

SAMARINA GABRIELLE DE FÁTIMA PEREIRA

**ALTERAÇÕES EM PLANTAS DE SOJA SOB DÉFICIT HÍDRICO NO
ESTÁDIO REPRODUTIVO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa - *Campus* Rio Paranaíba, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

RIO PARANAÍBA
MINAS GERAIS – BRASIL
2017

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca UFV - Campus de Rio Paranaíba**

T

P436a
2017
Pereira, Samarina Gabrielle de Fátima, 1992-
Alterações em plantas de soja sob déficit hídrico no estágio
reprodutivo / Samarina Gabrielle de Fátima Pereira. – Rio
Paranaíba, MG, 2017.
x, 58f. : il. (algumas color.) ; 29cm.

Orientador: Liliane Evangelista Visôto.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Glycine max (L.) Merrill. 2. Estresse abiótico. 3. Mudanças climáticas. I. Universidade Federal de Viçosa. Instituto de Ciências Agrárias. Mestrado em Agronomia-Produção Vegetal (Campus Rio Paranaíba). II. Título.

633.34

SAMARINA GABRIELLE DE FÁTIMA PEREIRA

**ALTERAÇÕES EM PLANTAS DE SOJA SOB DÉFICIT HÍDRICO NO
ESTÁDIO REPRODUTIVO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa - *Campus* Rio Paranaíba, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 22 de fevereiro de 2017.

Camila Rocha da Silva

Pedro Ivo Vieira Good God

Dr. Willian Rodrigues Macedo
(Coorientador)

Dra. Liliane Evangelista Visôto
(Orientadora)

A Deus, o dono da minha existência!

Ao meu pai, a razão da minha vida!

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço, acima de todas as coisas, a Deus por ter me concedido a vida e pela presença constante em minha vida.

A Universidade Federal de Viçosa - *Campus* Rio Paranaíba (UFV-CRP) por possibilitar a realização desse trabalho.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo apoio através da concessão da bolsa de estudos.

A minha orientadora Liliane E. Visôto, pela confiança, por todo conhecimento a mim transmitido com muita dedicação e principalmente, pela amizade e pelos conselhos desde a minha graduação.

Aos meus coorientadores, Prof. Leonardo Aquino e Prof. Willian Macedo, por toda ajuda, sugestões, disponibilidade e preocupação na realização deste trabalho.

Aos demais professores que de alguma forma contribuíram para o meu crescimento profissional.

Aos técnicos dos laboratórios e aos funcionários do galpão por toda ajuda e dicas na execução das análises.

Aos meus colegas do Mestrado, pela amizade e pelos momentos de descontração, principalmente aos meus fiéis companheiros de galpão, Natália Assunção, Laene e Darlan e minha companheira de profissão Lucélia.

Poderia usar todas as palavras do dicionário para agradecer a minha família, que não seria suficiente. Por isso deixo aqui o meu sincero agradecimento.

Ao meu pai Jair, que incansavelmente me ajuda em tudo que eu preciso, sendo meu exemplo de vida, meu guerreiro e meu herói. A minha mãe, Nair, de quem eu sinto uma enorme e eterna saudade.

As minhas irmãs Regina e Janir, que são meu refúgio, por todo apoio e motivação.

A minha sobrinha Júlia Maria, por preencher e alegrar a minha vida.

Aos meus cunhados, Júlio e Ricardo, por todo apoio e amizade.

Ao meu namorado, Erasmo Neto, que não mede esforços para me fazer feliz, por todo amor e companheirismo.

Aos meus amigos e amigas por acreditarem em mim.

Enfim, agradeço a todos que contribuíram de alguma forma, para o sucesso deste trabalho.

“O cientista não é o homem que fornece as verdadeiras respostas; é quem faz as verdadeiras perguntas”.
(Claude Lévi-Strauss)

ÍNDICE

RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	4
CAPÍTULO I	7
PRODUTIVIDADE E QUALIDADE QUÍMICA DOS GRÃOS DE SOJA SUBMETIDA AO DÉFICIT HÍDRICO EM DIFERENTES ESTÁDIOS REPRODUTIVOS	7
RESUMO	7
1. INTRODUÇÃO	8
2. MATERIAL E MÉTODOS	9
2.1 Delineamento experimental e tratamentos	9
2.2 Avaliações Fisiológicas	10
2.2.1 Análises de troca gasosas	10
2.2.2 Determinação do conteúdo relativo de água nas folhas e vazamento de eletrólitos	10
2.3 Avaliações Bioquímicas	11
2.3.1 Determinação da atividade das enzimas antioxidantes	11
2.3.2 Determinação de proteína total solúvel	12
2.3.3 Determinação do conteúdo de fenóis totais	13
2.4 Análises de Produtividade	13
2.5 Análises da Qualidade Nutricional dos Grãos	14
2.5.1 Determinação do teor de proteínas	14
2.5.2 Determinação de lipídeos totais	14
2.5.3 Determinação do teor de flavonoides totais	15
2.6 Análises Estatísticas	15
3. RESULTADOS	16
4. DISCUSSÃO	21
5. CONCLUSÕES	26
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27
CAPÍTULO II	33
DIFERENTES NÍVEIS DE DÉFICIT HÍDRICO E SUAS IMPLICAÇÕES NA CULTURA DA SOJA	33
RESUMO	33

1. INTRODUÇÃO	34
2. MATERIAL E MÉTODOS	35
2.1 Delineamento Experimental e Tratamentos	35
2.2 Avaliações Fisiológicas	36
2.2.1 Troca gasosas.....	36
2.2.2 Conteúdo relativo de água nas folhas e vazamento de eletrólitos	37
2.3 Avaliações Bioquímicas	37
2.3.1 Atividade de enzimas antioxidantes	38
2.3.2 Teor de proteína total solúvel	39
2.3.3 Conteúdo de fenóis totais	39
2.4 Avaliação da Produtividade.....	40
2.5 Avaliação da Qualidade Nutricional dos Grãos	40
2.5.1 Teor de proteínas	40
2.5.2 Conteúdo de lipídeos totais	41
2.5.3 Teor de flavonoides totais.....	41
2.6 Análises Estatísticas	42
3. RESULTADOS	43
4. DISCUSSÃO	47
5. CONCLUSÕES	51
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
CONCLUSÃO GERAL	58

RESUMO

PEREIRA, Samarina Gabrielle de Fátima, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa – *Campus* de Rio Paranaíba, fevereiro de 2017. **Alterações em plantas de soja sob déficit hídrico no estágio reprodutivo.** Orientadora: Liliane Evangelista Visôto. Coorientadores: Leonardo Ângelo Aquino e Willian Rodrigues Macedo.

O déficit hídrico, considerado um dos principais fatores limitantes da agricultura, afeta o desenvolvimento e o crescimento de inúmeras culturas, acarretando redução na produtividade e alterações na qualidade do produto final. As plantas respondem ao estresse hídrico de forma complexa, envolvendo uma gama de fatores relacionados a características genéticas, morfológicas, fisiológicas e mecanismos bioquímicos. A cultura da soja é importante mundialmente, devido ao alto teor de proteínas e lipídeos presente nos grãos. No entanto, é uma cultura bastante sensível ao déficit hídrico, em especial na fase reprodutiva, considerada um período decisivo no desenvolvimento dos grãos. Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do déficit hídrico, imposto no estágio reprodutivo de dois genótipos de soja, cultivada em casa de vegetação e em condições ambientais. Foram avaliados parâmetros fisiológicos (trocas gasosas, conteúdo relativo de água nas folhas e extravasamento de eletrólitos), bioquímicos (atividade de enzimas antioxidantes, proteína total solúvel das folhas e conteúdo de fenóis totais dos grãos), de produtividade (número de nós; número de vagens por vaso; número médio de grãos por vagem) e de qualidade nutricional dos grãos (teor de proteínas, lipídeos e flavonoides totais dos grãos). No experimento realizado em casa de vegetação, verificou-se que, o déficit hídrico afetou negativamente as trocas gasosas no estágio R5, enquanto o dano de membrana foi maior no estágio R3. A restrição hídrica de 60 % da capacidade de campo por cinco dias alterou a produtividade das plantas de ambos cultivares, sendo a NA 5909 a mais produtiva. O déficit hídrico no estágio R3 causou a cultivar ST 797 o maior número de vagens com grãos mal formados. O maior acúmulo de proteínas ocorreu em condições de plena irrigação e de restrição hídrica no estágio R3 pela cultivar ST 797. Esta cultivar também apresentou maior conteúdo de flavonoides. Já o maior teor de lipídeos foi observado na cultivar NA 5909 independente da condição hídrica imposta. No entanto, a restrição hídrica no estágio R5 reduziu acúmulo de lipídeos em ambas cultivares. No experimento conduzido em condições de campo foi observado que o déficit hídrico ocasionou uma redução da condutância estomática concomitante com a diminuição da fotossíntese e da transpiração. Essa redução da transpiração colaborou para o aumento

da temperatura foliar nas plantas. A redução hídrica de 40% da capacidade de campo por cinco dias reduziu o conteúdo relativo de água foliar de ambas cultivares. A cultivar NA 5909 apresentou maior número de vagens mal formadas independente da condição hídrica. A restrição hídrica diminuiu o conteúdo de lipídeos em ambas cultivares. A cultivar ST 797 apresentou maior conteúdo de proteínas e flavonoides em condições de plena irrigação em comparação com a NA 5909. A baixa disponibilidade de água não acarretou redução no teor de proteínas e flavonoides.

ABSTRACT

PEREIRA, Samarina Gabrielle de Fátima, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa – *Campus* de Rio Paranaíba, February, 2017. **Changes in soybean plants under hydric deficit at the reproductive stage.** Advisor: Liliane Evangelista Visôto. Co-advisors: Leonardo Ângelo Aquino and Willian Rodrigues Macedo.

The hydric deficit, considered one of the main limiting factors of agriculture, affects the development and the growth of numerous crops, resulting in a reduction in productivity and changes in the quality of the final product. The plants respond to the hydric stress in a complex way, involving a range of factors related to the genetic characteristics, morphological, physiological and biochemical mechanisms. The soybean crop is important worldwide, due to the high content of proteins and lipids present in the grains. However, it is a crop very sensitive to hydric deficit, especially in the reproductive stage, considered a decisive period in the development of the grains. Thus, the aim of the present work was to evaluate the hydric deficit effect, imposed in the reproductive stage of two soybean genotypes, grown under greenhouse conditions and under environmental conditions. Physiological parameters (gas exchange, relative content of water on leaves and electrolytes extravasation), biochemical (antioxidant enzymes activity, total soluble protein of leaves and total phenols content on grains), productivity (number of nodes, number of pods per pot, average number of grains per pod) and nutritional quality of grains (total protein content, lipids and total flavonoids of grains). In the greenhouse experiment, it was found that the hydric deficit negatively affected the gas exchanges in the R5 stage, while the membrane damage was higher in the R3 stage. The hydric restriction of 60% of the field capacity for five days changed the productivity of the plants of both cultivars, being the NA 5909 the most productive. Hydric deficit in the R3 stage caused to the ST 797 cultivar the greatest number of seed pods with malformed grains. The highest protein accumulation occurred in both, full irrigation and hydric restriction conditions, in the R3 stage by the ST 797 cultivar. It also presented the highest flavonoid content. The highest lipids content was observed in the NA 5909 cultivar, independent on the imposed hydric condition. However, the hydric restriction on the R5 stage reduced lipids accumulation on both cultivars. In the experiment conducted under field conditions, it was observed that the hydric deficit caused a reduction of the stomatal conductance concomitant with the photosynthesis and transpiration reduction. This transpiration reduction collaborated to the increase in plant leaf temperature. The 40% hydric reduction of the field capacity for five days decreased the relative content of leaf water of both cultivars. The cultivar NA 5909

presented the highest number of malformed seed pod independent of the hydric condition. The hydric restriction decreased the lipids content of both cultivars. The ST 797 cultivar presented highest protein content and flavonoids in full irrigation condition in comparison to NA 5909. The low water availability did not cause reduction on the protein and flavonoids content.

INTRODUÇÃO GERAL

A cultura da soja tem grande importância econômica para diversos países, por participar eficazmente do complexo agroindustrial e possuir um leque de utilização. A soja e os seus produtos vêm sendo amplamente estudados devido ao seu valor nutricional e as suas propriedades funcionais (Morando et al. 2014).

Os grãos de soja são ricos em proteínas, minerais, vitaminas e ácidos graxos poliinsaturados, entre eles, o ômega-6, que está associado à prevenção de problemas cardíacos e outras doenças crônicas. Possui quantidade reduzida de gordura saturada, o que auxilia na diminuição do LDL (*Low Density Lipoproteins*) e no aumento dos níveis de HDL (*High Density Lipoproteins*) (Galão et al. 2014). Além disso, a soja possui alto teor de isoflavonas, que exerce diversas funções benéficas à saúde (Hasanah et al. 2015).

No entanto, a composição química dos grãos de soja varia com as condições climáticas, tipo de solo, localização geográfica, variedades e práticas agrônômicas, entre outros fatores. O déficit hídrico é considerado o estresse abiótico que mais afeta a agricultura moderna e é um dos principais fatores limitantes para a qualidade e produtividade da soja (Galão et al. 2014).

Alguns estudos demonstraram que a concentração de óleo e o perfil de ácidos graxos nos grãos de soja podem alterar de acordo com as condições ambientais, principalmente com a limitação de água. Há relatos de que plantas de soja submetidas ao déficit hídrico severo, principalmente durante a fase de enchimento dos grãos, apresentaram diminuição do conteúdo do óleo e do ácido oléico e aumento do teor do ácido esteárico (Dornbos e Mullen 1992, Bellaloui et al. 2013).

A síntese e acúmulo de isoflavonas nas sementes de soja também podem ser influenciados pelo déficit hídrico. Níveis adequados de umidade do solo aumentaram a concentração de isoflavonas em sementes de soja (Lozovaya et al. 2005, Al-Tawaha et al. 2007). Já plantas de soja submetidas à limitação hídrica progressiva por longos períodos, principalmente no estágio de desenvolvimento dos grãos, apresentaram diminuição no teor de isoflavonas nas sementes, sendo esta proporcional à intensidade do estresse e dependente do genótipo analisado (Gutierrez-Gonzalez et al. 2010).

Há relatos controversos em relação a concentração de proteína em soja submetida ao déficit hídrico. Dornbos e Mullen (1992) observaram aumento da concentração de proteína em condições de déficit hídrico intenso, assim como Kumar et al. (2006) que relataram uma correlação linear significativamente negativa com a

concentração de proteína e a ocorrência de chuvas durante o desenvolvimento da soja. No entanto, Carrera et al. (2009), afirmaram que sob condições de limitação de água no campo, houve uma correlação negativa linear entre o teor de proteína na soja e o aumento do déficit hídrico. Esses mesmos autores verificaram que o conteúdo de aminoácidos na soja responde de forma diferente a elevadas temperaturas e baixa precipitação, quando analisados independentemente (Carrera et al. 2011).

Além dos fatores nutricionais, o déficit hídrico é responsável pela desidratação dos tecidos, a qual é caracterizada pelas alterações das relações hídricas, na estrutura de membranas, organelas e nos processos bioquímicos e fisiológicos, como a redução da taxa fotossintética, provocada pelo fechamento estomático e pela alteração da atividade da ribulose 1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase (Bota et al. 2004, Mutava et al. 2015).

A seca também provoca uma série de reações em cascata, induzindo o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio, as quais são reduzidas pela ação de enzimas antioxidantes, como a catalase, superóxido dismutase, peroxidase e o aumento na concentração de metabólitos como glutatona e ascorbato (Faghani et al. 2015). Há também o acúmulo de moléculas denominadas osmoprotetores, que auxiliam na tolerância das plantas sob baixa disponibilidade de água, como açúcares (trealose, sacarose e frutose), aminoácidos (prolina e triptofano) e compostos de amônio (poliaminas e glicil-betaína) (Akitha e Giridhar 2015, Hossain et al. 2014).

Todos os fatores citados contribuem diretamente para redução da produtividade da cultura da soja. Para apresentar um bom desempenho, além de um volume de água adequado (450 – 700 mm de água durante a fase de crescimento), a soja necessita de uma boa distribuição das chuvas ao longo do ciclo de produção, principalmente durante os períodos críticos (Pardo et al. 2015).

O sistema de representação proposto por Fehr e Caviness (1977) divide o desenvolvimento da soja em duas fases, estágio vegetativo e estágio reprodutivo, que são designados pela letra V e R, respectivamente. Subdivisões da fase vegetativa são designadas numericamente como V1, V2, V3, até Vn, menos os dois primeiros estádios que são designados como VE (estádio de emergência) e VC (estádio de cotilédone). O último estágio vegetativo é designado como Vn, onde “n” representa o número do último nó vegetativo formado por um cultivar específico. O valor de “n” varia em função das diferenças varietais e ambientais. A fase reprodutiva apresenta oito subdivisões ou estádios, cujas representações numéricas e os respectivos nomes são apresentados na tabela 1.

Tabela 1. Estádios da fase reprodutiva

Estádio	Acontecimento
R1	Início do florescimento
R2	Pleno florescimento
R3	Início da formação das vagens
R4	Plena formação das vagens
R5	Início do enchimento das vagens
R6	Pleno enchimento das vagens
R7	Início da maturação
R8	Plena maturação

A fase reprodutiva é considerada um período decisivo no desenvolvimento da soja, sendo os estágios mais afetados o início da formação das vagens (R3), início do enchimento das vagens (R5) e pleno enchimento das vagens (R6) (Dogan et al. 2007, Hossain et al. 2014). A deficiência hídrica na fase de florescimento da soja causa o aborto das flores e impede a antese (Casagrande et al. 2001). Durante o período de produção e desenvolvimento das sementes a falta de água reduz o número e o tamanho das mesmas, que pode acontecer devido ao encurtamento da duração dos estágios (Krishnan et al. 2014).

Diante do exposto, o trabalho objetivou avaliar o efeito do déficit hídrico, imposto no estágio reprodutivo de dois genótipos de soja, sobre os parâmetros fisiológicos, bioquímicos, de produtividade e de qualidade nutricional dos grãos cultivados em casa de vegetação e em condições ambientais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Akitha Devi, M. K. and P. Giridhar, 2015: Variations in physiological response, lipid peroxidation, antioxidant enzyme activities, proline and isoflavones content in soybean varieties subjected to drought stress. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 85, 35-44.

Al-Tawaha, A. M., P. Seguin, D. L. Smith and R. B. Bonnell, 2007: Irrigation level affects isoflavone concentrations of early maturing soya bean cultivars. *J. Agron. Crop Sci.* 193, 238-246.

Bellaloui, N., A. Mengistu and M. A. Kassem, 2013: Effects of genetics and environment on fatty acid stability in soybean seed. *Food Nutr. Sci.* 4, 165-175.

Bota, J., H. Medrano and J. Flexas, 2004: Is photosynthesis limited by decreased Rubisco activity and RuBP content under progressive water stress? *New Phytol.* 81, 162-171.

Carrera, C. S., C. M. Reynoso, G. J. Funes, M. J. Martínez, J. Dardanelli and S. L. Resnik, 2011: Amino acid composition of soybean seeds as affected by climatic variables. *Pesq. Agropec. Bras.* 46, 1579-1587.

Carrera, C. S., M. J. Martínez, J. Dardanelli and M. Balzarini, 2009: Water deficit effect on the relationship between temperature during the seed fill period and soybean seed oil and protein concentrations. *Crop Sci.* 49, 990-998.

Casagrande, E. C., J. R. B. Farias, N. Neumaier, T. Oya, J. Pedroso, P. K. Martins, M. C. Breton and A. L. Nepomuceno, 2001: Expressão gênica diferencial durante déficit hídrico em soja. *Rev. Bras. Fisiol. Veg.* 13, 168-184.

Dogan, E., H. Kirnak and O. Copur, 2007: Effect of seasonal water stress on soybean and site specific evaluation of CROPGRO-Soybean model under semi-arid climatic conditions. *Agric. Water Manag.* 90, 56-62.

Dornbos, D. L. J. and R. E. Mullen, 1992: Soybean seed protein and oil contents and fatty-acid composition adjustments by drought and temperature. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 69, 228-231.

Faghani, E., J. Gharechahi, S. Komatsu, M. Mirzaei, R. A. Khavarinejad, F. Najafi, L. K. Farsad and G. H. Salekdeh, 2015: Comparative physiology and proteomic analysis of two wheat genotypes contrasting in drought tolerance. *J. Proteomics.* 114, 1-15.

Fehr, W. R. and C. E. Caviness, 1977: Stages of soybean development. 11p. Ames: Iowa State University of Science and Technology (Special Report 80).

Galão, O. F., M. C. Carrão-Panizzi, J. M. G. Mandarino, O. O. S. Júnior, S. A. Maruyama, L. C. Figueiredo, E. G. Bonafe and J. V. Visentainer, 2014: Differences of fatty acid composition in Brazilian genetic and conventional soybeans (*Glycine max* (L.) Merrill) grown in different regions. *Food Res. Int.* 62, 589-594.

Gutierrez-Gonzalez, J. J., S. K. Guttikonda, L. S. P. Tran, D. L. Aldrich, R. Zhong, O. Yu, H. T. Nguyen and D. A. Sleper, 2010: Differential expression of isoflavone biosynthetic genes in soybean during water deficits. *Plant Cell Physiol.* 51, 936-948.

Hasanah, Y., T. C. Nisa, H. Armidin and H. Hanum, 2015: Isoflavone content of soybean [*Glycine max* (L.) Merr] cultivars with different nitrogen sources and growing season under dry land conditions. *J. Agr. Environ. Int. Dev.* 109, 5-17.

Hossain, M. M., X. Liu, X. Qi, H. M. Lan and J. Zhang, 2014: Differences between soybean genotypes in physiological response to sequential soil drying and rewetting. *Crop J.* 2, 366-380.

Krishnan, P., S. Ravender, A. P. S. Verma, D. K. Joshi and S. Sheoraj, 2014: Changes in seed water status as characterized by NMR in developing soybean seed grown under moisture stress conditions. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 444, 485-490.

Kumar, V., A. Rani, S. Solanki and S. M. Hussain, 2006: Influence of growing environment on the biochemical composition and physical characteristics of soybean seed. *J. Food Comp. Anal.* 19, 188-195.

Lozovaya, V. V., A. V. Lygin, A. V. Ulanov, R. L. Nelson, J. Daydé and J. M. Widholm, 2005: Effect of temperature and soil moisture status during seed development on soybean seed isoflavone concentration and composition. *Crop Sci.* 45, 1934-1940.

Morando, R., A. O. Silva, L. C. Carvalho and M. P. A. Pinheiro, 2014: Déficit hídrico: efeito sobre a cultura da soja. *J. Agron. Sci.* 3, 114-129.

Mutava R. N., S. J. K. Prince, N. H. Syed, L. Song, B. Valliyodan, W. Chen and H. T. Nguyen, 2015: Understanding abiotic stress tolerance mechanisms in soybean: A comparative evaluation of soybean response to drought and flooding stress. *Plant Physiol. Biochem.* 86, 109-120.

Pardo, E. M., G. R. Vellicce, L. Aguirrezabal, G. P. Irujo, C. M. L. Rocha, M. G. García, S. P. Angueira, B. Welin, J. Sanchez, F. Ledesma and A. P. Castagnaro, 2015: Drought tolerance screening under controlled conditions predicts ranking of water-limited yield of field-grown soybean genotypes. *J. Agro. Crop Sci.* 201, 95-104.

CAPÍTULO I
PRODUTIVIDADE E QUALIDADE QUÍMICA DOS GRÃOS DE SOJA
SUBMETIDA AO DÉFICIT HÍDRICO EM DIFERENTES ESTÁDIOS
REPRODUTIVOS

RESUMO

A cultura da soja participa diretamente da economia mundial, sendo os grãos ricos em proteínas e lipídeos. Sabe-se que condições climáticas adversas podem determinar a produtividade potencial de uma cultura. O déficit hídrico, que é considerado um dos principais fatores limitantes da agricultura, afeta o desenvolvimento e o crescimento da cultura da soja, além de causar alterações na qualidade dos grãos. A fase reprodutiva é considerada um período decisivo no desenvolvimento da soja, sendo estádios críticos o início da formação das vagens (R3) e início do enchimento das vagens (R5). O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do déficit hídrico, imposto em dois estádios reprodutivos (R3 e R5) em dois genótipos de soja (NA 5909 e ST 797) cultivados em casa de vegetação. Foram avaliados parâmetros fisiológicos, bioquímicos, de produtividade e de qualidade nutricional dos grãos. O déficit hídrico ocasionou maior dano de membrana no estádio R3 e afetou negativamente as trocas gasosas no estádio R5. A restrição hídrica de 60 % da capacidade de campo, por cinco dias, alterou a produtividade das plantas de ambos os cultivares, sendo a NA 5909 a mais produtiva. O déficit hídrico no estádio R3 causou a cultivar ST 797 o maior número de vagens com grãos mal formados. O maior acúmulo de proteínas ocorreu em condições de plena irrigação e de restrição hídrica no estádio R3 pela cultivar ST 797. Esta cultivar também apresentou maior conteúdo de flavonoides. Já o maior teor de lipídeos foi observado na cultivar NA 5909 independente da condição hídrica imposta. No entanto, a restrição hídrica no estádio R5 reduziu o acúmulo de lipídeos em ambas cultivares.

Palavras-chave: *Glycine max* (L.) Merrill, estresse abiótico, composição química

1. INTRODUÇÃO

O déficit hídrico influencia diretamente o crescimento e a produtividade das plantas, sendo um dos principais estressores abióticos (Ozturk et al. 2002). O cenário atual prevê um agravamento das mudanças climáticas, entre eles o aumento da frequência de longos períodos de estiagem (Farooq et al. 2014). O verão é o período de maior incidência de deficiência hídrica, o que afeta o plantio de grandes culturas como milho e soja. Acredita-se que o aumento da incidência de seca afetará diretamente a produção de leguminosas e por consequência, a economia de países que investem vastas áreas para cultivo destas espécies (Vyas 2014).

Em geral, a seca acarreta a deficiência hídrica vegetal, que ocorre quando a taxa de absorção de água excede a taxa de transpiração (Tavares et al. 2013). Inúmeras características fisiológicas são alteradas em plantas sob déficit hídrico, incluindo o uso eficiente da água (Amede et al. 1999), o potencial hídrico foliar (Karamanos e Papatheohari 1999), propriedades estomáticas (Ricciardi 1989, Bond et al. 1994) e a temperatura foliar (Khan et al. 2010). Além das alterações fisiológicas, o déficit hídrico também reduz a produção de biomassa, o rendimento dos grãos, além de modificar a composição química e nutricional dos mesmos (Baroowa e Gogoi 2013). A magnitude das alterações depende da duração e da intensidade do estresse, do material genético e do estágio de desenvolvimento da planta (Farooq et al. 2016). Além disso, estas alterações podem auxiliar na seleção de genótipos mais adaptados para serem cultivados em ambientes com restrição hídrica.

A soja *Glycine max* (L.) Merr. é uma das leguminosas com maior fonte de proteína e óleo (Hartman et al. 2011), podendo ser utilizada tanto na alimentação humana quanto animal. Durante seu ciclo de desenvolvimento essa cultura pode ser acometida por inúmeros estresses, entre eles a seca. Diversos relatos sugerem que os estádios R3 (início da formação das vagens) e R5 (início do enchimento dos grãos) são os mais críticos para a produtividade e qualidade da cultura sob déficit hídrico (Sionit e Kramer 1977; Rassini e Lin 1981; Rambo et al. 2002). A identificação do estágio de desenvolvimento da soja mais sensível à seca e a avaliação das possíveis alterações nutricionais dos grãos, juntamente com as respostas bioquímicas e fisiológicas da planta são cruciais para a seleção de materiais mais resistentes e/ou tolerantes ao déficit hídrico e para o desenvolvimento genético de cultivares com essa característica.

Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito do déficit hídrico imposto em dois estádios reprodutivos (R3 e R5), de dois genótipos de soja (NA 5909 e

ST 797), sobre os parâmetros fisiológicos, bioquímicos, de produtividade e de qualidade nutricional dos grãos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Delineamento experimental e tratamentos

O experimento foi conduzido em casa de vegetação localizada na Universidade Federal de Viçosa - *Campus* Rio Paranaíba. O clima da região é caracterizado como CWA, com precipitação pluvial média anual de 1533 mm e temperatura média de 20,4°C. As avaliações bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Fitopatologia, Bioquímica e Biologia Molecular (BIOFITOMOL) e as avaliações fisiológicas foram conduzidas no Laboratório de Fisiologia e Metabolismo da Produção (LAFIMEPRO), localizados na mesma instituição.

O experimento foi desenvolvido em blocos casualizados com seis repetições, esquema fatorial 2 x 3, sendo dois genótipos e três condições de tratamento. Os genótipos NA 5909 RR e ST 797 IPRO foram selecionados baseando-se em suas características particulares. Ambos são considerados de boa produtividade, no entanto, o genótipo NA 5909 RR tem um ciclo precoce e ST 797 IPRO tardio, sendo o tempo de desenvolvimento médio das variedades de 100 e 120 dias, respectivamente.

O cultivo foi realizado em vasos plásticos de 8 L, preenchidos com solo coletado 0-20 cm de profundidade de um Latossolo localizado no município de Rio Paranaíba, MG e que apresentou as seguintes características: pH – H₂O: 5,73; P (Mehlich-1): 7,8 mg dm⁻³; K: 63,3 mg dm⁻³, Ca²⁺ e Mg²⁺ (KCl 1 mol L⁻¹): 3,57, 0,86, cmol_c dm⁻³, respectivamente; Al³⁺ (KCl 1 mol L⁻¹): 0,0; H + Al (acetato de cálcio 0,5 mol L⁻¹ – pH 7,0): 5,7 cmol_c dm⁻³; t (CTC efetiva) e T (CTC potencial a pH 7,0): 4,59 e 10,29 cmol_c dm⁻³, respectivamente; V: 44 %; MO (Walkley-Black): 47,0 g kg⁻¹; P-Rem (P remanescente): 12,4 mg L⁻¹ e teor de argila: 589,0 g kg⁻¹. Com base na análise química do solo e nas recomendações foi feita a adubação necessária.

O plantio foi realizado em outubro de 2015, com a semeadura de seis sementes por vaso. Após 15 dias foi feito o desbaste, deixando apenas três plantas por vaso. Todas as plantas foram irrigadas diariamente, próximo a capacidade de campo, até o estágio R2.

No estágio R3, cerca de 65 dias após o plantio, uma parcela dos vasos (12 vasos) foram submetidas ao déficit hídrico por um período de cinco dias. Esse mesmo

procedimento foi realizado em outra parcela (12 vasos), quando as plantas atingiram o estágio R5, aproximadamente 80 dias após a sementeira. Para o controle da irrigação e da manutenção da capacidade de campo, os vasos foram pesados diariamente, utilizando uma balança eletrônica (TOLEDO, modelo 2098). Os valores obtidos foram excluídos do peso aproximado das plantas, que foi estimado utilizando-se vasos controle com os mesmos tratamentos. Dessa forma, os tratamentos consistiram em: Controle, onde as plantas foram mantidas bem irrigadas, com umidade próximo a capacidade de campo; R3, onde a irrigação foi em torno de 60 % da capacidade de campo por cinco dias no estágio R3 e o tratamento R5, em que a irrigação de 60 % da capacidade de campo por cinco dias foi imposta no estágio R5.

Para a obtenção da capacidade de campo do solo foi utilizado o método gravimétrico direto a partir de 3 provetas de 1000 mL, contendo em torno de 1 kg de solo seco em estufa. Nas provetas, o solo com estrutura deformada foi umedecido até a saturação por capilaridade, através de furos no fundo das mesmas, em seguida, foram submetidos à drenagem por um período de 48 horas, até o total cessamento da drenagem livre, com a superfície do solo coberta para evitar a evaporação (Souza et al. 2000).

2.2 Avaliações fisiológicas

2.2.1 Análises de troca gasosas

Vinte e quatro horas após o início da restrição hídrica foram realizadas avaliações de trocas gasosas (LICOR 6400XT, Li-COR, Lincoln, EUA) em folhas completamente expandidas. A taxa de assimilação foliar líquida de CO₂ (*A*), a condutância estomática (*g_s*), transpiração foliar (*E*), temperatura foliar (TF), taxa de transporte dos elétrons (ETR) foram determinadas em sistema aberto, sob luz saturante artificial (1.200 μmol m⁻² s⁻¹ de fótons). O uso eficiente da água foi calculado pela razão entre a taxa fotossintética (*A*) e a transpiração (*E*) (*A/E*).

2.2.2 Determinação do conteúdo relativo de água nas folhas e extravazamento de eletrólitos

Para a determinação desses parâmetros foram utilizadas folhas completamente expandidas coletadas no quinto dia da imposição do déficit hídrico.

A quantificação de extravazamento de eletrólitos foi realizada, conforme a metodologia de Blum e Ebercon (1981). Essa determinação permite avaliar a

integridade das membranas celulares, uma vez que, quanto maior a condutividade elétrica da solução, maior é a quantidade de eletrólitos extravasados, o que indica menor integridade da membrana celular. Foram coletados 10 discos foliares, de aproximadamente 1 cm de diâmetro, incubados em 20 mL de água destilada e mantidos a 25°C por 24 h sob agitação leve e constante. Após esse tempo, foi realizada a determinação da condutividade elétrica do extrato (L1) utilizando um condutivímetro (TECNOPON, mCA-150). Posteriormente, as amostras foram fervidas por 1 h e novamente foi determinada a condutividade elétrica (L2). O percentual de danos nas membranas (DM) foi estimado através da relação:

$$DM (\%) = (L1 / L2) \times 100$$

O conteúdo relativo de água foliar (CRA) foi determinado através da metodologia descrita por Varone e Gratani (2015). Foram coletadas folhas e essas pesadas (massa fresca: MF), em seguida, as folhas foram imersas em água e permaneceram no escuro à 4°C por 24 h. Após esse tempo foram pesadas (massa túrgida: MT) e por último as folhas foram secas em estufa a 80°C por 48 h e novamente pesadas (massa seca: MS). O CRA (%) foi estimado pela fórmula:

$$CRA (\%) = (MF - MS / MT - MS) \times 100$$

2.3 Avaliações bioquímicas

2.3.1 Determinação da atividade das enzimas antioxidantes

Foram determinadas as atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX), que atuam na eliminação dos radicais livres, normalmente produzidos em plantas sob estresse, em folhas de soja dos três tratamentos.

Para a obtenção do extrato bruto foram pesados cerca de 200 a 300 mg de matéria fresca das folhas, coletadas no quinto dia da imposição do déficit hídrico, e estas foram pulverizadas com nitrogênio líquido. A esse material foram adicionados 1500 µL do meio de extração (750 µL de tampão fosfato de potássio 200 mM, pH 7,8; 15 µL de ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) 10 mM; 150 µL de ácido ascórbico 200 mM e 585 µL de água ultrapura Milli-Q). Em seguida, foi realizada uma centrifugação a 12.000 g por 20 min., a 4°C, onde o sobrenadante foi coletado e armazenado a -20°C, para posteriores análises.

A atividade de SOD foi determinada conforme metodologia descrita por Gianngiopolitis e Reis (1977) e Beauchamp e Fridovich (1971). Um Mix para reações foi preparado para cada amostra contendo 2000 μL de tampão fosfato de potássio 100 mM pH 7,8; 800 μL de metionina 70 mM; 40 μL de EDTA 10 mM; 300 μL de NBT 1 mM e 620 μL de água ultra pura. Também foi preparada uma solução de riboflavina, diluindo 20 μL da solução estoque 100 mM em 10 mL de água. A reação consistiu em 1880 μL do Mix, 100 μL da amostra e 20 μL da solução de riboflavina. Em seguida os tubos foram agitados em vórtex e submetidos a iluminação intensa por 20 min.. Após esse procedimento foram realizadas as leituras em espectrofotômetro a 560 nm. Também foram preparados dois brancos, um para o escuro (zerar o equipamento) e o outro para o claro (quantificado).

A determinação da atividade da CAT foi realizada de acordo com Havir e Mchale (1987) e Anderson et al. (1995). Inicialmente, a solução de incubação (1500 μL de tampão fosfato de potássio 200 mM pH 7,0 e 400 μL de água ultra pura) foi colocada em banho-maria a 27°C por 10 min.. Após esse período, foram acrescentados 112,5 μL de água ultra pura, 150 μL de peróxido de hidrogênio 250 mM e 37,5 μL de amostra. As absorvâncias foram determinadas rapidamente em espectrofotômetro a 240 nm. Foi realizada uma leitura cinética com duração de 90 s com intervalos de 10 em 10 s. O branco da reação foi preparado com 1500 μL de tampão fosfato de potássio 200 mM pH 7,0, 150 μL de peróxido de hidrogênio e 1350 μL de água ultra pura.

Para a atividade de APX foi utilizado o método desenvolvido por Nakano e Asada (1981). Foi preparada uma solução de incubação (1500 μL de tampão fosfato de potássio 200 mM pH 7,0; 150 μL de ácido ascórbico 10 mM e 1050 μL de água ultra pura) e esta foi incubada em banho-maria a 27°C por 5 min.. Preparou-se uma solução diluída de peróxido de hidrogênio (20 mL de água ultra pura e 160 μL de peróxido de hidrogênio 250 mM). Para a reação foram adicionadas a solução de incubação 112,5 μL de água ultra pura, 150 μL de peróxido de hidrogênio diluído e 37,5 μL de amostra. Em seguida realizaram-se rapidamente as leituras em espectrofotômetro a 290 nm. Uma leitura cinética com duração de 90 s com intervalos de 10 em 10 s foi realizada. O branco da reação consistiu de 1500 μL de tampão fosfato de potássio 200 mM pH 7,0, 150 μL de ácido ascórbico, 150 μL de peróxido de hidrogênio diluído e 1200 μL de água ultra pura.

2.3.2 Determinação de proteína total solúvel

Para calcular a atividade específica das enzimas antioxidantes, determinou-se o teor de proteína total solúvel (PTS) presente nas folhas, coletadas no quinto dia da imposição do déficit hídrico, utilizando o método de Bradford (Bradford, 1976). O reagente de Bradford foi preparado através da diluição de 100 mg de Comassie Blue G250 em 50 mL de etanol 95 %, a adição de 100 mL de ácido fosfórico 85 % e a aferição do volume para 1 L com água destilada. Em seguida, foi feita a filtração a vácuo do reagente. Fez-se também uma solução padrão de soro albumina bovina (BSA), com proporção de 1 mg de BSA para 1 mL de água, em seguida construiu-se a curva padrão.

Para a obtenção do extrato foliar, foi pesado em torno de 0,1 g de matéria fresca das folhas, adicionado 5 mL de tampão fosfato de potássio 200 mM pH 6,7 e em seguida a mistura foi centrifugada por 10 minutos a 1.008 g. Retirou-se 0,1 mL do sobrenadante e a ele foi acrescentado 5 mL do reagente de Bradford. A mistura foi homogeneizada em vórtex e deixada em repouso por 15 min., após isso realizaram-se as leituras em espectrofotômetro a 595 nm. O branco da reação constituiu de 0,1 mL de tampão fosfato potássio 200 mM pH 6,7 e 5 mL do reagente de Bradford.

2.3.3 Determinação do conteúdo de fenóis totais

Para a determinação do conteúdo de fenóis totais, o método descrito por Meda et al (2005) foi empregado. Grãos de soja foram triturados em moinho de bolas e em 1 grama da amostra foram adicionados 8 mL de etanol 70 %. A mistura foi incubada em banho-maria a 60°C por 30 min. e em seguida, filtrada. A mistura reacional consistiu em 0,5 mL da amostra, 2,5 mL de Reagente de Folin-Ciocalteu (Sigma Co), após 5 min. adicionou-se 2,0 mL de solução recém-preparada de carbonato de sódio a 4 %. A mistura reacional foi incubada por 2 h a temperatura ambiente, onde a coloração da solução passou de esverdeada para azul. Em seguida, determinou-se a absorvância das amostras a 740 nm, utilizando a água como branco.

Foi preparada uma curva analítica a partir da solução padrão de ácido gálico com concentração de 1000 ppm. A curva analítica foi confeccionada através de regressão linear, utilizando o programa Origin 6.0 (UFRRJ) e a equação da reta foi usada para a determinação indireta do teor de fenóis totais nas amostras. Os resultados finais foram expressos em g de fenóis/100 g de soja.

2.4 Análises de produtividade

No estágio R8 foram avaliados os parâmetros número de nós; número de vagens por vaso; número médio de grãos por vagem, além da produtividade por vaso dos dois cultivares de soja submetida aos diferentes tratamentos.

2.5 Análises da qualidade nutricional dos grãos

2.5.1 Determinação do teor de proteínas

O conteúdo de proteína presente nos grãos de soja foi determinado através do processo de Kjeldahl, seguindo as recomendações da Association of Official Analytical Chemists (1995). Este método baseia-se na determinação de nitrogênio total em uma amostra. Para cada análise pesou-se e transferiu-se 0,3 g dos grãos de soja para um tubo de digestão, juntamente com 0,5 g da mistura catalítica (sulfato de sódio e sulfato de cobre, na proporção 9:1). Foram acrescentados 5 mL de ácido sulfúrico concentrado a essa mistura, e posteriormente aqueceu-se em um bloco digestor em capela de exaustão, até completa digestão das amostras. Após a obtenção do material digerido, a amostra foi disposta em um destilador semi-micro-Kjeldahl, onde 25 mL de hidróxido de sódio foram adicionados. Em seguida, a amostra foi recolhida em solução de ácido bórico 4%. Titulou-se com uma solução de ácido clorídrico a 0,1 N. Para o cálculo da conversão de nitrogênio em proteína, utilizou-se o fator de 6,25 e a porcentagem de proteínas foi obtida com base na matéria seca.

Cálculo: Nitrogênio total = $([HCl] \times f \times (V_a - V_b) \times 14) / P$, onde:

V_a: volume gasto na titulação da amostra (mL)

V_b: volume gasto na titulação do branco (mL)

P: peso (mg) da amostra

f: fator de correção do HCl

2.5.2 Determinação de lipídeos totais

A determinação de lipídeos totais nos grãos de soja foi realizada utilizando o aparelho extrator de Soxhlet e o solvente éter de petróleo, conforme procedimento descrito nas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985). Pesou-se 2 g da amostra em cartucho de Soxhlet. Em seguida o cartucho foi transferido para o aparelho extrator que foi acoplado ao balão de fundo chato previamente tarado a 105°C.

Quantidade suficiente de éter de petróleo foi adicionada e a mistura foi mantida sob aquecimento, em chapa elétrica, durante oito horas (quatro a cinco gotas por segundo). Em seguida, o cartucho foi retirado, o éter destilado e o balão com o resíduo extraído foi levado para uma estufa a 105 °C, por aproximadamente uma hora. Posteriormente, resfriou-se o balão em dessecador até a temperatura ambiente e em seguida pesou-se.

Cálculo: Lipídeos totais (%) = (N/ P) x 100 , onde:

N: peso dos lipídeos (g)

P: peso da amostra (g)

2.5.3 Determinação do teor de flavonoides totais

O teor de flavonoides totais foi determinado segundo metodologia descrita por Meda et al. 2005; Ahn et al. 2004, com adaptações, utilizando como reagente uma solução de cloreto de alumínio 2 % em metanol. Grãos de soja foram triturados em moinho de bolas e 8 mL de etanol 70 % foram adicionados em 1 g da amostra. A mistura foi incubada em banho-maria a 60°C por 30 min. e em seguida, filtrada. Em uma alíquota de 1,0 mL dessa solução adicionou-se 1 mL de metanol e 2,0 mL de solução metanólica a 2 % de cloreto de alumínio. Após 30 min em repouso a temperatura ambiente, determinou-se as absorvâncias das soluções no comprimento de onda de 415 nm. O branco consistiu de 3 mL de metanol (Meda et al. 2005; Ahn et al. 2004).

Uma curva analítica foi feita a partir de uma solução padrão de quercetina em metanol com concentração de 100 ppm. A curva analítica foi confeccionada através de regressão linear utilizando o programa Origin 6.0 (UFRRJ). A equação da reta foi utilizada para a determinação indireta do teor de flavonoides totais nas amostras. Os resultados foram expressos em g de flavonoides totais/ 100 g de soja.

2.6 Análises Estatísticas

A partir dos dados obtidos foram avaliadas todas as pressuposições da Análise de Variância (ANOVA) e aplicou-se o teste de comparação múltipla de médias Student-Newman-Keuls (SNK) à 5 % de probabilidade, com o auxílio do Programa R (R Core Time 2015).

3. RESULTADOS

Em relação as trocas gasosas observou-se uma redução significativa nas variáveis *A*, *gs*, *E* e ETR e um aumento na TF e UEA no tratamento R5 das duas cultivares, 24 h após a imposição do estresse hídrico nas plantas (Tabela 1). Com exceção do UEA, todos os outros parâmetros analisados não apresentaram diferença significativa entre os cultivares (Tabela 1).

Tabela 1. Parâmetros de trocas gasosas 24 horas após o início da imposição da restrição hídrica

Fontes de Variação	Parâmetros de trocas gasosas					
	<i>A</i>	<i>gs</i>	<i>E</i>	TF	ETR	UEA
Cultivar	0,34 ^{ns}	0,25 ^{ns}	0,19 ^{ns}	0,35 ^{ns}	0,26 ^{ns}	0,00 ^{**}
Estádio	0,00 ^{**}	0,00 ^{**}	0,00 ^{**}	0,00 ^{**}	0,00 ^{**}	0,00 ^{**}
Cultivar x Estádio	0,96 ^{ns}	0,61 ^{ns}	0,83 ^{ns}	0,77 ^{ns}	0,08 ^{ns}	0,23 ^{ns}
Cultivar						
NA5909	14,94 a	0,16 a	2,64 a	30,56 a	110,38 a	0,71 b
ST797	16,05 a	0,14 a	2,34 a	30,75 a	105,18 a	0,74 a
Estádios						
C	20,96 a	0,24 a	3,71 a	28,53 b	132,74 a	0,71 b
R3	20,31 a	0,21 a	3,28 a	28,56 b	129,66 a	0,72 b
R5	5,22 b	0,01 b	0,46 b	34,87 a	60,95 b	0,75 a

Fotossíntese (*A*) ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{CO}_2$), condutância estomática (*Gs*) ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{H}_2\text{O}$), transpiração (*E*) ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{H}_2\text{O}$), temperatura foliar (TF) ($^{\circ}\text{C}$), taxa de transporte de elétrons (ETR) e eficiência do uso de água (UEA). ANOVA: (p-valor) *significativo a 5 % e ** significativo a 1 % pelo teste F. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste Student-Newman-Keuls (SNK) a 5 % de probabilidade.

A interação entre as cultivares e os estádios no qual a restrição hídrica foi imposta foi significativa para o DM (%), conforme apresentado na Figura 1. O tratamento R3 provocou um maior DM (%) na cultivar ST 797 em relação a NA 5909 (Figura 1). Quando os DM (%) foram comparados entre os estádios dentro de cada cultivar pode-se inferir que houve diferença significativa entre as plantas controle e aquelas submetidas ao déficit hídrico. A cultivar NA 5909 apresentou aumento no DM (%) em ambos os tratamentos, enquanto na cultivar ST 797 verificou-se um aumento na DM (%) apenas no tratamento R3 comparado ao controle.

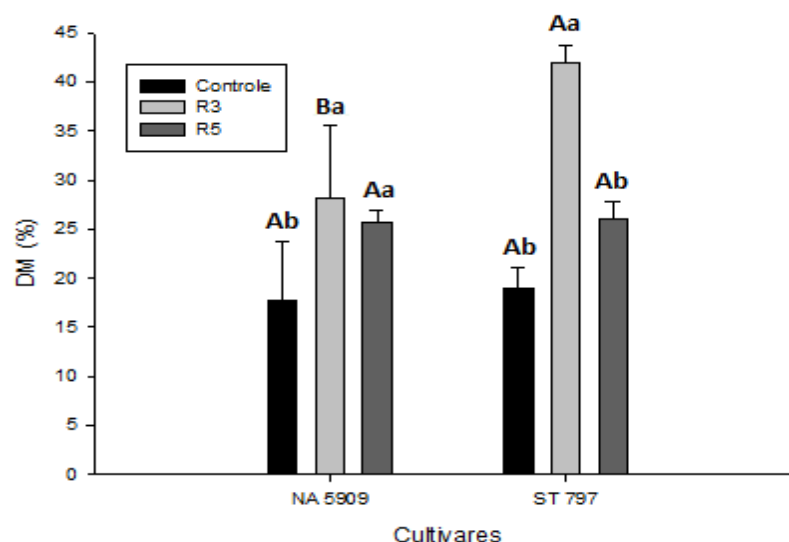


Figura 1. Porcentagem de dano de membrana em folhas coletadas após cinco dias de restrição hídrica. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste Student-Newman-Keuls (SNK) a 5 % de probabilidade. Letras maiúsculas comparam as cultivares dentro de cada estágio e as letras minúsculas comparam os estádios dentro de cada cultivar.

O tratamento R3 apresentou maior conteúdo de proteína solúvel foliar, independente da cultivar (Tabela 2). No entanto, o CRA, as enzimas antioxidantes (APX, SOD e CAT) e a concentração de fenóis totais não apresentaram diferença estatística em nenhum dos tratamentos analisados (Tabela 2).

Tabela 2. Conteúdo relativo de água, proteína solúvel foliar, enzimas antioxidantes de folhas coletadas após cinco dias de restrição hídrica e fenóis totais presente nos grãos

Fontes de Variação	Parâmetros					
	CRA	PSF	APX	SOD	CAT	Fenóis
Cultivar	0,05 ^{ns}	0,28 ^{ns}	0,31 ^{ns}	0,72 ^{ns}	0,95 ^{ns}	0,70 ^{ns}
Estádio	0,05 ^{ns}	0,00 ^{**}	0,77 ^{ns}	0,47 ^{ns}	0,35 ^{ns}	0,71 ^{ns}
Cultivar x Estádio	0,45 ^{ns}	0,09 ^{ns}	0,08 ^{ns}	0,29 ^{ns}	0,69 ^{ns}	0,57 ^{ns}
Cultivar						
NA5909	29,48 a	26,90 a	0,01 a	0,09 a	2,16 a	1,91 a
ST797	23,55 a	24,50 a	0,02 a	0,08 a	2,21 a	1,93 a
Estádios						
C	31,66 a	24,20 b	0,02 a	0,10 a	1,96 a	1,90 a
R3	25,79 a	34,23 a	0,02 a	0,06 a	1,43 a	1,91 a
R5	22,09 a	18,67 b	0,01 a	0,08 a	3,36 a	1,95 a

Conteúdo Relativo de Água Foliar (CRA) (%), Proteína Solúvel Foliar (PSF) (mg proteína/g matéria fresca), Ascorbato Peroxidase (APX) ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína), Superóxido Dismutase (SOD) ($\text{U}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína), Catalase (CAT) ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína) e Fenóis (g de fenóis/100 g de soja). ANOVA: (p-valor) *significativo a 5 % e ** significativo a 1 % pelo teste F. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste Student-Newman-Keuls (SNK) a 5 % de probabilidade.

O PTG foi afetado pela diminuição da irrigação em ambos os tratamentos analisados (Tabela 3). Não houve diferença significativa dos demais parâmetros quando comparado o controle e os tratamentos R3 e R5 (Tabela 3). Apesar dos números de Vagem/vaso, Grãos/vagem, N. nós terem sido significativamente menores na cultivar NA 5909, o PTG obtido foi mais elevado em relação a ST 797.

Tabela 3. Peso total de grãos por vaso, número de vagens por vaso, número de grãos por vagem e média do número de nós das plantas de soja submetida ao déficit hídrico

Fontes de Variação	Produtividade			
	PTG	Vagem/vaso	Grãos/vagem	N. nós
Cultivar	0,00 ^{**}	0,01 [*]	0,01 [*]	0,00 ^{**}
Estádio	0,01 [*]	0,34 ^{ns}	0,16 ^{ns}	0,94 ^{ns}
Cultivar x Estádio	0,52 ^{ns}	0,40 ^{ns}	0,41 ^{ns}	0,50 ^{ns}
Cultivar				
NA5909	29,01 a	96,44 b	2,15 b	13,00 b
ST797	18,27 b	109,66 a	2,28 a	13,94 a
Estádios				
C	26,81 a	105,33 a	2,20 a	13,41 a
R3	22,13 b	106,08 a	2,28 a	13,50 a
R5	21,98 b	97,75 a	2,16 a	13,50 a

Peso total de grãos por vaso (PTG) (gramas), número de vagens por vaso (Vagem/vaso), número de grãos por vagem (Grãos/vagem) e média do número de nós das plantas (N. nós). ANOVA: (p-valor) *significativo a 5 % e ** significativo a 1 % pelo teste F. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste Student-Newman-Keuls (SNK) a 5 % de probabilidade.

A interação foi significativa para o número de vagens sem grãos, sendo que a cultivar ST 797 foi a que apresentou maior número de vagens sem grãos por vaso tanto nas plantas irrigadas quanto nas com restrição de água (Figura 2). O tratamento R3 foi o que mais afetou o enchimento dos grãos nessa cultivar, diferindo dos demais tratamentos, como mostra a Figura 2. Não houve diferença significativa entre os tratamentos na cultivar NA 5909.

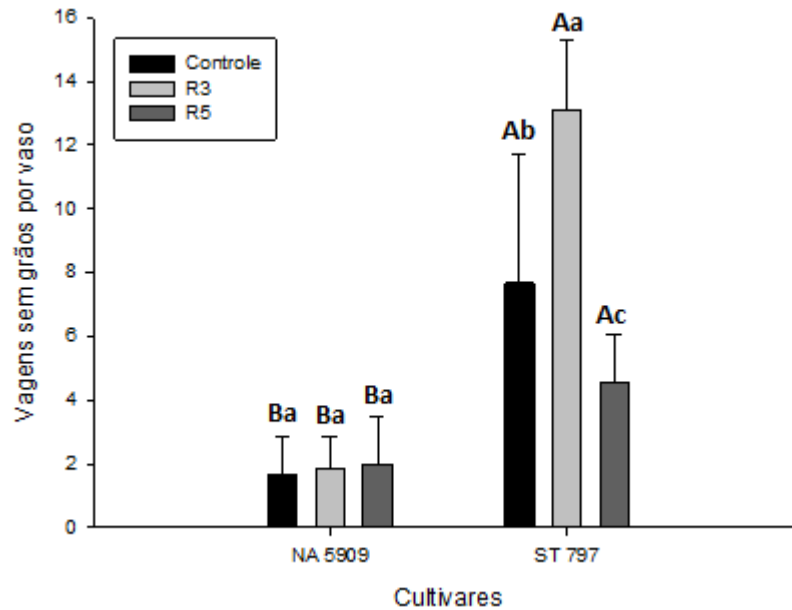


Figura 2. Número de vagens sem grãos por vaso das cultivares NA 5909 e ST 797 em todos os tratamentos. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste Student-Newman-Keuls (SNK) a 5 % de probabilidade. Letras maiúsculas comparam as cultivares dentro de cada estágio e as letras minúsculas comparam os estágios dentro de cada cultivar.

Em condição plenamente irrigada, a cultivar ST 797 apresentou maior conteúdo de proteína nos grãos em relação aos demais tratamentos (Figura 3). Na variedade NA 5909 não houve diferença significativa do teor de proteína entre plantas controle e sob restrição hídrica. No entanto, o tratamento R3 provocou uma redução, em torno de 6 %, no acúmulo de proteína em relação ao tratamento R5, na cultivar NA 5909 (Figura 3).

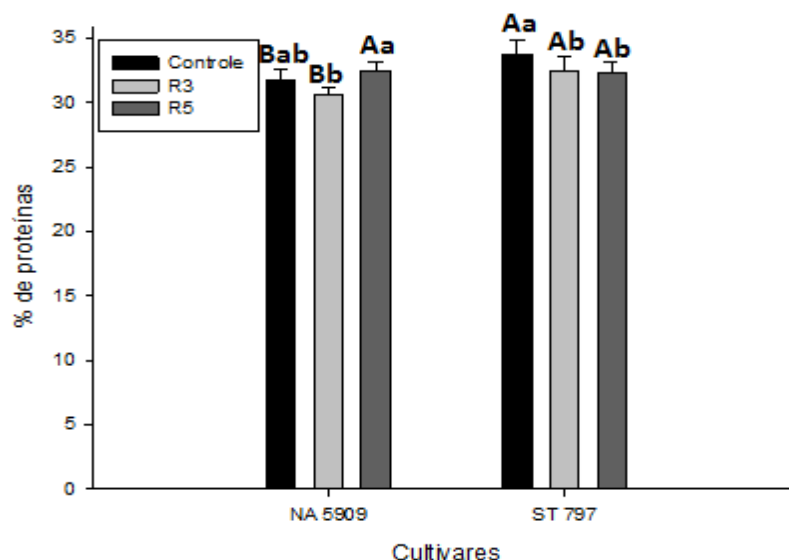


Figura 3. Conteúdo de proteínas, expresso em percentagem, dos grãos de soja das cultivares NA 5909 e ST 797 submetidas ao déficit hídrico. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste Student-Newman-Keuls (SNK) a 5 % de probabilidade. Letras maiúsculas comparam as cultivares dentro de cada estágio e as letras minúsculas comparam os estádios dentro de cada cultivar.

As diferentes condições hídricas não afetaram o conteúdo de flavonoides nos estádios analisados em ambas as cultivares NA 5909 e ST 797 (Figura 4). No entanto, a cultivar ST 797 apresentou maior conteúdo de flavonoides em relação a cultivar NA 5909 em ambos os tratamentos (Figura 4)

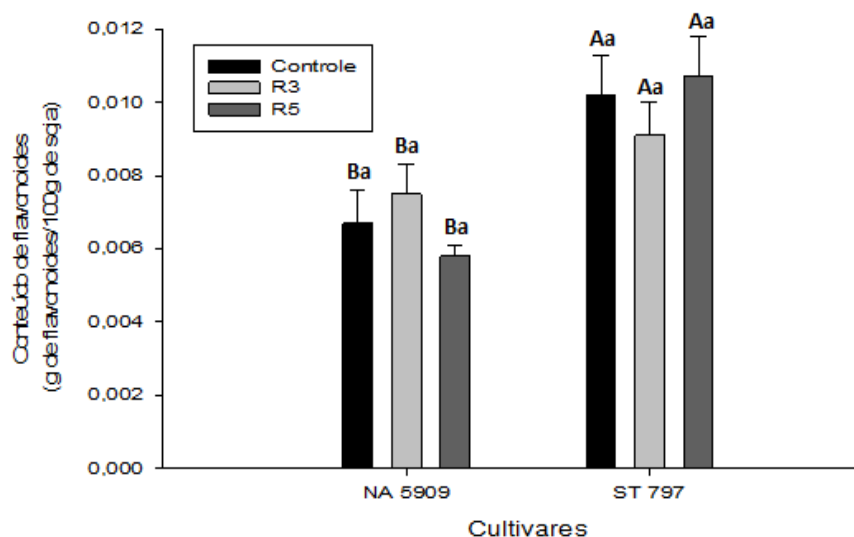


Figura 4. Conteúdo de flavonoides em grãos de soja das cultivares NA 5909 e ST 797 sob déficit hídrico. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste Student-Newman-Keuls (SNK) a 5 % de probabilidade. Letras maiúsculas comparam as cultivares dentro de cada estágio e as letras minúsculas comparam os estádios dentro de cada cultivar.

O tratamento R5 apresentou uma redução no conteúdo de lipídeos quando comparado aos tratamentos controle e R3 (Tabela 4), sendo a redução de

aproximadamente 26 % do tratamento controle para o R5. O maior teor de lipídeos totais foi encontrado na cultivar NA 5909, independente da condição hídrica estabelecida (Tabela 4).

Tabela 4. Teor de lipídeo em grãos de soja

Fontes de Variação	Lipídeos (%)
Cultivar	0,00**
Estádio	0,00**
Cultivar x Estádio	0,09 ^{ns}
Cultivar	
NA5909	17,29 a
ST797	15,25 b
Estádios	
C	17,92 a
R3	17,60 a
R5	13,28 b

ANOVA: (p-valor) *significativo a 5 % e ** significativo a 1 % pelo teste F. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste Student-Newman-Keuls (SNK) a 5 % de probabilidade.

4. DISCUSSÃO

O déficit hídrico é responsável por diversas alterações nas plantas e as respostas envolvem inúmeros fatores (Hossain et al. 2014). O fechamento estomático é uma das primeiras respostas à seca (Varone e Gratani 2015), podendo justificar a redução da condutância estomática, da fotossíntese e da transpiração encontrados no presente trabalho nas plantas em déficit hídrico.

A condutância estomática é considerada um indicador bastante sensível à severidade do déficit hídrico em folhas. Flexas et al. (2004) considera um estresse hídrico severo quando os valores de condutância estão abaixo $0,1 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. No presente trabalho a condutância estomática chegou a $0,01 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para as plantas no tratamento R5, indicando um possível estresse hídrico.

Zhang et al (2016), observaram que a redução na disponibilidade de água, provocou alterações nas folhas de soja afetando o desempenho fotossintético, causando uma redução na taxa fotossintética, condutância estomática e na transpiração das plantas com restrição hídrica. No presente trabalho, esses parâmetros também reduziram nas plantas com restrição hídrica. Esse comportamento deve-se ao fato desses processos estarem intimamente ligados. Durante a restrição hídrica, a diminuição da condutância

estomática reduz a perda de água por transpiração ocasionando um aumento na temperatura foliar. Alta temperatura nas folhas pode reduzir a taxa de assimilação de CO₂ por danos fotoinibitórios ao aparato fotossintético (Li et al. 2004). A transpiração é de suma importância, uma vez que, através dela as plantas perdem calor e mantêm os níveis térmicos ótimos para o metabolismo (Taiz e Zeiger 2006). Se há uma boa condição hídrica, os estômatos se abrem permitindo uma maior transpiração, e isso propicia que a temperatura foliar fique menor que a do ar circundante (Salinet 2009). Isso foi observado no presente trabalho, pois as plantas do tratamento R5 foram as que apresentaram maior temperatura foliar e menor taxa fotossintética.

A redução na fotossíntese pode ocasionar danos, se o excesso de energia de excitação não for eliminado, causado devido à diminuição no consumo de elétrons liberados da água (Lawlor 2002). Assim, quando o estado excitado da clorofila não é rapidamente dissipado, seja por transferência de excitação ou fotoquímica, ela pode vir a reagir com o oxigênio, gerando as espécies reativas de oxigênio (ROS) (Hirt 2004). Em condições de seca severa ou com fechamento quase total dos estômatos pode ocorrer a fotoinibição (Flexas e Medrano 2002). Entretanto, as plantas têm desenvolvido um conjunto de sistemas para lidar com *pool* oxidativo, incluindo o aumento da atividade de enzimas, como a SOD, APX e CAT e por metabólitos antioxidantes tais como glutatona e ascorbato (Faghani et al. 2015). A SOD é a primeira enzima na linha de defesa das plantas contra as ROS, convertendo O²⁻ em H₂O₂ e O₂. O H₂O₂ é prejudicial às células vegetais, dessa forma a CAT e a APX convertem o H₂O₂ em O₂ e H₂O (Akitha e Giridhar 2015). Em um estudo com duas cultivares de soja (cv. JS 335 e cv. KHSb-2), esses mesmos autores verificaram que o déficit hídrico por cinco dias durante a fase vegetativa aumentou a atividade da SOD, sendo esse aumento mais evidente na cultivar KHSb-2. A atividade das demais enzimas analisadas; CAT, peroxidase (POD), APX e glutatona redutase (GR), também foi maior nas plantas sob déficit hídrico. Além disso, os resultados mostraram que em plantas de soja, o aumento da atividade de enzimas antioxidantes como a SOD, POD, CAT, APX e GR podem contribuir para a proteção contra estresse hídrico. No presente trabalho não houve diferença significativa na atividade das enzimas APX, SOD e CAT entre as plantas controle e com déficit hídrico. No entanto, há relatos que afirmam que a atividade dessas enzimas pode variar dependendo da severidade, do período do tratamento, das espécies e da idade de plantas (Pan et al. 2006).

Outra característica importante de resposta da planta a seca é a eficiência do uso da água (UEA) (Edwards et al. 2012). Há relatos contrastantes, Gohari (2013) relatou

que a seca aumenta a UEA das plantas na cultura do feijão. Já Begum et al. (2001) mostraram que no tomateiro a maior UEA foi encontrada nas plantas irrigadas. A UEA é considerada um indicador para adaptação a condições de seca. Segundo Hossain et al. (2014) o fechamento estomático induzido pela seca, resultou num aumento do UEA nas plantas consideradas tolerantes, e esta permaneceu elevada durante todo o período de déficit. Em contraste, o UEA do genótipo suscetível à seca manteve-se abaixo ao das plantas bem irrigadas.

A determinação do CRA (%) também é empregada em estudos de adaptação de plantas à seca (Jones 2007). O comportamento de cultivares de soja submetidos a restrição hídrica intensa foi estudado por Fioreze et al. (2011). Esses autores constataram que o CRA (%) de todos os genótipos submetidos ao déficit hídrico intenso reduziu em relação aos grupos que foram bem irrigados. Essa redução aconteceu a partir do terceiro dia após a suspensão da irrigação. No entanto, o mesmo não foi observado no presente trabalho. Talvez o tempo da restrição hídrica de 60 % da capacidade de campo, não tenha sido suficiente para provocar um estresse a ponto de ocorrer diferença no CRA (%) após o déficit. Sinclair e Ludlow (1986) aludem que, em condições de déficit hídrico, a baixa condutância estomática devido aos estômatos permanecerem fechados auxilia na manutenção do conteúdo relativo de água.

A falta de água afeta diretamente o rendimento de uma cultura. Tem sido relatado que a falta de água nas fases de florescimento e formação das vagens afeta negativamente o rendimento final de sementes (Fang et al. 2010). No presente estudo, o déficit hídrico reduziu significativamente o rendimento de grãos na cultura da soja. Vários estudos também relataram uma redução no rendimento de grãos devido à seca na cultura da soja, (Brevedan e Egli 2003 e Ghassemmi-Golezani e Lotfi 2012), do feijão (Ghassemmi-Golezani et al. 2010) e em outras leguminosas (Faroog et al. 2016). Essa redução do rendimento de grãos devido ao déficit hídrico pode ser variável, a depender, do tempo e da intensidade do estresse imposto e também do genótipo utilizado (Frahm et al. 2004).

Os déficits hídricos podem comandar uma troca precoce do desenvolvimento vegetativo para o reprodutivo, ocasionando menor número de nós, antecipação na formação de flores e vagens, e um encurtamento na fase reprodutiva, gerando uma redução no período de enchimento de grãos (Desclaux et al. 2000). Sendo assim, o período para enchimento dos grãos é de extrema importância para determinar a produção final. Esse relato pode elucidar o que ocorreu no presente trabalho, uma vez que não houve diferença no número de vagens entre os tratamentos, no entanto, o peso

total dos grãos foi maior para as plantas controle. Provavelmente, nas plantas irrigadas não foi alterado o período de enchimento dos grãos. Mathobo et al. (2017) relataram que o estresse hídrico em todos os níveis analisados resultou em uma redução na matéria seca, no índice foliar, no número de sementes por planta, no número de vagens por planta, no tamanho das sementes além da diminuição no rendimento dos grãos.

Sob déficit hídrico observou-se um declínio significativo no teor de proteína em sementes de soja, em variedades cujo rendimento era elevado, indicando que a manutenção do nível de capacidade de água do campo durante a fase de crescimento, afeta negativamente o acúmulo de proteínas nos grãos (Cadogan et al. 2013). Esses resultados estão de acordo com os de Xiaobing et al. (2004), que relataram que o teor de proteína diminuiu à medida que o rendimento da soja foi aumentado. Outro estudo, mostrou que, a percentagem de proteína foi maior na cultivar 'Dwight' sob irrigação em todo seu ciclo quando comparado ao tratamento sem irrigação, já a cultivar 'Freedom' respondeu de forma contrária (Bellaloui e Mengistu 2008). Os resultados do presente trabalho evidenciaram que, a cultivar ST 797 apresentou maior conteúdo de proteína no tratamento bem irrigado, se assemelhando a cultivar 'Dwight'.

Nesse mesmo estudo, Bellaloui e Mengistu (2008) relatam que enquanto a cultivar 'Dwight' acumulou maior teor de óleo quando estava sem irrigação, a cultivar 'Freedom' acumulou menor teor de óleo em comparação as plantas que tiveram irrigação durante todo o ciclo reprodutivo. Pode-se inferir que, materiais genéticos variáveis podem responder de forma diferente à irrigação, sendo esse fato relacionado com as diferenças de maturidade e/ou genótipo e as suas adaptações a fatores de estresse ambientais tais como o teor de água no solo e a temperatura (Bellaloui e Mengistu 2008). Outro estudo demonstrou que o conteúdo de óleo e o rendimento correlacionam-se de forma positiva e alto potencial de rendimento da soja é alcançado quando água e nutrientes estão disponíveis (Xu e Zhang 1995). A cultivar NA 5909 reduziu o acúmulo de proteína no tratamento R3 em relação ao R5. No entanto, esta cultivar apresentou maior teor total de lipídeos independente da condição hídrica estabelecida, o que demonstra uma relação inversa entre esses dois componentes nutricionais, sendo esta, possivelmente, uma característica inerente da cultivar. Essa cultivar também apresentou maior rendimento, comprovando a relação positiva entre teor de lipídeos e rendimento de grãos, feita anteriormente.

Foi relatado também que a seca progressiva e por longo período afetou severamente os estágios de desenvolvimento das sementes de soja e reduziu significativamente o seu conteúdo de isoflavonas (Gutierrez-Gonzales et al. 2010). No

presente trabalho como a restrição hídrica durou apenas cinco dias não foi suficiente para causar alteração do conteúdo de flavonoides.

5. CONCLUSÕES

- 1) A produtividade e a composição química dos grãos das cultivares de soja é alterada pela restrição hídrica.
- 2) A cultivar NA 5909 é a que obteve maior peso total dos grãos, independente da condição hídrica, e é a que possui maior acúmulo de lipídeos.
- 3) A menor disponibilidade de água no estágio R3 ocasiona a cultivar ST 797 o maior número de vagens com grãos mal formados.
- 4) Em condições de plena irrigação ou de restrição hídrica no estágio R3 a cultivar ST 797 consegue acumular mais proteína do que a cultivar NA 5909.
- 5) A restrição hídrica no estágio R5 reduz o acúmulo de lipídeos em ambas as cultivares.
- 6) A restrição hídrica não alterou o conteúdo de flavonoides nos tratamentos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ahn, M. R., S. Kumazawa, T. Hamasaka, K. S. Bang, T. Nakayama, 2004: Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of Korea. *J. Agric. Food Chem.* 52, 7286–7292.

Akitha Devi, M. K. and P. Giridhar, 2015: Variations in physiological response, lipid peroxidation, antioxidant enzyme activities, proline and isoflavones content in soybean varieties subjected to drought stress. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 85, 35-44.

Amede, T., E. V. Kittlitz, and S. Schubert, 1999: Differential drought responses of faba bean (*Vicia faba L.*) inbred lines. *J. Agron. Crop Sci.* 183, 35–45.

Apel, K. and H. Hirt, 2004: Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.* 55, 373-399.

Association of Official Analytical Chemists, 1995: Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Arlington: A.O.A.C. 33, 10-12.

Baroowa, B., and N. Gogoi, 2013: Biochemical changes in two *Vigna spp.* During drought and subsequent recovery. *Indian J. Plant Physiol.* 18, 319–325.

Beauchamp, C. and I. Fridovich, 1971: Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Anal. Biochem.* 44, 276-287.

Begum, M. N., A. J. M. S. Karim, M. A. Rahman and K. Egashira, 2001: Effect of irrigation and application of phosphorus fertilizer on the yield and water use of tomato grown on a clay terrace soil of Bangladesh. *J. Faculty Agric. Kyushu Univ.* 45, 611–619.

Bellaloui, N. and A. Mengistu, 2008: Seed composition is influenced by irrigation regimes and cultivar differences in soybean. *Irrigation Sci.* 26, 261–268.

Blum, A. and A. Ebercon, 1981: Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. *Crop Sci.* 21, 43-47.

Bond, D. A., G. J. Jellis, G. G. Rowland, J. Le Guen, L. D. Robertson, S. A. Khalil, and L. Li-Juan, 1994: Present status and future strategy in breeding faba beans (*Vicia faba* L.) for resistance to biotic and abiotic stresses. *Euphytica* 73, 151–166.

Bradford, M. M., 1976: A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248-254.

Brevedan, R.E. and D. B. Egli, 2003: Short periods of water stress during seed filling leaf senescence, and yield of soybean. *Crop Sci.* 75, 2083–2088.

Cadogan, B.N., M. Sincik, H. Buyukcangaz, C. Dermitas, A. T. Goksoy and S. Yazgan, 2013: Yield, quality and crop water stress index relationships for deficit-irrigated soybean [*Glicine max* (L.) Merril.] in sub-humid climatic conditions. *Agric. Water Manag.* 118, 113-121.

Desclaux, D., T. T. Huynh and P. Roumet, 2000: Identification of soybean plant characteristics that indicate the timing of drought stress. *Crop Science*, 40, 716-722.

Edwards, C. E., B. E. Ewersa, C. R. McClungd, P. Loud and C. Weiniga, 2012: Quantitative variation in water-use efficiency across water regimes and its relationship with circadian vegetative, reproductive, and leaf gas-exchange traits. *Mol. Plant.* 5, 653–668.

Faghani, E., J. Gharechahi, S. Komatsu, M. Mirzaei, R. A. Khavarinejad, F. Najafi, L. K. Farsad and G. H. Salekdeh, 2015: Comparative physiology and proteomic analysis of two wheat genotypes contrasting in drought tolerance. *J. Proteomics.* 114, 1-15.

Fang, X.W., N.C. Turner, G.J. Yan, F.M. Li and K.H.M. Siddique, 2010: Flower numbers pod production, pollen viability, and pistil function are reduced and flower and pod abortion increased in chickpea (*Cicer arietinum* L.) under terminal drought. *J. Exp. Bot.*, 61, 335–345.

Farooq, M., M. Hussain, and K. H. M. Siddique, 2014: Drought stress in wheat during flowering and grain-filling periods. *Crit. Rev. Plant Sci.* 33, 331–349.

Farooq, M., N. Gogoi, S. Barthakur, B. Baroowa, N. Bharadwaj, S. S. Alghamdi and K. H. M. Siddique, 2016: Drought stress in grain legumes during reproduction and grain filling. *J. Agro. Crop Sci.* 1-23.

Fioreze, S. L., L. G. Pivetta, A. Fano, F. R. Machado and V. F. Guimarães, 2011: Comportamento de genótipos de soja submetidos a *déficit hídrico* intenso em casa de vegetação. *Revista Ceres*, 58, 342-349.

Flexas, J., J. Bota, F. Loreto, G. Cornic and D. Sharkey, 2004: Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants. *Plant Biology*, 6, 269-279.

Flexas, J. and H. Medrano, 2002: Drought-inhibition of photosynthesis in C3 plants: stomatal e non-stomatal limitations revisited. *Annals of Botany*, 89, 183-189.

Frahm, M.A., J. C. Rosas, N. Mayek-Perez, S. E. Lopez-Salina, J. A. Acosta-Gallegos and J. D. Kelly, 2004: Breeding beans for resistance to terminal drought in the Lowland tropics. *Euph* 136, 223–232.

Ghassemmi-Golezani, K. and R. Lotfi, 2012: Response of soybean cultivars to waterstress at reproductive stages. *Int. J. Plant. Anim. Environ.* 2, 198–202.

Giannopolitis, I. and S. K. Reis, 1977: Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiol.* 59, 309-314.

Gohari, A. A., 2013: Effects of water infiltration of soil on yield and water use efficiency of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Int. J. Agron. Plant Prod.* 4, 459–463.

Gutierrez-Gonzalez, J. J., S. K. Guttikonda, L. S. P. Tran, D. L. Aldrich, R. Zhong, O. Yu, H. T. Nguyen and D. A. Sleper, 2010: Differential expression of isoflavone biosynthetic genes in soybean during water deficits. *Plant Cell Physiol.* 51, 936-948.

Hartman, G. L., E. D. West, and T. K. Herman, 2011. Crops that feed the world 2. Soybean-worldwide production, use, and constraints caused by pathogens and pests. *Food Secur.* 3, 5–17.

Havir, E. A. and N. A. Mchale, 1987: Biochemical and Developmental Characterization of Multiple Forms of Catalase in Tobacco Leaves. *Plant Physiology.* 84, 450-455.

Hossain, M. M., X. Liu, X. Qi, H. M. Lan and J. Zhang, 2014: Differences between soybean genotypes in physiological response to sequential soil drying and rewetting. *Crop J.* 2, 366-380.

Instituto Adolfo Lutz, 1985: Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, 1, 3. ed. São Paulo: IMESP.

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

Karamanos, A. J., and A. Y. Papatheohari, 1999: Assessment of drought resistance of crop genotypes by means of the water potential index. *Crop Sci.* 39, 1792–1797.

Khan, H. R., J. G. Paull, K. H. M. Siddique, and F. L. Stoddard, 2010: Faba bean breeding for drought-affected environments: a physiological and agronomic perspective. *Field Crops Res.* 115, 279–286.

Lawlor, D. W., 2002: Limitation to photosynthesis in water-stressed leaves: stomata vs metabolism and the role of ATP. *Annals of Botany.* 89, 871-885.

Li, F, S. Kang and J. Zhang, 2004: Interactive effects of elevated CO₂ nitrogen and drought on leaf area, stomatal conductance, and evapotranspiration of wheat. *Agric. Wat. Manag.* 67, 221-233.

Mathobo, R., D. Marais and J. M. Steyn, 2017: The effect of drought stress on yield, leaf gaseous exchange and chlorophyll fluorescence of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Agric. Wat. Manag.* 180, 118-125.

Meda, A., C. E. Lamien, M. Romito, J. Millogo and O. G. Nacoulma, 2005: Determination of the total phenolic, flavonoid and proline Contents in Burkina Fasan Honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chem.* 91, 571-577.

Nakano, Y. and K. Asada, 1981: Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol.* 22, 867-880.

Ozturk, Z. N., V. Talame, M. Deyholos, C. B. Michalowski, D. W. Galbraith, N. Gozukirmizi, R. Tuberosa, and H. J. Bohnert, 2002: Monitoring large-scale changes in transcript abundance in drought- and salt-stressed barley. *Plant Mol. Biol.* 48, 551–573.

Pan Y, L. J. Wu and Z. L. Yu, 2006: Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of Liquorice (*Glycyrrhiza uralensis Fisch.*). *Plant Growth Regul.* 49,157–165

R Core Team, 2015. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>

Rambo, L., J. A. Costa, J. L. F. Pires, G. Parcinello and F. G. Ferreira, 2002. Rendimento de grãos de soja e seus componentes por estrato do dossel em função do arranjo de plantas e regime hídrico. *Scientia Agrária.* 3, 79-85.

Rassini, J.B. and S. S. Lin, 1981. Efeito de períodos de estiagens artificiais durante estádios de desenvolvimento da planta no rendimento e qualidade da semente de soja (*Glycine max* (L.) Merrill. *Agronomia Sul Rio Grandense.* 17, 225-237.

Ricciardi, A., 1989: Plant breeding for resistance to drought. II. Relationships between stomatal and agronomic traits in *Vicia faba* L. genotypes. *Agric. Mediterr.* 119, 424–434.

Salinet, L. H., 2009: Avaliação fisiológica e agrônômica de soja geneticamente modificada para maior tolerância à seca. Dissertação: Mestrado, Universidade de São Paulo – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 76 p.

Sinclair, T. R. and M. M. Ludlow, 1986: Influence of soil water supply on the plant water balance of four tropical grains legumes. *Aust J of Plant Physiol.* 13, 329-341.

Sionit, N. and P. J. Kramer, 1977. Effect of water estress during different stages of growth of soybeans. *Agronomy Journal*, 69, 274-278.

Souza, C. C., F. A. Oliveira, I. F. Silva and M. S. A. Neto, 2000: Avaliação de métodos de determinação de água disponível e manejo da irrigação em terra roxa sob cultivo de algodoeiro herbáceo. *Rev. Bras. Eng. Agríc. Ambient.* 4, 338-342.

Taiz, L and E. Zeiger, 2006: *Plant Physiology*. Masachusetts: Publishers Sunderland, 705 p.

Tavares, L.C, C.A. Rufino, A. P. Brunes, L.M, Tunes, A. C. S. A. Barros and S. T. Peske, 2013: Desempenho de sementes de soja sob deficiência hídrica: rendimento e qualidade fisiológica da geração F1. *Ciência Rural.* 43, 1357-1363.

Varone, L. and L. Gratani, 2015: Leaf respiration responsiveness to induced water stress in Mediterranean species. *Environ. Exper. Bot.* 109, 141-150.

Vyas, S. P., 2014: Impact and strategies for yield improvement of arid legumes under drought. *Int. J. App. Life Sci. Engg.* 1, 12-19.

Xiaobing, L., S. J. Herbert, J. Jin, Q. Zhang and G. Wang, 2004: Responses of photosynthetic rates and yield/quality of main crops to irrigation and manure application in the black soil area of Northeast China. *Plant Soil.* 261, 55–60.

Xu, X.B. and X. T. Zhang, 1995: Density and fertilizer doses in relation to soybean yield. *Till. Cult.* 2, 18-19.

Zhang, J., J. Liu, C. Yang, S. Du and W. Yang, 2016: Photosynthetic performance of soybean plants to water deficit under high and low light intensity. *South African Journal of Botany.* 105, 279-287.

CAPÍTULO II

DIFERENTES NÍVEIS DE DÉFICIT HÍDRICO E SUAS IMPLICAÇÕES NA CULTURA DA SOJA

RESUMO

O déficit hídrico é dos estresses abióticos que mais afeta a agricultura, influenciando diretamente o crescimento e rendimento das plantas. Os grãos de soja possuem alto teor de proteínas e lipídeos, podendo essa composição química variar com as condições climáticas, como o déficit hídrico. As plantas respondem ao estresse hídrico de forma complexa e envolve uma gama de fatores, relacionados a características genéticas, morfológicas, fisiológicas e mecanismos bioquímicos. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do déficit hídrico, imposto na fase reprodutiva (R3) por cinco dias, em dois genótipos de soja (NA 5909 e ST 797) cultivados em condições ambientais, sendo três níveis de irrigação: plenamente irrigada, 40 % e 60 % da capacidade de campo. Foram avaliados parâmetros fisiológicos, bioquímicos, de produtividade e de qualidade nutricional dos grãos. O déficit hídrico ocasionou uma redução da condutância estomática concomitante com a diminuição da fotossíntese e a transpiração. Essa redução da transpiração colaborou com o aumento da temperatura foliar nas plantas. A redução hídrica de 40 % da capacidade de campo por cinco dias foi capaz de reduzir o conteúdo relativo de água foliar de ambas cultivares. A cultivar NA 5909 apresentou maior número de vagens mal formadas independente da condição hídrica. A restrição hídrica foi responsável pela redução do conteúdo de lipídeos em ambas cultivares. A cultivar ST 797 apresentou maior conteúdo de proteínas e flavonoides em condições de plena irrigação em comparação com a NA 5909. A baixa disponibilidade de água nesse trabalho não causou redução no teor de proteínas e flavonoides.

Palavras-chave: mudanças climáticas, grãos, estresse abiótico.

1. INTRODUÇÃO

A soja, *Glycine max* (L.) Merrill, está entre as plantas de cultivo mais importantes do mundo, em razão das suas características nutricionais (Miransari 2016). O Brasil é o segundo maior produtor de soja, com 96,04 milhões de toneladas na safra de 2014/15 (CONAB 2015). Essa elevada produção deve-se a boa aceitação dos produtos de soja, ao uso de fertilizante e insumos cada vez mais eficazes para a cultura e o desenvolvimento de materiais genéticos mais adaptados às condições de cada região (Teixeira et al., 2008).

Dentre os fatores ligados a agricultura, o clima mostra-se aquele de mais difícil controle (Farias et al. 2007). Na safra 2011/12, as condições climáticas adversas, como as estiagens prolongadas, originadas pelo fenômeno denominado “La Niña” foram responsáveis pela diminuição em torno de 11,8 % da produtividade, em comparação com a safra anterior (CONAB 2013). Dessa forma, o déficit hídrico é o principal entrave para uma boa produtividade, uma vez que pode reduzi-la significativamente, a depender da sua duração e da sua intensidade (Sentelhas et al. 2015).

Durante todo o ciclo de vida da planta, as tensões podem ser adversas, como eficácia no controle de plantas daninhas, disponibilidade de nutrientes, ataque de pragas e as condições meteorológicas, podendo causar modificações na estrutura fisiológica e morfológica das plantas. Por isso a importância em entender a influência do estresse no ciclo da planta (Battisti et al. 2017).

De acordo com Li et al. (2013) o déficit hídrico poderá ser mais frequente e intenso, principalmente em regiões tropicais e subtropicais, isso deve-se ao aumento da temperatura do ar e as alterações dos períodos de chuva. Logo, a agricultura deverá criar medidas adaptativas para continuar com o sucesso nas lavouras.

Nesse sentido, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito do déficit hídrico, imposto na fase reprodutivo (R3) de dois genótipos de soja (NA 5909 e ST 797), sobre os parâmetros fisiológicos, morfológicos, bioquímicos, de produtividade e principalmente na qualidade nutricional dos grãos cultivados em condições ambientais.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Delineamento experimental e tratamentos

O experimento foi conduzido sob condições ambientais, em uma área localizada na Universidade Federal de Viçosa - *Campus* Rio Paranaíba. O clima da região é caracterizado como CWA, com precipitação pluvial média anual de 1533 mm e temperatura média de 20,4°C. As avaliações bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Fitopatologia, Bioquímica e Biologia Molecular (BIOFITOMOL) e as avaliações fisiológicas foram conduzidas no Laboratório de Fisiologia e Metabolismo da Produção (LAFIMEPRO), localizados na mesma instituição.

O experimento foi desenvolvido em blocos casualizados com seis repetições, esquema fatorial 2 x 3, sendo dois genótipos e três condições de irrigação. Os genótipos NA 5909 RR e ST 797 IPRO, foram selecionados baseando-se em suas características particulares. Ambos são considerados de boa produtividade, no entanto, o genótipo NA 5909 RR tem um ciclo precoce e ST 797 IPRO tardio, sendo o tempo de desenvolvimento médio das variedades de 100 e 120 dias, respectivamente.

O cultivo foi realizado em vasos plásticos de 150 litros, preenchidos com solo coletado 0-20 cm de profundidade de um Latossolo localizado no município de Rio Paranaíba, MG e que apresenta as seguintes características: pH – H₂O: 5,73; P (Mehlich-1): 7,8 mg dm⁻³; K: 63,3 mg dm⁻³, Ca²⁺ e Mg²⁺ (KCl 1 mol L⁻¹): 3,57, 0,86, cmol_c dm⁻³, respectivamente; Al³⁺ (KCl 1 mol L⁻¹): 0,0; H + Al (acetato de cálcio 0,5 mol L⁻¹ – pH 7,0): 5,7 cmol_c dm⁻³; t (CTC efetiva) e T (CTC potencial a pH 7,0): 4,59 e 10,29 cmol_c dm⁻³, respectivamente; V: 44 %; MO (Walkley-Black): 47,0 g kg⁻¹; P-Rem (P remanescente): 12,4 mg L⁻¹ e teor de argila: 589,0 g kg⁻¹. Com base na análise química do solo e nas recomendações foi feita a adubação necessária.

O plantio foi realizado em outubro de 2015, com a semeadura de vinte e quatro sementes por vaso. Após 15 dias foi feito o desbaste, deixando doze plantas por vaso. Foram feitos furos nas tampas dos vasos e após a germinação estes foram encobertos com sacos plásticos para evitar a entrada de água (Figura 1).



Figura 1. Vasos de 150 litros contendo plântulas de soja em germinação (A). Plantas germinadas com plástico nos furos (B).

Todas as plantas foram irrigadas diariamente, próximo a capacidade de campo até o estágio R2. No estágio R3 foi imposto o déficit hídrico por cinco dias, com diferentes níveis de irrigação. Dessa forma, os tratamentos consistiram em: Controle, onde as plantas foram mantidas bem irrigadas, em torno da capacidade de campo; 60 %, plantas irrigadas em torno de 60 % da capacidade de campo e 40 %, onde a irrigação foi aplicada em 40% da capacidade de campo. Após o período do estresse a irrigação foi restabelecida próxima à capacidade de campo até o fim do ciclo. Foi realizada a coleta diária de solo durante o período do déficit hídrico e a umidade foi determinada pelo método gravimétrico, para controlar a irrigação das plantas e manter os valores percentuais de irrigação estipulados.

Para a obtenção da capacidade de campo do solo foi utilizado o método gravimétrico direto a partir de 3 provetas de 1000 mL, contendo em torno de 1 kg de solo seco em estufa. Nas provetas, o solo com estrutura deformada foi umedecido até a saturação por capilaridade, através de furos no fundo das mesmas, em seguida, foram submetidos à drenagem por um período de 48 horas, até o total cessamento da drenagem livre, com a superfície do solo coberta para evitar a evaporação (Souza et al. 2000).

2.2 Avaliações fisiológicas

2.2.1 Trocas gasosas

No período de 24 e 72 horas após o início da restrição hídrica foram realizadas avaliações de trocas gasosas (LICOR 6400XT, Li-COR, Lincoln, EUA) em folhas

completamente expandidas. A taxa de assimilação foliar líquida de CO₂ (*A*), a condutância estomática (*g_s*), transpiração foliar (*E*), pressão intercelular de CO₂ (*C_i*), temperatura foliar (TF), taxa de transporte dos elétrons (ETR) foram determinadas em sistema aberto, sob luz saturante artificial (1.200 μmol m⁻² s⁻¹ de fótons).

O uso eficiente da água (UEA) foi calculado pela razão entre a taxa de fotossíntese (*A*) e a transpiração (*E*) (*A/E*), já a eficiência intrínseca da carboxilação (*EIC_i*) pela razão entre a fotossíntese (*A*) e a pressão intercelular de CO₂ (*C_i*) (*A/C_i*).

2.2.2 Determinação do conteúdo relativo de água nas folhas e extravazamento de eletrólitos

Para a determinação desses parâmetros foram utilizadas folhas completamente expandidas coletadas no quinto dia da imposição do déficit hídrico.

A quantificação de extravazamento de eletrólitos foi realizada, conforme a metodologia de Blum e Ebercon (1981). Essa determinação permite avaliar a integridade das membranas celulares, uma vez que, quanto maior a condutividade elétrica da solução, maior é a quantidade de eletrólitos extravasados, o que indica menor integridade da membrana celular. Foram utilizados 10 discos foliares, de aproximadamente 1 cm de diâmetro, incubados em 20 mL de água destilada e mantidos a 25°C por 24 h sob agitação leve e constante. Após esse tempo, foi realizada a determinação da condutividade elétrica do extrato (L1) utilizando um condutivímetro (TECNOPON, mCA-150). Posteriormente, as amostras foram fervidas por 1 h e novamente foi determinada a condutividade elétrica (L2). O percentual de danos nas membranas (DM) foi estimado através da relação:

$$DM (\%) = (L1 / L2) \times 100$$

O teor relativo de água foliar (CRA) foi determinado através da metodologia descrita por Varone e Gratani (2015). Foram coletadas folhas e essas pesadas (massa fresca: MF), em seguida, as folhas foram imersas em água e permaneceram no escuro à 4°C por 24 h. Após esse tempo foram pesadas (massa túrgida: MT) e por último as folhas foram secas em estufa a 80°C por 48 h e novamente pesadas (massa seca: MS). O CRA (%) foi estimado pela fórmula:

$$CRA (\%) = (MF - MS / MT - MS) \times 100$$

2.3 Avaliações bioquímicas

2.3.1 Atividade de enzimas antioxidantes

Foram determinadas as atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX), que atuam na eliminação dos radicais livres, normalmente produzidos em plantas sob estresse, em folhas de soja dos três tratamentos.

Para a obtenção do extrato bruto foram pesados cerca de 200 a 300 mg de matéria fresca das folhas coletadas no quinto dia da imposição do déficit hídrico e estas foram pulverizadas com nitrogênio líquido. A esse material foram adicionados 1500 µL do meio de extração (750 µL de tampão fosfato de potássio 200 mM, pH 7,8; 15 µL de ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) 10 mM; 150 µL de ácido ascórbico 200 mM e 585 µL de água ultrapura Milli-Q). Em seguida, foi realizada uma centrifugação a 12.000 g por 20 min., a 4°C, onde o sobrenadante foi coletado e armazenado a -20°C, para posteriores análises.

A atividade de SOD foi determinada conforme metodologia descrita por Giannngiopolitis e Reis (1977) e Beauchamp e Fridovich (1971). Um Mix para reações foi preparado para cada amostra contendo 2000 µL de tampão fosfato de potássio 100 mM pH 7,8; 800 µL de metionina 70 mM; 40 µL de EDTA 10 mM; 300 µL de NBT 1 mM e 620 µL de água ultra pura. Também foi preparada uma solução de riboflavina, diluindo 20 µL da solução estoque 100 mM em 10 mL de água. A reação consistiu em 1880 µL do Mix, 100 µL da amostra e 20 µL da solução de riboflavina. Em seguida os tubos foram agitados em vórtex e submetidos a iluminação intensa por 20 min.. Após esse procedimento foram realizadas as leituras em espectrofotômetro a 560 nm. Também foram preparados dois brancos, um para o escuro (zerar o equipamento) e o outro para o claro (quantificado).

A determinação da atividade da CAT foi realizada de acordo com Havir e Mchale (1987) e Anderson et al. (1995). Inicialmente, a solução de incubação (1500 µL de tampão fosfato de potássio 200 mM pH 7,0 e 400 µL de água ultra pura) foi colocada em banho-maria a 27°C por 10 min. Após esse período, foram acrescentados 112,5 µL de água ultra pura, 150 µL de peróxido de hidrogênio 250 mM e 37,5 µL de amostra. As absorvâncias foram determinadas rapidamente em espectrofotômetro a 240 nm. Foi realizada uma leitura cinética com duração de 90 s com intervalos de 10 em 10 s. O branco da reação foi preparado com 1500 µL de tampão fosfato de potássio 200 mM pH 7,0, 150 µL de peróxido de hidrogênio e 1350 µL de água ultra pura.

Para a atividade de APX foi utilizado o método desenvolvido por Nakano e Asada (1981). Foi preparada uma solução de incubação (1500 µL de tampão fosfato de potássio 200 mM pH 7,0; 150 µL de ácido ascórbico 10 mM e 1050 µL de água ultra pura) e esta foi incubada em banho-maria a 27°C por 5 min. Preparou-se uma solução diluída de peróxido de hidrogênio (20 mL de água ultra pura e 160 µL de peróxido de hidrogênio 250 mM). Para a reação foram adicionadas a solução de incubação 112,5 µL de água ultra pura, 150 µL de peróxido de hidrogênio diluído e 37,5 µL de amostra. Em seguida realizaram-se rapidamente as leituras em espectrofotômetro a 290 nm. Uma leitura cinética com duração de 90 s com intervalos de 10 em 10 s foi realizada. O branco da reação consistiu de 1500 µL de tampão fosfato de potássio 200 mM pH 7,0, 150 µL de ácido ascórbico, 150 µL de peróxido de hidrogênio diluído e 1200 µL de água ultra pura.

2.3.2 Teor de proteína total solúvel

Para calcular a atividade específica das enzimas antioxidantes, determinou-se o teor de proteína total solúvel (PTS) presente nas folhas, coletadas no quinto dia da imposição do déficit hídrico, utilizando o método de Bradford (Bradford, 1976). O reagente de Bradford foi preparado através da diluição de 100 mg de Coomassie Blue G250 em 50 mL de etanol 95 %, a adição de 100 mL de ácido fosfórico 85 % e a aferição do volume para 1 L com água destilada. Em seguida, foi feita a filtração a vácuo do reagente. Fez-se também uma solução padrão de soro albumina bovina (BSA), com proporção de 1 mg de BSA para 1 mL de água, em seguida construiu-se a curva padrão.

Para a obtenção do extrato foliar, foi pesado em torno de 0,1 g de matéria fresca das folhas, adicionado 5 mL de tampão fosfato de potássio 200 mM pH 6,7 e em seguida a mistura foi centrifugada por 10 min a 1.008 g. Retirou-se 0,1 mL do sobrenadante e a ele foi acrescentado 5 mL do reagente de Bradford. A mistura foi homogeneizada em vórtex e deixada em repouso por 15 min., após isso realizaram-se as leituras em espectrofotômetro a 595 nm. O branco da reação constituiu de 0,1 mL de tampão fosfato potássio 200 mM pH 6,7 e 5 mL do reagente de Bradford.

2.3.3 Conteúdo de fenóis totais

Para a determinação do conteúdo de fenóis totais, o método descrito por MEDA et al (2005) foi empregado. Grãos de soja foram triturados em moinho de bolas e em 1 grama da amostra foram adicionados 8 mL de etanol 70 %. A mistura foi incubada em banho-maria a 60°C por 30 min e em seguida, filtrada. A mistura reacional consistiu em 0,5 mL da amostra, 2,5 mL de Reagente de Folin-Ciocalteau (Sigma Co), após 5 min adicionou-se 2,0 mL de solução recém-preparada de carbonato de sódio a 4 %. A mistura reacional foi incubada por 2 h a temperatura ambiente, onde a coloração da solução passou de esverdeada para azul. Em seguida, determinou-se a absorvância das amostras a 760 nm, utilizando a água como branco.

Foi preparada uma curva analítica a partir da solução padrão de ácido gálico com concentração de 1000 ppm. A curva analítica foi confeccionada através de regressão linear, utilizando o programa Origin 6.0 (UFRRJ) e a equação da reta foi usada para a determinação indireta do teor de fenóis totais nas amostras. Os resultados finais foram expressos em g de fenóis/100 g de soja.

2.4 Avaliação da produtividade

No estágio R8 foram avaliados os parâmetros número de nós; número de vagens por vaso; número médio de grãos por vagem, o componente vegetativo por vaso e a produtividade por vaso dos dois cultivares de soja submetida aos diferentes tratamentos.

2.5 Avaliação da qualidade nutricional dos grãos

2.5.1 Teor de proteínas

O conteúdo de proteína presente nos grãos de soja foi determinado através do processo de Kjeldahl, seguindo as recomendações da Association of Official Analytical Chemists (1995). Este método baseia-se na determinação de nitrogênio total em uma amostra. Para cada análise pesou-se e transferiu-se 0,3 g dos grãos de soja para um tubo de digestão, juntamente com 0,5 g da mistura catalítica (sulfato de sódio e sulfato de cobre, na proporção 9:1). Foram acrescentados 5 mL de ácido sulfúrico concentrado a essa mistura, e posteriormente aqueceu-se em um bloco digestor em capela de exaustão, até completa digestão das amostras. Após a obtenção do material digerido, a amostra foi disposta em um destilador semi-micro-Kjeldahl, onde 25 mL de hidróxido de sódio foram adicionados. Em seguida, a amostra foi recolhida em solução de ácido bórico 4

%. Titulou-se com uma solução de ácido clorídrico a 0,1 N. Para o cálculo da conversão de nitrogênio em proteína, utilizou-se o fator de 6,25 e a porcentagem de proteínas foi obtida com base na matéria seca.

Cálculo: Nitrogênio total = $([\text{HCl}] \times f \times (\text{Va}-\text{Vb}) \times 14) / \text{P}$, onde:

Va: volume gasto na titulação da amostra (mL)

Vb: volume gasto na titulação do branco (mL)

P: peso (mg) da amostra

f: fator de correção do HCl

2.5.2 Conteúdo de lipídeos totais

A determinação de lipídeos totais nos grãos de soja foi realizada utilizando o aparelho extrator de Soxhlet e o solvente éter de petróleo, conforme procedimento descrito nas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985). Pesou-se 2 g da amostra em cartucho de Soxhlet. Em seguida o cartucho foi transferido para o aparelho extrator que foi acoplado ao balão de fundo chato previamente tarado a 105°C. Quantidade suficiente de éter de petróleo foi adicionada e a mistura foi mantida sob aquecimento, em chapa elétrica, durante oito (quatro a cinco gotas por segundo). Em seguida, o cartucho foi retirado, o éter destilado e o balão com o resíduo extraído foi levado para uma estufa a 105°C, por aproximadamente uma hora. Posteriormente, resfriou-se o balão em dessecador até a temperatura ambiente e em seguida pesou-se.

Cálculo: Lipídeos totais (%) = $(\text{N} / \text{P}) \times 100$, onde:

N: peso dos lipídeos (g)

P: peso da amostra (g)

2.5.3 Teor de flavonoides totais

O teor de flavonoides totais foi determinado segundo metodologia descrita por MEDA et al., 2005; AHN et al., 2007, com adaptações, utilizando como reagente uma solução de cloreto de alumínio 2 % em metanol. Grãos de soja foram triturados em moinho de bolas e 8 mL de etanol 70 % foram adicionados em 1 g da amostra. A mistura foi incubada em banho-maria a 60°C por 30 min e em seguida, filtrada. Em uma alíquota de 1,0 mL dessa solução adicionou-se 1 mL de metanol e 2,0 mL de solução metanólica a 2 % de cloreto de alumínio. Após 30 min em repouso a temperatura

ambiente, determinou-se as absorvâncias das soluções no comprimento de onda de 415 nm. O branco consistiu de 3 mL de metanol (MEDA et al., 2005; AHN et al., 2007).

Uma curva analítica foi feita a partir de uma solução padrão de quercetina em metanol com concentração de 100 ppm. A curva analítica foi confeccionada através de regressão linear utilizando o programa Origin 6.0 (UFRRJ). A equação da reta foi utilizada para a determinação indireta do teor de flavonoides totais nas amostras. Os resultados foram expressos em g de flavonoides totais/ 100 g de soja.

2.6 Análises Estatísticas

A partir dos dados obtidos foram avaliadas todas as pressuposições da Análise de Variância (ANOVA) e aplicou-se o teste de comparação múltipla de médias Student-Newman-Keuls (SNK) à 5 % de probabilidade, com o auxílio do Programa R (R Core Team 2015).

3. RESULTADOS

A taxa fotossintética foi reduzida após 24 e 72 h da restrição hídrica, como apresentado na Figura 1A e 1B, respectivamente. Após 24 h, observou-se que os tratamentos de 40 e 60 % reduziram a fotossíntese em plantas de soja do genótipo ST 797, porém esta redução não foi detectada na NA 5909 (Figura 1 A). No entanto, após 72 h do déficit, ambos genótipos, nos tratamentos 40 % e 60 % apresentaram diminuição na taxa fotossintética (Figura 1 B). As plantas controle ST 797 apresentaram fotossíntese maior do que as plantas controle NA 5909. Sob déficit hídrico não houve diferença estatística entre as variedades, independente do tempo de imposição do estresse. (Figura 1- A e B).

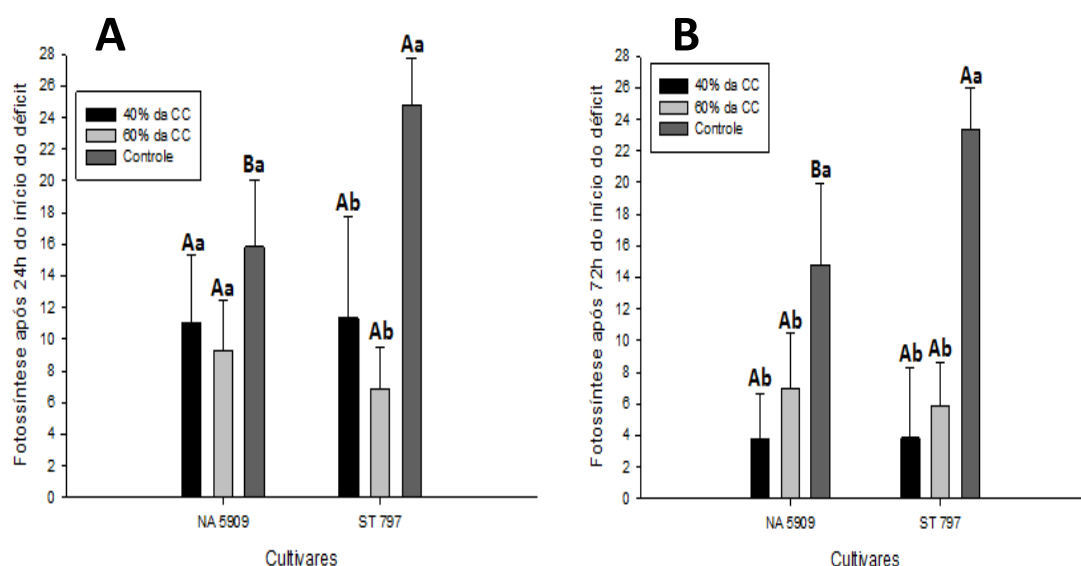


Figura 1. Taxa fotossintética ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{CO}_2$) 24 h (A) e 72 h (B) após o início da restrição hídrica em plantas de soja. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste Student-Newman-Keuls (SNK) a 5 % de probabilidade. Letras maiúsculas comparam as cultivares dentro de cada nível e as letras minúsculas comparam os níveis dentro de cada cultivar.

Após 24 h do início da imposição do déficit, a g_s , E , C_i e a ETR diminuíram e a TF aumentou nos tratamentos 40 e 60 % (Tabela 1). Os parâmetros g_s , E , ETR, EIC_i diminuíram e TF aumentou significativamente em plantas submetidas em ambos os tratamentos com restrição hídrica, após 72 h de restrição (Tabela 1). Não houve diferença entre o UEA entre as cultivares, porém as plantas do tratamento 60 % foram

mais eficientes no uso da água do que aquelas do tratamento 40 % após 72 h do início do déficit (Tabela 1).

Tabela 1. Trocas gasosas 24 e 72 h após o início da imposição da restrição hídrica

Fontes de Variação	Parâmetros de trocas gasosas (24 horas após o início do déficit)						
	<i>gs</i>	<i>E</i>	<i>Ci</i>	TF	ETR	<i>EICi</i>	UEA
Cultivar	0,81 ^{ns}	0,61 ^{ns}	0,09 ^{ns}	0,22 ^{ns}	0,09 ^{ns}	0,07 ^{ns}	0,12 ^{ns}
Níveis de irrigação	0,00 ^{**}	0,00 ^{**}	0,00 ^{**}	0,00 ^{**}	0,00 ^{**}	0,09 ^{ns}	0,29 ^{ns}
Cultivar x Níveis	0,31 ^{ns}	0,36 ^{ns}	0,63 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,18 ^{ns}	0,16 ^{ns}	0,69 ^{ns}
Cultivar							
NA5909	0,16 a	1,16 a	20,85 a	31,00 a	122,25 a	0,58 a	3,52 a
ST797	0,17 a	1,08 a	17,81 a	31,45 a	137,58 a	0,78 a	4,06 a
Níveis de irrigação							
Controle	0,30 a	1,72 a	23,52 a	29,92 b	159,60 a	0,86 a	3,43 a
60%	0,07 b	0,67 b	17,94 b	32,05 a	127,60 b	0,57 a	4,07 a
40%	0,12 b	0,97 b	16,52 b	31,70 a	107,22 b	0,61 a	3,88 a

Fontes de Variação	Parâmetros de trocas gasosas (72 horas após o início do déficit)						
	<i>gs</i>	<i>E</i>	<i>Ci</i>	TF	ETR	<i>EICi</i>	UEA
Cultivar	0,96 ^{ns}	0,69 ^{ns}	0,15 ^{ns}	0,10 ^{ns}	0,00 ^{**}	0,03 [*]	0,05 ^{ns}
Níveis de irrigação	0,00 ^{**}	0,00 ^{**}	0,10 ^{ns}	0,00 ^{**}	0,00 ^{**}	0,00 ^{**}	0,01 [*]
Cultivar x Níveis	0,64 ^{ns}	0,55 ^{ns}	0,81 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,13 ^{ns}	0,41 ^{ns}	0,79 ^{ns}
Cultivar							
NA5909	0,14 a	0,98 a	3,31 a	30,29 a	104,53 b	0,34 a	2,87 a
ST797	0,14 a	0,94 a	3,04 a	30,75 a	132,96 a	0,59 b	3,63 a
Níveis de irrigação							
Controle	0,32 a	1,36 a	3,19 a	28,84 c	153,59 a	0,79 a	3,64 a
60%	0,06 b	0,84 b	2,91 a	30,98 b	110,60 b	0,43 b	3,75 a
40%	0,04 b	0,68 b	3,43 a	31,74 a	92,04 b	0,18 b	2,37 b

Condutância estomática (*gs*) ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{H}_2\text{O}$), transpiração (*E*) ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{H}_2\text{O}$), pressão intercelular de CO_2 (*Ci*) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{mol}^{-1}$), temperatura foliar (TF) ($^{\circ}\text{C}$), velocidade de elétrons (ETR), eficiência intrínseca da carboxilação (*EICi*) e eficiência do uso de água (UEA). ANOVA: (p-valor) *significativo a 5 % e ** significativo a 1 % pelo teste F. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste Student-Newman-Keuls (SNK) a 5 % de probabilidade.

O CRA (%) de plantas submetidas a 40 % de restrição hídrica foi menor do que nos tratamentos controle e 60 % (Tabela 2). Verificou-se também que os valores do CRA (%) e da PSF em plantas NA 5909 foram menores quando comparado a cultivar ST 797 (Tabela 3). A PSF das plantas sob os tratamentos de restrições hídricas reduziu significativamente em relação ao controle.

A atividade das enzimas antioxidantes (APX, SOD e CAT) e o conteúdo de compostos fenólicos não indicaram diferença significativa entre os diferentes níveis de irrigação (Tabela 2).

Tabela 2. Conteúdo relativo de água, proteína solúvel foliar, enzimas antioxidantes de folhas coletadas após cinco dias de restrição hídrica e fenóis totais presente nos grãos

Fontes de Variação	Parâmetros						
	DM	CRA	PSF	APX	SOD	CAT	Fenóis
Cultivar	0,85 ^{ns}	0,00 ^{**}	0,00 ^{**}	0,01 ^{**}	0,00 ^{**}	0,14 ^{ns}	0,11 ^{ns}
Níveis de irrigação	0,18 ^{ns}	0,00 ^{**}	0,03 [*]	0,19 ^{ns}	0,53 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,55 ^{ns}
Cultivar x Níveis	0,24 ^{ns}	0,84 ^{ns}	0,12 ^{ns}	0,94 ^{ns}	0,20 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,68 ^{ns}
Cultivar							
NA5909	16,81 a	44,46 b	23,34 b	0,04 a	0,22 a	6,38 a	2,03 a
ST797	16,61 a	54,26 a	32,37 a	0,01 b	0,11 b	7,81 a	2,36 a
Níveis de irrigação							
Controle	15,40 a	59,18 a	31,78 a	0,02 a	0,17 a	6,94 a	2,12 a
60 %	16,91 a	52,18 a	26,16 b	0,01 a	0,14 a	8,65 a	2,34 a
40 %	17,82 a	36,72 b	25,63 b	0,04 a	0,18 a	5,70 a	2,11 a

Dano de membrana (DM) (%), Conteúdo Relativo de Água Foliar (CRA) (%), Proteína Solúvel Foliar (PSF) (mg proteína/g matéria fresca), Ascorbato Peroxidase (APX) ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína), Superóxido Dismutase (SOD) (U/min/mg de proteína), Catalase (CAT) ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína) e Fenóis (g de fenóis/100 g de soja). ANOVA: (p-valor) *significativo a 5 % e ** significativo a 1 % pelo teste F. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste Student-Newman-Keuls (SNK) a 5 % de probabilidade.

Na tabela 3 estão apresentados os resultados de produtividade. Não houve diferença estatística no peso total dos grãos produzidos por vaso, independente da cultivar ou do nível de irrigação. A cultivar NA 5909 foi capaz de produzir maior, número de grãos por vagem do que a cultivar ST 797, independente do tratamento imposto, no entanto essa mesma cultivar foi a que apresentou maior número de vagens sem grãos.

O CV produzido pelas plantas foi estimado e não foi observada diferença significativa entre as cultivares. Analisando os níveis de irrigação, notou-se que a CV das plantas submetidas a 60 % de irrigação diferiu significativamente do controle, no entanto, o mesmo não ocorreu com o tratamento 40 % (Tabela 3).

Tabela 3. Peso total de grãos por vaso, número de vagens por vaso, número de grãos por vagem, componente vegetativo por vaso e média de vagens sem grãos por vaso de plantas de soja

Fontes de Variação	Produtividade				
	PTG	Vagem/vaso	Grãos/vagem	CV	SG
Cultivar	0,21 ^{ns}	0,01 [*]	0,00 ^{**}	0,89 ^{ns}	0,00 ^{**}
Níveis de irrigação	0,09 ^{ns}	0,80 ^{ns}	0,45 ^{ns}	0,03 [*]	0,20 ^{ns}
Cultivar x Níveis	0,82 ^{ns}	0,24 ^{ns}	0,92 ^{ns}	0,14 ^{ns}	0,21 ^{ns}
Cultivar					
NA5909	217,16 a	861,66 b	2,48 a	276,00 a	12,38 a
ST797	236,05 a	976,00 a	2,32 b	277,44 a	6,94 b
Níveis de irrigação					
Controle	248,91 a	925,75 a	2,45 a	296,08 a	10,66 a
60 %	223,00 a	899,75 a	2,40 a	258,83 b	7,45 a
40 %	207,91 a	931,00 a	2,37 a	275,25 ab	10,91 a

Peso total de grãos por vaso (PTG) (gramas), número de vagens por vaso (Vagem/vaso), número de grãos por vagem (Grãos/vagem), componente vegetativo por vaso (CV) (gramas) e média de vagens sem encher por vaso (SG). ANOVA: (p-valor) ^{*}significativo a 5 % e ^{**} significativo a 1 % pelo teste F. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste Student-Newman-Keuls (SNK) a 5 % de probabilidade.

A quantidade de lipídeos não variou entre as duas cultivares, independente do nível de irrigação. No entanto, as plantas que estavam plenamente irrigadas foram capazes de acumular maior quantidade de lipídeos do que aquelas que passaram por uma restrição hídrica. O acúmulo do conteúdo de proteínas e de flavonoides foi maior na cultivar ST 797, em qualquer que seja o nível de irrigação (Tabela 4).

Tabela 4. Parâmetros de qualidade nutricional dos grãos de soja

Fontes de Variação	Qualidade nutricional dos grãos		
	Lipídeos (%)	Proteínas (%)	Flavonoides (g de flavonoides totais/100 g de soja)
Cultivar	0,56 ^{ns}	0,04 [*]	0,000 ^{**}
Níveis de irrigação	0,00 ^{**}	0,31 ^{ns}	0,628 ^{ns}
Cultivar x Níveis	0,62 ^{ns}	0,50 ^{ns}	0,540 ^{ns}
Cultivar			
NA5909	17,92 a	29,34 b	0,006 b
ST797	17,32 a	30,44 a	0,010 a
Níveis de irrigação			
Controle	20,48 a	29,50 a	0,008 a
60 %	16,66 b	30,44 a	0,008 a
40 %	15,71 b	29,74 a	0,008 a

ANOVA: (p-valor) ^{*}significativo a 5 % e ^{**} significativo a 1 % pelo teste F. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste Student-Newman-Keuls (SNK) a 5 % de probabilidade.

4. DISCUSSÃO

O déficit hídrico pode ser caracterizado pela diminuição do teor de água e do potencial hídrico da folha, perda do turgor foliar, pelo fechamento estomático, redução do crescimento e desenvolvimento celular (Jaleel et al. 2009). Estresses podem resultar na redução das taxas fotossintéticas através de fatores estomáticos ou não estomáticos (bioquímicos) (Tsonev 2003).

No presente trabalho observou-se uma redução da condutância estomática nas plantas que estavam passando por uma restrição hídrica, o que pode explicar a diminuição da fotossíntese ao longo dos dias. A planta tende a fechar os estômatos com o intuito de reduzir a perda ainda maior de água através da transpiração. A consequência é a menor difusão de CO₂ para dentro da planta, podendo causar então a diminuição da fotossíntese líquida (Flexas et al. 2006). A redução da condutância estomática em condições de déficit hídrico exerce maior efeito sobre a saída de água, pois quando os estômatos estão abertos a absorção de CO₂ é mais limitada em relação à perda de água, devido as características físicas (Nobel 2005). Dessa forma, a diminuição da condutância estomática causa um declínio mais rápido da transpiração do que da fotossíntese, uma vez que a saída de água pelos estômatos depende mais da condutância estomática do que a fotossíntese (Lei et al. 2006). Observou-se com os resultados obtidos no presente trabalho, comportamento semelhante, onde a redução da transpiração foi maior do que a redução da fotossíntese após 24 h de déficit hídrico. Já após 72 h de déficit hídrico ambos apresentaram uma alta redução. A redução da taxa de transpiração devido ao estresse hídrico está de acordo com estudos realizados anteriormente em *Eucalyptus globulus* (Osório et al. 1998), trigo (Yordanov et al. 2001) e feijão (Aroca et al. 2006).

Em déficits hídricos moderados a concentração interna de CO₂ na folha sofre primeiramente um declínio, mas, se o déficit se tornar severo essa concentração aumenta (Ohashi et al. 2006). Isso foi observado, uma vez que quando a restrição hídrica foi de 60 % da capacidade de campo a *C_i* reduziu, no entanto, quando a restrição foi de 40 % a *C_i* aumentou, indicando que as plantas estavam passando por um estresse severo. A baixa concentração interna de CO₂ pode provocar diminuição da taxa fotossintética em plantas com restrição hídrica, pois prejudica o funcionamento da Rubisco ou inibe diretamente as enzimas fotossintéticas como a ATPase (Nogués e Baker 2000).

Quando a água é limitada, a abertura dos estômatos reduz, resultando em uma menor transpiração das plantas e fazendo com que a temperatura foliar fique superior a do ar ambiente. Isoda (2005) explica que, para a soja, a taxa de transpiração, a condutância estomática e a fotossíntese estão correlacionadas positivamente. A diminuição da condutância estomática, durante déficit hídrico, resulta em um aumento da temperatura foliar, pois limita a transpiração. O aumento da temperatura nas folhas pode ocasionar redução da fotossíntese através de danos ao aparato fotossintético (Li et al. 2004).

O CRA é considerado um parâmetro eficiente para identificar a adaptação das plantas à seca (Jones 2007). Genótipos de soja submetidos a déficit hídrico intenso reduziram o conteúdo relativo de água em comparação aos tratamentos irrigados (Fioreze et al. 2011). No presente estudo, notou-se que a irrigação com 60 % da capacidade de campo por cinco dias não foi capaz de reduzir o conteúdo relativo de água nas folhas, já a irrigação com apenas 40 % da capacidade de campo foi capaz de reduzir significativamente o CRA. Isso pode ser explicado pelo fato de que os genótipos avaliados conseguiram evitar e tolerar a desidratação até o nível de 60 %, já com 40 % as plantas não toleraram e a desidratação das folhas ocorreu, uma vez que as plantas conseguem suportar a perda de água até certo ponto.

Outra resposta das plantas ao déficit hídrico é a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) (Farooq et al. 2009). As ROS possuem dois papéis a depender do equilíbrio da sua produção e eliminação. Em baixas concentrações elas atuam como uma molécula de sinalização em situações com baixa disponibilidade de água, mediando assim as respostas das plantas. Quando a concentração aumenta, ou seja, a produção excede a eliminação, as ROS podem causar danos oxidativos às plantas (Foyer 2005). Para não ocorrer os danos oxidativos, as plantas desenvolvem estratégias de eliminação das ROS. Uma forma é a atuação de enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase, catalase e a ascorbato peroxidase (Farooq et al. 2016). A primeira linha de defesa é a ação da superóxido dismutase através da desintoxicação dos radicais superóxidos e de peróxido de hidrogênio levando a formação de água e oxigênio molecular (Noctor et al. 2000). Durante períodos de déficit hídrico, há um aumento na atividade dessas enzimas antioxidantes, como registrado em um trabalho com feijão (Bhardwaj e Yadav 2012). No presente trabalho, esse comportamento não foi observado, não havendo aumento significativo na atividade das enzimas antioxidantes analisadas.

Outro parâmetro que tem bastante influencia do déficit hídrico é a produtividade. Wang et al. (2003) afirmaram que a maior parte das alterações da produção de soja no Brasil deve-se a ocorrência de secas prolongadas. Pardo et al (2015) através de um estudo para determinar o período fenológico em que o rendimento seria mais sensível, observaram que a produção por planta e o número de sementes por plantas reduziu significativamente somente no tratamento em que as plantas foram submetidas ao déficit hídrico entre os estádios R5 e R6. No presente trabalho o déficit hídrico imposto no estágio R3 e a restrição hídrica de até 40 % da capacidade de campo não alteraram significativamente o peso total das sementes produzidas por vaso. Comlekçoglu e Simsek (2011) avaliando a relação entre lâminas de irrigação e cultivares de soja, em diferentes anos, observaram uma redução média do número de vagens totais produzidas por planta, uma vez que os valores variaram de 54,33 a 111,33 vagens por planta, a depender do genótipo e da lâmina de água oferecida. Esses dados, não corroboram com o presente trabalho, pois não houve diferença desse parâmetro entre as cultivares ou entre os regimes hídricos.

O número de grãos por vagem apresentou menor variação entre diferentes situações de cultivo, o que justifica a não alteração dessa variável no presente trabalho. Estudos afirmam que o número de grãos por vagem não é alterado significativamente pelo déficit hídrico e este está relacionado com a taxa de fertilização dos óvulos, sendo uma característica peculiar de cada genótipo (Comlekçoglu e Simsek 2011; Fioreze et al. 2011; Demirtas et al. 2010).

O déficit hídrico também é responsável pela alteração na composição nutricional do grão de soja, já que a inibição da biossíntese de proteínas induzida pela baixa disponibilidade de água causa a perda da qualidade das sementes. A fixação de nitrogênio em ambientes com limitação hídrica diminui o acúmulo de proteína em grãos (Sing 2007). No presente trabalho, o teor de proteínas nos grãos não foi alterado pela restrição hídrica imposta. No entanto, Rotundo e Westgate (2009) afirmaram que o déficit hídrico imposto durante o enchimento dos grãos aumenta a concentração de proteína e reduz a concentração de óleo. Esses autores levantam a hipótese de que em condições de seca a remobilização de nitrogênio aumentaria a sua disponibilidade, aumentando a taxa de acumulação de proteína e a redução de óleo.

Bellaloui et al. (2013) observaram que o déficit hídrico, especialmente durante o enchimento de grãos (R5-R6), alterou a composição dos ácidos graxos, afetando os níveis totais de óleo. Além disso, houve um decréscimo na concentração de carboidratos não estruturais. Dessa forma, esses autores acreditam que a alteração dos ácidos graxos

deve-se a baixa disponibilidade de açúcares nas plantas. Em outro estudo, o déficit hídrico severo durante o enchimento dos grãos, diminuiu o teor de óleo em até 12 %, em soja, sendo a menor redução para o teor de ácido oleico (Dornbos e Mullen 1992). Esses dados corroboram com o presente trabalho, uma vez que o teor total de óleo nos grãos reduziu quando as plantas estavam sob déficit hídrico, essa redução foi em torno de 23 % para os grãos que passaram por um déficit hídrico mais severo.

5. CONCLUSÕES

- 1) O déficit hídrico provoca redução da condutância estomática concomitante com a diminuição da fotossíntese e a transpiração.
- 2) O aumento da temperatura foliar nas plantas é resultado da baixa transpiração.
- 3) A restrição hídrica é responsável pela redução do conteúdo de lipídeos independente da cultivar.
- 4) A cultivar ST 797 apresenta maior conteúdo de proteínas e flavonoides em condições de plena irrigação em comparação com a NA 5909.
- 5) A baixa disponibilidade de água nesse trabalho não causou redução no teor de proteínas e flavonoides.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ahn, M. R., S. Kumazawa, T. Hamasaka, K. S. Bang, T. Nakayama, 2004: Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of Korea. *J. Agric. Food Chem.* 52, 7286–7292.

Aroca, R., Ferrante, A., Vernieri, P., Chrispeels, M. J., 2006: Drought, abscisic acid and transpiration rate effects on the regulation of pip aquaporin gene expression and abundance in *Phaseolus vulgaris* Plants. *Ann. Bot.* 98, 1301–1310.

Association of Official Analytical Chemists, 1995: Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Arlington: A.O.A.C. 33, 10-12.

Battisti, R., P. S. Sentelhas, K. J. Boote, G. M. S. Câmara, J. R. B. Farias and C. J. Basso, 2017: Assessment of soybean yield with altered water-related genetic improvement traits under climate change in Southern Brazil. *European Journal of Agronomy.* 83, 1-14.

Beauchamp, C. and I. Fridovich, 1971: Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Anal. Biochem.* 44, 276-287.

Bellaloui, N., A. Mengistu, and M. A. Kassem, 2013: Effects of genetics and environment on fatty acid stability in soybean seed. *Food Nutri. Sci.* 4, 165–175.

Bhardwaj, J., and S. K. Yadav, 2012: Comparative study on biochemical parameters and antioxidant enzymes in a drought tolerant and a sensitive variety of horse gram (*Macrotyloma uniflorum*) under drought stress. *Am. J. Plant Physiol.* 7, 17– 29.

Blum, A. and A. Ebercon, 1981: Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. *Crop Sci.* 21, 43-47.

Bradford, M. M., 1976: A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248-254.

Comlekcioglu, N. and M. Simsek, 2011: Effects of deficit irrigation on yield and yield components of vegetable soybean (*Glycine max L. (Merril)*) in semi-arid conditions. African Journal of Biotechnology. 10, 6227-6234.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento, 2013: Acompanhamento da safra brasileira de grãos. Brasília: 66p.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento, 2015: Acompanhamento da safra brasileira: Grãos, nono levantamento, Jun. 2015, safra 2014/2015. <http://www.conab.gov.br>.

Demirtas, C., S. Yazgan, B. N. Candogan, M. Sincik, H. Buyukcangaz and A. T. Goksoy, 2010: Quality and yield response of soybean (*Glycine max L. (Merr)*) to drought stress in sub-humid environment. African Journal of Biotechnology. 9, 6873-6881.

Dornbos Jr, D. L., and R. E. Mullen, 1992: Soybean seed protein and oil contents and fatty-acid composition adjustments by drought and temperature. J. Am. Oil Chem. Soc. 69, 228–231.

Farias, J.R.B., A.L. Nepomuceno and N. Neumaier, 2007: Ecofisiologia da soja. Londrina: Circular Técnico 48, 9p.

Farooq, M., A. Wahid, N. Kobayashi, D. Fujita, and S. M. A. Basra, 2009: Plant drought stress: effects, mechanisms and management. Agron. Sustain. Dev. 29, 185–212.

Farooq, M., N. Gogoi, S. Barthakur, B. Baroowa, N. Bharadwaj, S. S. Alghamdi and K. H. M. Siddique, 2016: Drought stress in grain legumes during reproduction and grain filling. J. Agro. Crop Sci, 1-23.

Fioreze, S. L., L. G. Pivetta, A. Fano, F. R. Machado and V. F. Guimarães, 2011: Comportamento de genótipos de soja submetidos a *déficit hídrico* intenso em casa de vegetação. Revista Ceres. 58, 342-349.

Flexas, J., J. Bota, J. Galmés, H. Medrano and M. Ribas-Carbó, 2006: Keeping a positive balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress. *Physiologia Plantarum*. 127, 343-352.

Foyer, H. C., 2005: Redox homeostasis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses. *Plant Cell*. 17, 1866–1875.

Giannopolitis, I. and S. K. Reis, 1977: Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiol*. 59, 309-314.

Havir, E. A. and N. A. Mchale, 1987: Biochemical and Developmental Characterization of Multiple Forms of Catalase in Tobacco Leaves. *Plant Physiology*. 84, 450-455.

Instituto Adolfo Lutz, 1985: Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, 1, 3. ed. São Paulo: IMESP.

Isoda, A., 2005: Adaptive responses of soybean and cotton to water stress II. Changes in CO₂ assimilation rate, chlorophyll fluorescence and photochemical reflectance index in relation to leaf temperature. *Plant Produc. Sci*. 8, 131-138.

Jaleel, C. A, K. Riadh, R. Gopi, P. Manivannan, J. Ines, H. J. Al-Juburi, Z. Chang-Xing, S. Bo-Hong and R. Pannererselvam, 2009: Antioxidant defense responses: physiological plasticity in higher plants under abiotic constraints. *Acta Physiology Plant*. 31, 427-436.

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

Lei, W., Z. Tong and D. Shengyan, 2006: Effect of drought and rewatering on photosynthetic physioecological characteristics of soybean. *Acta Ecologica Sinica*. 26, 2073-2178.

Li, D., Li, H., Qiao, Y., Wang, Y., Cai, Z., Dong, B., Shi, C., Liu, Y., Li, X., Liu, M., 2013: Effects of elevated CO₂ on the growth, seed yield, and water use efficiency of

soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) under drought stress. *Agric. Wat. Manag.* 129, 105–112.

Li, F., S. Kang and J. Zhang, 2004: Interactive effects of elevated CO₂, nitrogen and drought on leaf area, stomatal conductance, and evapotranspiration of wheat. *Agric. Wat. Manag.* 67, 221-233.

Meda, A., C. E. Lamien, M. Romito, J. Millogo and O. G. Nacoulma, 2005: Determination of the total phenolic, flavonoid and proline Contents in Burkina Faso Honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chem.* 91, 571-577.

Miransari, M., 2016: Abiotic and Biotic Stresses in Soybean Production. *Soybean Production: Volume 1*, cap. 13: Strategies, challenges, and future perspectives for soybean production under stress, 289-309.

Nakano, Y. and K. Asada, 1981: Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol.* 22, 867-880.

Nobel, P. S., 2005: *Physicochemical and environmental plant physiology*. 3^a edição. New York: Academic Press, 567p.

Noctor, G., S. Veljovic-Jovanovic, and C. H. Foyer, 2000: Peroxide processing in photosynthesis: antioxidant coupling and redox signalling. *Proc. Royal Soc. Lond. B.* 355, 1465–1475.

Nogués, S and N. R. Baker, 2000: Effects of drought on photosynthesis in Mediterranean plants grown under enhanced UV-B radiation. *Journal of Experimental Botany.* 51, 1309-1317.

Ohashi, Y., H. Nakayama, H. Saneoka and K. Fujita, 2006: Effects of drought stress on photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and stem diameter of soybean plants. *Biologia Plantarum.* 50, 138-141.

Osorio, J., Osorio, M. L., Chaves, M. M., Pereira, J. S., 1998: Effects of water deficit on ^{13}C discrimination and transpiration efficiency of *Eucalyptus globulus* clones. Aust. J. Plant Physiol. 25, 645–651.

Pardo, E. M., G. R. Vellicce, L. Aguirrezabal, G. Pereyra Irujo, C. M. L. Rocha, M. G. Garcia, S. Prieto Angueira, B. Welin, J. Sanchez, F. Ledesma and A. P. Castagnaro, 2015: Drought Tolerance Screening Under Controlled Conditions Predicts Ranking of Water-Limited Yield of Field-Grown Soybean Genotypes. J. Agron. Crop Sci. 201, 95-104.

R Core Team, 2015. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>

Rotundo, J. L. and M. Westgate, 2009: Meta-analysis of environmental effects on soybean seed composition. Field Crops research. 110, 147-156.

Sentelhas, P. C., Battisti, R., Câmara, G. M. S., Farias, J. R. B., Hampf, A., Nendel, C., 2015: The soybean yield gap in Brazil – magnitude, causes and possible solutions for a sustainable production. J. Agric. Sci. 153, 1394–1411.

Singh, S. P., 2007: Drought resistance in the race Durango dry bean landraces and cultivars. Agron. J. 99, 1219–1225.

Souza, C. C., F. A. Oliveira, I. F. Silva and M. S. A. Neto, 2000: Avaliação de métodos de determinação de água disponível e manejo da irrigação em terra roxa sob cultivo de algodoeiro herbáceo. Rev. Bras. Eng. Agríc. Ambient. 4, 338-342.

Texeira, L.R., A. L. Braccini, D. Sperandio, C. A. Scapim, I. Schuster and J. Viganó, 2008: Avaliação de cultivares de soja quanto à tolerância ao estresse hídrico em substrato contendo polietileno glicol. Acta Scientiarum Agronomy. 30, 217-223.

United States Department of Agriculture. Soybeans and oil crops. 2013. Disponível em: <http://ers.usda.gov/topics/crops/soybeans-oil-crops/background.asp>.

Varone, L. and L. Gratani, 2015: Leaf respiration responsiveness to induced water stress in Mediterranean species. *Environ. Exper. Bot.* 109, 141-150.

Wang, W., B. Vinocur, and A. Altman, 2003: Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta.* 218, 1-14.

Yordanov, I., Tsonev, T., Velikova, V., Georgieva, K., Inanov, P., Tsenov, N., Petrova, T., 2001: Changes in CO₂ assimilation: transpiration and stomatal resistance of different wheat cultivars experiencing drought under field conditions. *Bulg. J. Plant Physiol.* 27, 20–33.

Yordanov, I., V. Velikova and T. Tsonev, 2003: Plant response to drought and stress tolerance. *Bulgarian Journal of Plant Physiology.* 19.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O déficit hídrico afeta negativamente as trocas gasosas, uma vez que reduz a condutância estomática, a fotossíntese e a transpiração, através do fechamento estomático, aumentando assim a temperatura foliar. A restrição hídrica reduz também o conteúdo de lipídeos, provavelmente porque para síntese de ácidos graxos é utilizado o NAD(P)H provindo da fotossíntese. Uma vez que a assimilação de CO₂ reduz, a síntese de macromoléculas constituídas por esqueleto carbônico fica comprometido. No geral, a intensidade do estresse hídrico é inversamente proporcional à formação de isoflavonas. Nas condições hídricas analisadas no presente trabalho, a baixa disponibilidade de água não foi capaz de afetar o teor de flavonoides. Outro parâmetro que não foi alterado pelo déficit foi a atividade das enzimas antioxidantes. Provavelmente, no tempo selecionado para avaliar as mesmas (5 dias após a imposição do estresse), as atividades máximas das enzimas tenham sido restituídas. Cultivares diferentes possuem características genéticas diferentes, como acúmulo de proteínas ou lipídeos. Baseando-se nessa afirmativa pode-se inferir que a cultivar ST 797 é capaz de acumular maior teor de proteínas e flavonoides totais, já a cultivar NA 5909 maior conteúdo de lipídeos. Logo, a seleção da “melhor cultivar” dependerá diretamente do destino final dos grãos, ou seja, para produção de óleo de soja a NA5909 é a mais indicada, já para produção de farelo proteico, a ST 797.