da realização das coletas de produtividade e de massa seca.

## **2.2 Diluição e Aplicação do Regulador Vegetal 24-Epibrassinolideo**

As aplicações de 24-epibrassinolideo (EBL) na parte aérea ocorreram aos 35, 40, 45 e 50 DAS, com volume de aplicação de 30 mL por vaso, na concentração de 0,1 mg/L, via foliar até o ponto de escorrimento, com auxílio de pulverizadores manuais. O biorregulador vegetal utilizado foi o análogo de brassinosteroide ( $C_{28}H_{48}O_6$ ), o 24-epibrassinolide, Phyto Technology Laboratories® diluído em água deionizada para obter a solução estoque de acordo com (YUAN et al., 2010) e, em seguida, novamente diluído para a concentração de 0,1 mg/L (ZHANG, 2008). A aplicação do biorregulador ocorreu ao final da tarde, nas partes adaxial e abaxial das folhas. Uma câmara adaptada de material plástico foi utilizada para evitar o efeito deriva e a absorção pelas parcelas adjacentes no período de aplicação. Para as plantas sem o tratamento do EBL foi aplicado o mesmo volume de água destilada.

## **2.3 Imposição do Regime Hídrico**

A irrigação durante o período de aplicação do hormônio foi baseada na umidade do solo, a qual foi monitorada através de um sensor de umidade modelo SM200 acoplado a um medidor de umidade modelo HH2 (Delta T Device, England). De acordo com a metodologia de Morales (2012), o solo seco ao ar livre foi utilizado para preencher os vasos, nos quais foram instalados o sensor SM200, e logo após pesados, para obtenção do peso seco (PS) e realizada a leitura na SM200 (Lps). Posteriormente, o solo foi saturado, e ao término da drenagem da água realizou-se nova pesagem, obtendo-se o peso úmido (PU), bem como leitura de umidade de (Lpu). A diferença entre o PS e PU foi determinada como a capacidade de armazenamento de água no vaso (Cav). Ademais, para realização dos cálculos, considerou-se que 1,0 g de água equivale a 1 mL da capacidade de armazenamento de água nos vasos (MORALES, 2012). A realização das leituras por meio do sensor SM200 ocorreu a cada dois dias em cada tratamento. A definição dos tratamentos de irrigação procedeu-se em função da reposição de água (T), (Tabela 1).

Os tratamentos de plantas controle foram mantidos com a umidade equivalente à capacidade de armazenamento de água nos vasos (100% Cav). No estresse hídrico houve a supressão gradativa da irrigação, de modo que, a cada aplicação do

bioregulador reduziu-se o nível de reposição de água, os quais foram 100, 80, 70, 50 % da água disponível no vaso.

O volume de água aplicado em cada tratamento foi calculado através da seguinte fórmula:

$$V = \{[(L_{pu} - L_{ps}) \times T/100 + L_{ps}] - LD\} \times QA \quad (1)$$

Em que:

V – volume em mL;

L<sub>pu</sub> – leitura na SM200, do vaso saturado com água (%);

L<sub>ps</sub> – leitura na SM200, do vaso com solo seco (%);

T – níveis de reposição de água (1,0; 0,80; 0,70 e 0,50);

LD – leitura diária com a SM200 (%).

$$QA = [Cav/(L_{pu} - L_{ps})] \times 1000 \quad (2)$$

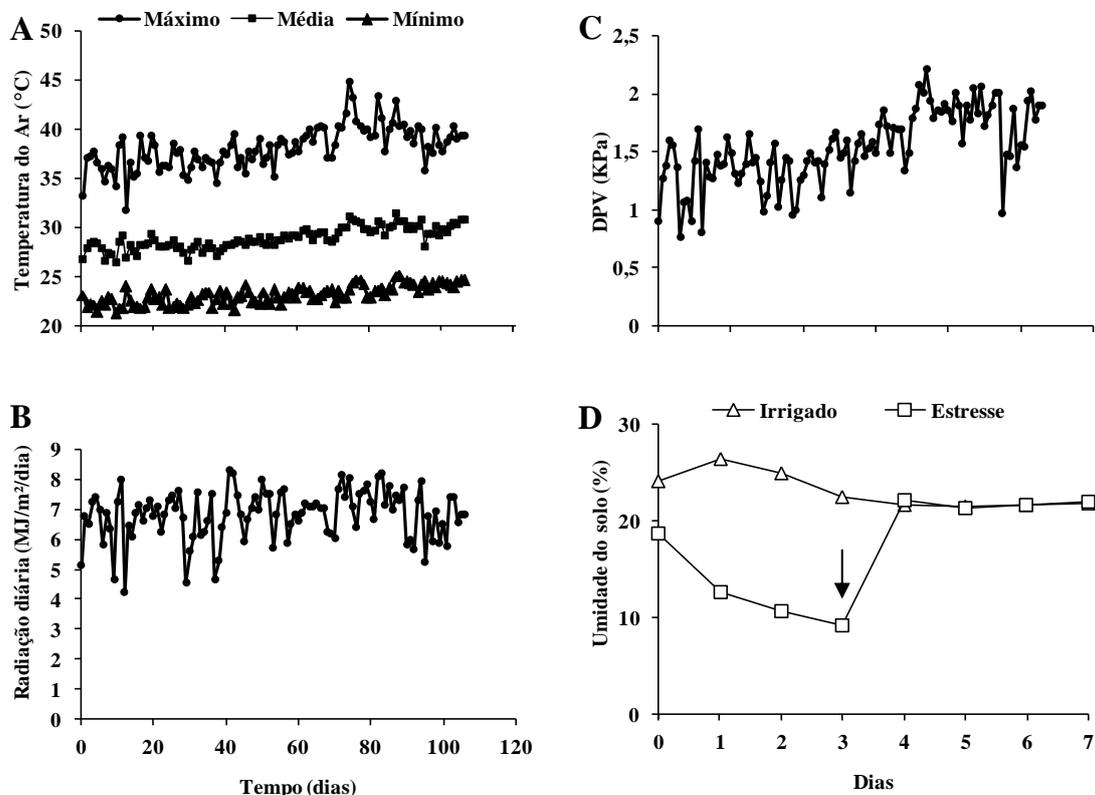
Em que:

Cav – capacidade de armazenamento de água, dada em L;

QA = quantidade de água

As condições ambientais durante o período experimental foram monitoradas por uma estação meteorológica automática modelo WS - GP1 (DELTA-T Devices, Cambridge - England), localizada dentro da casa de vegetação, registrando: temperatura (°C), umidade relativa do ar (%) a cada 5 minutos e radiação solar (MJ.m<sup>2</sup> .dia) a cada 15 segundos e a média armazenada a cada 15 min em datalog. Com base nos dados de umidade e temperatura foi calculado o déficit de pressão de vapor (DPV) do ar (Figura 1).

**Figura 1.** Médias diárias de temperatura do ar (A), radiação diária (B) e DPV (C) durante o período de cultivo. Umidade do solo (%) durante os dias de deficiência hídrica seguidos de reidratação.



Fonte: Autora, 2023.

## 2.4 Análises morfológicas

As variáveis de crescimento [altura de planta (AP), número de folha (NF), diâmetro do caule (DC) e área foliar (AF)] foram determinadas a partir de 15 DAS, quando as plantas se encontravam no final do estágio V2, em intervalos de 15 dias até os 90 DAS, equivalente à fase de maturação, quando cessou o crescimento.

O número de folhas foi quantificado a partir dos 30 DAS. A AF foi determinada medindo-se comprimento (C) e largura (L) dos três folíolos do terço médio das plantas, e aplicando-se os dados na seguinte fórmula:  $AF = C \times L \times 0,30$ , em que 0,30 é o fator de correção para área foliar da cultura, devendo-se descontar 30% da área devido ao seu formato ovóide (GASSEN, 2002).

## 2.5 Análises fisiológicas

As avaliações fisiológicas foram realizadas em duas épocas: durante o estresse máximo, que ocorreu após quatro dias de restrição hídrica, e após reidratação por quatro dias.

As medidas de trocas gasosas e atividade fotoquímica foram realizadas em uma das folhas do terço médio, nos horários entre 8:00 e 10:00 da manhã. A taxa de fotossíntese ( $A$ ), transpiração ( $E$ ) e condutância estomática ( $g_s$ ) foram quantificadas com um analisador portátil de  $CO_2$  a infravermelho modelo Li-6400XT (Infra Red Gas Analyser – IRGA, Licor, EUA).

A máxima eficiência fotoquímica do PSII ( $F_v/F_m$ ) foi determinada no pré-amanhecer (4:30 h) e ao meio-dia (12:00 h) através de um fluorômetro portátil de luz modulada (PAM 2500, WALZ) seguindo-se os procedimentos propostos por Maxwell e Johnson (2000). Os trifólios do terço médio das plantas foram adaptados ao escuro durante 30 minutos por meio de cliques inseridos no limbo das folhas. O rendimento quântico efetivo do PSII ( $\Phi_{PSII}$ ) foi determinado as 10:00 h sob luz ambiente (BAKER, 2008).

Os conteúdos de clorofila  $a$  e clorofila  $b$  foram quantificados utilizando discos foliares de  $0,8\text{ cm}^2$  totalizando 50 mg, os quais foram picotados e acondicionados em tubos de vidro protegidos com papel alumínio contendo 5 mL de acetona a 80%, acondicionados ao abrigo da luz a  $4\text{ }^\circ\text{C}$  durante 24 horas. Posteriormente, foram realizadas as leituras de absorvância dos extratos a 645 e 663 nm de comprimento de onda, em espectrofotômetro. Os níveis de clorofila  $a$ ,  $b$  e carotenoides foram então calculados pelo método descrito por Lichtenthaler (1987), expressos em  $\text{mg g}^{-1}$  MF. Em seguida, foi calculado o conteúdo de clorofila total ( $a+b$ ).

O teor relativo de água na folha (TRA) foi obtido de 6 discos de folhas frescas de  $0,8\text{ cm}^2$  de diâmetro retirados dos trifólios da parte mediana das plantas. O TRA foi calculado por meio da obtenção da massa fresca (MF) e, em seguida, as amostras foram colocadas em água destilada durante 24 horas. A massa túrgida (MT) foi obtida e os discos foliares foram colocados em estufa com circulação de ar a  $65\text{ }^\circ\text{C}$  durante 24 horas para determinação da massa seca (MS). O teor relativo de água foi calculado por meio da seguinte fórmula:  $\text{TRA} (\%) = [(MF - MS) / (MT - MS)] \times 100$ , conforme Barrs; Weatherley (1962).

O potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) foi quantificado na folha do terço médio utilizando uma câmara de pressão Scholander (Modelo 3005, Santa Barbara, EUA). As medições foram realizadas entre 4:30 e 5:30 h (amanhecer) e às 12 horas (meio-dia).

Amostras foliares foram coletadas nas mesmas folhas em que as trocas gasosas foram medidas para análise das enzimas antioxidantes catalase e ascorbato peroxidase. A atividade da CAT foi determinada de acordo com a metodologia adotada por Havir et al. (1987), com algumas modificações. O extrato foi obtido a partir de 100 mg de folhas frescas e adicionado em 2 mL do tampão de extração contendo Tampão Fosfato de Potássio (PPB) 50 mM (pH 7,5), 100 mg de polivinilpirrolidona (PVPP) e água deionizada. A reação teve início após a adição do extrato vegetal na cubeta de quartzo. As leituras foram realizadas na absorbância de 240 nm, por um minuto, observando-se a diminuição da concentração de ascorbato. Foi adotado um coeficiente de extinção do ascorbato de  $2,8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  a 240 nm. Os valores foram expressos em unidade de proteína CAT  $\text{min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  de proteína.

A atividade da APX foi determinada de acordo com a metodologia adotada por Nakano et al. (1981), com algumas modificações. O extrato foi obtido a partir de 100 mg de folhas frescas e adicionado em 2 mL do tampão de extração contendo 50 mM PPB (pH 7,5), EDTA 2 mM, 20 mM Ascorbato de Sódio, 0,1% Triton X100, 100 mg de PVPP suplementado com água desionizada. A reação foi iniciada após a adição do extrato vegetal na cubeta de quartzo. As leituras de absorbância foram realizadas a 290 nm por um minuto, observando-se diminuição da concentração de ascorbato. Foi utilizado um coeficiente de extinção do ascorbato de  $2,8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  em 290 nm, e os valores foram expressos em unidade de APX  $\text{min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  de proteína.

O nível de peroxidação de lipídios de membrana nos tecidos foliares foi medido em termos de conteúdo de malondialdeído (MDA, um produto da lipoperoxidação), determinado pela reação do ácido tiobarbitúrico (TBA), de acordo com o método descrito por Dhindsa et al. (1981), com algumas modificações.

Amostras foliares de 150 mg foram maceradas com nitrogênio líquido e homogeneizadas em 2,5 mL de ácido tricloroacético (TCA) 0,1% (m/v). O homogeneizado foi transferido para microtubos e centrifugado a 15.000 g por 10 minutos a 4 °C. Uma alíquota de 500  $\mu\text{L}$  do sobrenadante foi colocada em tubos de ensaio com tampa e adicionados 2,0 mL de TCA (20%) contendo 0,5% de TBA. A mistura foi aquecida a 90°C por 15 minutos e resfriada em gelo para interromper a reação. As amostras foram novamente centrifugadas a 10.000 rpm por 10 minutos e a

absorbância do sobrenadante (532 e 600 nm) foi determinada em espectrofotômetro. A concentração de MDA foi calculada usando o coeficiente de extinção molar de  $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  (HEATH; PACKER, 1968).

O extravazamento de eletrólitos (EE) foi determinado a partir de dez discos foliares medindo aproximadamente 0,5 cm de diâmetro, que foram colocados em tubos de ensaio contendo 10 ml de água deionizada e mantidos em banho-maria a 25 °C por 24 horas. Em seguida, foi medida a condutividade elétrica da solução (CE1) e os tubos de ensaio, contendo as folhas, foram colocados em banho-maria a 90 °C por 1 h até atingir o equilíbrio térmico, para posteriormente realizar outra leitura da condutividade elétrica da solução (CE2). O EE foi calculado usando a seguinte fórmula:  $EE (\%) = (CE1/CE2) \times 100$  (ANJUM et al., 2017).

## **2.6 Massa seca e produtividade**

As plantas foram coletadas ao final do experimento com 106 DAS (final da fase reprodutiva) e separadas em folhas, caule e raízes e secas em estufa com circulação de ar forçada a 65 °C, até atingirem massa constante. A massa seca total foi obtida pelo somatório das MSF, MSC e MSR. As vagens foram coletadas manualmente para contagem do número de vagens sadias (NVS), número de grãos (NG), massa de mil grãos (MMG) e diâmetro do grão (DG). Para as características de produção, determinou-se: NVS: N° total de vagens – N° de vagens abortadas, NG: Somatório total das sementes por planta, MMG: Pesagem de cem grãos e transformação para peso de mil grãos (g), DG: Medição com auxílio de paquímetro digital (mm).

## **2.7 Análise estatística**

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F, e quando detectada diferença significativa, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a  $p < 0,05$ , utilizando-se o programa estatístico computacional Sisvar 5.6.

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 Atributos morfológicos

A aplicação foliar de 24-epibrassinolídeo (EBL) em mudas de soja influenciou de forma positiva a morfologia das plantas que foram submetidas ao estresse hídrico seguidas de reidratação, observando efeito na interação de EBL com estresse nas variáveis altura da planta, diâmetro do caule e número de folhas (Tabela 2). As plantas controles com e sem EBL apresentaram comportamento semelhantes, não diferindo nas variáveis morfológicas (Tabela 2).

**Tabela 2.** Análise de variância da altura de plantas (AP), diâmetro do caule (DC), número de folhas (NF) e área foliar (AF) aos 75 DAS em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de florescimento e posterior reidratação.

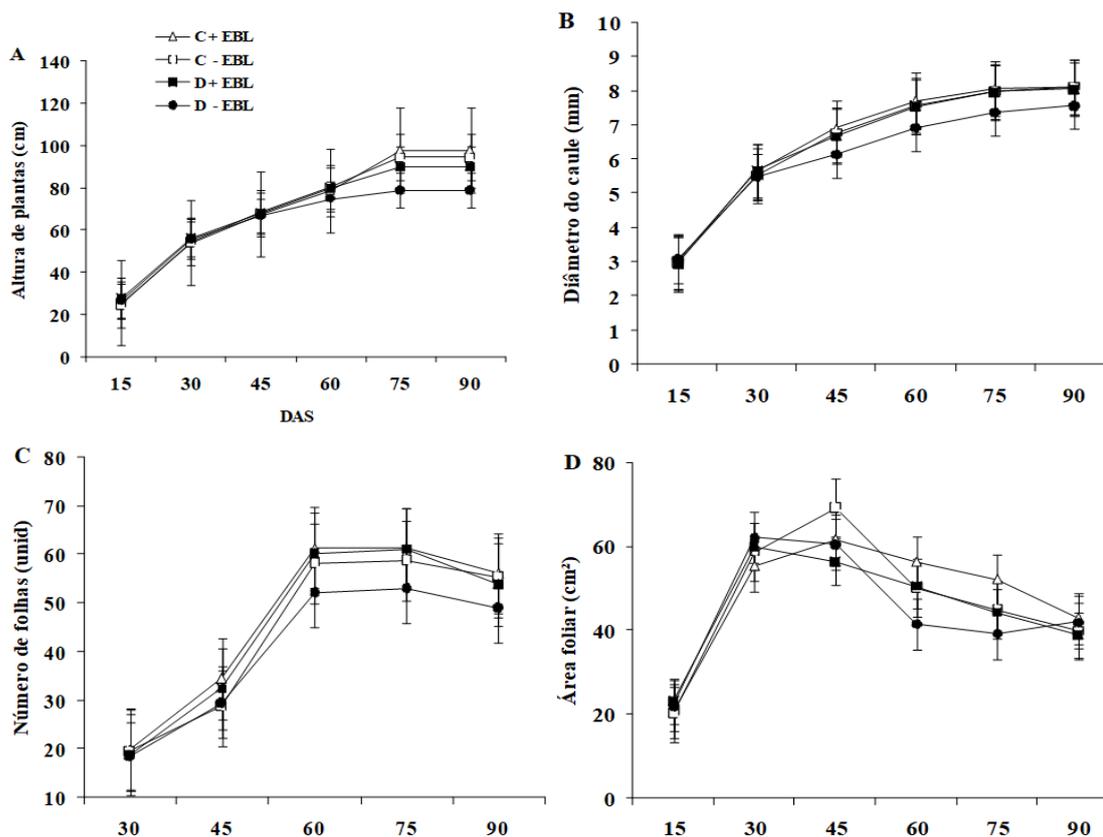
| Tratamentos | AP      | DC      | NF      | AF     |
|-------------|---------|---------|---------|--------|
| H           | 62,10** | 11,92** | 5,24*   | 9,74** |
| E           | 25,10** | 10,10** | 17,55** | 8,37** |
| H x E       | 7,15*   | 5,82*   | 4,74*   | 0,25ns |
| Erro        | 18      | 18      | 18      | 18     |
| CV (%)      | 4,30    | 3,52    | 5,78    | 12,51  |

Fv: Fontes de Variação; H: Tratamento Hídrico; E: Tratamento com EBL; H x E: Interação entre o tratamento hídrico e o tratamento com EBL; C.V.: coeficiente de variação; ns: não significativo; \*: significativo ( $P > 0,05$ ); \*\*: significativo ( $P < 0,01$ ).

Fonte: Autora, 2023.

De modo geral, pôde-se verificar que as plantas com 75 dias após semeadura (DAS) no estágio de florescimento, equivalentes a 21 dias de reidratação após estresse hídrico e 26 dias após a última aplicação de EBL, essas plantas apresentaram médias das variáveis morfológicas semelhantes às plantas tratadas com EBL que foram mantidas sob irrigação (Tabela 2, Figura 2), comprovando o efeito positivo de EBL na mitigação do estresse nessas variáveis, pois contribuíram com uma eficiente recuperação das plantas após estresse. Nas plantas que foram estressadas sem EBL, não foi observada recuperação das variáveis morfológicas, essas plantas apresentaram com 75 DAS redução significativa na altura da planta de 12,4% (Figura 2A), diâmetro do caule de 7,3% (Figura 2B) e número de folhas 13,3% (Figura 2C), em comparação às plantas estressadas tratadas com EBL (Tabela 2). As plantas de soja não apresentaram diferença para a variável área foliar entre tratamentos (Figura 2D).

**Figura 2.** Altura de plantas (A), Diâmetro do caule (B), Número de folhas (C) e Área foliar (D) em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de florescimento e posterior reidratação. Crescimento de plantas de soja acompanhado da fase inicial do estágio vegetativo até final do estágio de maturação. Cada ponto indica o valor médio de sete repetições e barras indicam erro padrão.



Fonte: Autora, 2023.

Aos 90 DAS, no estágio de maturação das vagens, com 40 dias após aplicação de EBL e 36 dias de reidratação, essas reduções continuaram nas plantas que foram submetidas ao estresse hídrico sem EBL, com redução na altura da planta de 12,4% e no diâmetro do caule de 6% (Tabela 3 e Figura 2A e 2B).

**Tabela 3.** Análise de variância da altura de plantas (AP), diâmetro do caule (DC), número de folhas (NF) e área foliar (AF) aos 90 DAS em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinólídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de florescimento e posterior reidratação.

| Tratamentos | AP      | DC     | NF      | AF     |
|-------------|---------|--------|---------|--------|
| H           | 62,10** | 9,21** | 16,18** | 0,17ns |
| E           | 25,10** | 6,91*  | 7,31*   | 0,00ns |
| H x E       | 7,15*   | 5,92*  | 3,65ns  | 2,04ns |
| Erro        | 18      | 18     | 18      | 18     |
| CV (%)      | 4,30    | 3,16   | 5,35    | 13,86  |

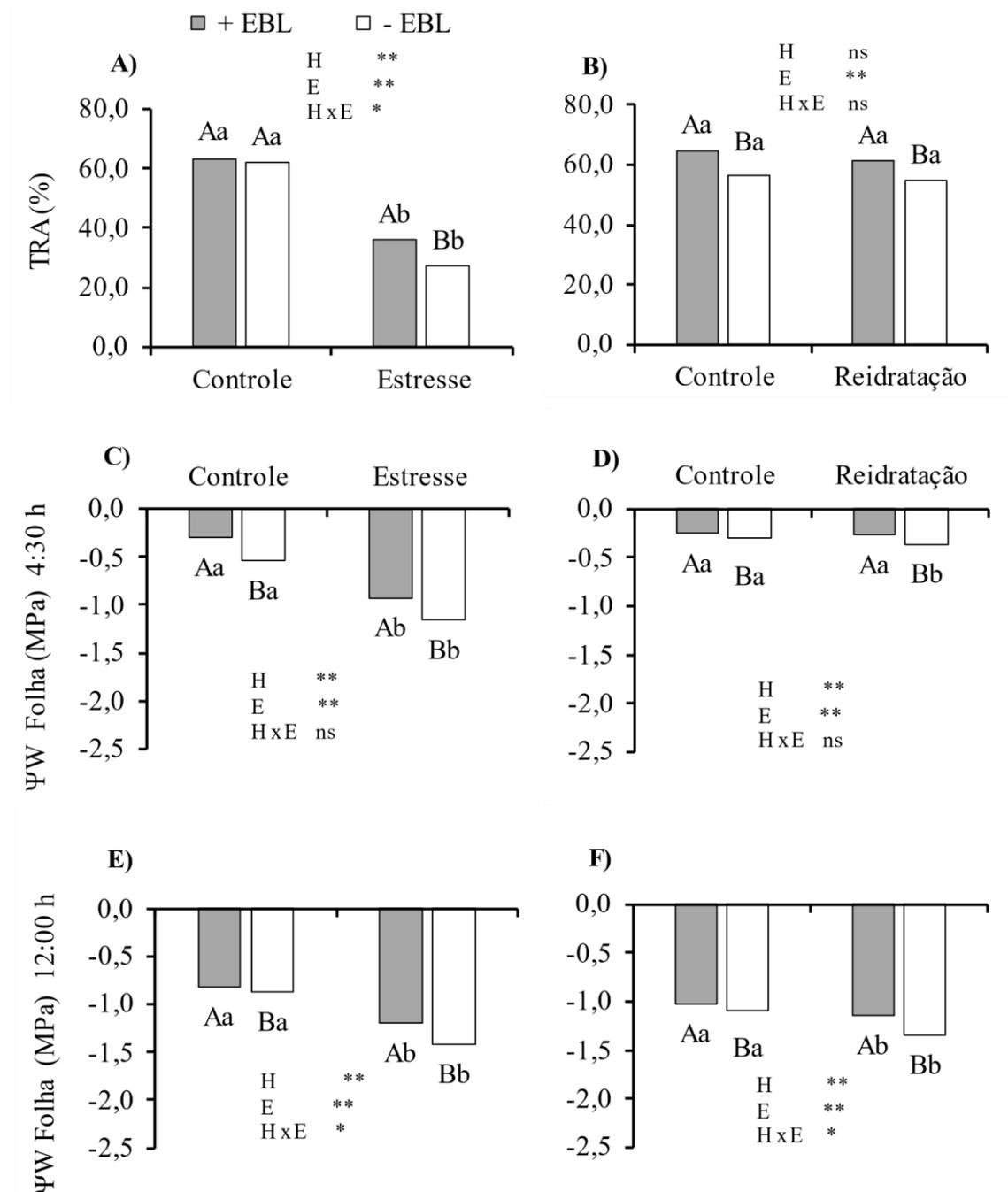
Fv: Fontes de Variação; H: Tratamento Hídrico; E: Tratamento com EBL; H x E: Interação entre o tratamento hídrico e o tratamento com EBL; C.V.: coeficiente de variação; ns: não significativo; \*: significativo ( $P > 0,05$ ); \*\*: significativo ( $P < 0,01$ ).

Fonte: Autora, 2023.

### 3.2 Mecanismos fisiológicos das plantas em resposta à interação ao estresse hídrico e EBL

Com a imposição da deficiência hídrica todas as plantas que não foram tratadas com EBL apresentaram maiores diminuição do teor relativo de água (TRA) e do potencial hídrico da folha ( $\Psi_w$ ) (Figura 3 e Tabela 4). As plantas sob estresse hídrico e tratadas com EBL apresentaram redução de TRA de 43%, enquanto as plantas sem EBL essa redução foi de 56,3%, em relação aos respectivos controles (plantas irrigadas) (Figura 3A).

**Figura 3.** Teor relativo de água na folha (TRA) (A e B), potencial hídrico foliar amanhecer,  $\Psi_w$  (C e D) e potencial hídrico foliar meio-dia,  $\Psi_w$  (E e F) em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de florescimento e posterior reidratação. Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



H: Tratamento Hídrico; E: Tratamento com EBL; H x E: Interação entre o tratamento hídrico e o tratamento com EBL; ns: não significativo; \*: significativo (P>0,05); \*\*: significativo (P<0,01).

O potencial hídrico foliar no amanhecer ( $\Psi_w$  predawn) reduziu pouco nas plantas tratadas com EBL sob deficiência hídrica, apresentando uma média de -0,62 MPa, já nas plantas sem EBL essa média foi mais negativa de -0,85 MPa (Figura 3C). As maiores reduções de  $\Psi_w$  foram observadas ao meio dia em plantas sob deficiência hídrica sem EBL com média de -1,41 MPa (Figura 3E). As plantas estressadas tratadas com EBL apresentaram maiores médias de  $\Psi_w$  Meio-dia -1,2 Mpa (Figura 3E).

Quando reidratadas, as plantas tratadas com EBL foram mais eficientes na recuperação do seu status hídrico com médias de TRA e  $\Psi_w$  próximas ao controle (Figura 3B e 3F). Mesmo reidratadas, as plantas estressadas, sem EBL, ainda apresentaram valores de  $\Psi_w$  Meio-dia mais negativos, próximos de -1,35 MPa (Figura 3F), o que mostra que essas plantas foram mais afetadas pelo estresse, não se recuperando com quatro dias de reidratação.

Nas respostas de trocas gasosas, as plantas controle tratadas com EBL diferiram em relação às sem EBL (Tabela 4), apresentando maiores médias para condutância estomática (Figura 4A), transpiração (Figura 4C), e fotossíntese (Figura 4E). Sob deficiência hídrica as plantas tratadas ou não com EBL apresentaram redução de forma semelhante na condutância estomática e fotossíntese (Figura 4A e 4E, Tabela 4).

**Tabela 4.** Análise de variância dos atributos fisiológicos: Teor relativo de água (TRA), potencial hídrico foliar  $\Psi_w$  predawn e meio dia, fotossíntese (A), condutância estomática (gs), transpiração (E), eficiência quântica máxima do fotossistema II (Fv/Fm), eficiência quântica efetiva do fotossistema II ( $\Phi$ PSII), Índice SPAD e Clorofila Total (Cl total) em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinólídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de florescimento e posterior reidratação.

| FV                      | TRA     | $\Psi_w$<br>predawn | $\Psi_w$<br>Meio-<br>dia | A        | gs      | E        | Ci     | Fv/Fm   | $\Phi$ PSII | SPAD    | Cl<br>total |
|-------------------------|---------|---------------------|--------------------------|----------|---------|----------|--------|---------|-------------|---------|-------------|
| <b>Estresse hídrico</b> |         |                     |                          |          |         |          |        |         |             |         |             |
| H                       | 526,7** | 428,1**             | 277,9**                  | 1307,8** | 553,6** | 5023,1** | 23,2** | 0,38ns  | 54,7**      | 37,93** | 110,5**     |
| E                       | 15,12** | 59,47**             | 26,9**                   | 26,93**  | 9,24**  | 38,0**   | 24,5** | 0,51ns  | 9,76**      | 21,09** | 66,67**     |
| H x E                   | 7,67*   | 0,14ns              | 8,23*                    | 6,56*    | 4,79*   | 5,0*     | 19,4** | 0,16ns  | 8,34**      | 5,87*   | 5,61*       |
| Erro                    | 18      | 18                  | 18                       | 18       | 18      | 18       | 18     | 18      | 18          | 18      | 18          |
| CV(%)                   | 7,60    | 10,78               | 6,84                     | 10,47    | 20,38   | 6,03     | 12,98  | 2,96    | 5,50        | 4,30    | 8,29        |
| <b>Reidratação</b>      |         |                     |                          |          |         |          |        |         |             |         |             |
| H                       | 2,45ns  | 14,88**             | 62,57**                  | 1,85ns   | 2,36ns  | 4,66*    | 3,36ns | 0,13ns  | 2,40ns      | 91,69** | 213,4**     |
| E                       | 20,70** | 46,29**             | 36,94**                  | 27,06**  | 8,78*   | 5,47*    | 0,18ns | 0,015ns | 1,43ns      | 54,96** | 13,31**     |
| H x E                   | 0,32ns  | 3,58ns              | 6,42*                    | 0,25ns   | 0,14ns  | 3,38ns   | 0,24ns | 0,007ns | 1,07ns      | 42,08** | 3,05 ns     |
| Erro                    | 18      | 18                  | 18                       | 18       | 18      | 18       | 18     | 18      | 18          | 18      | 18          |
| CV(%)                   | 7,20    | 9,14                | 5,34                     | 7,62     | 16,50   | 8,21     | 5,22   | 2,89    | 4,79        | 2,35    | 8,37        |

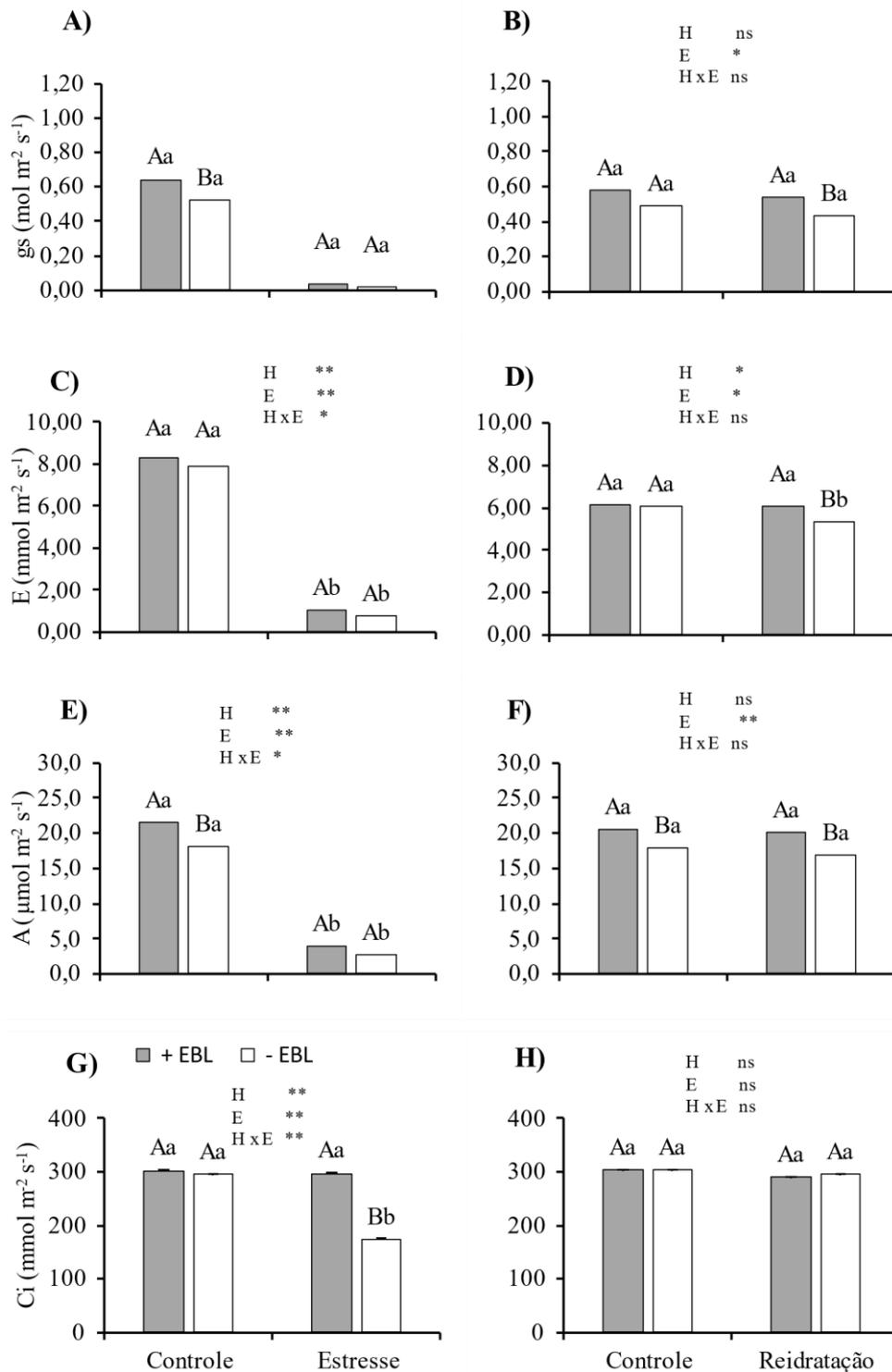
Fv: Fontes de Variação; H: Tratamento Hídrico; E: Tratamento com EBL; H x E: Interação entre o tratamento hídrico e o tratamento com EBL; C.V.: coeficiente de variação; ns: não significativo; \*: significativo ( $P > 0,05$ ); \*\*: significativo ( $P < 0,01$ ).

Fonte: Autora, 2023.

A aplicação de EBL nas plantas estressadas aumentou em 63,4% a taxa de transpiração, que apresentou valores médios de  $1,03 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , enquanto plantas do mesmo regime hídrico sem EBL apresentaram média de  $0,63 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (Figura 4C, Tabela 4). A aplicação exógena de EBL também resultou em maior concentração de interna de  $\text{CO}_2$  nas plantas sob estresse hídrico que apresentaram médias semelhantes às plantas irrigadas (Figura 4G). A aplicação de EBL nas plantas sob deficiência hídrica aumentou em 69,58% a concentração interna de  $\text{CO}_2$ , em relação às plantas do mesmo regime hídrico sem EBL (Figura 4G).

Na reidratação todas as plantas tratadas com EBL apresentaram melhor recuperação para trocas gasosas, apresentando maiores médias para  $g_s$ ,  $A$  e  $E$  em relação às plantas sem EBL (Figura 4B, D e F).

**Figura 4.** Condutância estomática (gs) (A e B), transpiração (C e D), Taxa Fotossintética (E e F) e concentração interna de CO<sub>2</sub> (Ci) em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de florescimento e posterior reidratação.

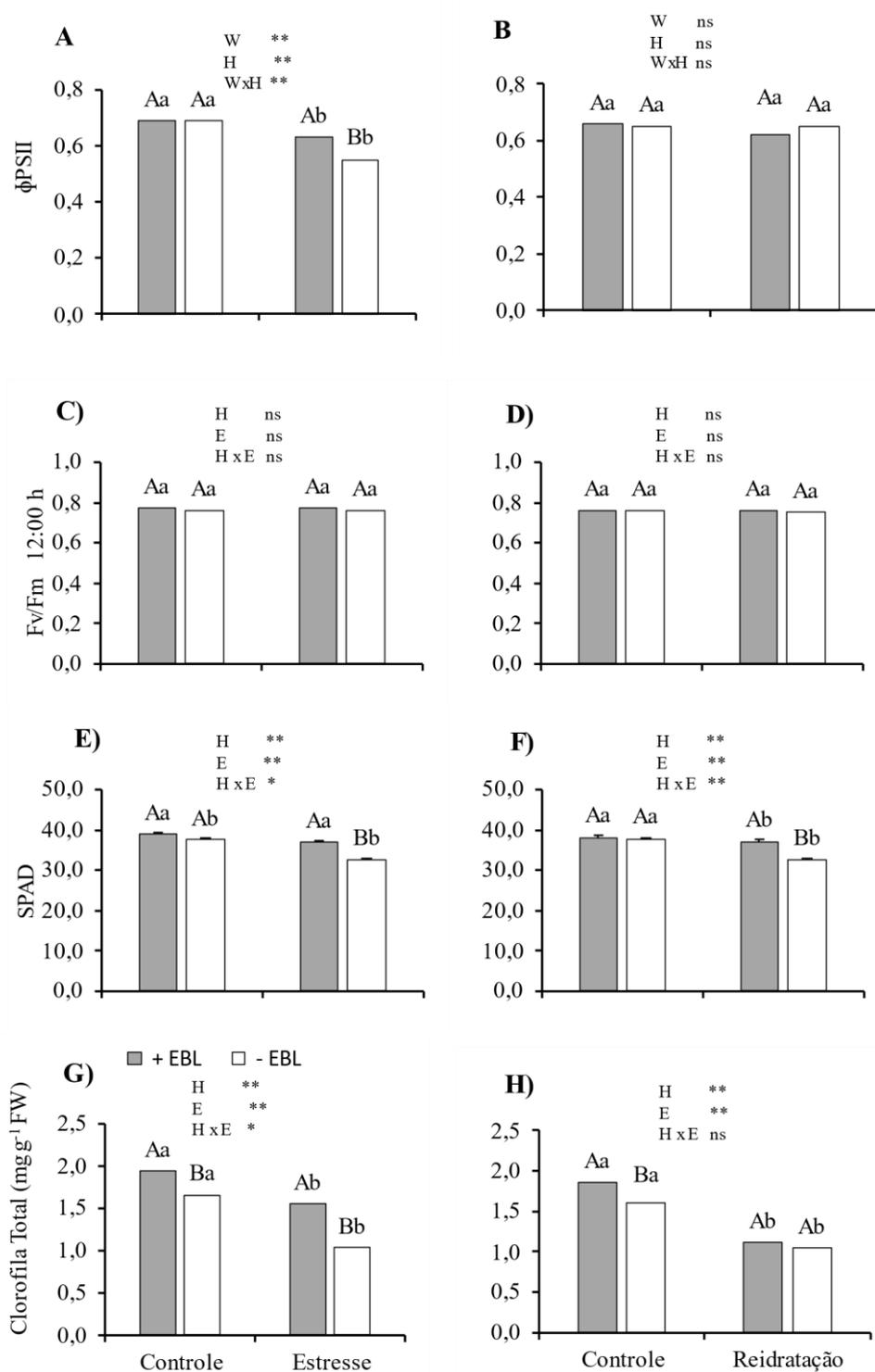


H: Tratamento Hídrico; E: Tratamento com EBL; H x E: Interação entre o tratamento hídrico e o tratamento com EBL; ns: não significativo; \*: significativo (P>0,05); \*\*: significativo (P<0,01).

Plantas sob deficiência hídrica, tratadas ou não com EBL, apresentaram baixa eficiência quântica efetiva do PSII ( $\Phi$ PSII) (Figura 5A). Comparando-se as plantas submetidas ao estresse hídrico com as plantas controle, verificou-se que o estresse causou redução média de 20,3% no  $\Phi$ PSII em plantas sem EBL, enquanto que essa redução foi de apenas 8,7% nas plantas tratadas com EBL (Figura 5A). Após a reidratação, todas as plantas apresentaram recuperação de  $\Phi$ PSII independentem das aplicações de EBL (Figura 5B).

As plantas de soja tratadas ou não com EBL apresentaram alta relação  $F_v/F_m$  com valores médios de 0,77 sob estresse hídrico (Figura 5C), o que mostra que o estresse hídrico não afetou a eficiência quântica máxima do PSII.

**Figura 5.** Eficiência quântica efetiva do fotossistema II,  $\Phi$ PSII (A e B), Eficiência quântica máxima do fotossistema II, Fv/Fm (C e D), índice SPAD (E e F) e Clorofila Total (G e H) em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinólídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de florescimento e posterior reidratação.



H: Tratamento Hídrico; E: Tratamento com EBL; H x E: Interação entre o tratamento hídrico e o tratamento com EBL; ns: não significativo; \*: significativo ( $P > 0,05$ ); \*\*: significativo ( $P < 0,01$ ).

As plantas tratadas com EBL apresentam pouca variação de índice SPAD sob estresse hídrico com valores médios de 37, equivalentes a uma redução de 5% em relação ao controle (Figura 5E). Os menores valores de índice SPAD foram observados nas plantas estressadas sem EBL, com médias de 32,5, representando uma redução de 13,5% (Figura 5E). O índice SPAD se manteve baixo também nas plantas reidratadas, sem EBL, com redução de 13,7% em relação às plantas sem aplicação de EBL do tratamento controle (Figura 5F).

O teor de clorofila total foi maior em plantas hidratadas que receberam EBL. As plantas sem EBL apresentaram redução na taxa de clorofila de 15,8% quando comparadas às com EBL (Figura 5G). Em plantas sob estresse hídrico, pode-se observar que a aplicação do EBL proporcionou menor degradação de clorofilas em comparação às sem EBL (Figura 5G). As plantas estressadas e tratadas com EBL apresentaram redução de clorofila total de 20,5% e as plantas sem EBL de 37,7% em comparação aos seus respectivos tratamentos controles (Figura 5G). Após reidratação, todas as plantas tratadas com EBL apresentaram recuperação mais eficiente no teor de clorofila total (Figura 5H).

A atividade de enzimas antioxidantes, CAT e APX, bem como a peroxidação de lipídeos (MDA) e o extravasamento de eletrólitos foram influenciados pela aplicação de EBL nas plantas submetidas ao estresse hídrico (Tabela 5). Influência do EBL também foi observada na ocasião da reidratação, exceto para o teor de MDA.

**Tabela 5.** Análise de variância da atividade das enzimas antioxidantes Ascorbato-peroxidase (APX), Catalase (CAT), teor de Malondialdeído (MDA) e extravasamento de eletrólitos em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de florescimento e posterior reidratação.

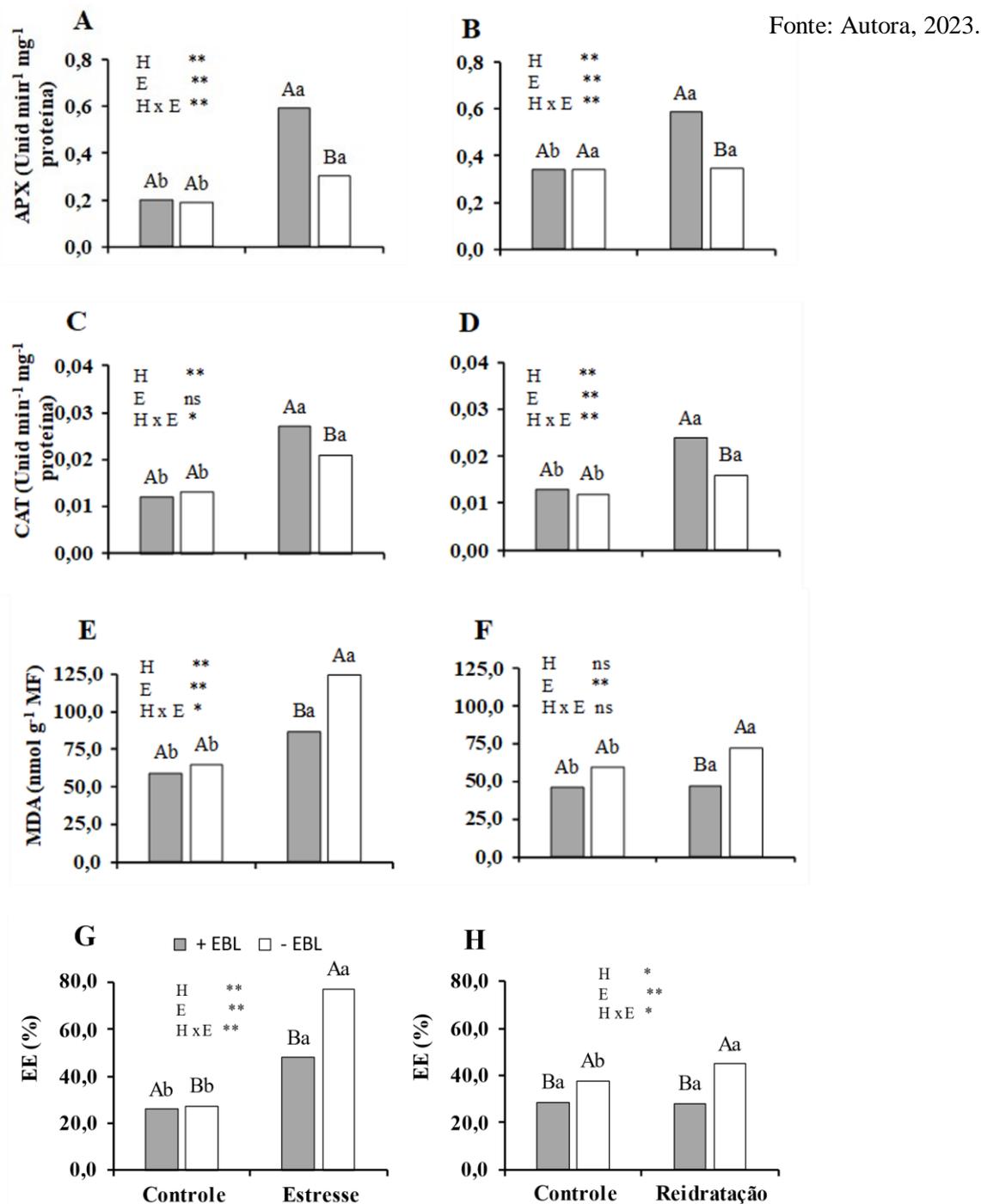
| FV                      | APX     | CAT     | MDA     | EE      |
|-------------------------|---------|---------|---------|---------|
| <b>Estresse hídrico</b> |         |         |         |         |
| H                       | 538,9** | 49,00** | 481,5** | 605,2** |
| E                       | 188,3** | 2,67ns  | 164,1** | 108,5** |
| H x E                   | 159,5** | 5,31*   | 6,10*   | 87,81** |
| Erro                    | 18      | 18      | 18      | 18      |
| CV (%)                  | 9,02    | 24,32   | 8,21    | 8,66    |
| <b>Reidratação</b>      |         |         |         |         |
| H                       | 29,23** | 377,3** | 2,94ns  | 4,50*   |
| E                       | 26,02** | 137,5** | 21,87** | 64,82** |
| H x E                   | 27,47** | 83,95** | 1,82ns  | 6,07*   |
| Erro                    | 18      | 18      | 18      | 18      |
| CV (%)                  | 15,31   | 6,33    | 19,61   | 12,29   |

Fv: Fontes de Variação; H: Tratamento Hídrico; E: Tratamento com EBL; H x E: Interação entre o tratamento hídrico e o tratamento com EBL; C.V.: coeficiente de variação; ns: não significativo; \*: significativo ( $P > 0,05$ ); \*\*: significativo ( $P < 0,01$ ).

Fonte: Autora, 2023.

Plantas sem EBL apresentaram menor atividade enzimática, com incrementos de 61% para CAT e 58% para APX (Figuras 6A e B). Após a reidratação, as plantas de soja tratadas com EBL continuaram a apresentar um aumento nas atividades enzimáticas de CAT, 84%, e APX, 73%, em comparação com seus controles (Figuras 6B e D).

**Figura 6.** Atividade das enzimas antioxidantes Ascorbato-peroxidase (APX) - (A e B) e Catalase (CAT) - (C e D), teor de malondialdeído (MDA) - (E e F) e extravasamento de eletrólitos - (G e H) em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de florescimento e posterior reidratação.



H: Tratamento Hídrico; E: Tratamento com EBL; H x E: Interação entre o tratamento hídrico e o tratamento com EBL; ns: não significativo; \*: significativo ( $P > 0,05$ ); \*\*: significativo ( $P < 0,01$ ).

Durante o estresse hídrico, a peroxidação lipídica apresentou um aumento significativo em plantas estressadas sem EBL de aproximadamente 48%, mas em plantas estressadas com EBL esse aumento foi de 31% em relação às plantas controle

(Figura 6E). Ao comparar apenas plantas sob déficit hídrico, um aumento de 30% na produção de MDA foi observado em plantas que não foram tratadas com EBL em comparação com aquelas tratadas com EBL (Figura 6E).

Além disso, o déficit hídrico provocou um aumento mais intenso nos valores de extravasamento de eletrólitos nas plantas sem EBL, de 66%, e nas plantas tratadas com EBL esse aumento foi de 46% (Figura 6G). Nas plantas reidratadas, apenas aquelas que receberam aplicação de EBL apresentaram redução na produção de MDA e EE, semelhante às plantas irrigadas (Figuras 6F e H).

### 3.3 Massa seca e produtividade

Em relação às variáveis de produtividade, a aplicação do hormônio EBL não promoveu alterações no número de vagens saudias, número de grãos, massa de mil grãos e diâmetro do grão, as quais apresentaram médias semelhantes independente da imposição do estresse e se as plantas foram ou não tratadas com EBL (Tabela 5).

**Tabela 6.** Significâncias e valores médios dos parâmetros de NVS – Número de vagens saudias; NS – Número de grãos; MMG – Massa de mil grãos; e DG – Diâmetro do grão em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de florescimento e posterior reidratação.

| FV     | NVS    | NG     | MMG    | DS     |
|--------|--------|--------|--------|--------|
| H      | 2,26ns | 3,69ns | 0,59ns | 0,03ns |
| E      | 1,30ns | 2,11ns | 0,38ns | 0,05ns |
| H x E  | 0,97ns | 1,81ns | 0,00ns | 0,00ns |
| Erro   | 18     | 18     | 18     | 18     |
| CV (%) | 21,43  | 21,29  | 20,04  | 6,43   |

Fv: Fontes de Variação; H: Tratamento Hídrico; E: Tratamento com EBL; H x E: Interação entre o tratamento hídrico e o tratamento com EBL; C.V.: coeficiente de variação; ns: não significativo; \*: significativo (P>0,05); \*\*: significativo (P<0,01).

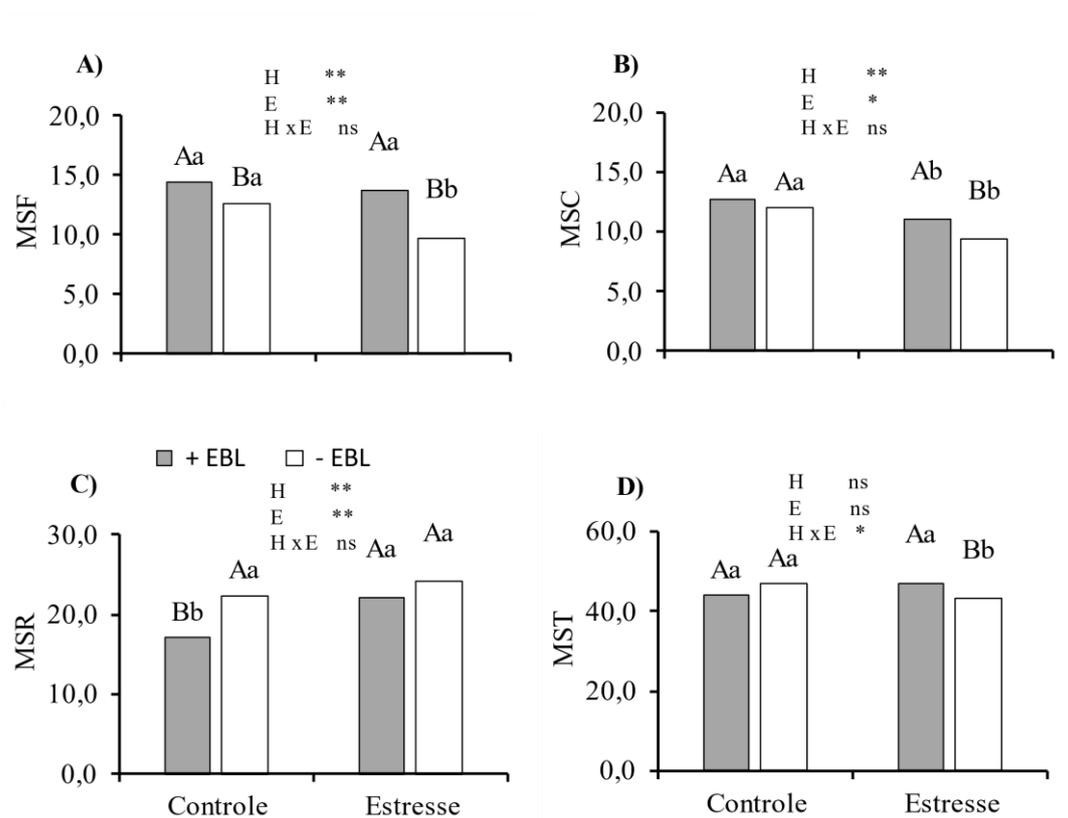
Fonte: Autora, 2023.

A aplicação foliar do EBL em soja influenciou de forma positiva a produção de massa seca de folhas e caule (Figura 7).

As plantas que não receberam o EBL apresentaram reduções médias de 18,0% e 9,8% na massa seca de folhas e do caule, respectivamente (Figuras 7A e 7B) em relação às plantas tratadas com EBL. Já a massa seca de raiz foi menor nas plantas que receberam as aplicações de EBL com redução de 15% (Figura 7C). A massa seca total de plantas

sem aplicação de EBL sob deficiência hídrica sofreu redução de 7,8% em relação às plantas com EBL sob mesmo tratamento hídrico (Figura 7D).

**Figura 7.** Massa seca de folhas (MSF) (A), massa seca do caule (MSC) (B), massa seca da raiz (MSR) (C) e massa seca total (MST) (D) em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de florescimento e posterior reidratação.



Tratamento Hídrico; E: Tratamento com EBL; H x E: Interação entre o tratamento hídrico e o tratamento com EBL; ns: não significativo; \*: significativo ( $P > 0,05$ ); \*\*: significativo ( $P < 0,01$ ).

Fonte: Autora, 2023.

#### 4. DISCUSSÃO

Nesse estudo, pôde-se compreender melhor como o brassinosteróide (24-epibrassinolídeo, EBL) pode mitigar os efeitos negativos causados pela deficiência hídrica em plantas de soja na fase de floração, revelando como a aplicação exógena/

foliar do EBL atuou no crescimento e na regulação dos mecanismos fisiológicos e sua possível contribuição para o aumento da tolerância à seca na soja.

#### **4.1 Características morfológicas da soja após aplicação de EBL e submetidas a deficiência hídrica seguida de reidratação**

O EBL apresentou efeito positivo no crescimento de soja, em termos de altura da planta, diâmetro do caule e número de folhas em plantas submetidas à deficiência hídrica seguida de reidratação. Essas plantas apresentaram melhor crescimento em relação às plantas estressadas sem EBL, comprovando o efeito positivo de EBL na mitigação do estresse e sua contribuição na eficiente recuperação das plantas após estresse. Esse efeito de redução da inibição do crescimento na altura e diâmetro do caule nas plantas estressadas tratadas com EBL pode ser atribuído à modificação induzida por esse biorregulador no desenvolvimento de fenômenos como divisão e alongamento celular (CHOUDHARY et al. 2012; GILL et al., 2017).

Além disso, a aplicação de brassinosteróide aumenta a biossíntese de auxinas e a expressão de genes envolvidos no crescimento celular, resultando assim no *crossstalk* entre o sinal BR e o sinal de auxina, o que favorece o crescimento da planta (HUANG et al. 2020; XIONG et al., 2021).

Outros estudos também relatam resposta positiva do crescimento de diferentes plantas tratadas com aplicações foliares de Brassinosteróides em resposta ao estresse. Em algodão sob condições de estresse hídrico observaram-se nas plantas tratadas com EBL que ocorreu o aumento das características morfológicas na altura da planta, número de folhas e área foliar (AHMED et al., 2017). Em trigo, o crescimento de planta tratadas com EBL, tanto em condições ótimas como de seca, melhorou a altura da planta e comprimento da espiga (KHAN et al., 2020). Em plântulas de soja sob déficit hídrico, o 24-epibrassinolídeo promoveu aumento no comprimento em plântulas estressadas (RIBEIRO et al., 2019).

#### **4.2 Características fisiológicas da soja após aplicação de EBL durante a deficiência hídrica e reidratação**

O EBL diminuiu os efeitos da restrição hídrica em plantas estressadas contribuindo para a ocorrência menores reduções de potencial hídrico, o que evidencia que o EBL agiu na manutenção do status hídrico da planta. As plantas sem EBL foram

mais afetadas pelo estresse e apresentaram valores de potencial hídrico mais negativos mesmo na reidratação, o que mostra que essas plantas não recuperaram o  $\Psi_w$  pós-estresse. O EBL também mitigou os efeitos negativos da restrição hídrica sobre o potencial hídrico em feijão caupi (LIMA; LOBATO 2017) e soja (PEREIRA et al., 2019) que apresentaram menores reduções de potencial hídrico em relação às plantas estressadas sem EBL.

O TRA na folha foi menos afetado em plantas estressadas com EBL, sugerindo que as aplicações de EBL, antes do início do estresse hídrico, contribuem para a manutenção da turgescência celular. Resposta semelhante foi encontrada em pimenta chili, onde foi verificado que o TRA reduziu menos nas plantas tratadas com EBL sob condição de seca (KHAMSUK et al., 2019). Em plantas sob déficit hídrico o EBL pode contribuir para a manutenção do TRA da planta por suas influências na regulação da pressão celular devido ao papel benéfico do EBL na manutenção da permeabilidade e integridade da membrana celular sob condições de estresse hídrico (DESOKY et al. 2021).

A aplicação foliar de EBL melhorou positivamente os parâmetros de trocas gasosas nas plantas de soja irrigadas e pré-tratadas com EBL, essas plantas apresentaram melhor desempenho da condutância estomática, transpiração e principalmente na fotossíntese. O aumento da capacidade fotossintética em plantas tratadas com EBL pode estar associado à participação do brassinosteróide na regulação positiva de alguns genes envolvidos na fotossíntese, resultando no aumento da atividade da RuBisCo e de outras enzimas do ciclo de Calvin e da atividade da anidrase carbônica, enzima responsável por aumentar a disponibilidade de  $\text{CO}_2$  para ligação ao RuBisCO (SIDDIQUI et al., 2018). Em estudo em plantas de soja no estágio fenológico V6, aplicação exógena de EBL promoveu aumento das taxas fotossintéticas em plantas estressadas e irrigadas (PEREIRA et al., 2019).

No entanto, nas plantas de soja sob estresse hídrico com e sem EBL apresentaram fechamento estomático e redução da fotossíntese de forma semelhante, o que deve ter acontecido devido à severidade do estresse. O fechamento estomático é uma das primeiras estratégias da planta para diminuir a perda de água pela transpiração e consequentemente a sua desidratação, na tentativa de manter seu metabolismo, mesmo com potencial hídrico reduzido em seus tecidos (TAIZ et al., 2017). Assim, o EBL não promoveu a manutenção das taxas fotossintéticas em soja sob condições de estresse.

Por outro lado, em estudos com feijão caupi (LIMA; LOBATO, 2017), pimenta chili (KHAMSUK et al., 2019) e trigo (KHAN et al., 2020), os autores observaram que as plantas pré-tratadas com EBL e submetidas a deficiência hídrica apresentaram menores reduções de gs, A e E, o que contribuiu com a melhor capacidade fotossintética das plantas estressadas. Entretanto, tais estudos não ocorreram em estádios críticos do ciclo da planta conforme a fase de florescimento, a qual é extremamente sensível à escassez de água, pois neste momento a necessidade hídrica da soja atinge seu ponto máximo, em decorrência do alto metabolismo dessa fase, na qual as plantas estão em intenso e rápido acúmulo de matéria seca, bem como nutrientes, ambos essenciais ao desenvolvimento final das partes vegetativas, sendo gradativamente deslocados para a formação de vagens e sementes (SEIXAS et al., 2020; NEUMAIER, et al. 2000). Logo, o déficit hídrico acontece de maneira mais intensa nos estádios de floração e enchimento dos grãos das plantas de soja, o que influencia diretamente nas trocas gasosas e, em consequência disso, menor produção de fotoassimilados que seriam destinados à produção de sementes, refletindo, portanto, em sua produtividade (DU et al., 2020).

No entanto, as plantas estressadas tratadas com EBL mesmo com o intenso fechamento dos estômatos, mantiveram o aumento da concentração intercelular de CO<sub>2</sub> semelhantes às plantas irrigadas tratadas com EBL, o que não aconteceu com as plantas estressadas sem EBL. Esse acúmulo de Ci em plantas estressadas pode ser pelo efeito do EBL que pode superar as limitações estomáticas, consequentemente, aumentando a concentração interna de CO<sub>2</sub> disponível para enzimas fotossintéticas (HOLÁ et al., 2010; SIDDIQUI et al., 2018).

Nesse estudo, pôde-se observar também que as plantas pré-tratadas com EBL apresentaram melhores desempenhos na condutância estomática, transpiração e fotossíntese na reidratação, o que indica o efeito positivo do EBL na recuperação das trocas gasosas pós-estresse.

A eficiência quântica efetiva do PSII ( $\Phi$ PSII) reduziu menos em plantas com EBL sob deficiência hídrica, o que sugere que a aplicação foliar do EBL contribuiu para um maior aproveitamento da energia luminosa, o que pode ter evitado maiores danos ao aparato fotoquímico no período de estresse. Fato também evidenciado em outras pesquisas conduzidas em mudas de feijão caupi (LIMA; LOBATO, 2017) e pimenta (KHAMSUK et al., 2019) sob estresse hídrico, além de pimenta sob estresse por frio (LI et al., 2015) que revelaram que o EBL melhora a eficiência do PSII, induzindo

aumentos em  $\Phi$ PSII,  $qP$  e ETR. De acordo com os autores, essas respostas melhoram o aumento na eficiência de captura de fótons, promovendo maior absorção de energia e transferência de elétrons do PSII para PSI. O que pode ter acontecido nesse trabalho, onde o biorregulador desempenhou um papel importante na manutenção da eficiência quântica efetiva do PS II em plantas de soja sob condições de estresse hídrico.

A máxima eficiência fotoquímica do PSII, representada pela razão  $F_v/F_m$ , pouco reduziu em plantas tratadas com e sem EBL sob deficiência hídrica, indicando que não foi detectado comprometimento no aparato fotossintético durante a exposição das plantas ao estresse e que não houve efeito do EBL nas plantas para  $F_v/F_m$ . Em plantas jovens de soja (PEREIRA et al., 2019) e em pimenta chili (KHAMSUK et al., 2018), após pré-tratamentos com EBL sob seca, os autores observaram que o  $F_v/F_m$  dessas plantas também foram mantidos sem alterações no período de estresse. Em estudo com feijão caupi sob deficiência hídrica foi observado baixa redução de  $F_v/F_m$  em plantas estressadas tratadas com EBL (LIMA; LOBATO, 2017), de acordo com os autores o EBL contribuiu com a manutenção da eficiência fotoquímica do PSII nessas plantas.

A aplicação foliar do EBL em soja promoveu o aumento do teor de clorofila total em plantas irrigadas, e proporcionou menor degradação de clorofila total nas plantas estressadas que foram pré-tratadas com EBL, o que sugere que o EBL deve ter contribuído com a maior produção de clorofila nessas plantas antes de serem estressadas e durante o estresse. Os BRs podem prevenir a perda de pigmentos fotossintéticos pela ativação ou indução da síntese de enzimas envolvidas na biossíntese da clorofila (SIDDIQUI et al., 2018), ou reduzir a degradação desses pigmentos, assim o elevado teor de clorofila pode, portanto, levar a uma maior eficiência de captura de luz nas plantas (GILL et al., 2017).

De acordo com Anwar et al. (2018), EBL promove o acúmulo de clorofila e melhora a capacidade fotossintética regulando uma variedade de enzimas, incluindo clorofilase e RuBisCO, níveis de transcrição de genes codificados envolvidos na clorofila e fotossíntese em plantas sob estresse. Assim, nesse estudo, pode-se sugerir que o efeito positivo do EBL deve ter proporcionado aumento nos teores de clorofilas em plantas de soja estressadas, o que pôde ter contribuído com a manutenção da eficiência quântica fotoquímica do PSII nessas plantas. O que está de acordo com outros trabalhos com aplicação foliar de EBL, como soja (PEREIRA et al., 2019), trigo (KHAN et al., 2020) e feijão-caupi (LIMA; LOBATO, 2017), esses autores observaram

que as plantas que receberam EBL aumentaram o teor de clorofila total sob deficiência hídrica, o que melhorou a eficiência fotossintética das plantas.

Neste estudo, pode-se observar que EBL promoveu a atividade de enzimas antioxidantes como CAT e APX em plantas pré-tratadas com EBL sob déficit hídrico, o que sugere que CAT e APX desempenharam um papel importante no controle de espécies reativas de oxigênio produzidas durante déficit hídrico, fato evidenciado pela diminuição do extravasamento de eletrólitos e da peroxidação lipídica nessas plantas, indicando menor degradação da membrana celular.

Plantas estressadas que não receberam EBL apresentaram maior extravasamento de eletrólitos e peroxidação lipídica, o que justifica o maior dano oxidativo nessas plantas. O maior vazamento de eletrólitos está relacionado ao estresse causado pelo déficit hídrico, devido à ruptura da integridade da membrana celular, que pode ocorrer pela produção de EROs (MARTINS et al., 2018). Além disso, altas concentrações de MDA produzidas durante a peroxidação lipídica são um forte indicador de dano celular às membranas (MARKOVIĆ et al., 2020). Assim, a estabilidade da membrana celular é uma variável amplamente utilizada para avaliar a tolerância à seca, conforme observado neste estudo. Em um estudo em plantas de tomate sob estresse salino, verificou-se que o EBL reduziu o vazamento de eletrólitos e aumentou a integridade da membrana e o teor relativo de água em plantas controle e estressadas (MAIA JÚNIOR et al., 2022).

Outros estudos também mostraram que o pré-tratamento com EBL atenuou o estresse oxidativo em diferentes culturas quando submetidas ao déficit hídrico, como observado em feijão-caupi (LIMA; LOBATO; 2017), trigo (KHAN et al., 2020) e milho (DESOKY et al., 2021), uma vez que nesses estudos os autores observaram que a aplicação exógena de EBL em plantas sob estresse hídrico aumentou significativamente a eliminação de EROs, acompanhada de aumento da atividade de enzimas antioxidantes como SOD, CAT e APX e redução da peroxidação lipídica e EE. Portanto, os brassinosteróides parecem contribuir para a redução dos danos à membrana e mitigação dos efeitos negativos do estresse hídrico nas plantas.

### **4.3 Massa seca e produção em plantas pré-tratadas com EBL**

A aplicação foliar do EBL em soja promoveu aumento na produção de massa seca nas folhas e caules, apesar de não ter influenciado na massa da raiz. Esse aumento de massa seca apenas da parte aérea, pode ser explicado talvez pelo EBL ser mais eficiente em transporte a curta distância, sendo assim, a aplicação exógena não foi suficiente para

ser translocada para a raiz. O método de aplicação exógena/foliar do EBL pode ser muito eficiente, e pode ser prontamente absorvido pela folha da planta e translocado para outras partes, causando um grande número de eventos metabólicos (ALI; ASHRAF, 2011; KHAN et al., 2020) e, assim, resultando em aumento significativo no crescimento e matéria seca da planta (HUANG et al., 2020). Outros estudos com soja demonstraram que a aplicação de EBL aumentou a matéria seca da folha e caule em plantas sob deficiência hídrica (PEREIRA et al 2019). Em plântulas de soja o 24-epibrassinolídeo promoveu aumento na germinação e matéria seca em plântulas sob estresse hídrico (RIBEIRO et al., 2019). Em cevada, o EBL melhorou o peso fresco e seco de plantas com e sem estresse (GILL et al., 2017).

O pré-tratamento com EBL em plantas de soja na fase de floração não melhorou a produtividade, mantendo sem alterações o número de vagens sadias, número de grãos, massa de mil grãos e diâmetro dos grãos. Já em outros estudos foram observados efeito positivo do EBL no aumento da produtividade em plantas sob estresse hídrico, a exemplo do trigo (KHAN et al., 2020), pimenta (KHAMSUK et al., 2019) e algodão (AHMED et al., 2017).

## 5. CONCLUSÕES

O EBL mitigou o efeito do estresse hídrico no crescimento da parte aérea das plantas de soja, o que contribuiu com a melhor recuperação na altura da planta, número de folhas e diâmetro do caule pós-estresse.

Em plantas de soja irrigadas, o EBL promoveu melhores processos metabólicos como trocas gasosas, eficiência fotossintética e síntese de clorofila resultando em aumento da biomassa da parte aérea, o que contribuiu com o aumento da massa seca foliar e do caule.

A aplicação foliar do EBL em soja na fase de florescimento amenizou os danos causados pelo déficit hídrico, fato evidenciado pela apresentação de melhor desempenho nas taxas de trocas de gasosas, bem como do teor relativo de água, potencial hídrico foliar, eficiência quântica efetiva do fotossistema II e clorofila total. Assim, aliviando parcialmente o efeito prejudicial do estresse hídrico nas plantas, por aumentar a atividade das enzimas antioxidantes CAT e APX e reduzir os danos causados à membrana celular, com menor extravasamento de eletrólitos e peroxidação lipídica.

Novos estudos de campo com maiores doses de EBL, bem como quantidade de aplicações são recomendáveis para que possam obter melhor resultados, a fim de confirmar se o EBL pode ser usado como produto que alivie os danos causados pela seca em soja.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMED, A.H.H.; DARWISH, E.; ALOBAIDY, M.G. Impact of putrescine and 24-epibrassinolide on growth, yield and chemical constituents of cotton (*Gossypium barbadense* L.) plant grown under drought stress conditions. **Sciences**, v.16, p. 9-23, 2017.

ALI, BARKET. Practical applications of brassinosteroids in horticulture—some field perspectives. **Scientia Horticulturae**, v. 225, p. 15-21, 2017.

ALI, Q.; ASHRAF, M. Induction of drought tolerance in maize (*Zea mays* L.) due to exogenous application of trehalose: growth, photosynthesis, water relations and oxidative defence mechanism. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 197, n. 4, p. 258-271, 2011.

ANJUM, S. A.; ASHRAF, U.; TANVEER, M.; KHAN, I.; HUSSAIN, S.; SHAHZAD B.; WANG, L. C. Drought induced changes in growth, osmolyte accumulation and antioxidant metabolism of three maize hybrids. **Frontier Plant of Science**, v. 8, p. 1–11, 2017.

BAKER N. R. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 89-113, 2008.

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

BOEREMA, A.; PEETERS, A.; SWOLFS, S.; VANDEVENNE, F.; JACOBS, S.; STAES, J.; MEIRE, P. Annelies et al. Soybean Trade: Balancing Environmental and Socio-Economic Impacts of an Intercontinental Market. **Plos One**, v. 11, n. 5, p. 1-13, 2016.

BUEZO, J.; SANZ-SAEZ, Á.; MORAN, J. F.; SOBA, D., ARANJUELO, I.; ESTEBAN, R. Drought tolerance response of high-yielding soybean varieties to mild

drought: physiological and photochemical adjustments. **Physiologia Plantarum**, v.166, n.1, p.88-104, 2019.

CHOUDHARY, S. P.; YU, J. Q.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K.; TRAN, L. S. P. Benefits of brassinosteroid cross-talk. **Trends in Plant Science**, v. 17, n. 10, p. 594-605, 2012.

CONAB. **Companhia Nacional de Abastecimento. Perspectivas para agropecuária** (Safrá 2021/2022), v. 9, p. 85, 2021. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>, acesso em 12/10/2021.

DESOKY, E.S.M.; MANSOUR, E.; ALI, M.M.A.; YASIN, M.A.T.; ABDUL-HAMID, M.I.E.; RADY, M.M.; ALI, E.F. Exogenously Used 24-Epibrassinolide Promotes Drought Tolerance in Maize Hybrids by Improving Plant and Water Productivity in an Arid Environment. **Plants**, v.10, p. 354, 2021.

DHINDSA, R. S. Inhibition of protein synthesis by products of lipid peroxidation, - **Phytochemistry**, v. 21, p. 309–313, 1982.

DOBRIKOVA, A. G.; VLADKOVA, R. S.; RASHKOV, G. D.; TODINOVA, S. J.; KRUMOVA, S. B.; APOSTOLOVA, E. L. Effects of exogenous 24-epibrassinolide on the photosynthetic membranes under non-stress conditions. **Plant physiology and biochemistry**, v. 80, p. 75-82, 2014.

DONG, S.; JIANG, Y.; DONG, Y.; WANG, L.; WANG, W.; MA, Z.; YAN, C.; MA, C.; LIU, L. A study on soybean responses to drought stress and rehydration. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, n. 8, p. 2006-2017, 2019.

DU, Y.; ZHAO, Q.; CHEN, L.; YAO, X.; ZHANG, H.; WU, J.; XIE, F. Effect of drought stress during soybean R2–R6 growth stages on sucrose metabolism in leaf and seed. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 2, p. 618, 2020.

EMBRAPA. Brazilian Agricultural Research Corporation. Brazilian system of soil classification. 3rd. ed. Brasília: **Embrapa Technological Information**; 2013.

GASSEN, D. N. **O índice de área foliar em soja**, 2002. Agrolink. Disponível em: [https://www.agrolink.com.br/colunistas/o-indice-de-area-foliar-em-soja\\_383603.html](https://www.agrolink.com.br/colunistas/o-indice-de-area-foliar-em-soja_383603.html). Acesso em: 03 de maio de 2019.

GILL, M. B.; CAI, K.; ZHANG, G.; ZENG, F. Brassinolide alleviates the drought-induced adverse effects in barley by modulation of enzymatic antioxidants and ultrastructure. **Plant Growth Regulation**, v. 82, n. 3, p. 447-455, 2017.

HAVIR E, A.; MCHALE, N.A. Biochemical and developmental characterization of multipleforms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiology**, 84: 450–455, 1987.

HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry off attyacid peroxidation. **Archives Biochemical Biophys**, 125:189–198, 1968.

HOLÁ, D.; ROTHOVÁ, O.; KOČOVÁ, M.; KOHOUT, L.; KVASNICA, M. The effect of brassinosteroids on the morphology, development and yield of field-grown maize. **Plant Growth Regulation**, v. 61, n. 1, p. 29-43, 2010.

HUANG, L.; ZHANG, L.; ZENG, R.; WANG, X.; ZHANG, H.; WANG, L.; ZHANG, H.; WANG, L.; LIU, S.; WANG, X.; CHEN, T. Brassinosteroid priming improves peanut drought tolerance via eliminating inhibition on genes in photosynthesis and hormone signaling. **Genes**, v. 11, n. 8, p. 919, 2020.

KHAMSUK, O.; SONJAROON, W.; SUWANWONG, S.; JUTAMANEE, K.; SUKSAMRARN, A. Effects of 24-epibrassinolide and the synthetic brassinosteroid mimic on chili pepper under drought. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 40, n. 6, p. 106, 2018.

KHAN, I.; AWAN, S. A.; IKRAM, R.; RIZWAN, M.; AKHTAR, N.; YASMIN, H.; SAYYED, R.Z.; ALI, S.; ILYAS, N. Effects of 24-epibrassinolide on plant growth, antioxidants defense system, and endogenous hormones in two wheat varieties under

drought stress. **Physiologia Plantarum**, p. 1-11, 2020. Doi: <https://doi.org/10.1111/ppl.13237>.

LI, J.; YANG, P.; GAN, Y.; YU, J.; XIE, J. Brassinosteroid alleviates chilling-induced oxidative stress in pepper by enhancing antioxidation systems and maintenance of photosystem II. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 37, n. 11, p. 222, 2015.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In: PACKER, L.; DOUCE, R. (Eds.). *Methods in enzymology*. London: **Academic Press**, p.350-381, 1987.

LIMA, J.; LOBATO, A. Brassinosteroids improve photosystem II efficiency, gas exchange, antioxidant enzymes and growth of cowpea plants exposed to water deficit. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v.23, p.59-72, 2017.

MAIA JÚNIOR, S. de O.; ANDRADE, J. R.; NASCIMENTO, R.; LIMA, R. F.; BEZERRA, C. V. C.; FERREIRA, V. M.

Brassinosteroid application increases tomato tolerance to salinity by changing the effect of stress on membrane integrity and gas exchange. **Acta Science Agronomy**, v. 44: e55647-e55647, 2022.

MARTINS, A. C.; LARRÉ, C. F.; BORTOLINI, F.; BORELLA, J.; EICHHOLZ, R.; DELIAS, D.; AMARANTE, L. Tolerância ao déficit hídrico: Adaptação diferencial entre espécies forrageiras. **Iheringia, Série Botânica**, v. 73, p. 228–239, 2018.

MARKOVIĆ, S.; PETROVIĆ, M.; ĐUKIĆ, N. Variability of malondialdehyde content and yield elements in *Triticum aestivum* L. under heat stress conditions. **Kragujevac Journal Science**, v. 42, p. 45–54, 2020.

MAXWELL, K.; JOHNSON, G. N. Chlorophyll fluorescence: a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, v.51, p.659-668, 2000.

MORALES, R. G. F. **Resistência ao déficit hídrico em famílias de tomateiro derivados de *Solanum pennellii***. 93 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal). Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras, 2012.

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

NEUMAIER, N. **Estádios de desenvolvimento da cultura de soja**. Embrapa Soja-Capítulo em livro científico (ALICE), 2000.

NOLAN, T. M.; VUKAŠINOVIĆ, N.; LIU, D.; RUSSINOVA, E.; YIN, Y. Brassinosteroids: Multidimensional regulators of plant growth, development, and stress responses. **The Plant Cell**, v. 32, n. 2, p. 295-318, 2020.

PEREIRA, Y. C.; RODRIGUES, W. S.; LIMA, E. J. A.; SANTOS, L. R.; SILVA, M. H. L.; LOBATO, A. K. S. Brassinosteroids increase electron transport and photosynthesis in soybean plants under water deficit. **Photosynthetica**, v.57, n.1, p.181-191, 2019.

RIBEIRO, S. D. G.; SILVA, B. R. S.; LOBATO, A. K. S. Brassinosteroids induce tolerance to water deficit in soybean seedlings: contributions linked to root anatomy and antioxidant enzymes. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.4, n.6, p.82, 2019.

RIBEIRO, J. R. S; SILVA FILHO, L. A. Indicadores de desempenho exportador do complexo soja brasileiro–2000-2019. **Revista de Economia Mackenzie**, v. 19, n. 1, p. 33-62, 2022.

SELDIMIROVA, O. A.; BEZRUKOVA, M. V.; GALIN, I. R.; LUBYANOVA, A. R.; SHAKIROVA, F. M.; KRUGLOVA, N. N. 24-epibrassinolide effects on in vitro callus tissue formation, growth, and regeneration in wheat varieties with contrasting drought resistance. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 64, n. 6, p. 919-929, 2017.

SEIXAS, C. D. S. **Tecnologias de produção de soja**. Embrapa Soja-Sistema de Produção (INFOTECA-E), 2020.

SIDDIQUI, H.; HAYAT, S.; BAJGUZ, A. Regulation of photosynthesis by brassinosteroids in plants. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 40, n. 3, p. 59, 2018.

TANVEER, M.; SHAHZAD, B.; SHARMA, A.; KHAN, E. A. 24-Epibrassinolide application in plants: An implication for improving drought stress tolerance in plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 135, p. 295-303, 2019.

VARDHINI, B. V. Modifications of morphological and anatomical characteristics of plants by application of brassinosteroids under various abiotic stress conditions-A review. **Plant Gene**, v. 11, p. 70-89, 2017.

YUAN, G. F.; JIA, C. G.; LI, Z.; SUN, B.; ZHANG, L. P.; LIU, N.; WANG, Q. M. Effect of brassinosteroids on drought resistance and abscisic acid concentration in tomato under water stress. **Scientia Horticulturae**, v. 126, n. 2, p. 103-108, 2010.

ZHANG, M.; ZHAI, Z.; TIAN, X.; DUAN, L.; LI, Z. Brassinolide alleviated the adverse effect of water deficits on photosynthesis and the antioxidant of soybean (*Glycine max* L.). **Plant Growth Regulation**, v. 56, n. 3, p. 257-264, 2008.

### CAPÍTULO III

## APLICAÇÃO FOLIAR DE 24-EPIBRASSINOLÍDEO NO CRESCIMENTO E MECANISMOS FISIOLÓGICOS EM SOJA NA FASE DE ENCHIMENTO DOS GRÃOS SOB DEFICIÊNCIA HÍDRICA E REIDRATAÇÃO

### RESUMO

O déficit hídrico é um dos estresses abióticos que mais afeta a produção agrícola em todo o mundo, incluindo a soja que é uma leguminosa de grande importância econômica mundial. Além das inúmeras utilizações na alimentação humana e animal, é também uma importante cultura utilizada na produção industrial de ceras, tintas, corantes e fibras. Por estas razões, a investigação das mudanças morfo-fisiológicas e produtivas na condição de estresse hídrico pode ajudar a selecionar variedades com maior produtividade ou, ainda, a utilização de atenuantes ao déficit hídrico, como brassinosteroides, pode evitar o impacto negativo do estresse hídrico. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a resposta da aplicação exógena de EBL sobre o crescimento, fisiologia e produção em plantas de soja sob deficiência hídrica na fase de enchimento de grãos. O experimento foi conduzido em casa de vegetação com delineamento experimental em blocos inteiramente casualizados, com esquema fatorial 2x2 (Regimes hídricos x Aplicação de EBL) com sete repetições. Os regimes hídricos foram irrigação durante todo o cultivo (controle) e supressão gradativa da irrigação (estresse hídrico), com posterior reidratação das plantas. As análises fisiológicas foram realizadas quando as plantas estavam na fase de enchimento do grão no estresse máximo (79 DAS) e reidratação (83 DAS). Após o período de estresse as plantas foram irrigadas normalmente até a maturação (106 DAS) quando foram realizadas as coletas de produtividade e de massa seca. A aplicação foliar do EBL em soja na fase de enchimento dos grãos não atenuou as trocas gasosas das plantas estressadas, mas foi eficiente na melhor recuperação após o estresse. No entanto, atenuou os danos causados pelo déficit hídrico sobre o teor relativo de água e a eficiência quântica efetiva do fotossistema II, o que contribuiu com maior massa seca das plantas, número de vagens e de grãos, bem como o tamanho dos grãos.

**Palavras-chave:** *Glycine max*. Escassez de água. Brassinosteróides. Fotossistema II. Condutância estomática. Estádio reprodutivo.

## ABSTRACT

Water deficit is one of the abiotic stresses that most affects agricultural production worldwide, including soybean, which is a legume of great economic importance worldwide. In addition to the numerous uses in human and animal food, is also an important crop used in agriculture. industrial production of waxes, inks, dyes and fibers. For these reasons, the investigation of morpho-physiological and productive changes in the condition of water stress can help to select varieties with greater productivity or, even, the use of mitigating agents for water deficit, such as brassinosteroids, can avoid the negative impact of water stress. Therefore, the objective of this work was to evaluate the response of exogenous application of EBL on growth, physiology and production in soybean plants under water deficit in the grain filling phase. The experiment was carried out in a greenhouse with an experimental design in completely randomized blocks, with a 2x2 factorial scheme (Water regimes x EBL application) with seven replications. The water regimes were irrigation throughout the crop (control) and gradual suppression of irrigation (water stress), with subsequent rehydration of the plants. Physiological analyzes were performed when the plants were in the grain filling phase at maximum stress (79 DAS) and rehydration (83 DAS). After the stress period, the plants were irrigated normally until maturation (106 DAS) when productivity and dry matter were collected. The foliar application of EBL in soybean in the grain filling phase did not attenuate the gas exchanges of the stressed plants, but it was efficient in the better recovery after the stress. However, it attenuated the damage caused by the water deficit on the relative water content and the effective quantum efficiency of the photosystem II, which contributed to a greater dry mass of the plants, number of pods and grains, as well as grain size.

**Key words:** *Glycine max.* Water stress. Brassinosteroids. Photosystem II. Stomatal conductance. Reproductive stage.

## 1. INTRODUÇÃO

O déficit hídrico é um dos estresses abióticos que mais afeta a produção agrícola em todo o mundo (HUANG et al., 2020), incluindo a soja que é uma leguminosa de grande importância econômica mundial, que além das inúmeras utilizações na alimentação humana e animal, é também uma importante cultura utilizada na produção industrial de ceras, tintas, corantes e fibras (RAGHUVANSHI e BISHT, 2010).

Como a soja tem sua produção altamente dependente de boa disponibilidade hídrica, cerca de 550 a 800 mm ao longo do ciclo (CHAVARRIA et al., 2015), o aumento das temperaturas globais e a mudança nos padrões de precipitação representam uma ameaça significativa para a produção de soja, especialmente em regiões com chuvas irregulares, abaixo da média, ou que não dispõem de irrigação (COTRIM et al., 2021).

Em plantas de soja, o déficit hídrico reduz os pigmentos fotossintéticos, a condutância estomática, o crescimento, a produção de biomassa, e, finalmente, o rendimento de grãos e seus componentes (SILVA et al. 2018; 2022). Quando o déficit hídrico ocorre no estágio reprodutivo também chamado de pós-florescimento é bastante prejudicial à cultura, pois a falta de água nesta fase afeta diretamente o rendimento dos grãos em virtude do abortamento de flores com conseqüente redução no número, além de redução no tamanho e qualidade dos grãos (NEUMAIER et al., 2000).

Por estas razões, a investigação das mudanças morfo-fisiológicas e produtivas na condição de estresse hídrico pode ajudar a selecionar variedades com maior produtividade ou, ainda, a utilização de atenuantes ao déficit hídrico em plantas de soja, como brassinosteroides, pode evitar o impacto negativo do estresse hídrico por melhoria nas trocas gasosas e na retenção de água nos tecidos com menor perda de turgor (SILVA et al., 2022).

Diversos estudos demonstraram que a aplicação exógena de EBL influencia na proteção das plantas contra o estresse hídrico, ativando ou mantendo a biossíntese de clorofilas (LOPES et al., 2019), melhorando as trocas gasosas, com uma maior taxa fotossintética em milho (DESOKY et al., 2021), além de influenciar na manutenção do conteúdo de água na planta em trigo (KHAN et al., 2020). Já em plantas de amendoim após 7 dias submetidas a estresse hídrico, a utilização de brassinosteróide aumentou o número de vagens por planta, o peso de vagens e o peso de cem grãos em 53%, 44% e 54%, respectivamente, em comparação as plantas sem o fitohormônio (HUANG et al., 2020).

Além dessas outras culturas, na soja a utilização de brassinosteróide na fase de plântulas amenizou os efeitos adversos do estresse, promovendo aumento da germinação, comprimento das plântulas e produção de matéria seca (RIBEIRO et al., 2019). Já no estágio vegetativo promoveu aumento na taxa de transporte de elétrons e na eficiência fotossintética (PEREIRA et al., 2019), além do conteúdo relativo de água e acúmulo de massa seca nas plantas sob déficit hídrico (SILVA et al., 2022).

Apesar dessas pesquisas envolvendo o uso de EBL na cultura da soja, informações a respeito da limitação hídrica na fase de enchimento dos grãos ainda são escassas, o que torna esse estudo de grande relevância, pois o déficit hídrico reduz a fotossíntese de forma mais acentuada na fase de enchimento de grãos, além de ocorrer maior dificuldade na recuperação após a reidratação do solo nessa fase (SILVA et al., 2018).

Diante do exposto, ocorre a necessidade de novos estudos com a cultura da soja, sobretudo em resposta à deficiência hídrica na fase de enchimento dos grãos, testando os efeitos do EBL no ajustamento dos mecanismos de crescimento e fisiológicos. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a resposta da aplicação exógena de EBL sobre o crescimento, fisiologia e produção em plantas de soja sob deficiência hídrica na fase de enchimento de grãos.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Material vegetal e condições experimentais

O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação localizada a 09°28'02"S; 35°49'43"W e 127 m de altitude. O experimento foi realizado no período compreendido entre setembro e dezembro de 2019, utilizando a cultivar IMA 84114RR de hábito de crescimento determinado. As sementes foram obtidas pela Universidade Federal de Alagoas - *Campus Arapiraca*.

A semeadura ocorreu em vasos de 20 litros e acompanhado seu desenvolvimento até o final da fase reprodutiva. Para o tratamento das sementes de soja, utilizou-se o inoculante comercial turfoso Masterfix®, da empresa Stoller do Brasil Ltda, que contém duas estirpes SEMIA 5019 (*Bradyrhizobium elkanii*) e SEMIA 5079 (*Bradyrhizobium japonicum*). A semeadura foi realizada 1 hora após a inoculação (EMBRAPA, 2013).

A irrigação das mudas de soja durante o experimento foi realizada a cada dois dias. A umidade do solo foi mantida próxima à capacidade de campo até os 61 dias após semeadura (DAS), fase em que as vagens se encontravam desenvolvidas, período em que foi realizada a redução gradativa da irrigação até a supressão total, aos 76 DAS, fase de enchimento do grão R5 (Tabela 1).

Nesse experimento, a deficiência hídrica foi implantada no período de enchimento de grãos das plantas de soja. Assim, além do estresse gradativo, aos 76 dias DAS iniciou-se o estresse máximo por três dias (79 DAS), até que as plantas apresentassem aspecto de murcha, seguidas de quatro dias de reidratação (83 DAS). As aplicações de 24-epibrassinolídeo (EBL), via foliar, ocorreram aos 61, 66, 71 e 76 DAS, antes da supressão hídrica total (Tabela 1), caracterizando o estresse hídrico no estágio de enchimento dos grãos.

**Tabela 1.** Os tratamentos de irrigação foram definidos em função da reposição de água (T), conforme abaixo:

| Nº de aplicações          | Aplicações de EBL |                |                |                |
|---------------------------|-------------------|----------------|----------------|----------------|
|                           | 1 <sup>a</sup>    | 2 <sup>a</sup> | 3 <sup>a</sup> | 4 <sup>a</sup> |
| Épocas de aplicação (DAS) | 61                | 66             | 71             | 76             |
| Reposição de água (T)     | 100%              | 80%            | 70%            | 50%            |

Fonte: Autora, 2023.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos inteiramente casualizados, em esquema fatorial 2x2 (Regimes hídricos x Aplicação de EBL) com sete repetições. Os regimes hídricos foram irrigação durante todo o cultivo (controle) e supressão gradativa da irrigação (estresse hídrico), com posterior reidratação das plantas. As análises fisiológicas foram realizadas quando as plantas estavam na fase de enchimento do grão no estresse máximo (79 DAS) e reidratação (83 DAS). Após o período de estresse as plantas foram reirrigadas a 100% (T) até a maturação (106 DAS) quando foram realizadas as coletas de produtividade e de massa seca.

## **2.2 Diluição e Aplicação do Regulador Vegetal 24-Epibrassinolídeo**

As aplicações de 24-epibrassinolídeo (EBL) na parte aérea ocorreram aos 61, 66, 71 e 76 DAS, com volume de aplicação de 30 mL por vaso, na concentração de 0,1 mg/L, via foliar até o ponto de escorrimento, com auxílio de pulverizadores manuais. O biorregulador vegetal utilizado foi o análogo de brassinosteróide ( $C_{28}H_{48}O_6$ ), o 24-epibrassinolide, Phyto Technology Laboratories® diluído em água deionizada para obter a solução estoque (YUAN et al., 2010). Em seguida, novamente diluído para a concentração de 0,1 mg/L (ZHANG et al., 2008). A aplicação do biorregulador ocorreu ao final da tarde, nas partes adaxial e abaxial das folhas. Uma câmara adaptada de material plástico foi utilizada para evitar a absorção pelas parcelas adjacentes no período de aplicação. Para as plantas sem o tratamento do EBL foi aplicado o mesmo volume de água destilada.

## **2.3 Imposição do Regime Hídrico**

A irrigação durante o período de aplicação do hormônio foi baseada na umidade do solo, a qual foi monitorada através de um sensor de umidade modelo SM200 acoplado a um medidor de umidade modelo HH2 (Delta T Device, England). De acordo com a metodologia de Morales (2012), o solo seco ao ar livre foi utilizado para preencher os vasos, nos quais foram instalados o sensor SM200 e, logo após, pesados para obtenção do peso seco (PS) e realizada a leitura na SM200 (Lps). Posteriormente, o solo foi saturado e, ao término da drenagem da água, realizou-se nova pesagem, obtendo-se o peso úmido (PU), bem como leitura de umidade de (Lpu). A diferença entre o PS e PU foi determinada como a capacidade de armazenamento de água no vaso (Cav). Ademais, para realização dos cálculos, considerou-se que 1,0 g equivale a 1 mL

da capacidade de armazenamento de água nos vasos (MORALES, 2012). A realização das leituras por meio do sensor SM200 ocorreu a cada dois dias em cada tratamento. A definição dos tratamentos de irrigação procedeu-se em função da reposição de água (T), (Tabela 1).

Os tratamentos controle (sem deficiência hídrica) foram mantidos com a umidade equivalente à capacidade de armazenamento de água nos vasos (100% Cav). No estresse hídrico houve a supressão gradativa da irrigação, de modo que, a cada aplicação do biorregulador, reduziu-se o nível de reposição de água, os quais foram 100, 80, 70, 50% da água disponível no vaso.

O volume de água aplicado em cada tratamento foi calculado através da seguinte fórmula:

$$V = \{[(L_{pu} - L_{ps}) \times T/100 + L_{ps}] - LD\} \times QA \quad (1)$$

Em que:

V – volume em mL;

$L_{pu}$  – leitura na SM200, do vaso saturado com água (%);

$L_{ps}$  – leitura na SM200, do vaso com solo seco (%);

T – níveis de reposição de água (1,0; 0,80; 0,70 e 0,50);

LD – leitura diária com a SM200 (%).

$$QA = [Cav/(L_{pu} - L_{ps})] \times 1000 \quad (2)$$

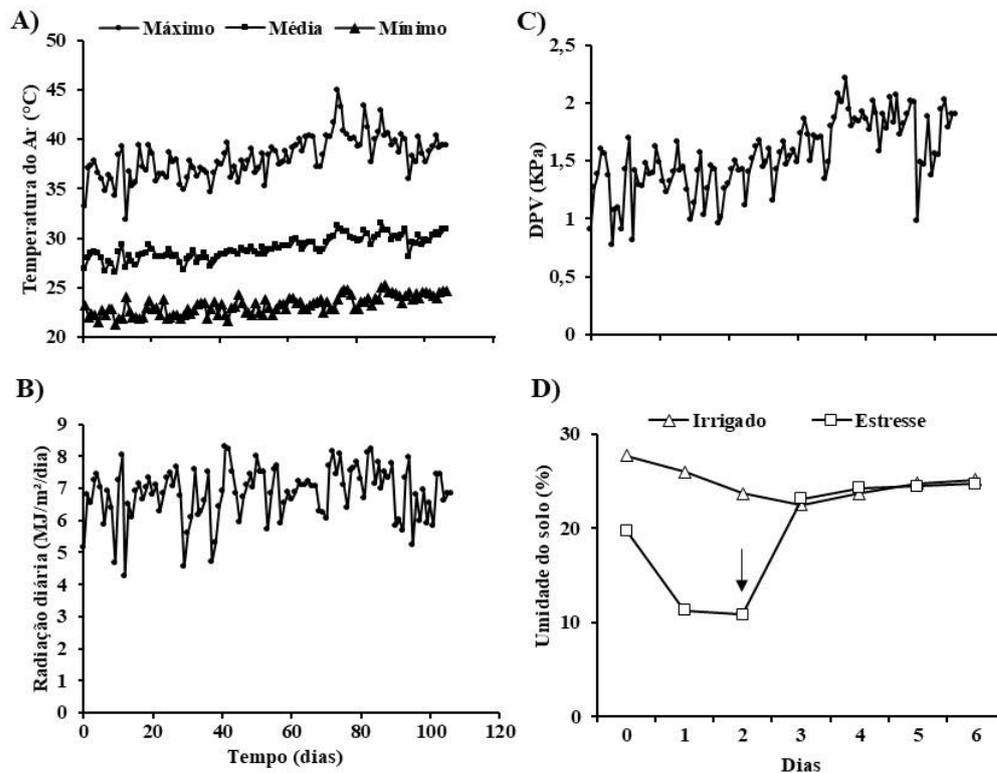
Em que:

Cav – capacidade de armazenamento de água, dada em L;

QA = quantidade de água

As condições ambientais durante o período experimental foram monitoradas por uma estação meteorológica automática modelo WS - GP1 (DELTA-T Devices, Cambridge - England), localizada dentro da casa de vegetação, registrando: temperatura (°C), umidade relativa do ar (%) a cada 5 minutos e radiação solar (MJ.m<sup>2</sup> .dia) a cada 15 segundos e a média armazenada a cada 15 min em datalog. Com base nos dados de umidade e temperatura foi calculado o déficit de pressão de vapor (DPV) do ar (Figura 1).

**Figura 1.** Médias diárias de temperatura do ar (A), radiação diária (B) e DPV (C) durante o período de cultivo. Umidade do solo (%) durante os dias de deficiência hídrica seguidos de reidratação. Seta indica o estresse máximo.



Fonte: Autora, 2023.

## 2.4 Análises morfológicas

As variáveis de crescimento [altura de planta (AP), número de folha (NF), diâmetro do caule (DC) e área foliar (AF)] foram determinadas a partir de 15 DAS, quando as plantas se encontravam no final do estágio V2, em intervalos de 15 dias até os 90 DAS, equivalente à fase de maturação, quando cessou o crescimento.

O número de folhas foi quantificado a partir dos 30 DAS. A AF foi determinada medindo-se comprimento (C) e largura (L) dos três folíolos do terço médio das plantas, e aplicando-se os dados na seguinte fórmula:  $AF = C \times L \times 0,30$ , em que 0,30 é o fator de correção para área foliar da cultura, devendo-se descontar 30% da área devido ao seu formato ovóide (GASSEN, 2002).

## 2.5 Análises fisiológicas

As avaliações fisiológicas foram realizadas em duas épocas: durante o estresse máximo, que ocorreu após três dias de restrição hídrica, e após reidratação por quatro dias. As medidas de trocas gasosas e atividade fotoquímica foram realizadas em uma

das folhas do terço médio, nos horários entre 8:00 e 10:00 da manhã. A taxa de fotossíntese (A), transpiração (E) e condutância estomática (gs) foram quantificadas com um analisador portátil de CO<sub>2</sub> a infravermelho modelo Li-6400XT (Infra Red Gas Analyser – IRGA, Licor, EUA).

A máxima eficiência fotoquímica do PSII (Fv/Fm) foi determinada no pré-amanhecer (4:30 h) e ao meio-dia (12:00 h) através de um fluorômetro portátil de luz modulada (PAM 2500, WALZ), seguindo-se os procedimentos propostos por Maxwell e Johnson (2000). Os trifólios do terço médio das plantas foram adaptados ao escuro durante 30 minutos por meio de cliques inseridos no limbo das folhas. O rendimento quântico efetivo do PSII ( $\Phi$ PSII) foi determinado as 10:00 h sob luz ambiente (BAKER, 2008).

Os conteúdos de clorofila *a* e clorofila *b* foram quantificados utilizando discos foliares de 0,8 cm<sup>2</sup> totalizando 50 mg, os quais foram picotados e acondicionados em tubos de vidro, protegidos com papel alumínio contendo 5 mL de acetona a 80%, acondicionados ao abrigo da luz a 4 °C durante 24 horas. Posteriormente, foram realizadas as leituras de absorvância dos extratos a 645 e 663 nm de comprimento de onda, em espectrofotômetro. Os níveis de clorofila *a*, *b* e carotenoides foram então calculados pelo método descrito por Lichtenthaler (1987), expressos em mg g<sup>-1</sup> MF. Em seguida, foi calculado o conteúdo de clorofila total (a+b).

O teor relativo de água na folha (TRA) foi obtido de 6 discos de folhas frescas de 0,8 cm<sup>2</sup> de diâmetro retirados dos trifólios da parte mediana das plantas. O TRA foi calculado por meio da obtenção da massa fresca (MF) e, em seguida, as amostras foram colocadas em água destilada durante 24 horas. A massa túrgida (MT) foi obtida e os discos foliares foram colocados em estufa com circulação de ar a 65 °C durante 24 horas para determinação da massa seca (MS). O teor relativo de água foi calculado por meio da seguinte fórmula:  $TRA(\%) = [(MF - MS) / (MT - MS)] \times 100$ , conforme Barrs; Weatherley (1962).

O potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) foi quantificado na folha do terço médio utilizando uma câmara de pressão Scholander (Modelo 3005, Santa Barbara, EUA). As medições foram realizadas entre 4:30 e 5:30 h (amanhecer) e às 12 horas (meio-dia).

## 2.6 Acúmulo de massa seca e produção

As plantas foram coletadas ao final do experimento com 106 DAS (final da fase reprodutiva) e separadas em folhas, caule e raízes e secas em estufa com circulação de

ar forçada a 65 °C, até atingirem massa constante. A massa seca total foi obtida pelo somatório das MSF, MSC e MSR. As vagens foram coletadas manualmente para contagem do número de vagens sadias (NVS), número de grãos (NG), massa de mil grãos (MMG), diâmetro do grão (DG) e rendimento dos grãos por planta (RG). Para as características de produção, determinou-se: NVS: N° total de vagens – N° de vagens abortadas, NG: Somatório total de grãos por planta, MMG: Pesagem de cem grãos e transformação para peso de mil grãos (g), DG: Medição com auxílio de paquímetro digital (mm), RG: peso total dos grãos por planta (g).

## **2.7 Análise estatística**

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F, e quando detectada diferença significativa, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a  $p < 0,05$ , utilizando-se o programa estatístico computacional Sisvar 5.6.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 Características Morfológicas

A aplicação foliar do EBL em mudas de soja, aos 75 dias após semeadura e 14 dias após o início da supressão gradativa da irrigação, influenciou de forma positiva a morfologia de plantas apenas para o diâmetro do caule. As plantas que não receberam o EBL apresentaram redução de 4,3% no diâmetro do caule (Tabela 2) em relação àquelas tratadas com EBL. As plantas de soja não apresentaram diferença para a altura de plantas, número de folhas e área foliar entre os tratamentos (Tabela 2).

**Tabela 2.** Resumo da análise de variância da altura de plantas (AP), diâmetro do caule (DC), número de folhas (NF) e área foliar (AF) aos 75 DAS, em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de enchimento dos grãos e posterior reidratação.

| FV     | AP     | DC    | NF      | AF     |
|--------|--------|-------|---------|--------|
| H      | 3,21ns | 7,07* | 2,10ns  | 0,04ns |
| E      | 1,05ns | 5,45* | 1,64 ns | 0,03ns |
| H x E  | 0,82ns | 1,55  | 0,18ns  | 0,01ns |
| Erro   | 18     | 18    | 18      | 18     |
| CV (%) | 5,39   | 5,03  | 8,21    | 10,90  |

Fv: Fontes de Variação; H: Tratamento Hídrico; E: Tratamento com EBL; H x E: Interação entre o tratamento hídrico e o tratamento com EBL; C.V.: coeficiente de variação; ns: não significativo; \*: significativo ( $P>0,05$ ); \*\*: significativo ( $P<0,01$ ).

Fonte: Autora, 2023.

**Tabela 3.** Resumo da análise de variância da altura de plantas (AP), diâmetro do caule (DC), número de folhas (NF) e área foliar (AF) aos 90 DAS em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de enchimento dos grãos e posterior reidratação.

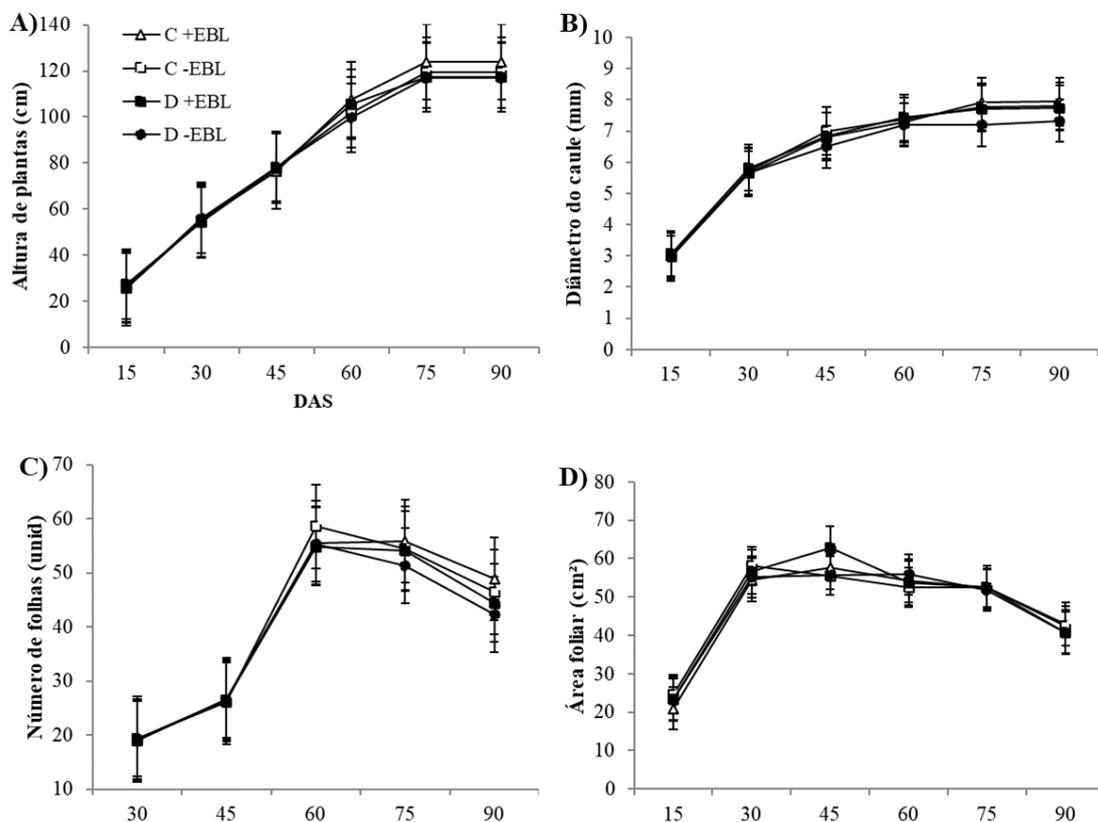
| FV     | AP     | DC     | NF      | AF     |
|--------|--------|--------|---------|--------|
| H      | 3,21ns | 4,70*  | 5,33 *  | 0,88ns |
| E      | 1,05ns | 3,13ns | 1,51 ns | 0,02ns |
| H x E  | 0,82ns | 0,72ns | 0,00 ns | 0,01ns |
| Erro   | 18     | 18     | 18      | 18     |
| CV (%) | 5,39   | 5,43   | 10,79   | 13,02  |

Fv: Fontes de Variação; H: Tratamento Hídrico; E: Tratamento com EBL; H x E: Interação entre o tratamento hídrico e o tratamento com EBL; C.V.: coeficiente de variação; ns: não significativo; \*: significativo ( $P>0,05$ ); \*\*: significativo ( $P<0,01$ ).

Fonte: Autora, 2023.

Aos 90 DAS e 11 dias de reidratação, já no estágio de maturação, as plantas de soja submetidas à supressão hídrica apresentaram redução no diâmetro do caule de 3,8% e número de folhas de 8,8%, em relação às plantas que não foram expostas ao estresse hídrico, independente, da aplicação ou não do EBL (Tabela 3, Figura 2).

**Figura 2.** Altura de plantas (A), Diâmetro do caule (B), Número de folhas (C) e Área foliar (D) em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de enchimento dos grãos e posterior reidratação. Crescimento de plantas de soja acompanhado da fase inicial do estágio vegetativo até final do estágio de maturação. Cada ponto indica o valor médio de sete repetições e barras indicam erro padrão.



Fonte: Autora, 2023.

### 3.2 Características fisiológicas

O teor relativo de água (TRA) e o potencial hídrico da folha ( $\Psi_w$ ) não variaram entre os tratamentos com e sem EBL nas plantas irrigadas, controle (Tabela 4).

Contudo, com a imposição do estresse hídrico as plantas tratadas com EBL apresentaram redução de TRA de 40,3% e as plantas sem EBL essa redução foi de

53,3% em relação aos respectivos controles (Figura 3A). Já o potencial hídrico foliar no amanhecer ( $\Psi_w$  predawn) a redução foi 220% nas plantas tratadas com EBL, apresentando uma média de -1,38 MPa, já nas plantas sem EBL essa redução foi de 333%, com valor médio de -1,95 MPa (Figura 3C). As maiores reduções de  $\Psi_w$  foram observadas ao meio dia em plantas sob deficiência hídrica sem EBL (25,6%) com valor médio de -1,96 MPa, enquanto em plantas estressadas e tratadas com EBL apresentaram valor médio de  $\Psi_w$  meio-dia -1,79 Mpa, com redução de 17,7 %, menor em relação ao controle (Figura 3E).

**Tabela 4.** Análise de variância dos atributos fisiológicos: Teor relativo de água na folha (TRA), potencial hídrico foliar  $\Psi_w$  predawn e meio dia, fotossíntese (A), condutância estomática (gs), transpiração (E), eficiência quântica máxima do fotossistema II (Fv/Fm) meio dia, eficiência quântica efetiva do fotossistema II ( $\Phi$ PSII), Índice SPAD e Clorofila Total (Cl total) em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de enchimento dos grãos e posterior reidratação.

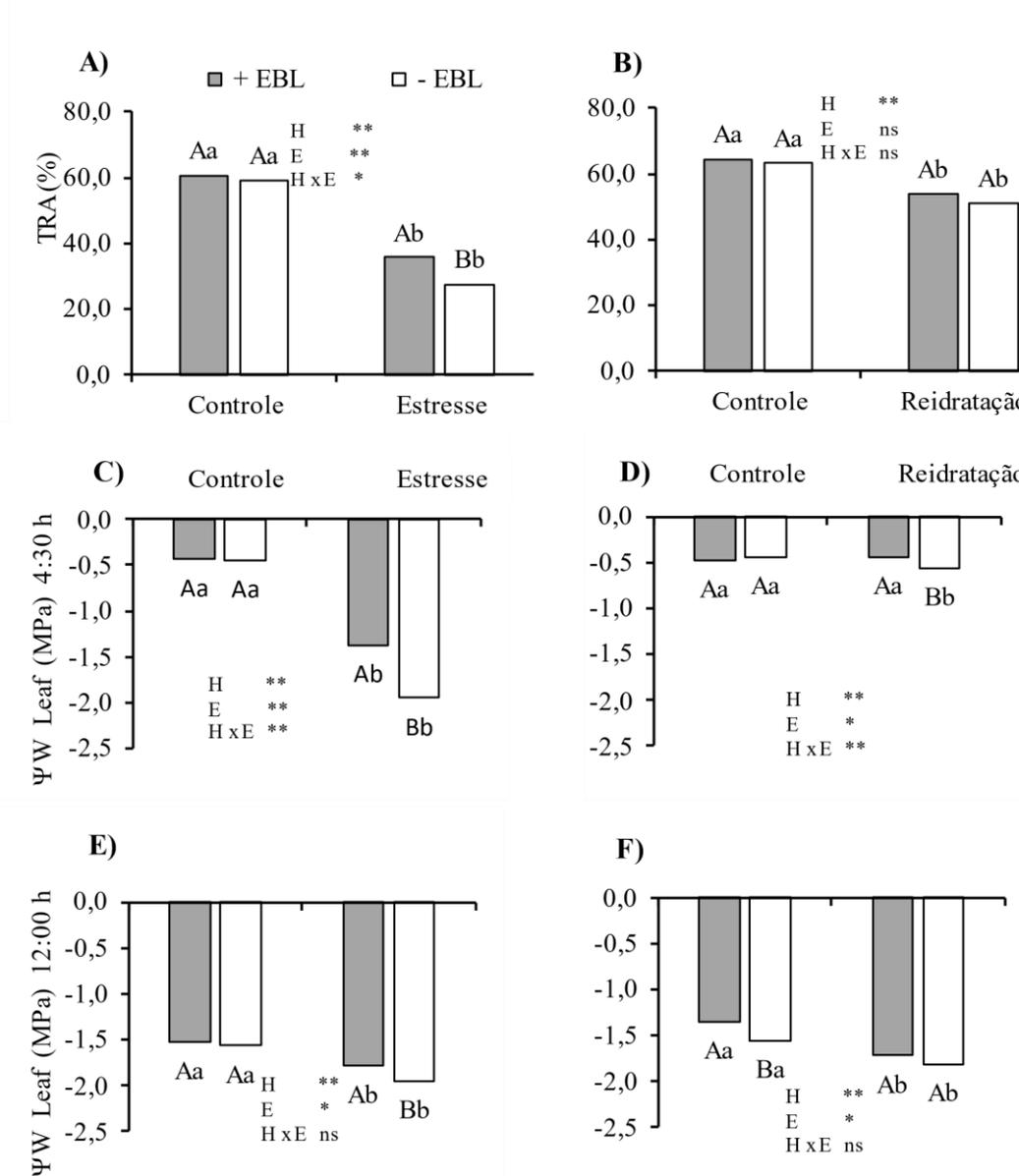
| FV                      | TRA     | $\Psi_w$ predawn | $\Psi_w$ Meio-dia | A        | gs       | E        | Ci     | Fv/Fm  | $\Phi$ PSII | SPAD     | Cl total |
|-------------------------|---------|------------------|-------------------|----------|----------|----------|--------|--------|-------------|----------|----------|
| <b>Estresse hídrico</b> |         |                  |                   |          |          |          |        |        |             |          |          |
| H                       | 535,0** | 378,8**          | 56,0**            | 1324,7** | 1942,4** | 2041,9** | 7,62*  | 3,48ns | 50,20**     | 1680,3** | 28,51**  |
| E                       | 16,34** | 22,5**           | 5,50*             | 18,07**  | 64,80**  | 26,42**  | 24,9** | 2,06ns | 1,40ns      | 28,26**  | 0,883ns  |
| (HxE)                   | 8,78*   | 19,4**           | 2,01ns            | 2,84ns   | 54,56**  | 7,58*    | 19,6** | 1,56ns | 1,02ns      | 11,57*   | 0,273ns  |
| Erro                    | 18      | 18               | 18                | 18       | 18       | 18       | 18     | 18     | 18          | 18       | 18       |
| CV(%)                   | 6,98    | 15,73            | 6,93              | 11,88    | 11,06    | 9,59     | 4,67   | 4,94   | 12,59       | 2,15     | 7,05     |
| <b>Reidratação</b>      |         |                  |                   |          |          |          |        |        |             |          |          |
| H                       | 119,3** | 10,1**           | 67,9**            | 115,9**  | 151,2**  | 38,7**   | 0,53ns | 3,89ns | 6,92*       | 138,74** | 40,06**  |
| E                       | 2,71ns  | 6,95*            | 15,6**            | 7,6*     | 156,7**  | 14,6**   | 21,0** | 2,45ns | 10,04*      | 11,18**  | 10,67*   |
| (HxE)                   | 0,82ns  | 21,5**           | 1,13ns            | 0,27ns   | 10,97**  | 5,99*    | 17,5** | 0,17ns | 8,02*       | 1,072ns  | 7,52*    |
| Erro                    | 18      | 18               | 18                | 18       | 18       | 18       | 18     | 18     | 18          | 18       | 18       |
| CV(%)                   | 4,73    | 8,59             | 6,16              | 8,52     | 8,87     | 14,86    | 7,91   | 3,85   | 9,84        | 4,48     | 7,73     |

Fv: Fontes de Variação; H: Tratamento Hídrico; E: epibrassinolídeo (EBL); C.V.: coeficiente de variação; ns: não significativo; \*: significativo ( $P>0,05$ ); \*\*: significativo ( $P<0,01$ ).

Fonte: Autora, 2023.

Após a reidratação, as plantas tratadas ou não com EBL foram semelhantes na recuperação do seu status hídrico (TRA), embora ainda mais baixo que no controle (Figura 2B). Mesmo reidratadas, as plantas estressadas e sem EBL, ainda apresentaram valores de  $\Psi_w$  pre-dawn mais negativos que nas plantas tratadas com EBL (Figura 2D), enquanto o  $\Psi_w$  meio-dia apresentou valores semelhantes entre plantas tratadas ou não com EBL (Figura 2F).

**Figura 3.** Teor relativo de água na folha (TRA) (A e B), Potencial hídrico foliar amanhecer,  $\Psi_w$  (C e D) e potencial hídrico foliar meio-dia,  $\Psi_w$  (E e F) em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de enchimento dos grãos e posterior reidratação.



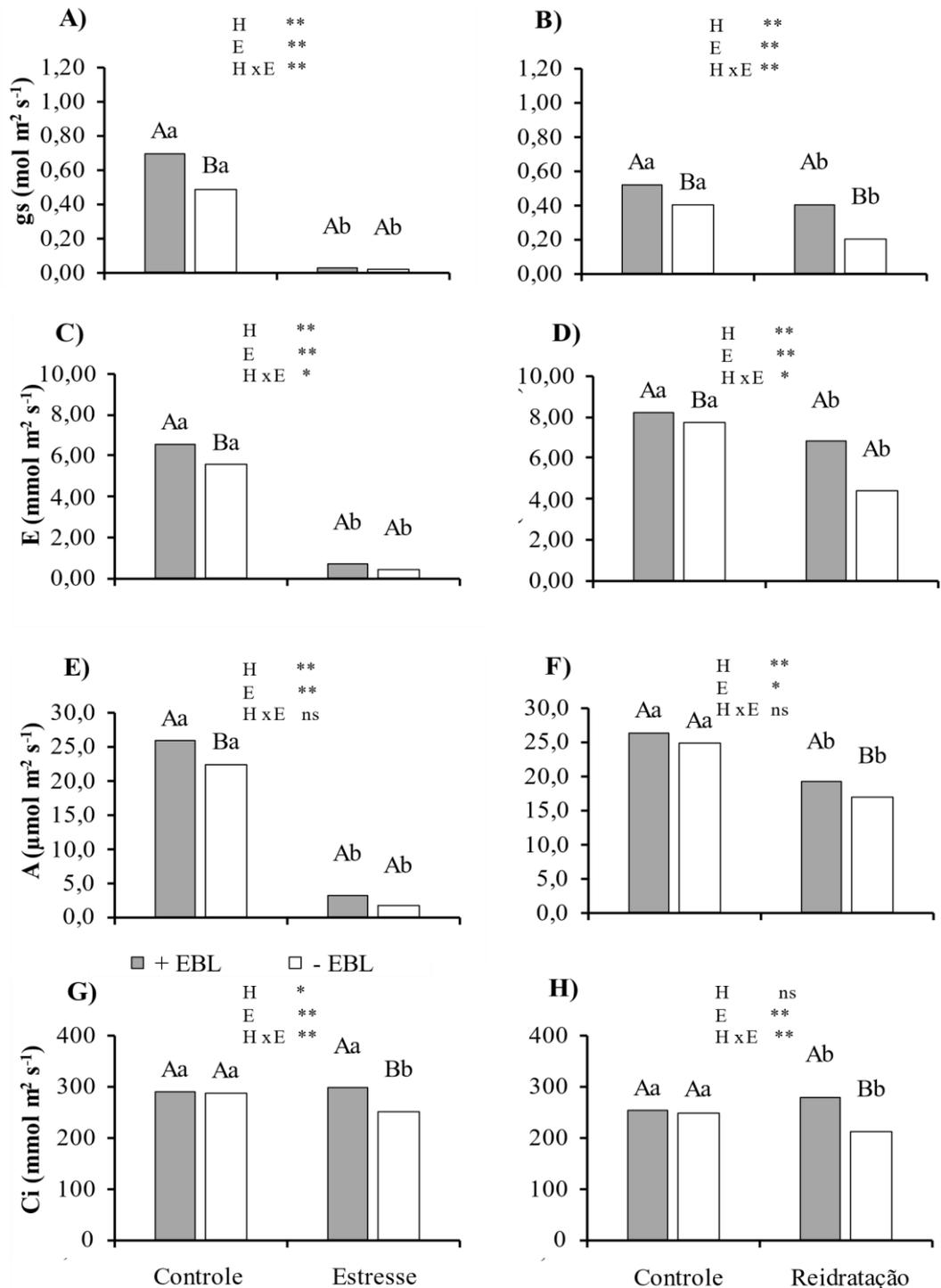
H: Tratamento Hídrico; E: Tratamento com EBL; H x E: Interação entre o tratamento hídrico e o tratamento com EBL; ns: não significativo; \*: significativo (P>0,05); \*\*: significativo (P<0,01).

Fonte: Autora, 2023.

Quanto às trocas gasosas, as plantas controle tratadas com EBL diferiram em relação às sem EBL (Tabela 4), apresentando maiores médias para condutância estomática (Figura 4A), transpiração (Figura 4C) e fotossíntese (Figura 4E). Enquanto sob deficiência hídrica as plantas tratadas ou não com EBL apresentaram redução semelhante na condutância estomática, transpiração e taxa fotossintética. A concentração de CO<sub>2</sub> não variou nas plantas irrigadas, mas sob estresse hídrico as plantas tratadas com EBL tiveram Ci 15,8% superior às sem EBL (Figura 4G).

Após a reidratação, apenas gs diferiu entre plantas tratadas ou não com EBL nas plantas controle, em que o tratamento com o biorregulador conferiu maiores valores para essa variável (Figura 4B). Por outro lado, as plantas reidratadas que receberam aplicação de EBL tiveram gs, E e A recuperadas parcialmente, sendo superiores 100, 54 e 14%, respectivamente, às plantas sem a aplicação de EBL (Figura 4B, D e F). Enquanto isso, Ci recuperou completamente nas plantas tratadas, enquanto nas plantas sem EBL Ci foi 30% menor que no controle (Figura 4H).

**Figura 4.** Condutância estomática (gs) (A e B), transpiração (C e D), Taxa Fotossintética (E e F) e Concentração interna de CO<sub>2</sub> (Ci) em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de enchimento dos grãos e posterior reidratação.

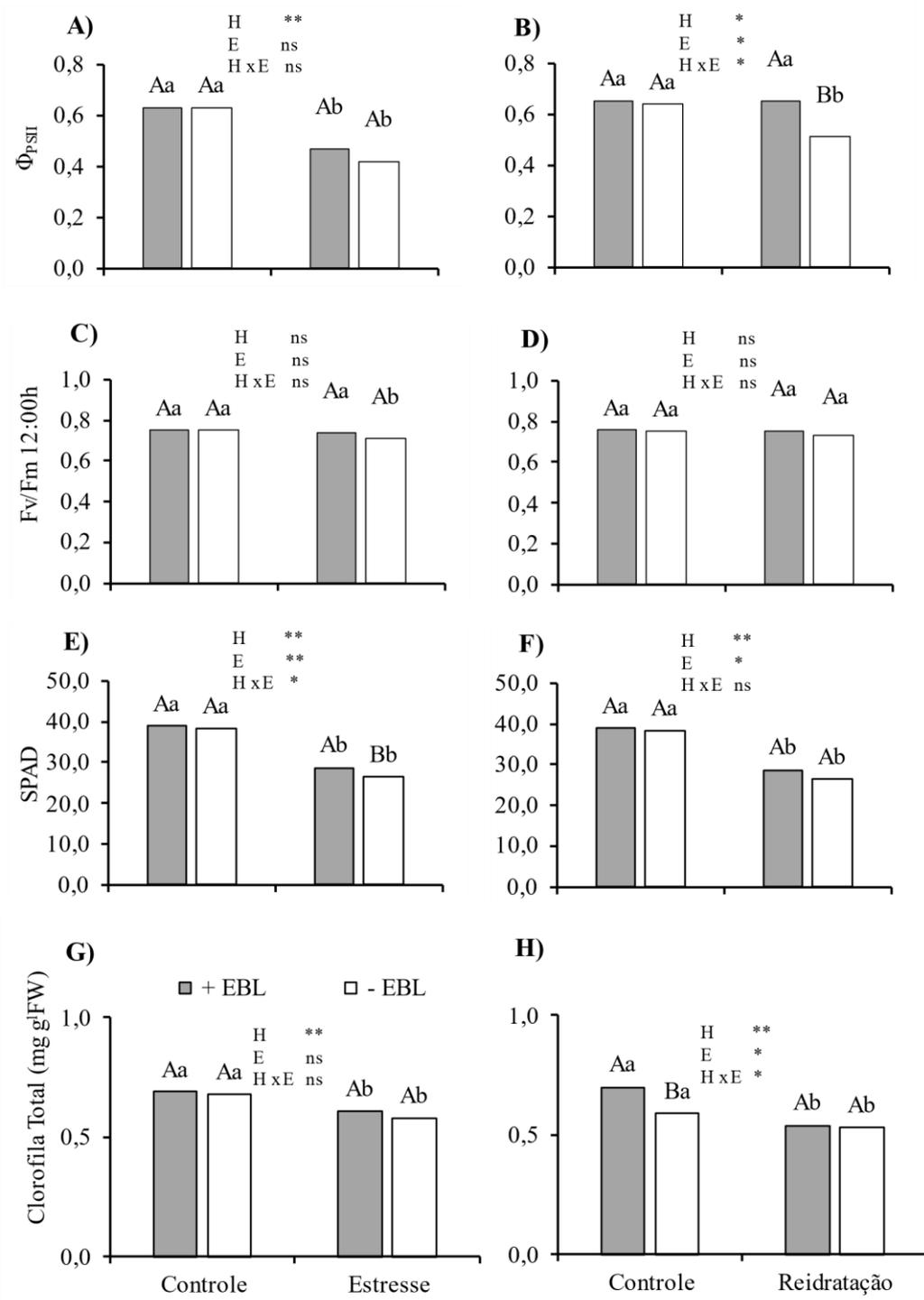


Tratamento Hídrico; E: Tratamento com EBL; H x E: Interação entre o tratamento hídrico e o tratamento com EBL; ns: não significativo; \*: significativo (P>0,05); \*\*: significativo (P<0,01).

O tratamento com EBL não alterou as eficiências quânticas efetiva e máxima do fotossistema II em plantas não submetidas à deficiência hídrica (controle) em nenhuma das avaliações (Tabela 4, Figuras 5A, B, C e D).

Contudo, plantas sob deficiência hídrica apresentaram baixa eficiência quântica efetiva do PSII ( $\Phi$ PSII), semelhante entre plantas tratadas ou não com EBL (Figura 5A). Comparando-se as plantas submetidas ao estresse hídrico com as plantas controle, verificou-se que o estresse causou redução média de 33,3% no  $\Phi$ PSII (Figura 5A). No entanto, após a reidratação, as plantas tratadas com EBL apresentaram recuperação total de  $\Phi$ PSII, enquanto em plantas não tratadas com o biorregulador, esta variável permaneceu 20,3% inferior à das plantas controle (Figura 5B). Por outro lado, a razão  $F_v/F_m$  não se alterou entre os tratamentos com EBL na ocasião da reidratação, o que mostra que o estresse hídrico não afetou a eficiência quântica máxima do PSII (Figura 5D).

**Figura 5.** Eficiência quântica efetiva do fotossistema II,  $\Phi_{PSII}$  (A e B), Eficiência quântica máxima do fotossistema II, Fv/Fm (C e D), índice SPAD (E e F) e Clorofila Total (G e H) em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinólídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de enchimento dos grãos e posterior reidratação.



H: Tratamento Hídrico; E: Tratamento com EBL; H x E: Interação entre o tratamento hídrico e o tratamento com EBL; ns: não significativo; \*: significativo ( $P > 0,05$ ); \*\*: significativo ( $P < 0,01$ ).

As plantas de soja tratadas ou não com EBL apresentaram índice SPAD semelhante nas plantas controle, tanto na ocasião do estresse hídrico como da reidratação (Figura 5E e F). No entanto, as plantas estressadas e tratadas com EBL o índice SPAD reduziu em 26%, enquanto sem EBL a redução foi de 31%. O mesmo comportamento foi observado após a reidratação, em que o índice SPAD permaneceu menor que no controle, 17% nas plantas tratadas com EBL, e 19% nas plantas não tratadas, em comparação as plantas irrigadas (Figura 5F). Já o teor de clorofila total variou apenas nas plantas controle, na ocasião da reidratação, em que as plantas tratadas com EBL tiveram o total de clorofila 17% maior que nas plantas não tratadas (Figura 4H).

### 3.3 Acúmulo de massa seca e produção

O estresse hídrico afetou a massa seca de plantas de soja, o qual reduziu a massa seca da parte aérea e promoveu incremento da MSR, enquanto a MST não foi afetada (Tabela 5, Figura 6). Em relação à aplicação do EBL, não foram observadas alterações na MSF, MSC e MSR (Tabela 5, Figura 6). Contudo, a aplicação foliar de EBL influenciou de forma positiva a MST das plantas de soja, tendo um incremento de 10,86%, independente da imposição do estresse hídrico (Figura 6D).

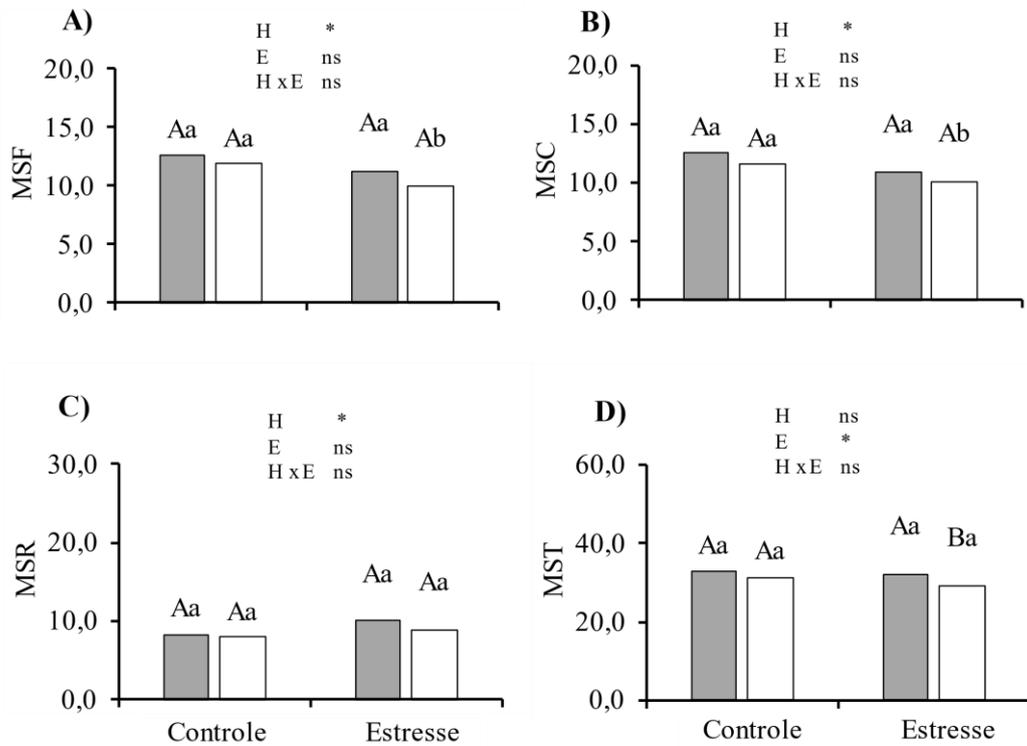
**Tabela 5.** Resumo da análise de variância da massa seca de folhas (MSF), massa seca do caule (MSC), massa seca da raiz (MSR) e massa seca total (MST) em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de enchimento dos grãos e posterior reidratação.

| FV     | MSF    | MSC    | MSR    | MST    |
|--------|--------|--------|--------|--------|
| H      | 10,80* | 8,14*  | 4,63*  | 3,42ns |
| E      | 3,76ns | 2,08ns | 1,38ns | 7,22*  |
| H x E  | 0,25ns | 0,15ns | 0,31ns | 0,77ns |
| Erro   | 18     | 18     | 18     | 18     |
| CV (%) | 11,91  | 10,57  | 18,67  | 7,44   |

Fv: Fontes de Variação; H: Tratamento Hídrico; E: Tratamento com EBL; H x E: Interação entre o tratamento hídrico e o tratamento com EBL; C.V.: coeficiente de variação; ns: não significativo; \*: significativo (P>0,05); \*\*: significativo (P<0,01).

Fonte: Autora, 2023.

**Figura 6.** Massa seca de folhas (MSF) (A), massa seca do caule (MSC) (B), massa seca da raiz (MSR) (C) e massa seca total (MST) (D) em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinólídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de enchimento dos grãos e posterior reidratação.



H: Tratamento Hídrico; E: Tratamento com EBL; H x E: Interação entre o tratamento hídrico e o tratamento com EBL; ns: não significativo; \*: significativo ( $P > 0,05$ ); \*\*: significativo ( $P < 0,01$ ).

Fonte: Autora, 2023.

No tocante às variáveis de produtividade, a aplicação do EBL teve efeito positivo no número de vagens sadias, número de grãos, massa de mil grãos e diâmetro do grão (Tabela 6).

**Tabela 6.** Significâncias e valores médios dos parâmetros de NVS – Número de vagens sadias; NS – Número de grãos; MMG – Massa de mil grãos; DG – Diâmetro do grão; RG – Rendimento dos grãos em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de enchimento dos grãos e posterior reidratação.

| FV     | NVS     | NG      | MMG     | DG      | RG      |
|--------|---------|---------|---------|---------|---------|
| H      | 16,45** | 24,63** | 18,72** | 13,53** | 23,92** |
| E      | 12,36** | 43,95** | 5,90*   | 5,80*   | 9,65*   |
| H x E  | 7,025*  | 7,71*   | 5,60*   | 9,90*   | 7,16*   |
| Erro   | 18      | 18      | 18      | 18      | 18      |
| CV (%) | 5,93    | 7,73    | 15,68   | 6,49    | 19,02   |

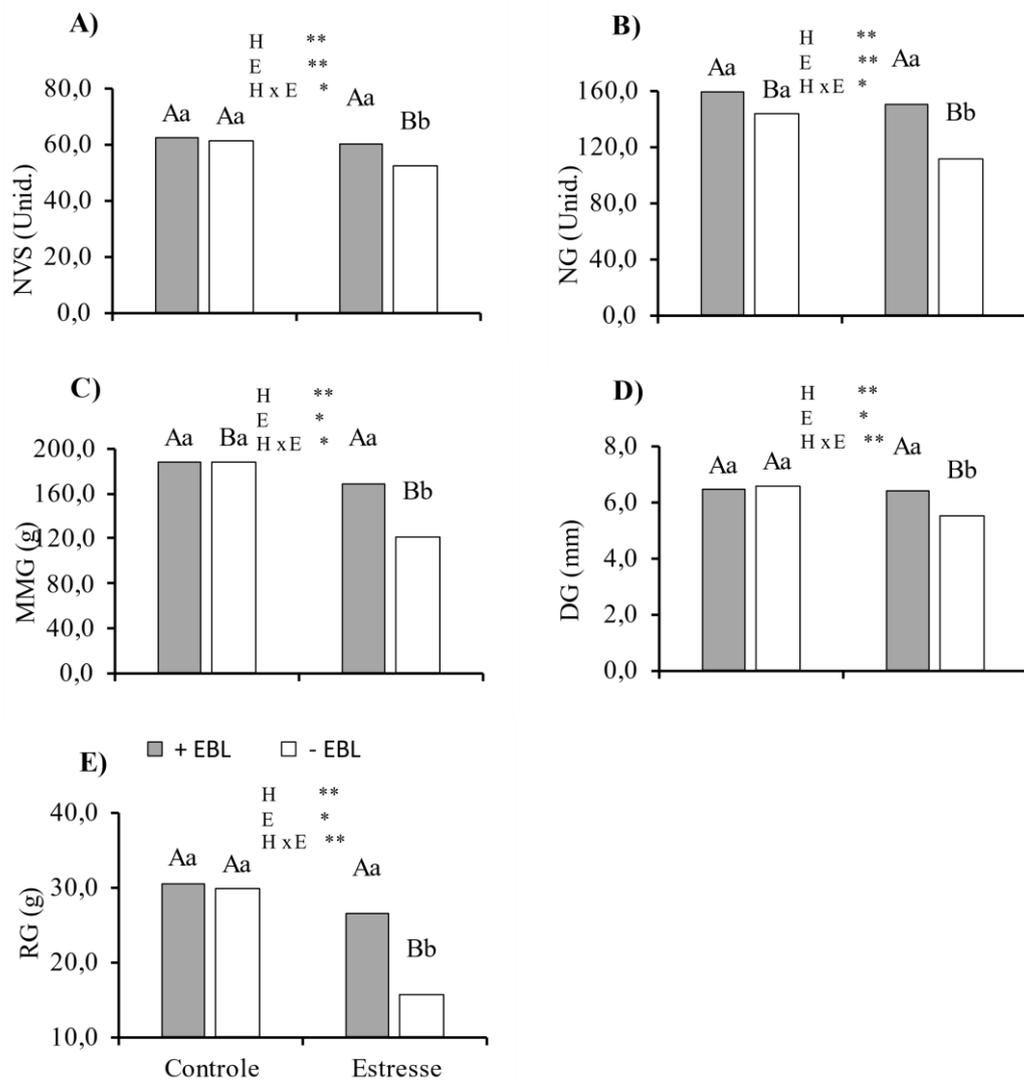
FV: Fontes de Variação; H: Tratamento Hídrico; E: epibrassinolídeo (EBL); C.V.: coeficiente de variação; ns: não significativo; \*: significativo ( $P>0,05$ ); \*\*: significativo ( $P<0,01$ ).

Fonte: Autora, 2023.

As plantas irrigadas que não receberam o EBL apresentaram reduções médias de 7,5% e 17,66% no NVS e NG, respectivamente, em relação àquelas tratadas com EBL (Figura 7A e B). Já a massa de mil grãos e diâmetro de grão foram semelhantes nas plantas que não receberam a aplicação do EBL.

Nas plantas sob deficiência hídrica sem EBL, o número de vagens sadias, número de grãos e rendimento dos grãos tiveram redução de 14,52%, 22,25% e 40,28% em comparação às plantas tratadas com EBL sob mesma condição hídrica. A aplicação de EBL nas plantas estressadas aumentou em 38,9%, 67,46% e 15,37% a massa de mil grãos, o rendimento dos grãos e o diâmetro do grão, respectivamente, em relação às plantas do mesmo regime hídrico sem EBL (Figura 7C, D e E).

**Figura 7.** Número de vagens sadias – NVS (A); Número de grãos – NG (B); Massa de mil grãos – MMG (C); Diâmetro dos grãos – DG (D) e Rendimento dos grãos– RG (E) em plantas de soja pré-tratadas com EBL (24-epibrassinolídeo) e submetidas a estresse hídrico no estágio de enchimento dos grãos e posterior reidratação.



H: Tratamento Hídrico; E: Tratamento com EBL; H x E: Interação entre o tratamento hídrico e o tratamento com EBL; ns: não significativo; \*: significativo ( $P > 0,05$ ); \*\*: significativo ( $P < 0,01$ ).

Fonte: Autora, 2023.

#### **4. DISCUSSÃO**

A compreensão de como o 24-epibrassinolídeo (um análogo de brassinosteróides) pode atenuar os efeitos negativos causados pela deficiência hídrica em plantas de soja, na fase de enchimento do grão, regulando os mecanismos fisiológicos e sua possível contribuição para o aumento da tolerância à seca é bastante importante para tomada de decisão no manejo da cultura em regiões onde ocorre limitação da disponibilidade hídrica. A aplicação foliar de EBR na fase vegetativa mitigou os efeitos negativos do déficit hídrico nas trocas gasosas, melhorando o estado hídrico foliar e a eficiência fotoquímica em plantas de soja sob déficit hídrico (SILVA et al., 2022). De maneira semelhante, a aplicação de EBL nas fases de mudas + floração + formação de vagens em plantas de soja sob estresse salino mitigou os efeitos nocivos do sal nas plantas (OTIE et al., 2022).

A imposição do déficit hídrico na fase de enchimento dos grãos é extremamente importante de ser avaliada, pois promove o estímulo no armazenamento de carboidratos nas folhas e no caule, os quais são mobilizados para os grãos (SILVA et al., 2018). Além disso, a falta de água nesta fase afeta diretamente o número, tamanho e qualidade dos grãos (NEUMAIER et al., 2000), e portanto, o uso de atenuantes do déficit hídrico se torna de extrema importância (XU et al., 2022; ZHANG et al., 2022).

##### **4.1 Morfologia da soja**

A aplicação foliar do EBL nas plantas de soja promoveu aumento apenas no diâmetro do caule entre as características biométricas avaliadas. O EBL estimula enzimas importantes no crescimento das plantas, que atuam na divisão e alongamento celular, uma vez que, aumenta a biossíntese de auxina, o que contribui para com o crescimento das plantas (HUANG et al., 2020). Além da auxina, a aplicação de EBL também pode sinalizar para a biossíntese de ácido abscísico e citocinina, onde o primeiro atuará no controle estomático e, conseqüente da perda de água, e o segundo na regulação do ciclo celular, divisão celular e atraso na senescência foliar, ambos refletindo em melhor crescimento das plantas (HUANG et al., 2020; KHAN et al. 2020). Assim, a aplicação de EBL é extremamente importante para plantas de soja que enfrentam limitação hídrica, pois o caule tem papel essencial na sustentação das plantas, sendo o suporte mecânico durante o ciclo de vida, logo, diâmetros mais espessos garantem resistência ao acamamento, favorecendo a produtividade das plantas de soja,

mediante uma maior sustentação do peso das vagens (LIU et al., 2015; NIU et al., 2021). Além disso, estudos recentes mostraram que o EBL não só atua na regulação da divisão celular e alongamento celular, mas também na pressão de turgor, refletindo o efeito positivo no diâmetro do caule em nosso trabalho (AHMAD et al., 2023).

O EBL não influenciou o crescimento da soja em termos de altura de plantas, número de folhas e área foliar. Nesse estudo, a baixa influência do EBL, bem como do estresse hídrico sobre o crescimento das plantas de soja, deve-se ao período reprodutivo em que estas se encontravam, uma vez que, plantas de soja de hábito determinado têm seu crescimento vegetativo cessado ou bastante reduzido após o estágio de florescimento (NORMAN et al., 2020). Além disso, a paralisação ou redução do crescimento de plantas de soja também ocorre ao atingirem o estágio R5, pois passam a destinar carbono para o enchimento dos grãos e translocação de reservas, iniciando a senescência das folhas (ROCHA et al., 2017).

A intensidade de translocação dos fotoassimilados nos estádios vegetativo e reprodutivo é variável (RYAN et al., 2018). Deste modo, sugere-se que o EBL em plantas de soja expostas ao estresse, na fase de enchimento de grãos, intensificou o direcionamento dos fotoassimilados para o dreno principal (grãos) e não mais para o crescimento vegetativo. Ao contrário do que ocorreu quando a aplicação do EBL e o déficit hídrico em plantas de soja ocorreram no estágio vegetativo, em que o EBL promoveu melhor recuperação no crescimento das plantas (SILVA et al., 2022).

Outros estudos envolvendo déficit hídrico em estádios fenológicos de crescimento relatam efeitos positivos do EBL no crescimento de plantas em diferentes culturas como algodão (AHMED et al., 2017), trigo (KHAN et al., 2020), ervilha (XIONG et al., 2016) e amendoim (HUANG et al., 2020) quando submetidas ao estresse hídrico.

#### **4.2 Características fisiológicas**

A deficiência hídrica ocasiona alterações fisiológicas nas plantas, bem como essas tendem a modificar diversos fatores como resposta ao estresse sofrido, na tentativa de tolerar o período estressante. O primeiro mecanismo de defesa das plantas, mediante a redução da disponibilidade hídrica, é o fechamento dos estômatos, a fim de amenizar a perda de água pela transpiração e, portanto, suportar o período de escassez hídrica (BRAGA et al., 2020; ROSA et al., 2020). Entretanto, tal mecanismo influi diretamente na condutância estomática e absorção de CO<sub>2</sub>, afetando diretamente a taxa fotossintética (FLEXAS; MEDRANO, 2002), o que justifica as baixas taxas de *A*, *g*s e *E* encontradas

no presente trabalho. O déficit hídrico, principalmente severo, promove um rápido declínio na fotossíntese após a antese; devido a uma diminuição na condutância estomática foliar e na assimilação líquida de CO<sub>2</sub>, limitando a contribuição dos assimilados atuais para o grão (SAEIDI; ABDOLI, 2015). A maior parte da redução mediada pela seca na assimilação de CO<sub>2</sub> pode ser atribuída ao fechamento dos estômatos e outra parte ao efeito direto do estresse hídrico na degradação da Rubisco, enzima reponsável pela fixação de CO<sub>2</sub> (FLEXAS; MEDRANO, 2002; SAEIDI; ABDOLI, 2015; BRAGA et al., 2020).

Nesse estudo, a concentração de CO<sub>2</sub> na câmara subestomática nas plantas estressadas ter sido semelhante ao das plantas controle, mesmo sob baixa *g<sub>s</sub>* e taxa fotossintética, indica ter ocorrido apenas limitação estomática nas plantas de soja. Isso porque a taxa fotossintética foi quase completamente restaurada após quatro dias de reidratação, enquanto da *g<sub>s</sub>* foi menor, como verificado também em plantas de pimentão reidratadas (CAMPOS et al., 2014). Esses autores relatam que as limitações estomáticas em *A* são cruciais durante estresses curtos, assim como ocorreu na soja, em que o estresse mais intenso durou apenas três dias, havendo boa recuperação de *A*. Por outro lado, quando além das estomáticas, há também limitações não estomáticas, a taxa fotossintética é lentamente recuperada após a reidratação das plantas (CAMPOS et al., 2014; SAEIDI; ABDOLI, 2015; BRAGA et al., 2020).

A recuperação das trocas gasosas após a reidratação das plantas de soja foi favorecida pela aplicação exógena do EBL, uma vez que nas plantas tratadas a taxa de recuperação foi superior das não tratadas, para todas as características (*g<sub>s</sub>*, *E*, *A* e *C<sub>i</sub>*). O EBL também promoveu menores reduções nas trocas gasosas de soja submetidas ao estresse hídrico no estágio vegetativo, sugerindo que o pré-tratamento com brassinosteroides pode ter influenciado no controle da abertura e fechamento estomático nas plantas, o que contribuiu para menor perda de água e melhor taxa fotossintética (SAEIDI; ABDOLI, 2015; SILVA et al., 2022). Resultados semelhantes também foram observados em plantas de trigo em que as reduções do estresse hídrico sobre *g<sub>s</sub>*, *E* e *A* foram parcialmente atenuadas com a aplicação de EBL, principalmente com o aumento da concentração de 1 até 2 μM (KHAN et al., 2020), em plantas de pimenta em que o EBL também melhorou *g<sub>s</sub>*, *C<sub>i</sub>*, *E* e *A* nas plantas estressadas (KHAMSUK et al., 2018), e plantas de soja na fase vegetativa, em que *A* foi melhorada com a aplicação de EBL (PEREIRA et al., 2019). Isso sugere que o EBL pode estar envolvido na regulação de outros hormônios, a exemplo do ácido abscísico (ABA) para o controle estomático, pois

a aplicação de EBL eleva os teores de ABA no início do estresse, e diminui com o seu prolongamento, atuando como controlador de *gs* nas plantas estressadas (WANG et al., 2019). Em adição, a expressão de genes nas vias de sinalização hormonal durante o estresse, pode ser um dos principais fatores induzidos na sinalização de ABA por EBL (HUANG et al., 2020), além de outros hormônios como ácido salicílico, também um atenuador de estresses (LOPES et al., 2019).

O controle de ABA sobre *gs*, promovido por intermédio de EBL, parece estar relacionado às melhorias ocorridas no estado de água das plantas de soja pelo brassinosteróide, como menor redução no  $\Psi_w$ , tanto pre-dawn como ao meio-dia, além do TRA. Lima e Lobato (2017), estudando déficit hídrico em plantas de feijão, observaram que a aplicação de EBR diminuiu os efeitos da restrição hídrica, aumentando o  $\Psi_w$  em 40% em comparação as plantas sem aplicação de EBL, indicando que o bioregulador favorece a manutenção do *status* hídrico das plantas estressadas. De forma semelhante, o uso de EBR melhorou o TRA foliar em plantas de milho estressadas em comparação com plantas não tratadas, o que resultou na melhoria da integridade celular, bem como da taxa de transpiração nas plantas, pois um baixo TRA das folhas da planta causa efeitos fisiológicos que prejudicam o metabolismo da planta (DESOKY et al., 2021). Khamsuk et al. (2018), avaliando plantas de pimenta sob déficit hídrico, verificaram que o TRA também reduziu menos nas plantas tratadas com EBL.

O TRA melhorado pelo EBL provavelmente favoreceu melhorias na eficiência fotoquímica das plantas de soja, como observado em plantas de feijão (LIMA; LOBATO, 2017). Esses autores verificaram que as plantas pulverizadas com 100 nM EBR e submetidas ao déficit hídrico apresentaram valores significativamente maiores de  $\Phi_{PSII}$ , em 74% em comparação as plantas tratadas com 0 nM EBR. Esses achados sugerem que EBR aumenta a proporção de centros de reação do PSII abertos, melhorando a eficiência da captação de energia luminosa para a cadeia de transporte de elétrons (LI et al., 2015; PEREIRA et al., 2019). De fato, as plantas de soja tratadas com EBL também apresentaram maior índice de clorofila SPAD, indicando que as folhas das plantas ficaram mais verdes, e foram mais eficientes no aproveitamento da energia, como relatado em plantas de pimenta, onde o EBL aliviou os efeitos prejudiciais do estresse hídrico por meio de melhoria no funcionamento do PSII, bem como atividade fotoquímica associada ao PSI (KHAMSUK et al., 2018).

### 4.3 Acúmulo de massa seca e produção

O déficit hídrico é um dos principais estresses abióticos que reduz a capacidade das plantas de assimilarem carbono, o que modifica o seu balanço energético e ocasiona redução na produtividade das culturas. O estágio fenológico da planta também contribui para com o aumento dos efeitos do estresse hídrico (DEHGHAN; BALOUCHI; YADAVI, 2020, OTIE et al., 2022). Um dos principais efeitos da deficiência hídrica na produção é o declínio no rendimento dos grãos, o qual ocorre mediante a diminuição da assimilação do carbono e, portanto, a sua disponibilidade para o enchimento dos grãos (DEHGHAN; BALOUCHI; YADAVI, 2020; SAEIDI; ABDOLI, 2015).

O déficit hídrico parece ter sido bastante efetivo no estágio de enchimento dos grãos das plantas de soja, o qual influenciou negativamente nas trocas gasosas e em consequência disso menor produção de fotoassimilados que seriam destinados à produção de sementes, refletindo, portanto, em sua produtividade (DU et al., 2020). Em plantas de girassol quando o déficit hídrico foi aplicado na fase de enchimento das sementes houve danos significativos na produção, pois o rendimento das sementes foi afetado por consequência de menor peso de sementes, que resultou da diminuição da extensão celular (KEIPP et al., 2020).

O efeito negativo na massa seca da parte aérea das plantas de soja, pelo estresse, teve baixa influência na massa seca da raiz. Essa redução da massa seca ocorre em razão do estresse moderado a severo, que ocasiona alterações nos processos morfofisiológicos, bioquímicos, bem como moleculares, em especial a perda da massa seca das plantas, logo, sob déficit hídrico as plantas investem menos em caule e folhas com a finalidade de reduzir a perda de água (EZIZ et al., 2017). Além disso, o estágio reprodutivo, o qual as plantas se encontram é considerado um dos mais sensíveis ao déficit hídrico, tendo, portanto, um efeito mais intenso nesta fase, do que quando comparado ao período vegetativo (GHASSEMI-GOLEZANI, KAZEM; LOTFI; 2012; SAEIDI; ABDOLI, 2015; SILVA et al., 2018).

O EBL promoveu incremento na massa seca total de plantas em comparação às plantas que não receberam a aplicação do biorregulador. Outros estudos demonstraram que o EBL amenizou as reduções no peso seco de raízes e da parte aérea de plantas de trigo sob déficit hídrico (KHAN et al., 2020). A aplicação exógena de EBL nas folhas das plantas tem sido um método bastante eficiente, favorecendo a rápida translocação para as demais partes da planta e ativando diversos processos metabólicos, de modo a

contribuir para com o aumento da biomassa das plantas (KHAN et al., 2020; HUANG et al., 2020).

A aplicação exógena de EBL apresentou efeito positivo na produtividade da soja, em termos de número de vagens saudáveis, número de grãos, massa de mil grãos, diâmetro dos grãos e rendimento dos grãos em plantas de soja submetidas a déficit hídrico seguido de reidratação. As plantas sob deficiência hídrica e tratadas com EBL apresentaram melhor produção em relação às plantas sem EBL, comprovando efeito positivo do biorregulador no alívio do estresse hídrico. Esse incremento da produtividade em plantas estressadas e tratadas com EBL pode ser atribuído ao aumento da força do dreno preferencial (grãos) que direciona a partição de assimilados para o desenvolvimento reprodutivo em detrimento da alocação para outros órgãos (XU et al., 2022).

Além disso, os BRs estão envolvidos na divisão celular, alongamento e diferenciação, portanto, o aumento no tamanho das sementes também pode ser atribuído aos BRs, por estimularem o aumento da translocação de fotoassimilados, permitindo, assim, maior número de sementes e sementes mais cheias, o que contribui para uma maior produtividade das plantas (WU et al., 2008; XIONG et al., 2016).

A aplicação exógena de EBL vem sendo cada vez mais estudada, nos últimos anos, como alternativa para atenuação dos prejuízos causados às plantas mediante a escassez hídrica. Vários estudos relataram a eficácia do EBL na redução das perdas na produção de diversas culturas tais como arroz, feijão caupi, amendoim e ervilha submetidas à deficiência hídrica (WU et al., 2008; XIONG et al., 2016; LIMA; LOBATO, 2017; HUANG et al., 2020).

Estudos realizados em trigo mostraram que o EBL melhorou a qualidade das sementes de trigo que foram afetadas pela supressão hídrica nas fases de floração e enchimento do grão (DEHGHAN; BALOUCHI; YADAVI, 2020). Já em plantas de milho expostas a temperatura elevada após o pendoamento foi observado que a aplicação de BR mitigou o efeito negativo da alta temperatura sobre o rendimento de grãos (XU et al., 2022). Nesse estudo, a aplicação exógena de EBL resultou em melhorias na produtividade da soja após o estresse hídrico no estágio de enchimento dos grãos. De acordo com Lin (2020), as sequências de codificação funcionam no aumento efetivo do sinal BR (como BZR1-1D e outras sequências modificadas de novos reguladores) em órgãos reprodutivos e reduzem adequadamente o sinal BR (como sequência de edição BIN2-1 e OsGATA7, bem como outras sequências modificadas de

novos reguladores) em órgãos vegetativos contribuindo para o aumento do rendimento total de sementes/grãos em diferentes culturas.

## **5. CONCLUSÕES**

No crescimento das plantas de soja, o EBL mitigou o efeito do estresse hídrico apenas no diâmetro do caule, o que melhorou a espessura das plantas fortalecendo-as contra o acamamento durante o estresse na fase de enchimento dos grãos.

Em plantas de soja irrigadas o EBL promoveu melhores processos metabólicos como trocas gasosas, eficiência fotossintética e síntese de clorofila, resultando em aumento da biomassa da parte aérea, o que contribuiu com o aumento da massa seca foliar e do caule no estágio de enchimento de grãos.

A aplicação foliar do EBL em soja na fase de enchimento dos grãos atenuou os danos causados pelo déficit hídrico, como evidenciado pelo teor relativo de água, potencial hídrico foliar, eficiência quântica efetiva do fotossistema II e índice SPAD. Assim, aliviando parcialmente o efeito prejudicial do estresse hídrico nas plantas, o que contribuiu com maior massa seca das plantas, número de vagens e de grãos, bem como o tamanho dos grãos.

O EBL não atenua as trocas gasosas das plantas estressadas na fase de enchimento dos grãos, mas é eficiente em melhorar a recuperação após o estresse.

Novos estudos de campo com a exposição do estresse na fase de enchimento de grãos de soja são recomendáveis para que possam obter melhores resultados, a fim de confirmar se o EBL pode ser usado como produto que alivie os danos causados pela escassez hídrica na cultura da soja.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O déficit hídrico tem causado perdas significativas na produção agrícola, incluindo a soja, principalmente nos últimos anos em virtude das mudanças climáticas. Assim, algumas pesquisas têm buscado técnicas de manejo que possam contribuir com a minimização dos impactos do déficit hídrico nas plantas, envolvendo a utilização de indutores de tolerância, a exemplo dos brassinosteroides.

A aplicação foliar de brassinosteroides nas plantas de soja, com posterior exposição das mesmas ao déficit hídrico no estágio de florescimento minimizou, parcialmente, os danos ocasionados pelo estresse, melhorando as trocas gasosas, a eficiência fotoquímica máxima do PSII, o conteúdo de clorofila total, além do estado hídrico foliar. Efeitos benéficos também foram encontrados no crescimento das plantas de soja, sobretudo durante a recuperação do estresse. Porém, as variáveis de produtividade não foram influenciadas pelo uso exógeno do bioregulador.

Quando a exposição das plantas ao déficit hídrico ocorreu no estágio de enchimento dos grãos, a aplicação do brassinosteróide sobre a morfologia das plantas, contribuiu apenas no diâmetro do caule. Por outro lado, as trocas gasosas não foram influenciadas pelo uso de brassinosteroides nas plantas estressadas, possivelmente pelo fato do estresse ter ocorrido durante o enchimento dos grãos, momento em que as folhas estavam funcionando como drenos fortes na distribuição dos fotoassimilados para os grãos. Todavia, assim como durante o estresse no florescimento, no enchimento dos grãos o brassinosteróide contribuiu significativamente na recuperação das plantas, principalmente no estado hídrico foliar e nas trocas gasosas, o que melhorou o rendimento produtivo das plantas, como número e tamanho dos grãos.

Dessa maneira, o uso do brassinosteróide aponta-se como um bom indutor de tolerância de plantas, pois contribuiu positivamente nas plantas de soja ao enfrentar deficiência hídrica, tanto durante o florescimento quanto no enchimento dos grãos, melhorando seu metabolismo fisiológico. Isso torna bastante promissor durante a recuperação pós-estresse das plantas. Portanto, a partir dos resultados já evidenciados nesse estudo, pesquisas semelhantes devem ser replicadas, principalmente envolvendo outras variedades, para que se possam confirmar os efeitos do brassinosteróide.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMAD, A.; TOLA, E.; ALSHAHRANI, T. S.; SELEIMAN, M. F. Enhancement of Morphological and Physiological Performance of *Zea mays* L. under Saline Stress using ZnO Nanoparticles and 24-Epibrassinolide Seed Priming. **Agronomy**, v. 13, n. 3, p. 771, 2023.

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

BRAGA, P. C. S., MARTINS, J. P. R., BONOMO, R., BORGES, R. M., SILVA, J. V. G., & FALQUETO, A. R. Differential response of photosystem II and I photochemistry in leaves of two *Crambe abyssinica* Hochst lineages submitted to water deficit. **Photosynthetica**, v. 58, p. 1122-1129. 2020.

CAMPOS, H., TREJO, C., PEÑA-VALDIVIA, C. B., GARCÍA-NAVA, R., CONDE-MARTÍNEZ, F. V., & CRUZ-ORTEGA, M. R. Stomatal and non-stomatal limitations of bell pepper (*Capsicum annuum* L.) plants under water stress and re-watering: Delayed restoration of photosynthesis during recovery. **Environmental and experimental botany**, v. 98, p. 56-64, 2014.

COTRIM, M. F., GAVA, R., CAMPOS, C. N. S., DE DAVID, C. H. O., REIS, I. D. A., TEODORO, L. P. R. Physiological performance of soybean genotypes grown under irrigated and rainfed conditions. **Journal Agronomy Crop Science**, v. 207, p. 34-43, 2021. doi: 10.1111/jac.12448.

DEHGHAN, M., BALOUCHI, H. & YADAVI, A. Improvement of Seed Quality of Wheat (*Triticum aestivum*) as Affected by Brassinolide under Different Irrigation Regimes. **Journal Crop Science Biotechnology**. 23, 137-148, 2020. <https://doi.org/10.1007/s12892-019-0173-0>

DESOKY, E.S.M.; MANSOUR,E.; ALI, M.M.A.; YASIN, M.A.T.; ABDUL-HAMID, M.I.E.; RADY, M.M.; ALI, E.F. Exogenously Used 24-Epibrassinolide Promotes Drought Tolerance in Maize Hybrids by Improving Plant and Water Productivity in an Arid Environment. **Plants**, v.10, p. 354, 2021. <https://doi.org/10.3390/plants10020354>

EZIZ, A.; YAN, Z.; TIAN, D.; HAN, W.; TANG, Z.; FANG, J. Drought effect on plant biomass allocation: A meta-analysis. **Ecology and evolution**, v.7, n. 24, 11002-11010., 2017.

GHASSEMI-GOLEZANI, K.; LOTFI, R. Response of soybean cultivars to water stress at reproductive stages. **International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences**, v.2, p. 198-202, 2012.

HUANG, L.; ZHANG, L.; ZENG, R.; WANG, X.; ZHANG, H.; WANG, L.; ZHANG, H.; WANG, L.; LIU, S.; WANG, X.; CHEN, T. Brassinosteroid priming improves peanut drought tolerance via eliminating inhibition on genes in photosynthesis and hormone signaling. **Genes**, v. 11, n. 8, p. 919, 2020.

KEIPP, K.; HÜTSCH, B. W.; EHLERS, K.; SCHUBERT, S. Drought stress in sunflower causes inhibition of seed filling due to reduced cell-extension growth. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v.206, n. 5, p. 517-528, 2020.

KHAMSUK, O.; SONJAROON, W.; SUWANWONG, S.; JUTAMANEE, K.; SUKSAMRARN, A. Effects of 24-epibrassinolide and the synthetic brassinosteroid mimic on chili pepper under drought. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 40, n. 6, p. 106, 2018.

KHAN, I.; AWAN, S. A.; IKRAM, R.; RIZWAN, M.; AKHTAR, N.; YASMIN, H.; SAYYED, R.Z.; ALI, S.; ILYAS, N. Effects of 24-epibrassinolide on plant growth, antioxidants defense system, and endogenous hormones in two wheat varieties under drought stress. **Physiologia Plantarum**, p. 1-11, 2020.

LI, J.; YANG, P.; GAN, Y.; YU, J.; XIE, J. Brassinosteroid alleviates chilling-induced oxidative stress in pepper by enhancing antioxidation systems and maintenance of photosystem II. **Acta Physiol Plant**, v. 37, p. 1–11, 2015.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In: PACKER, L.; DOUCE, R. (Eds.). **Methods in enzymology**. London: Academic Press, p. 350-381, 1987.

LIMA, J. V.; LOBATO, A.K.S. Brassinosteroids improve photosystem II efficiency, gas exchange, antioxidant enzymes and growth of cowpea plants exposed to water deficit. **Physiol. Mol. Biol. Plants**, v. 23, p. 59–72, 2017.

LIN, W.H. Designed manipulation of the brassinosteroid signal to enhance crop yield. **Frontier Plant of Science**, v. 11, 2020.

LIU; W., ZOU, J.; ZHANG, J.; YANG, F.. Evaluation of Soybean (*Glycine max*) Stem Vining in Maize-Soybean Relay Strip Intercropping System. **Plant Production Science**, v. 18, n. 1, p. 69-75, 2015.

LOPES, L. S.; NOBRE, D. A. C.; MACEDO, W. R. Effect of foliar application of 24-epibrassinolide and salicylic acid on common bean plants grown under drought stress. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, p. 635-644, 2019.

MAXWELL, K.; JOHNSON, G. N. Chlorophyll fluorescence: a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, v.51, p.659-668, 2000.

NEUMAIER, N.; FARIAS, J. R. B.; NEPOMUCENO, A. L.; MERTZ-HENNING, L. M.; FOLONI, J. S. S.; MORAES, L. A. C.; GONCALVES, S. L. **Ecofisiologia da soja**. 2020.

NIU, Y., CHEN, T., ZHAO, C., & ZHOU, M. Improving crop lodging resistance by adjusting plant height and stem strength. **Agronomy**, v.11, n. 12, 2421, 2021.

OTIE, V.; IBRAHIM, A.; UDO, I.; KASHIWAGI, J.; MATSUURA, A.; SHAO, Y.; ENEJI, A. E. Foliarly Applied 24-Epibrassinolide Modulates the Electrical Conductivity of the Saturated Rhizospheric Soil Extracts of Soybean under Salinity Stress. **Plants**, 11(18), 2330, 2022.

PEREIRA, Y. C.; RODRIGUES, W. S.; LIMA, E. J. A.; SANTOS, L. R.; SILVA, M. H. L.; LOBATO, A. K. S. Brassinosteroids increase electron transport and photosynthesis in soybean plants under water deficit. **Photosynthetica**, v.57, n.1, p.181-191, 2019.

RAGHUVANSHI, R. S.; BISHT, K. “Chapter 18- Uses of Soybean: Products and Preparation,” in **The soybean: botany, production and uses**. ed. G. Singh (CAB International), p. 404–426, 2010.

RIBEIRO, S. D. G.; SILVA, B. R. S.; SILVA LOBATO, A. K. Brassinosteroids induce tolerance to water deficit in soybean seedlings: contributions linked to root anatomy and antioxidant enzymes. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.4, n.6, p.82, 2019.

ROCHA, T. S. M. D.; STRECK, N. A.; ZANON, A. J.; MARCOLIN, E.; PETRY, M. T.; TAGLIAPIETRA, E. L.; BEXAIRA, K. P. Performance of soybean in hydromorphic and nonhydromorphic soil under irrigated or rainfed conditions.. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 52, p. 293-302, 2017.

ROSA, V. do R.; SILVA, A. A.; BRITO, D. S.; PEREIRA JÚNIOR, J. D.; SILVA, C. O.; DALBIANCO, M.; OLIVEIRA, J. A. de; RIBEIRO, C. Drought stress during the reproductive stage of two soybean lines. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.55, e01736, 2020.

RYAN, M. G.; OREN, R.; WARING, R. H. Fruiting and sink competition, **Tree Physiology**, v. 38, (9), 2018. DOI: 10.1093/treephys/tpy114

SAEIDI, M.; ABDOLI, M. Effect of drought stress during grain filling on yield and its components, gas exchange variables, and some physiological traits of wheat cultivars. **Journal of Agricultural Science and Technology**, 17(4), 885-898, 2015.

VRIET, C.; RUSSINOVA, E.; REUZEAU, C. Boosting crop yields with plant steroids. **The Plant Cell**, v. 24, n. 3, p. 842-857, 2012.

WU, C.Y.; TRIEU, A.; RADHAKRISHNAN, P.; KWOK, S. F.; HARRIS, S.; ZHANG, K.; PENNELL, R. I. Brassinosteroids regulate grain filling in rice. **The Plant Cell**, v.20, n. 8, p. 2130-2145, 2008.

XU, Y.; ZHANG, X.; YANG, H.; LU, D. Effects of Exogenous Brassinolide Application at the Silking Stage on Nutrient Accumulation, Translocation and Remobilization of Waxy Maize under Post-Silking Heat Stress. **Agriculture**, v.12, n. 5, p. 572, 2022.