Universidade de São Paulo

Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Manejo fisiológico com base em tratamento de sementes e aplicação de organominerais via foliar para sistemas de alto potencial produtivo de soja

Luís Henrique Soares

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Fitotecnia

Piracicaba
2013

Luís Henrique Soares

Engenheiro Agrônomo

Manejo fisiológico com base em tratamento de sementes e aplicação de organominerais via foliar para sistemas de alto potencial produtivo de soja

Orientador:

Prof. Dr. **DURVAL DOURADO NETO**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Fitotecnia

Piracicaba
2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - ESALQ/USP

Soares, Luís Henrique
Manejo fisiológico com base em tratamento de sementes e aplicação de organominerais via foliar para sistemas de alto potencial produtivo de soja / Luís Henrique Soares. - - Piracicaba, 2013.
129 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2013.
Bibliografia.

1. Aminoácidos 2. Hormônios 3. Micronutrientes I. Título

CDD 633.34
S676e

“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor”

Aos meus pais, Sebastião e Lúcia Helena e aos meus irmãos, Juliane e André Luís, os quais são os maiores merecedores desta conquista.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço:

- A Deus, por estar comigo e ter permitido chegar até aqui;

- Aos meus Pais e aos meus irmãos, pois se cheguei até aqui, foi por vocês;

- Ao meu orientador Dr. Durval Dourado Neto, pelos ensinamentos, companheirismo e contribuição na minha formação acadêmica e pessoal;

- Ao meu orientador e grande amigo, Dr. Evandro Binotto Fagan, por ser mais que um simples orientador. Muito obrigado por me ensinar valores, por mostrar que, na vida, o mais importante não é o que temos, mais sim o que somos ou aquilo que podemos ser. Parte do que sou hoje devo a você;

- Aos amigos de Piracicaba, em especial aos companheiros de república Francisco Guilhien, Fábio Takahashi e André Santana pelo companheirismo e por tornar meus dias em Piracicaba mais felizes;

- Dizia Shakespeare que "*amigos são a família que nos permitiram escolher*", por isso agradeço aos amigos de Patos de Minas, em especial, Cícero Fuga, Daniel Moreira, Thalisson Fernando, Daniel Gonçalves, Fábio Júnior, André Santana, Elmiro Corrêa, Altamir Corrêa e Guilherme Dias pelos ensinamentos, amizade, companheirismo e momentos de descontração, os quais contribuíram para a integridade da minha saúde mental;

- Aos amigos André Santana e Karla Vilaça pelos ensinamentos, companheirismo e por contribuir para o meu estabelecimento em Piracicaba;

- Aos amigos e colegas do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, em especial ao Felipe Brendler, Ana Schwantes, Bruno Cocco, Silas Maciel, Maíra Lacerda, Tiago Tezotto, Alfredo Albrecht, Nardélio Santos, Clovis Pierozan, Daniela Carrijo, Marcos Altomani, Natália Arruda, Gentil Cavalheiro e outros, que involuntariamente foram omitidos, pela amizade, companheirismo, aprendizado proporcionado e momentos de descontração;

- Aos amigos do Núcleo de Pesquisa em Fisiologia Vegetal e Estresse de Plantas (NUFEP) em especial a Marina Rodrigues, Isabella Sabrina, Tarcísio Bonfim, Jérssica Nogueira, Leidyanne Godinho, Walquíria Fernanda, Renan Nascentes, Gleize Leviski, Louranny Tavares, Rafael Gontijo, Maila Adriely, Cíntia Maria, Maria Elisângela, Leonardo Dias, Lauro Noronha e Luiz Felipe, pelo apoio na condução dos experimentos e pela ajuda nas horas e horas intermináveis de avaliações no Laboratório, pelo aprendizado que vocês me proporcionaram e momentos de descontração;

- À Walquíria Fernanda pelo auxílio nas análises estatísticas;

- Ao Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM) por disponibilizar sua estrutura e o apoio de seus funcionários para a realização dos experimentos;

- Aos funcionários da Escola Agrotécnica Afonso Queiroz, em especial ao Rafael Augusto e ao Maurício, pelo auxílio na condução dos experimentos;

- À Márcia, pelo carinho, amor e compreensão dos meus momentos de ausência;

- À secretária do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Luciane pela disposição e presteza em minhas solicitações;

- À Eliana, da Divisão de Biblioteca, pela presteza em realizar as correções solicitadas;

- À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” e ao Programa de Pós Graduação em Fitotecnia, pela oportunidade do estudo;

- Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq) pelo apoio financeiro; e

- Enfim, àqueles que contribuiriam para a realização deste trabalho e, que, involuntariamente foram omitidos, muito obrigado.

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

Theodore Roosevelt

SUMÁRIO

RESUMO 13

ABSTRACT 15

LISTA DE FIGURAS 17

LISTA DE TABELAS 25

1 INTRODUÇÃO 27

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 29

2.1 Aspectos fisiológicos para potencialização da produtividade de soja 29

2.1.1 Fase I – Crescimento inicial 29

2.1.1.1 Tratamento de sementes com micronutrientes 29

2.1.1.1.1 Molibdênio 29

2.1.1.1.2 Cobalto 31

2.1.1.1.3 Zinco 32

2.1.1.1.4 Manganês 33

2.1.1.1.5 Boro 35

2.1.1.1.6 Níquel 36

2.1.1.2 Uso de bioestimulantes em plantas: aminoácidos e hormônios 37

2.1.1.2.1 Aminoácidos 37

2.1.1.2.1.1 Atenuação de vários tipos de estresses 38

2.1.1.2.1.2 Aminoácidos atenuadores de estresses 39

2.1.1.2.1.2.1 Prolina: aminoácido chave em plantas estressadas 40

2.1.1.2.1.2.2 Lisina: aminoácido regulado em condições de estresse 42

2.1.1.2.1.2.3 Histidina: metais pesados 43

2.1.1.2.1.3 Sinalização e estrutura celular 43

2.1.1.2.1.4 Translocação de enxofre e nitrogênio no floema e no xilema 48

2.1.1.2.2 Hormônios 49

2.1.2 Fase II – Formação de órgãos reprodutivos 50
2.1.3 Fase III – Enchimento de grãos 51
3 MATERIAL E MÉTODOS 53
3.1 Local 53
3.2 Experimento I: influência de micronutrientes, aminoácidos e hormônios via tratamento de sementes em aspectos fisiológicos da cultura de soja 53
3.2.1 Caracterização do experimento 53
3.2.2 Delineamento experimental 54
3.2.3 Manejo fisiológico 55
3.2.4 Delineamento experimental 56
3.3 Avaliações 57
3.3.1 Épocas das avaliações 57
3.3.2 Avaliações bioquímicas 58
3.3.2.1 Atividade da nitrato redutase 58
3.3.2.2 Atividade da urease 59
3.3.2.3 Prolina 59
3.3.2.4 Atividade de enzimas antioxidantes 60
3.3.2.4.1 Obtenção do extrato vegetal 60
3.3.2.4.2 Conteúdo de proteína na folha 60
3.3.2.4.3 Superóxido dismutase 61
3.3.2.4.4 Catalase 61
3.3.2.4.5 Atividade da peroxidase 61
3.3.2.4.6 Peroxidação lipídica 62
3.3.2.5 Avaliações fisiológicas 62
3.3.2.5.1 Trocas gasosas 62
3.3.2.6 Avaliações fenométricas 62

3.3.2.6.1 Emergência 62
3.3.2.6.2 Índice de velocidade de emergência 63
3.3.2.6.3 Valor Spad 63
3.3.2.6.4 Massa de matéria seca 63
3.3.2.6.5 Taxa de crescimento 63
3.3.2.6.6 Área foliar 64
3.3.3 Número total de vagens 64
3.3.4 Produtividade 64
3.3.5 Massa de 1000 grãos 64
3.4 Análise estatística 64
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 65
4.1 Experimento I: influência de micronutrientes, aminoácidos e hormônios via tratamento de sementes em aspectos fisiológicos da cultura de soja 65
4.2 Experimento II: contribuição do tratamento de sementes e do sistema de manejo na produtividade da cultura de soja 88
5 CONCLUSÕES 113
REFERÊNCIAS 115

RESUMO

Manejo fisiológico com base em tratamento de sementes e aplicação de organominerais via foliar para sistemas de alto potencial produtivo de soja

A produtividade de uma lavoura de soja representa apenas, aproximadamente, 20% do potencial genético. Dessa forma, a exploração das características genéticas tem sido alvo dos pesquisadores para incrementar a produtividade da cultura. Dentro disso, a potencialização fisiológica pela aplicação de estimulantes biológicos, desde a germinação das sementes até a fase reprodutiva da cultura, tem sido uma das principais estratégias adotadas. Visando um aporte à pesquisa nas respostas fisiológicas da cultura, objetivou-se avaliar os efeitos fisiológicos do tratamento de sementes e aplicações foliares de micronutrientes, hormônios e aminoácidos e o quanto estes representam na produção em sistemas de alta produtividade. Foram realizados dois experimentos, sendo um em casa de vegetação (condições parcialmente controladas) (Experimento I) e outro a campo (Experimento II) no Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM), Patos de Minas-MG, durante o período de janeiro a maio de 2013. Foram realizadas avaliações bioquímicas (atividade das enzimas nitrato redutase, urease, catalase, peroxidase e superóxido dismutase, peroxidação de lipídios e teor de prolina), fisiológicas (fotossíntese liquida) e fenométricas (emergência, índice de velocidade emergência, valor SPAD, taxa de crescimento de raiz, caule e folha, massa de matéria seca total e área foliar), além do número de vagens e da produtividade. Para o primeiro experimento, foram utilizados quatro tratamentos de sementes (controle; micronutrientes – Zn, Mn, B, Mo, Ni e Co; hormônios - ácido indol butírico, ácido giberélico e cinetina; e aminoácidos - ácido glutâmico, arginina, glicina, metionina e cisteína) com seis repetições em delineamento inteiramente casualizado. No segundo experimento, foram utilizados seis tratamentos de semente (controle; micronutrientes; hormônios; aminoácidos; micronutrientes e hormônios; e micronutrientes e aminoácidos) em dois sistemas de manejo: sistema convencional e sistema para produtividade potencial, com utilização de redutor de crescimento e aplicações periódicas de organominerais via foliar (doze tratamentos com quatro repetições em delineamento em blocos ao acaso). Com base nos resultados obtidos, conclui-se que: (i) o tratamento de sementes com micronutrientes potencializa a assimilação de nitrogênio e a fotossíntese líquida, e incrementa o teor de clorofila (valor Spad) e taxa de crescimento de plantas de soja; (ii) a utilização de aminoácidos ou hormônios reduz o nível de estresse das plantas durante o período inicial de crescimento e aumenta a produção de massa de matéria seca; (iii) o tratamento de sementes com micronutrientes, hormônios ou aminoácidos incrementa o teor de clorofila (valor Spad), (iv) o sistema para produtividade potencial potencializa a atividade fisiológica das plantas e, consequentemente, aumenta o número de vagens por planta e a produtividade em relação ao sistema convencional; (v) em sistema para produtividade potencial, o tratamento de sementes com micronutrientes é o mais responsivo (aumento de produtividade em 18,5%), e (vi) no sistema convencional, o tratamento com micronutrientes e aminoácidos aumenta a produtividade em 80%.

Palavras-chave: Aminoácidos, Hormônios, Micronutrientes

ABSTRACT

Physiological management based on the seed treatment and organominerals leaf application for the high potential soybean yield system

The actual soybean productivity represents about 20% of genetic potential. Thus, the exploitation of genetic characteristics has been targeted by researchers to increase crop yield. In addition, the physiological potentiation by applying biological stimulants, from seed germination to the reproductive stage of the crop, has been one of the main strategies adopted. Seeking a contribution to research on the physiological responses of soybean crop, aimed to evaluate the physiological effects of seed treatment and foliar applications of micronutrients, amino acids and hormones and how they represent in the production of the high productivity systems. Two experiments were carried out, one in the greenhouse (partially controlled conditions) (Experiment I) and other in the field (Experiment II) at the University Center of 'Patos de Minas' (UNIPAM), 'Patos de Minas', 'Minas Gerais' State, Brazil, during the period of January to May 2013. Biochemical assessments (nitrate reductase, urease, catalase, peroxidase and superoxide dismutase activities, lipid peroxidation and proline content), physiological (net photosynthesis) and fenometric evaluations (emergency, emergency speed index, Spad value, leaf area, growth rate of root, stem, leaf, total dry matter and leaf area), beyond of the number of pods per plant and productivity. For the first experiment, four seed treatments (control; micronutrients - Zn, Mn, B, Mo, Ni and Co; hormones - indol butyric acid, gibberellic acid and kinetin; and amino acids - glutamic acid, arginine, glycine, methionine and cysteine) with six replications were carried out in a completely randomized design. For the second experiment, six seed treatments (control; micronutrients; hormones; amino acids; micronutrients and hormones; and micronutrients and amino acids) were used in two management systems: conventional system and system for potential productivity, using growth reducer and periodic leaf applications of biological stimulants (twelve treatments with four replications in a randomized blocks design). Based on obtained results, it is concluded that: (i) the seed treatment with micronutrients potentiates the nitrogen assimilation and net photosynthesis, and increases the chlorophyll content (Spad value) and soybean plant growth rate; (ii) the use of amino acids or hormones reduces plant stress level during the initial period of plant growth and increase the dry matter production; (iii) the seed treatment with micronutrients, hormones or amino acids increases chlorophyll content (Spad value); (iv) the system for potential productivity potentiates the physiological activity of plants and, consequently, increases the number of pods per plant and productivity when compared to conventional system; (v) under system for potential productivity, the seed treatment with micronutrients is the most responsive (increases productivity in 18.5%); and (vi) under conventional system, the treatment with micronutrients and amino acids increases the productivity in 80%.

Keywords: Amino acids, Hormones, Micronutrients

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Múltiplas funções da prolina em plantas. Abreviações: APX, ascorbato peroxidase; CAT, catalase; CTE, cadeia transportadora de elétrons, EROS, espécies reativas de oxigênio; GST, glutationa S-transferase. Fonte: Adaptado de Szabados e Savouré (2009).....41
Figura 2 - Vias de conversão do glutamato e lisina em vários metabólitos relacionados à tolerância a estresses. Fonte: Galili et al. (2001).....43
Figura 3 - Visão geral dos receptores do tipo quinase e suas funções. As RLK formam uma grande família de genes em plantas que regulam vários processos incluindo crescimento e desenvolvimento e respostas aos estresses bióticos e abióticos. Fonte: Osakabe et al. (2013) 44
Figura 4 - Mecanismos de ativação da enzima ATPase e inativação da sacarose fosfato sintase (SPS) e nitrato redutase (NR). Fonte: Chung, Sehnke e Ferl (1999) 46
Figura 5 - Processo de ativação da enzima ATPase a partir da proteína 14-3-3, magnésio e fusicocina (FC). Fonte: Chung, Sehnke e Ferl (1999).....47
Figura 6 - Regulação de enzimas pelas proteínas 14-3-3. Fonte: Chung, Sehnke e Ferl (1999) 48
Figura 7 - Emergência (%) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 10 DAS. (* médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro).....65
Figura 8 - Índice de velocidade de emergência (IVE) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina]. (* médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro).....66
Figura 9 - Valores relativos da atividade da enzima nitrato redutase de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 e 50 dias após a emergência (DAE) 67
Figura 10 - Atividade da urease (µmol NH_4 g^{-1} h^{-1}) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 dias após a emergência (DAE). (* médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro).....69

Figura 11 - Teor de prolina (µmol de prolina g^{-1} MF) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 dias após a emergência (DAE). (* médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro) 71
Figura 12 - Atividade da superóxido dismutase (SOD, U µg $proteína^{-1}$) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 dias após a emergência (DAE). (* médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro) 72
Figura 13 - Atividade da catalase (CAT, µmol min^{-1} µg $proteína^{-1}$) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 dias após a emergência (DAE). (* médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro) 73
Figura 14 - Atividade da peroxidase (POD, µmol purpurogalina min^{-1} mg $proteína^{-1}$) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 dias após a emergência (DAE). (* médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro) 74
Figura 15 - Peroxidação de lipídios (PL, nmol TBARS g^{-1} MF) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 dias após a emergência (DAE). (* médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro) 75
Figura 16 - Valores relativos do valor Spad de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 e 50 dias pós a emergência (DAE) 77
Figura 17 - Fotossíntese líquida (µmol CO_2 m^{-2} s^{-1}) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 dias após a emergência (DAE). (* médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro) 78

Figura 18 - Taxa de crescimento de raízes (TCR, g planta^{-1} dia^{-1}) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 e 50 dias após a emergência (DAE) 80
Figura 19 - Taxa de crescimento de caule (TCC, g planta^{-1} dia^{-1}) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 e 50 dias após a emergência (DAE)..... 82
Figura 20 - Taxa de crescimento de folhas (TCF, g planta^{-1} dia^{-1}) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 e 50 dias após a emergência (DAE) 83
Figura 21 - Massa de matéria seca total relativa de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 e 50 dias após a emergência (DAE)..... 85
Figura 22 - Área foliar relativa de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 e 50 dias após a emergência (DAE) 86
Figura 23 - Atividade da superóxido dismutase (SOD, U µg proteína^{-1}) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. Valores referentes aos 26 DAE e 4 DAA de organominerais no estádio V_4. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)..... 89
Figura 24 - Atividade da superóxido dismutase (SOD, µg proteína^{-1}) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. Valores referentes aos 5 DAA do Lactofen e 2 DAA de organominerais no estádio V_7. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro) 90
Figura 25 - Atividade da catalase (CAT, µmol min^{-1} µg proteína^{-1}) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. Valores referentes aos 26 DAE e

4 DAA de organominerais no estádio V_4. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro) 91
Figura 26 - Atividade da catalase (CAT, µmol min^{-1} µg $proteína^{-1}$) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. Valores médios entre os dados de 3 DAA do Lactofen e 2 DAA de organominerais no estádio V_7. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro) 92
Figura 27 - Atividade da peroxidase (POD, µmol purpurogalina min^{-1} mg $proteína^{-1}$) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. Valores referentes aos 26 DAE e 4 DAA de organominerais no estádio V_4. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro) 93
Figura 28 - Atividade da peroxidase (POD, µmol purpurogalina min^{-1} mg $proteína^{-1}$) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. Valores médios entre os dados de 3 DAA do Lactofen e 2 DAA de organominerais no estádio V_7. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro) 94
Figura 29 - Peroxidação de lipídios (PL, nmol TBARS g^{-1} MF) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. Valores referentes aos 26 DAE e 4 DAA de organominerais no estádio V_4. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro) 95
Figura 30 - Peroxidação de lipídios (PL, nmol TBARS g^{-1} MF) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. Valores médios entre os dados de 3 DAA do Lactofen e 2 DAA de organominerais no estádio V_7. (* letras maiúsculas referem-se à

comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro) 96
Figura 31 - Atividade da nitrato redutase (ANR, µg $N\text{-}NO_2$ g^{-1} MF h^{-1}) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. Valores referentes aos 26 DAE e 4 DAA de organominerais no estádio V_4. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro) 97
Figura 32 - Atividade da nitrato redutase (ANR, µg $N\text{-}NO_2$ g^{-1} MF h^{-1}) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. Valores médios entre os dados de 3 DAA do Lactofen e 2 DAA de organominerais no estádio V_7. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro) 99
Figura 33 - Atividade da urease (µmol NH_4 g^{-1} h^{-1}) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. Valores referentes aos 26 DAE e 4 DAA de organominerais no estádio V_4. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro) 100
Figura 34 - Atividade da urease (µmol NH_4 g^{-1} h^{-1}) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. Valores médios entre os dados de 3 DAA do Lactofen e 2 DAA de organominerais no estádio V_7. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro) 101
Figura 35 - Teor de prolina (µmol de prolina g^{-1} MF) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. Valores referentes aos 26 DAE e 4 DAA de organominerais no estádio V_4. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras

minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro) 102
Figura 36 - Teor de prolina (µmol de prolina g^{-1} MF) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. Valores médios entre os dados de 3 DAA do Lactofen e 2 DAA de organominerais no estádio V_7. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro) 103
Figura 37 - Valor SPAD de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. Valores referentes aos 26 DAE e 4 DAA de organominerais no estádio V_4. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro) 104
Figura 38 - Valor SPAD de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. Valores médios entre os dados de 3 DAA do Lactofen e 2 DAA de organominerais no estádio V_7. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro) 105
Figura 39 - Fotossíntese líquida (µmol CO_2 m^{-2} s^{-1}) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. Valores referentes aos 27 DAE e 5 DAA de organominerais no estádio V_4. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro) 106
Figura 40 - Fotossíntese líquida (µmol CO_2 m^{-2} s^{-1}) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. Valores referentes ao 1 DAA do Lactofen no estádio V_7. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro) 107

Figura 41 - Número total de vagens (NTV) produzidas por plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro).....108
Figura 42 - Massa de 1000 grãos (M1000, g) produzidos por plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro).....109
Figura 43 - Produtividade (kg ha^{-1}) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro).....110

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Descrição da solução nutritiva utilizada na cultura da soja, cultivar NA-7255-RR. Patos de Minas-MG, 2013 54
Tabela 2 - Descrição dos tratamentos de sementes utilizados na cultura da soja, cultivar NA-7255-RR. Patos de Minas-MG, 2013 54
Tabela 3 - Descrição do manejo adotado na cultura da soja, NS-8490-RR. Patos de Minas, MG, 2013 55
Tabela 4 - Descrição dos tratamentos de sementes (Inseticida + Fungicida, Micronutrientes, Hormônios e Aminoácidos) e sistemas de manejo (Aplicação foliar) utilizados na cultura da soja, cultivar NS-8390-RR 57
Tabela 5 - Atividade da nitrato redutase (ANR, µg $N\text{-}NO_2$ g^{-1} FV h^{-1}) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 e 50 dias após a emergência (DAE) 68
Tabela 6 - Valor Spad de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 e 50 dias após a emergência (DAE) 77
Tabela 7 - Taxa de crescimento de raízes (TCR, g $planta^{-1}$ dia^{-1}) plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 e 50 dias após a emergência (DAE) 81
Tabela 8 - Taxa de crescimento de caule (TCC, g $planta^{-1}$ dia^{-1}) plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 e 50 dias após a emergência (DAE) 82
Tabela 9 - Taxa de crescimento de folhas (TCF, g $planta^{-1}$ dia^{-1}) plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 e 50 dias após a emergência (DAE) 83
Tabela 10 - Massa de matéria seca total (MMST, g $planta^{-1}$) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 e 50 dias após a emergência (DAE) 85

Tabela 11 - Área foliar (AF, cm^2 $planta^{-1}$) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 e 50 dias após a emergência (DAE)..... 87

1 INTRODUÇÃO

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é a espécie mais cultivada em todo o mundo, sendo que aproximadamente 80% da produção está concentrada em três países: Estados Unidos, Brasil e Argentina (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA, 2013). Nestes, a produtividade média não ultrapassa os 4000 kg ha^{-1}, distante ainda do potencial genético da planta, que pode chegar a 18.000 kg ha^{-1} (300 sacas ha^{-1}) (VENTIMIGLIA et al., 1999).

O potencial produtivo da cultura é regido por características genéticas das sementes. No entanto, devido às condições do ambiente de cultivo, como temperatura, regime hídrico, fotoperíodo, fatores químicos e físicos do solo, competição com outras plantas, entre outras, ocorre depleção na produtividade, chegando aos valores médios obtidos atualmente.

Em algumas pesquisas tem se observado recordes de produtividade de 10760 kg ha^{-1}, indicando a possibilidade de explorar as características genéticas da cultura (HAEGELE; BELOW, 2013). Dessa forma, o manejo fisiológico tem sido uma das apostas dos pesquisadores para tal fato.

A exploração das características genéticas a partir da potencialização da fisiologia das plantas não é recente. Desde 1960 trabalha-se com bases fisiológicas com o objetivo de aumentar a produtividade (MURATA, 1969). Atualmente, adaptações foram feitas, levando em consideração práticas como a indução de estresses em alguns períodos, potencialização da ramificação das plantas (SCHON; BLEVINS, 1990; GRAHAM, 2005), reorganização do metabolismo pela aplicação de bioestimulantes (KHAN et al., 2009; CRAIGIE, 2011), dessa forma, aumentando a eficiência e melhorando a produtividade. Em relação a isso tem buscado maximizar o uso de carbono (C) e nitrogênio (N) através de incrementos na taxa fotossintética, na eficiência da nutrição e regulação hormonal (ZHU; LONG; ORT, 2010, EVANS, 2013). Entretanto, os trabalhos realizados são pouco específicos e são baseados em resposta pontuais referentes a poucas e específicas situações quanto ao clima e solo.

Dentre os bioestimulantes, tem se destacado no mercado os extratos de algas, hormônios sintéticos e subprodutos de fermentações. Os extratos de algas contêm vários compostos capazes de promover o crescimento de plantas, entre eles aminoácidos e hormônios. Hormônios sintéticos desempenham funções que regulam todo o desenvolvimento das plantas, enquanto que muitas substâncias, entre elas, aminoácidos estão presentes em subprodutos de fermentações. Além disso, a suplementação desses bioestimulantes pode ser realizada pela adição de micronutrientes, especialmente zinco (Zn^{2+}), manganês (Mn^{2+}), molibdênio (MoO_4^{-2}) e níquel (Ni^{2+}), boro ($H_3BO_3^-$) e cobalto (Co^{2+}). Estes, na germinação,

são importantes, pois, Zn^{2+}, $H_3BO_3^-$ e Co^{2+} regulam o desenvolvimento de raízes secundárias, MoO_4^{-2}, Ni^{2+} e Mn^{2+} atuam na degradação das reservas das sementes e o cobalto além das funções do MoO_4^{-2} e Co^{2+} na futura indução da fixação biológica do nitrogênio.

A análise de algumas enzimas pode ser um fator importante para determinar a condição fisiológica da planta. Em células de plantas, enzimas antioxidantes como a superoxidase dismutase (SOD), peroxidase (POD) e catalase (CAT) são consideradas ferramentas de defesa de proteção contra estresse oxidativo (MITTLER, 2002). O incremento da atividade da SOD, POD e CAT tem relação direta à tolerância de plantas a estresses ambientais, como estresses salinos (RAHNAMA; BRAHIMZADEH, 2005; AZEVEDO NETO et al., 2006; KOCA et al., 2007).

No entanto, ainda são necessários estudos que comprovem o efeito destes bioestimulantes isolados ou em associação na germinação, emergência e crescimento inicial de plântulas de soja. Pois, em sua grande maioria, não se tem conhecimento sobre a constituição desses produtos e se realmente apresentam capacidade de suprir as necessidades das plantas, o que tornaria indispensável a adição de aminoácidos e micronutrientes.

Dessa forma, objetivou-se (i) entender os efeitos de micronutrientes, aminoácidos e hormônios no tratamento de sementes e (ii) identificar qual o papel de cada um destes tratamentos de sementes, isolados ou conjugados em sistemas de produtividade convencional (SPC) e potencial (SPP - utilização de redutor de crescimento e aplicações periódicas de organominerais foliares).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Aspectos fisiológicos para potencialização da produtividade de soja

Estratégias de manejo fisiológico têm sido direcionadas em três fases do desenvolvimento das plantas, em que a fase I consiste na germinação e desenvolvimento de órgãos para absorção de água, nutrientes e realização da fotossíntese. A fase II é representada pela formação das flores e das vagens e a fase III consiste na produção, acumulação e translocação dos componentes da produtividade (MURATA, 1969).

2.1.1 Fase I – Crescimento inicial

A fase I inicia com a germinação, a partir da absorção de água, a qual além de ativar o ácido giberélico, reativa toda a maquinaria metabólica da semente. A partir desse momento, iniciam-se reações de metabolização das reservas contidas nos cotilédones. Para que esse processo seja eficiente, é importante que exista adequada relação C:N, que está relacionada a metabolização de lipídios, açúcares, proteínas e aminoácidos (MARTIN; OSWALD; GRAHAM, 2002). Para que a eficiência desses processos seja maximizada, alguns nutrientes possuem papel relevante, os quais incluem Zn^{2+}, Mn^{2+}, MoO_4^{-2}, Ni^{2+}, $H_3BO_3^-$ e Co^{2+}.

2.1.1.1 Tratamento de sementes com micronutrientes

Normalmente o tratamento de sementes com micronutrientes tem sido realizado com o objetivo de potencializar a fixação biológica do nitrogênio (FBN). Nesse sentido, vários trabalhos têm sido realizados caracterizando os efeitos benéficos do molibdênio (Mo) e cobalto (Co) na FBN, quando utilizados via tratamento de sementes (CAMPO; ALBINO; HUNGRIA, 2002; LANA et al., 2009; SFREDO; OLIVEIRA, 2010, DOURADO NETO et al., 2012).

2.1.1.1.1 Molibdênio

O molibdênio é um nutriente de transição que na planta apresenta-se na forma de oxi-ânion molibdato (MoO_4^{2-}). Este nutriente atua como componente metal de enzimas na forma de Mo(IV) e Mo(V). Algumas atividades fisiológicas são atribuídas a esse nutriente devido a sua função de cofator. As enzimas que dependem do Mo podem utilizá-lo com funções estruturais, catalíticas e indiretamente em reações redox (MARSCHNER, 2012).

Quando comparado com outros micronutrientes, a taxa de absorção de Mo em plantas de soja durante as primeiras quatro semanas após a germinação é muito baixa, sendo necessária translocação deste principalmente das sementes (ISHIZUKA, 1982). Tal característica demostra a importância da aplicação do mesmo em sementes ou diretamente no sulco de semeadura.

No processo de germinação o Mo é requerido em várias etapas. Uma delas se refere a manutenção e proteção das estruturas membranas durante o processo de hidratação das células (MARSCHNER, 2012). Nesse momento também se inicia a atividade de diversas enzimas antioxidantes, uma vez que ocorre uma explosão oxidativa devido à reativação metabólica (RAJJOU et al., 2012). Alguns autores têm relacionado a produção de ABA catalisado pela enzima aldeído oxidase (AO) durante a germinação (TAIZ; ZEIGER, 2010). A AO catalisa o conversão de ABA-aldeído para ácido abscísico (ABA) e de indol-3-acetaldeído para o ácido indol acético (AIA), últimos passos nas vias de síntese do ABA e AIA, respectivamente (NAMBARA; MARION-POLL, 2005, MANO; NEMOTO, 2012). As concentrações destes hormônios são críticas para a germinação e o crescimento das plantas. Dentre todas as funções do AIA, o seu papel na divisão e expansão celular e na formação de raízes laterais talvez sejam os mais importantes nesse momento. Durante a germinação e o crescimento das plântulas, ocorrem rápidas alterações morfológicas e aparecimento de novas estruturas, as quais são dependentes da divisão e expansão celular. Já a formação de raízes laterais é importante por tornar maior a área de absorção de água e nutrientes pelas plantas, tornando estas menos suscetíveis a estresses. O ABA, nesse caso desempenha funções relacionadas a aumento da tolerância a estresses (RAJJOU et al., 2012). Além disso, trabalhos recentes evidenciam que a sinalização do ABA é necessária para a auxina mediar o crescimento radicular (DING; SMET, 2013).

O Mo também atua na enzima xantina dehidrogenase (XDH), a qual desempenha um papel importante na metabolização de reservas de N contidas em moléculas orgânicas, as quais incluem as bases nitrogenadas do tipo purina. Os primeiros passos em comum na via de metabolização de todas as purinas é a transformação de xantina em urato pela enzima XDH (SCHWARZ; MENDEL, 2006; WERNER; WITTE, 2011). As reservas provenientes desta via são de suma importância para o crescimento das plântulas, como foi observado por Quiles et al. (2009) quando aplicaram alupurinol para inibir a ação desta enzima em plântulas de feijão.

No tratamento de sementes, o uso de Mo é usual devido a sua atuação na FBN e na assimilação de NO_3^- via enzima nitrato redutase.

A enzima nitrato redutase é responsável pela redução do nitrato absorvido do solo a nitrito ($NO_3^- + NADP(H) + H^+ + 2e^- \rightarrow NO_2^- + NAD(P) + H_2O$). Através da nitrito desidrogenase, o nitrito é transformado em NH_4^+ ($NO_2^- + 6Fdred + 8H^+ + 6e^- \rightarrow NH_4^+ + 6Fdox + 2H_2O$) e incorporado em esqueletos carbônicos para formação de aminoácidos. A nitrato redutase é uma enzima dímera com três grupos prostéticos de transferência de elétrons

por subunidade, a flavina (FAD), heme e molibdênio (CAMPBELL, 1999; TAIZ; ZIEGER, 2010). Em cevada (*Hordeum vulgare*), a qual reduz na raiz alta proporção do nitrato absorvido, aproximadamente 23% da energia vinda da respiração das raízes é requerida para a absorção (5%), redução (15%) e assimilação do nitrogênio reduzido (3%), enquanto que apenas 14% é utilizado quando as plantas foram supridas com amônio (BLOOM, SUKRAPANNA; WARNER, 1992; MARSCHNER, 2012).

No metabolismo de fixação biológica de espécies nodulantes, o molibdênio faz parte da enzima nitrogenase, enzima responsável pela fixação de N_2. A nitrogenase possui duas proteínas, sendo uma delas constituída por quatro subunidades com 30 átomos diferentes e dois átomos de Mo. A nitrogenase é a enzima chave em microorganismos fixadores de N_2 (REES et al., 2005).

2.1.1.1.2 Cobalto

O cobalto foi um dos nutrientes inicialmente relacionados com a fixação biológica de N. Hoje já se tem relatos de sua ação em outras rotas que estão diretamente relacionadas ao desenvolvimento da planta.

Em relação a fixação biológica, os primeiros estudos iniciaram em1963 por Kliewer e Evans. Os pesquisadores isolaram a coenzima cobalamina B_{12} em nódulos de plantas leguminosas e verificaram a sua relação com a formação da leghemoglobina. A coenzima cobalamina tem o cobalto como o metal de constituição, quelatado a quatro nitrogênios direcionados ao centro por anéis de porfirina (KLIEWER; EVANS, 1963).

Na fixação biológica de N_2 a leghemoglobina apresenta uma função importante. Para que ocorra a fixação biológica de nitrogênio é necessário que a nitrogenase se encontre em condições anaeróbicas. Os nódulos possuem uma heme proteína chamada leghemoglobina que se liga ao oxigênio que está presente em altas concentrações nos nódulos. A planta produz a porção globina em resposta à infecção da bactéria, tendo esta proteína uma alta afinidade por O_2. Tanto a leghemoglobina como a barreira de difusão de oxigênio no nódulo são reguladores importantes na tensão de oxigênio no nódulo protegendo o complexo enzima nitrogenase que é irreversivelmente inativado pelo oxigênio (MYLONA; PAWLOWSKI; BISSELING, 1995).

O uso de cobalto no tratamento de sementes torna-se necessário em solos deficientes neste nutriente, embora a aplicação foliar seja bastante efetiva. O maior efeito pode ser observado com a combinação do tratamento de sementes e aplicação foliar com cobalto (MARSCHNER, 2012).

Em *Rizhobium* e *Bradyrhizobium,* três enzimas foram identificadas como sendo dependentes de cobalamina e ativadas por cobalto. A metionina sintetase (envolvida na síntese de proteínas), dehalogenase redutiva de pendente de B_{12} e a metilmalonil coenzima A mutase (envolvida na síntese de grupos heme) (ZHANG; GLADYSHEV, 2009).

Outra função atribuída ao Co é a inibição da enzima ácido 1-aminociclopropano 1-carboxílico oxidase (ACC oxidase), precursora da síntese de etileno. Embora o etileno induza a germinação de várias espécies devido a inibição do ABA, a síntese demasiada deste hormônio reduz a germinação e o crescimento de plântulas, através do aumento na produção de espécies reativas de oxigênio, que causam efeitos deletérios às sementes e plântulas (TAIZ; ZEIGER, 2010).

Trabalhos recentes tem revelado novo papel do Co em plantas. Segundo Xu et al. (2011), o Co poderia promover a formação de raízes laterais. De acordo com Hsu, Chao e Kao (2013), o Co ativa as enzimas heme oxigenases, as quais medeiam resposta auxínica, induzindo a formação de raízes laterais. Isto torna este nutriente um grande potencializar de enraizamento, auxiliando assim na absorção de água e nutrientes nas fases iniciais de crescimento das plântulas.

2.1.1.1.3 Zinco

O zinco, depois do ferro, é considerado um dos metais de transição mais abundantes dos organismos vivos (ALLOWAY, 2009). A sua absorção ocorre principalmente na forma divalente (Zn^{2+}). É transportado no xilema a longas distância na forma iônica ou ligado a ácidos orgânicos (MARSCHNER, 2012).

As funções metabólicas do Zn estão ligadas a sua forte tendência de formar complexos tetraédricos com o nitrogênio e oxigênio e particularmente em ligações com o enxofre (S-ligações) por meio do qual desempenha um papel funcional (catalítico) e estrutural em reações enzimáticas (VALLEE; AULD, 1990).

Durante o processo de germinação, a retomada do metabolismo induz a expressão de diversos genes, os quais codificam proteínas e enzimas necessárias para e remobilização das reservas e crescimento da plântula. Esses processos realçam a importância do Zn nas sementes (MARSCHNER, 2012).

O Zn desempenha diversas funções, principalmente como agente funcional (catalítico) e estrutural em reações enzimáticas. Como função catalítica, o Zn é requerido para ativar diversas enzimas, entre elas aquelas envolvidas no metabolismo do DNA e RNA. A divisão celular, síntese de proteínas, replicação e transcrição do DNA e, dessa forma, a regulação da expressão gênica são etapas metabólicas que requerem proteínas dependentes do Zn. Além

disso, o Zn é um componente estrutural dos ribossomos e essencial para a sua integridade estrutural e, assim, desempenha papel fundamental na síntese de proteínas (MARSCHNER, 2012).

Diversas enzimas contém Zn, entre elas a CuZn-superóxido dismutase (CuZn-SOD), na qual, provavelmente, o Cu representa o metal componente catalítico e o Zn o estrutural (MARSCHNER, 2012). A enzima CuZn-SOD remove o radical superóxido ($O_2 \cdot^-$) produzido no citoplasma e nos cloroplastos, reduzindo-o à H_2O_2 e O_2 (GILL; TUTEJA, 2010). Elevadas quantidades de espécies reativas de oxigênio são produzidas no início do processo germinativo, devido à reativação do metabolismo e o incremento na respiração (RAJJOU et al., 2012).

O Zn também atua na síntese do triptofano (Trp), aminoácido precursor do ácido indol acético (AIA, auxina endógena). As auxinas são importantes no processo germinativo, pois são sinalizadoras para a divisão e expansão celular. No processo de biossíntese das auxinas, várias vias são descritas, sendo estas dependentes ou não do Trp. As rotas da triptamina (TAM) e a do ácido indol-3-pirúvico (AIP), as quais são dependentes do Trp, são as que contribuem pela maior parte do AIA sintetizado (TAIZ; ZEIGER, 2010). Segundo Tao et al. (2008), o mutante *taa1*, o qual apresenta falha em produzir uma proteína homóloga a uma aminotransferase que catalisa a produção de AIP a partir do Trp, contém 60% menos AIA livre. No entanto, pouco se sabe sobre a importância de cada rota na biossíntese de auxina. O tipo de rota para a produção de AIA varia entre tecidos e fases de desenvolvimento e, a existência de várias rotas é justificada pela importância desses hormônios para as plantas (TAIZ; ZEIGER, 2010).

2.1.1.1.4 Manganês

O manganês possui vários estados de oxidação que varia de I a VII. Em sistemas biológicos ocorre o predomínio dos estados II, III e IV, sendo o Mn II e Mn IV os mais estáveis e o Mn III o mais instável (HUGHES; WILLIAMS, 1988). Nas plantas o estado de oxidação Mn II ou Mn^{2+} é o mais predominante, mas pode ser facilmente oxidado a Mn III e Mn IV, característica que o torna um nutriente com papel importante em reações redução e oxidação no processo fotossintético. O manganês também atua como ativador enzimático fazendo parte das metaloenzimas (MARSCHNER, 2012).

Outras funções desempenhadas pelo Mn^{2+} estão relacionadas à metabolização das reservas (WERNER; WITTE, 2011) e à desintoxicação de radicais livres produzidos pela retomada do metabolismo (GILL; TUTEJA, 2010). Tal característica pode ser relevante

durante a germinação, uma vez que esta é similar a função relatada para o zinco (MARSCHNER, 2012).

No processo germinativo o manganês é requerido durante a hidratação de sementes. Nesta etapa observa-se incremento na atividade metabólica e respiratória, permitindo a mobilização de carbono e nitrogênio, que são utilizados como energia para suportar a germinação e o crescimento inicial da plântula, até que esta se torne autotrófica (RAJJOU et al., 2012). Embora os ureídeos não acumulem em grandes proporções nas sementes, a degradação das purinas leva ao acúmulo de ureídeos nos cotilédones (STREETER, 2005). A degradação destes requer a ativação de enzimas como alantoína amidohidrolase, alantoato amidohidrolase e ureidoglicolato amidohidrolase, as quais são ativadas por Mn^{2+} (WERNER; WITTE, 2011).

A retomada do metabolismo respiratório pela embebição das sementes induz a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), situação que torna essa etapa também dependente do Mn^{2+} (RAJJOU et al., 2012). Isso porque, 2-3% do oxigênio usado pela mitocôndria resulta na produção do radical superóxido ($O_2^{-\cdot}$) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Estas ROS causam efeitos deletérios às membranas celulares, reduzindo o potencial das sementes em formar plântulas de alto vigor. A detoxificação destas ERO é realizada por diversas vias, sendo que uma delas é a utilização da enzima Mn-SOD, a qual converte o radical $O_2^{-\cdot}$ em H_2O_2 (GILL; TUTEJA, 2010).

Na germinação ocorre a síntese de várias proteínas oriundas de reservas de aminoácidos ou de outras proteínas. Porém, para que este processo seja efetivo é necessária a expressão de genes específicos que atuam na formação e funcionamento de tecidos. O Mn^{2+} desempenha papel fundamental nesse processo por ativar a enzima RNA polimerase. No processo de remobilização de N, o Mn^{2+} também é necessário como ativador enzimático (MARSCHNER, 2012). Essa função está ligada diretamente com a arginina. Em média, 17,3% do N está presente na arginina (VAN ETTEN et al., 1967). Em cotilédones de soja, a arginina constitui 18% do N proteico e 60% do N presente nos aminoácidos (MICALLEF; SHELP, 1989). A sua degradação é realizada por uma enzima denominada arginase, a qual requer Mn para a sua ativação (MARSCHNER, 2012).

Além destas, outras funções também são desempenhadas pelo Mn^{2+}, as quais tem maior relevância no início do desenvolvimento vegetativo quando o aparato fotossintético é formado. Nestas funções inclui a fotólise da água durante a fotossíntese, a participação na via de formação das clorofilas, ativação das enzimas isocitrato dehidrogenase, enzima málica,

PEP carboxiquinase, e algumas enzimas da via do metabolismo, como a fenilalanina-amônio-liase (PAL) (MARSCHNER, 2012).

2.1.1.1.5 Boro

O boro é um átomo de pequeno tamanho e com apenas três valências, mas de extrema relevância para a fisiologia de plantas. O transporte ocorre via fluxo transpiratório, acumulando-se nos pontos de crescimento. Esse nutriente faz parte dos elementos do grupo dos metalóides, sendo, de acordo com suas propriedades, intermediário entre metais e não metais (MARSCHNER, 2012).

O ácido bórico e o borato são as principais formas ativas nas plantas que podem reagir com vários tipos de moléculas biológicas. Em condições biológicas normais, as moléculas disponíveis para realizar ligações com o boro excede a concentração do mesmo. Normalmente o boro forma ligações ésteres com compostos mono, di e polihidroxi (BROWN et al., 2002).

O papel do boro na nutrição de plantas ainda é pouco conhecido em relação aos demais micronutrientes. A falta de informações é surpreendente, uma vez que, considerando-se em base molar o B é o micronutriente mais requerido entre as dicotiledôneas. Esse mecanismo provavelmente está relacionado às diversas funções atribuídas ao nutriente que são: (i) transporte de açúcares; (ii) síntese da parede celular; (iii) metabolismo de carboidratos; (iv) metabolismo de RNA; (v) respiração celular; (vi) metabolismo do ácido indol acético; (vii) metabolismo de fenóis e (viii) estabilidade de membranas (BROWN et al., 2002; MARSCHNER, 2012).

A utilização de boro em sementes ainda é considerada uma inovação em manejo de culturas para alcançar elevados patamares produtivos. Alguns trabalhos, como os realizados por Farooq, Wahid e Siddique (2012) e Atique-Ur-Rehman et al. (2013) em arroz (*Oryza sativa* L.), tem revelado a potencialidade desta técnica.

As funções críticas para a germinação e o crescimento inicial de plântulas são as relacionadas com o aparecimento de novas estruturas que são extremamente dependentes da formação de paredes celulares e da utilização de açúcares transportados. Em relação a parede celular, o B está intimamente ligado a formação de complexos com as pectinas e polissacarídeos da parede celular, estabilizando-a, sendo que a deficiência de B provoca má formação de paredes. O B também forma complexos açúcar-borato, facilitando o transporte de açúcares. A deficiência de B está associada com várias alterações morfológicas e mudanças na diferenciação dos tecidos, similar a aquelas observadas em concentrações sub ou supra ótimas de AIA (BLEVINS; LUKASZEWSKI, 1998; BROWN et al., 2002; MARSCHNER, 2012).

A síntese de AIA é controlada pelo B. Este elemento regula a formação da AIA oxidase, a qual controla o nível de AIA nos tecidos. Desta forma a deficiência de B ocasiona um acréscimo na concentração de AIA diminuindo na formação e expansão de células durante a germinação, bem como, a emissão de raízes secundárias durante a emergência e desenvolvimento inicial (TAIZ; ZEIGER, 2010).

Evidências também têm sido apresentadas sobre o papel do B no metabolismo oxidativo celular. Estreita relação tem sido observada entre o B e o ciclo ascorbato/glutationa. Deficiência de B reduz drasticamente os níveis de ascorbato e glutationa, por inibir a atividade da ascorbato peroxidase e glutationa redutase, as quais atuam na redução de estresses abióticos e bióticos durante a germinação, emergência e crescimento inicial de plântulas (MARSCHNER, 2012).

2.1.1.1.6 Níquel

O níquel é absorvido pelas plantas na forma bivalente (Ni^{2+}). Sua função nas células é quimicamente semelhante às funções do cobalto e ferro. O Ni^{2+} pode formar complexos estáveis com a cisteína e citrato (THAUER; DIEKERT; SCHÖNHEIT, 1980) e se ligar a enzimas ativando-as.

O teor normal de Ni^{2+} na matéria seca de plantas varia de 0,1 a 5 mg kg^{-1}, dependendo da espécie, parte da planta, estágio de maturidade na época de amostragem, teor no solo, acidez do solo entre outros fatores (MITCHELL, 1945). Em geral, a toxidez de Ni se expressa quando a sua concentração na matéria seca das plantas for maior que 50 mg kg^{-1}, com exceção das espécies acumuladoras e hiperacumuladoras (ADRIANO, 1986).

O Ni foi o último micronutriente a ser incluído na lista daqueles essenciais para as plantas (BROWN; WELCH; CARY, 1987). Este nutriente é requerido como cofator da urease em plantas (WITTE, 2011). Embora os ureídeos não acumulem em grandes proporções nas sementes, a degradação das purinas leva ao acúmulo de ureídeos nos cotilédones (STREETER, 2005). A degradação destes envolve a liberação de ureia, a qual é catalisada pela urease em amônia (NH_3) (TODD et al., 2006; MUNÕZ et al., 2011; WERNER; WITTE, 2011).

A arginina é outra forma de armazenamento de nitrogênio em sementes de soja. Trabalhos mostram que a arginina representa, em média, 17,3% no N total em sementes de soja. A degradação da arginina através da arginase envolve a liberação de ureia e ornitina. A ureia e catalisada pela urease, a qual requer como cofator o Ni (WITTE, 2011).

Trabalhos também tem relatado o efeito do Ni na redução da síntese de etileno. Segundo Lau e Yang (1976), o Ni poderia inibir a atividade da enzima ácido 1-carboxílico-1-amino ciclopropano oxidase (ACC oxidase), e dessa forma, reduzir a síntese de etileno.

2.1.1.2 Uso de bioestimulantes em plantas: aminoácidos e hormônios

2.1.1.2.1 Aminoácidos

Os aminoácidos são formados por grupamentos carboxílicos (COO^-), amina (NH_2) e pela cadeia lateral (R). Os aminoácidos são ligados por ligações peptídicas. A ligação peptídica entre dois aminoácidos (Aa) é um exemplo especial de uma ligação do amido flanqueada em ambos os lados por átomos do carbono 1. Os aminoácidos são classificados em alifáticos, aromáticos, com ramificação C-Beta e com cargas residuais negativas e positivas (BUCHANAN; GRUISSEM; JONES, 2000).

Os aminoácidos são moléculas orgânicas essenciais no metabolismo primário e secundário de plantas. Alguns servem para assimilar e transportar N de órgãos fontes para drenos, outros são precursores para a síntese de metabólitos secundários, como é o caso de hormônios e moléculas de defesa (BUCHANAN; GRUISSEM, JONES, 2000). Existe um grupo de aminoácidos que atuam na sinalização ou na ligação de moléculas sinalizadoras. Normalmente isso ocorre entre proteínas, como é o caso da proteína 14-3-3 e o resíduo de serina encontrada na estrutura CoMo da enzima nitrato redutase (CHUNG; SEHNKE; FERL, 1999; DeLILLE; SEHNKE; FERL, 2011).

O sucesso da germinação depende das características bioquímicas e fisiológicas da semente. Um dos pontos chaves para esse sucesso são as reservas armazenadas durante a formação e maturação da semente, que se referem principalmente as proteínas, lipídeos (normalmente triglicerídeos) e carboidratos (amido) (GALLARDO; THOMPSON; BURSTIN, 2008).

A energia armazenada na semente é usada para a fase heterotrófica que corresponde a germinação e estabelecimento da plântula. Na cultura de soja são observadas elevadas concentrações de proteínas (40%). No entanto, existe uma deficiência em aminoácidos sulforados [Cisteína e metionina (2%)] e o triptofano (1%), a qual pode afetar diretamente a germinação e estabelecimento de plântulas, uma vez que, aminoácidos são compostos primordiais para formação de novos tecidos e moléculas sinalizadoras e hormonais (GALLARDO; THOMPSON; BURSTIN, 2008; RAJJOU et al., 2012).

A suplementação de aminoácidos é extremamente relevante, principalmente ácido glutâmico, por ser base de formação para vários outros, arginina, a qual contém grande reserva de nitrogênio (BUCHANAN; GRUISSEM; JONES, 2000), glicina, que, de acordo

com alguns autores (MARSCHNER, 2012), faz parte de uma das vias de biossíntese das clorofilas e metionina e cisteína, os quais estão contidos em quantidades mínimas em sementes de soja (GALLARDO; THOMPSON; BURSTIN, 2008).

Outros aminoácidos também desempenham suas funções específicas. O triptofano pode ser utilizado na formação do ácido indol acético (AIA) (ZHAO, 2010), a fenilalanina participa das vias de formação de substâncias de defesas em plantas, além de ser precursora da formação do ácido salicílico (MAEDA; DUDAREVA, 2012), a prolina é importante na tolerância das plantas a estresses, sendo que esta é encontrada em altas concentrações quando as plantas estão submetidas a estresses (VERBRUGGEN; HERMANS, 2008; SZABADOS; SAVOURÉ, 2010).

No entanto, a maioria dos trabalhos existentes não trazem descritos quais os aminoácidos foram utilizados. Normalmente são utilizados produtos comercias à base de aminoácidos, porém sem conhecimento de quais são estes. Portanto, a utilização de aminoácidos no tratamento de sementes pode desempenhar diversos papéis que serão apresentados nos itens abaixo:

2.1.1.2.1.1 Atenuação de vários tipos de estresses

Alguns trabalhos tem relatado o papel de alguns aminoácidos específicos na tolerância de plantas a estresses abióticos. Por exemplo, Mehta e Gaur (1999) observaram um acréscimo na concentração de prolina, prevenindo assim a peroxidação lipídica induzida pela intoxicação por metal pesado. Já Sharma e Dietz (2006) constataram um acúmulo de aminoácidos do complexo histidina causada pela hiperacumulação de Ni em plantas acumuladoras.

Além disso, após exposição a metais, muitas vezes plantas sintetizam um conjunto de diversos metabólitos que se acumulam a concentrações na gama de milimolar. Acumulam-se, aminoácidos específicos, tais como prolina e histidina, peptídeos como a glutationa e fitoquelatinas (PC) e as aminas espermina, espermidina, putrescina e nicotianamina (SHARMA; DIETZ, 2006).

A L-arginina é considerado um dos aminoácidos com funcionalidade mais ampla em células vivas. Além de servir como constituinte de proteínas é utilizado como precursor para a biossíntese de poliaminas, agmatina e prolina, bem como moléculas de glutamina e ácido cítrico (LIU et al., 2006). Desta forma, a arginina pode atuar como um potente composto em sistemas antioxidantes, uma vez que, as moléculas derivadas de suas estruturas atuam na redução de ERO em células vegetais.

2.1.1.2.1.2 Aminoácidos atenuadores de estresses

De acordo com Navari-Izzo, Quartacci e Izzo (1990), em condições de estresse hídrico ocorre um decréscimo na síntese e/ou incremento na quebra de proteínas nas células vegetais. Os efeitos do *deficit* hídrico variam de acordo com as espécies, tecido, idade, bem como a natureza, duração e grau. Todas essas variáveis interferem no padrão de aminoácidos produzidos e acumulados (HANSON; HITZ, 1982).

Alguns trabalhos demostram a influência do estresse hídrico no acúmulo de aminoácido em plantas. Stewart e Larher (1980) citam que plantas de modo geral apresentam incremento no acúmulo de aminoácidos em plantas quando mantidas sob *deficit* hídrico como um mecanismo de ajuste no metabolismo do N. Para Navari-Izzo, Quartacci e Izzo (1990) o aumento no acúmulo de aminoácidos em resposta ao *deficit* hídrico resulta no incremento do potencial osmótico ou das reservas de N principalmente para a síntese de proteínas específicas. Esses processos contribuem para a maior tolerância da mesma ao estresse.

O acúmulo de aminoácidos após o estabelecimento do *deficit* hídrico já foi evidenciado em sorgo em estresse moderado com incremento de 32 a 39 mM e de 29 a 45 mM para estresse hídrico severo (JONES; OSMOND; TURNER, 1980). Neste trabalho, os aminoácidos mais incrementados foram o aspartato, glutamato, prolina, alanina e valina. O aumento na concentração destes aminoácidos em folhas também foram observados por Zagdanska (1984) na década de 80 em um trabalho realizado com trigo com estresse hídrico. De acordo com os autores, o acúmulo destes pode auxiliar na manutenção do fluxo de energia nos cloroplastos.

O acúmulo de prolina é considerada uma resposta para vários tipos de estresses, como é o caso de salinidade, baixa temperatura e *deficit* hídrico (SZABADOS; SAVOURÉ, 2010). De acordo com Verbruggen e Hermans (2008), são três as principais razões da utilização da prolina como um sensor de estresses. Primeiro, e principal componente do acúmulo deste aminoácido é o estimulo da síntese de prolina a partir do glutamato. Em segundo lugar, quando a planta está sob estresse, ocorre uma inibição da oxidação de prolina para outros compostos solúveis e a terceira razão seria a inibição da síntese de proteínas (Figura 1).

A conversão metabólica do ácido glutâmico em prolina, e sua consequente oxidação para formação de outras moléculas, ocorre rapidamente em células túrgidas (não estressadas), sugerindo-se assim que a oxidação de prolina atua como um mecanismo de controle para manter baixos níveis de aminoácidos em células túrgidas (STEWART et al., 1977). Entretanto, em tecidos estressados a taxa de oxidação de prolina é drasticamente reduzida, alcançando valores superiores em até 17 vezes a tecidos não estressados (IRIGOYEN;

EMERICH; SÁNCHEZ-DÍAZ, 1992). Outro aminoácido que está relacionado ao estresse hídrico é a metionina. Normalmente a sua concentração aumenta em plantas com *deficit* hídrico, possivelmente devido a sua ação como precursor do etileno (TAIZ; ZEIGER, 2010).

A alteração do potencial osmótico em células causados pela perda de água dispara vários mecanismos celulares. Um dos sistemas que utiliza proteínas osmosensoras é constituído pelo aminoácido histidina. Essa característica torna o aminoácido histidina um candidato potencial para atuar em processos de tolerância ao estresse por *deficit* hídrico (BRAY, 1997).

2.1.1.2.1.2.1 Prolina: aminoácido chave em plantas estressadas

A síntese de prolina apresenta uma via redutiva que requer NADPH para a redução do glutamato para pirrolina 5 carboxilato (P5C) e deste para prolina gerando $NADP^+$ que pode ser utilizado como aceptor de elétrons. A fosforilação do glutamato consome ATP gerando ADP, que é utilizado como aceptor de elétrons na fase fotoquímica da fotossíntese. O incremento na síntese de prolina em condições de estresse em cloroplastos pode manter baixo o nível a taxa de NADPH:$NADP^+$ contribuindo para sustentar o fluxo de elétrons nos fotossistemas reduzindo a fotoinibição e danos ao aparato fotossintético (Figura 1) (HARE; CRESS, 1997).

Em plantas transgênicas de soja, a inibição da biossíntese de prolina e a conversão do NADPH em $NADP^+$ aumenta a sensibilidade da cultura ao estresse hídrico, enquanto que a superexpressão do gene pirrolina 5 carboxilato redutase (P5CR) resulta em uma moderada tolerância à seca, confirmando assim, que a síntese de prolina é importante para manter em baixos níveis a taxa de NADPH:$NADP^+$ durante situações de estresses (DeRONDE et al., 2004).

Na mitocôndria, a prolina apresenta distintas funções protetivas. Após o estresse, pools de prolina supre um potencial redutor para a mitocôndria através da oxidação da mesma através da prolina dehidrogenase (PDH) oferecendo elétrons para a cadeia transportadora contribuindo para suprir a energia para o crescimento (HARE; CRESS, 1997; KAVI-KISHOR et al., 2005). Além disso, a prolina atua na proteção do complexo II da mitocôndria durante o estresse salino estabilizando a respiração mitocondrial (Figura 1) (SZABADOS; SAVOURÉ, 2010).

O metabolismo da prolina também pode estar relacionado ao ácido abscísico. Alguns trabalhos têm revelado que o ABA induz a expressão dos genes P5CS e P5CR durante estresses abióticos (SAVOURÉ et al., 1997; HARE; CRESSS; Van STADEN, 1999; VERSLUES; BRAY, 2006). O ABA é um regulador chave que atua no desenvolvimento de

sementes, promovendo o acúmulo das proteínas LEA (*"Later Embryogenesis Abundant proteins"*) (FINKELSTEIN; GAMPALA; ROCK, 2002; LEHMANN et al., 2010).

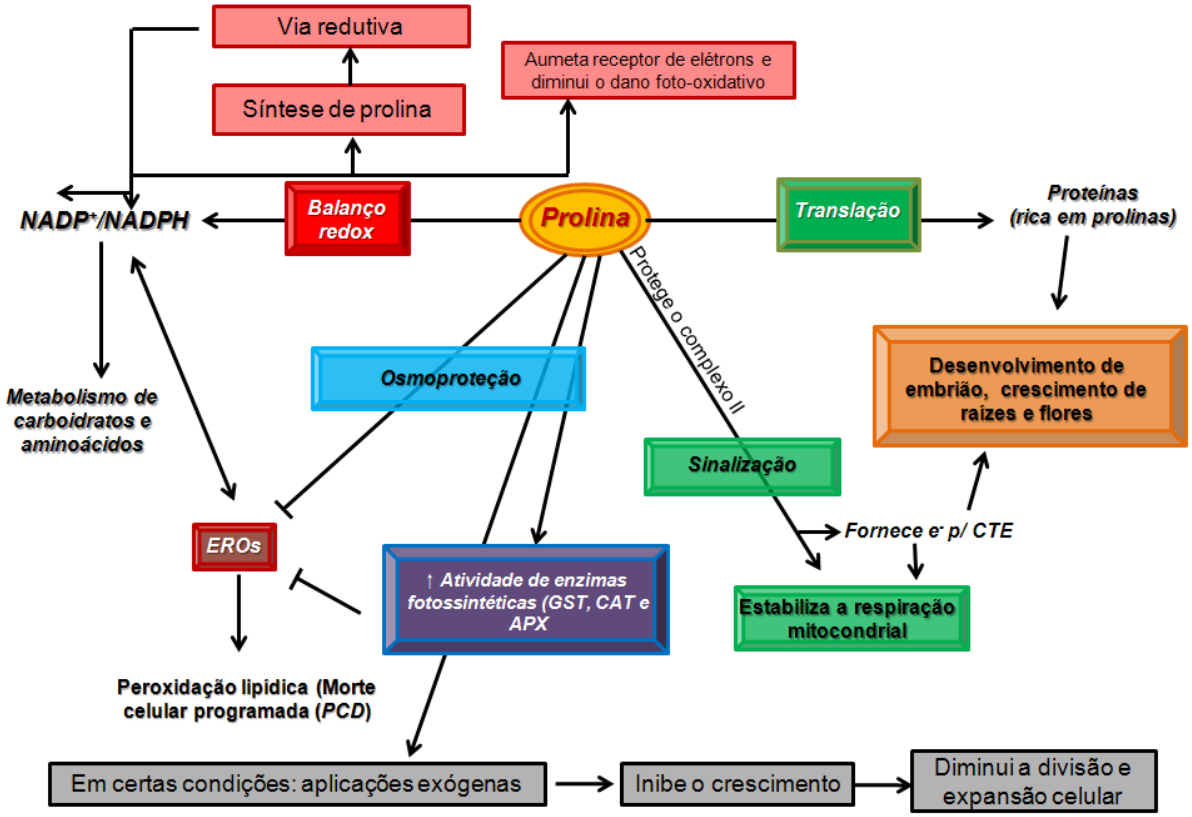

Figura 1 - Múltiplas funções da prolina em plantas. Abreviações: APX, ascorbato peroxidase; CAT, catalase; CTE, cadeia transportadora de elétrons, EROS, espécies reativas de oxigênio; GST, glutationa S-transferase. Fonte: Adaptado de Szabados e Savouré (2009)

A prolina tem sido considerada um dos principais aminoácidos protetores contra estresse. Dentre suas inúmeras funções destacam-se: (*i*) chaperonas moleculares capazes de proteger a integridade de proteínas. Essa função inclui a prevenção da agregação e estabilização da M_4 lactato dehidrogenase durante temperaturas extremas (WELTMEIER et al., 2006), proteção da enzima nitrato redutase em situações de estreses por metais pesados e osmótico (SHARMA; DUBEY, 2005), além da estabilização de ribonucleases e proteases em levadas exposições de arsênio (MISHRA; DUBEY, 2006); (*ii*) vários estudos tem atribuído a prolina a atividade antioxidante, sugerindo assim um potente agente com atividade "scavenging" (desintoxicante) (SMIRNOFF; CUMBES, 1989; MATYSIK et al., 2002). Em algas a prolina diminui a peroxidação lipídica quando exposta a metal pesado (MEHTA; GAUR, 1999). Plantas de arroz com aplicação de prolina antes da intoxicação com mercúrio apresentam menor concentração de H_2O_2. Nestes casos, a produção de oxigênio singlet e

radicais hidroxil são diminuídas pela prolina. Estes podem danificar as membranas dos tilacóides, especialmente aquelas ligadas ao fotossistema II (ALIA; SARADHI; MOHANTY, 1997); (*iii*) durante os períodos de estreses o funcionamento do ciclo de Calvin reduz, prevenindo assim a oxidação de NADPH para a restauração do $NADP^+$. Quando combinado com a luminosidade, o fluxo no transporte de elétrons pode ser suprimido pela insuficiente pool de aceptor de elétrons ($NADP^+$) induzindo assim a produção de oxigênio singlet no centro de reação do fotossistema I, produzindo EROS (CHAVES; FLEXAS; PINHEIRO, 2009; SZABADOS; SAVOURÉ, 2010) (Figura 1).

2.1.1.2.1.2.2 Lisina: aminoácido regulado em condições de estresse

A lisina juntamente com a treonina, metionina e isoleucina, é produzida a partir de uma rota complexa e fortemente regulada, sendo o aspartato o precursor (FORNAZIER et al., 2003).

A lisina é catabolizada em plantas a partir da sacaropina em glutamato, ácido pipecólico e acetil Co-A. Uma das perguntas que ainda necessita de resposta está ligada a necessidade de um transitório e eficiente super-fluxo de catabolismo de lisina. A explicação mais plausível está centrada no glutamato. Este aminoácido serve como precursor primário de três metabólitos importantes com ação anti-estresse (HARE; CRESS, 1997; NUCCIO et al., 1999), a prolina (considerado um forte osmólito); ácido gama aminobutírico, GABA (molécula sinalizadora de estrese) (BAUM et al., 1996) e arginina, a qual tem um papel como precursor potencial de compostos envolvidos na proteção contra estresse como é o caso de poliaminas e óxido nítrico (KLESSIG et al., 2000). Além disso, o ácido pipecólico, outro produto do catabolismo da lisina também atua como um forte osmoprotetor. O glutamato gerado pelo catabolismo da lisina também é utilizado como uma molécula sinalizadora e receptora, regulando o crescimento de plantas e protegendo-as contra ataque de herbívoros (LAM et al., 1998; BRENER et al., 2000; GALILI et al., 2001) (Figura 2).

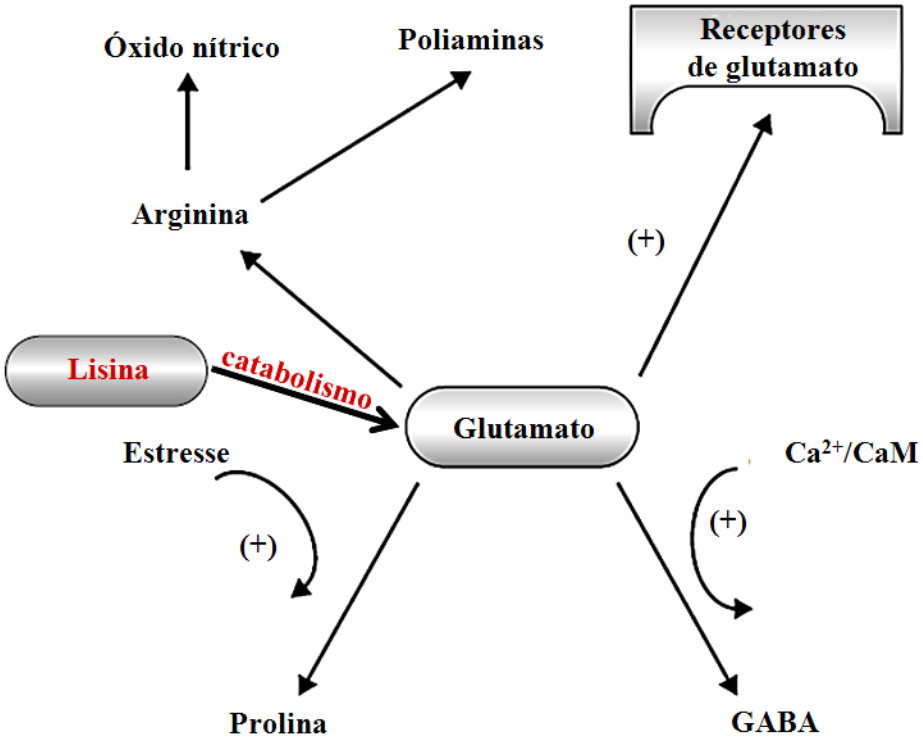

Figura 2 - Vias de conversão do glutamato e lisina em vários metabólitos relacionados à tolerância a estresses. Fonte: Galili et al. (2001)

2.1.1.2.1.2.3 Histidina: metais pesados

A histidina (His) atua no crescimento e desenvolvimento de plantas, tanto como na estrutura de complexos coletores de luz, como ligante de íons metálicos (PETERSEN et al., 2010).

Cerca de ¾ de todas as plantas hiperacumuladoras de metais também acumulam níquel. Em espécies do gênero *Alyssum* (família Brasicaceae) observou-se uma relação direta entre acumulo de Ni com produção de histidina (KRAMER et al., 1996). Esse dado é consistente com o modelo proposto por Sharma e Dietz (2006), os quais relatam que a absorção de Ni pelas plantas não é dependente do Ni, porém a sua translocação está ligada simultaneamente ao incremento de histidina livre nas raízes.

2.1.1.2.1.3 Sinalização e estrutura celular

Ambientes adversos têm proporcionado efeitos negativos no crescimento e desenvolvimento de plantas. A percepção destes ambientes é realizada por aminoácidos específicos ligados diretamente em proteínas ou em receptores. Os aminoácidos candidatos a envolvimento nestes papeis são a lisina, histidina, serina, treonina entre outros. Normalmente, estes aminoácidos que constituem vários tipos de proteínas e seus resíduos são pontos regulatórios de vias metabólicas importantes (OSAKABE et al., 2013).

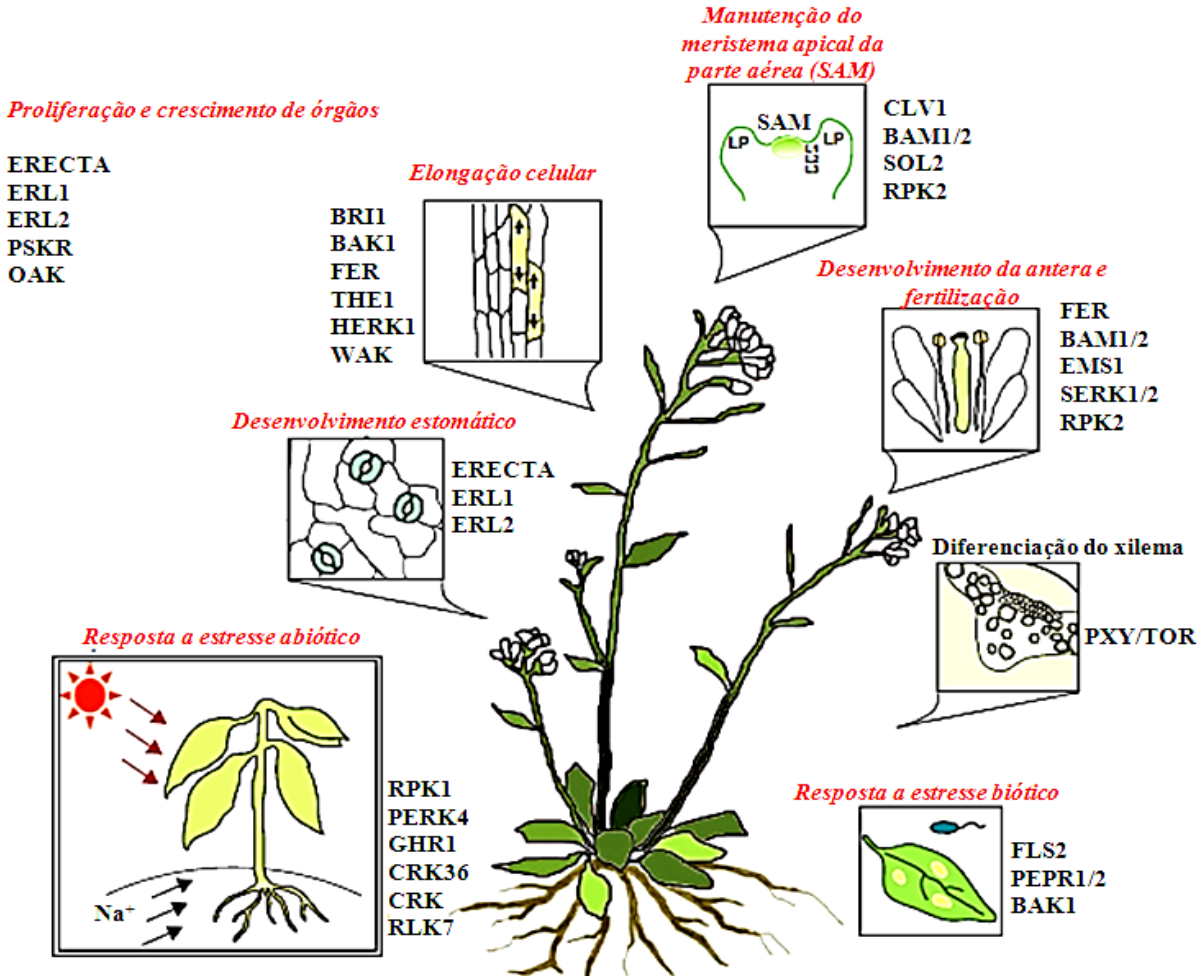

Figura 3 - Visão geral dos receptores do tipo quinase e suas funções. As RLK formam uma grande família de genes em plantas que regulam vários processos incluindo crescimento e desenvolvimento e respostas aos estresses bióticos e abióticos. Fonte: Osakabe et al. (2013)

De modo geral os mecanismos de sinalização iniciam com proteínas receptoras ligadas a membrana plasmática. As proteínas percebem vários estímulos ambientais traduzindo-os para o citoplasma através de uma rede de sinalizadores. Os receptores do tipo quinase (RLK) desempenham importantes funções na percepção de substância ligantes extracelulares. Quando ativo, este receptor induz a fosforilação de domínios quinase intracelulares constituídos por serina e treonina (*serine/threonine kinase domains*) (VAN NORMAN; BREAKFIELD; BENFEY, 2011) (Figura 3).

As presenças da serina e treonina são fundamentais para o funcionamento desta rede de sinalização, que é conhecida por apresentar um papel importante na percepção do ambiente externo e sinalização hormonal nas plantas (SHIU; BLEECKER, 2001; DIEVART; CLARK, 2004). Os brassinosteróides são hormônios vegetais controlados por receptores do tipo quinase (RLK). Suas funções incluem controle da abertura estomática e elongação celular

(DIVI; KRISHNA, 2009; WOLTERS; JURGENS, 2009; CHOUDHARY et al., 2012; WANG 2012; OSAKABE et al., 2013).

A histidina também é considerada um aminoácido que atua com sensor. No modelo de ação deste observa-se a presença de dois componentes, formado por dois tipos de proteínas, uma composta por um aminoácido sensor do tipo histidina quinase e outra proteína reguladora. Uma histidina quinase típica contém um domínio de entrada de N terminal e um domínio de C terminal transmissor com um resíduo de histidina invariante. O regulador de resposta apresenta um domínio N terminal de entrada e um domínio C terminal invariante de saída. O domínio de entrada do sensor histidina quinase detecta as variáveis ambientais e seletivamente promove a autofosforilação de resíduos de histidina no interior de um domínio transmissor. Seguindo a autofosforilação, o grupo fosforil é transferido para um resíduo de aspartato. A alteração no estado de fosforilação muda a resposta do regulador que influencia na atividade do efetor do domínio de saída para controlar a transcrição dos genes de resposta ao sinal (URAO et al., 1999; OSAKABE et al., 2013).

A fosforilação da histidina quinase (HK) está envolvida na regulação de vários processos de respostas a estresses, incluindo seca, salinidade e frio (TRAN et al., 2007, 2010; WOHLBACH; QUIRINO; SUSSMAN, 2008; JEON et al., 2010; HA et al., 2012; PHAM et al., 2012). No genoma da Arabidopsis oito membros das HK (ETR1, ERS1, AHK2, AHK3 e AHK4) estão inseridos na percepção de dois hormônios vegetais: etileno (ETR1, ERS1), citocininas (AHK2, AHK3 e AHK4) (SCHALLER; KIEBER; SHIU, 2008; OSAKABE et al., 2013).

A fosforilação de proteínas é fundamental para a regulação de outras proteínas em plantas. Atividade da proteína alterada muitas vezes exige a interação da proteína fosforilada com uma classe de adaptadores conhecidas como proteínas 14-3-3. Essa classe de proteínas contém um grupo de aminoácidos que atuam como reguladores do processo que serão descritos a seguir. Essas proteínas fazem parte de uma família altamente conservada expressa em todas as células eucarióticas, as quais possuem papel regulador fundamental em vários processos celulares como transdução de sinal, controle de ponto de verificação, apoptose e vias de percepção de nutrientes (FULGOSI et al., 2002). Esta proteína interage com enzimas quinases e fosfatases realizando assim a ativação ou inativação de várias enzimas do metabolismo de carboidratos e nitrogênio (CHUNG; SEHNKE; FERL, 1999) (Figura 4).

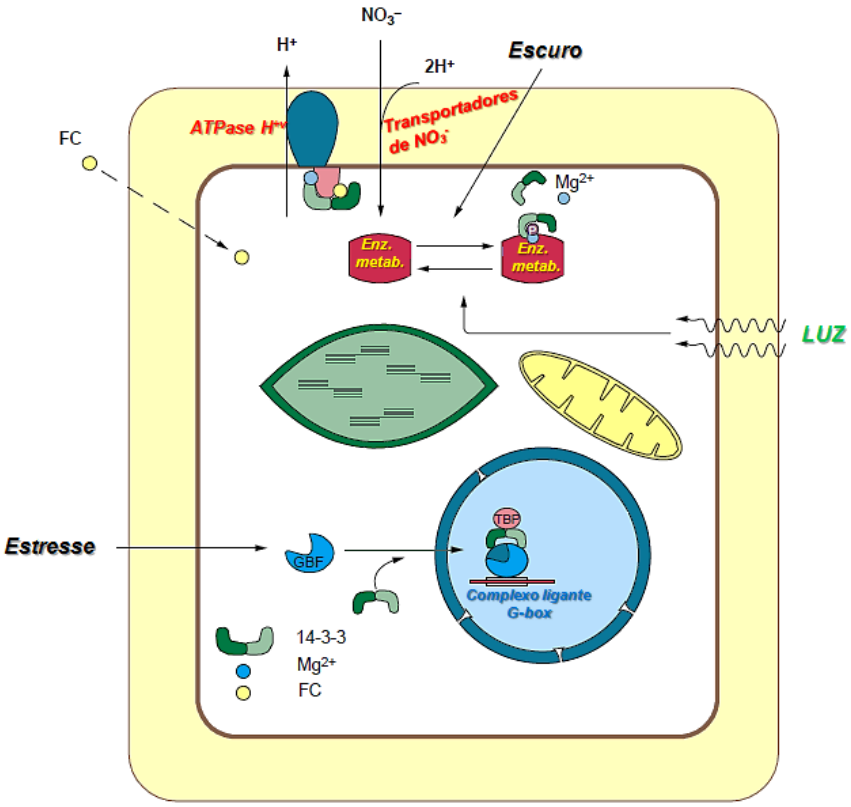

Figura 4 - Mecanismos de ativação da enzima ATPase e inativação da sacarose fosfato sintase (SPS) e nitrato redutase (NR). Fonte: Chung, Sehnke e Ferl (1999)

A proteína 14-3-3 induz a ativação da enzima ATPase que é responsável pela formação do gradiente eletroquímico necessário para absorção de nutrientes e expansão celular (expansão ácida realizada pelas auxinas). O processo de ativação da ATPase inicia com a ligação da proteína 14-3-3 no domínio autoinibitório que é suficiente para a formação de um complexo instável com elevada atividade. Essa ligação é dependente do magnésio para ocorrer. Entretanto, a ligação da fusicocina ao complexo estabiliza a interação da proteína 14-3-3, potencializando a atividade da ATPase (BOOIJ et al., 1999; CHUNG; SEHNKE; FERL, 1999) (Figura 5).

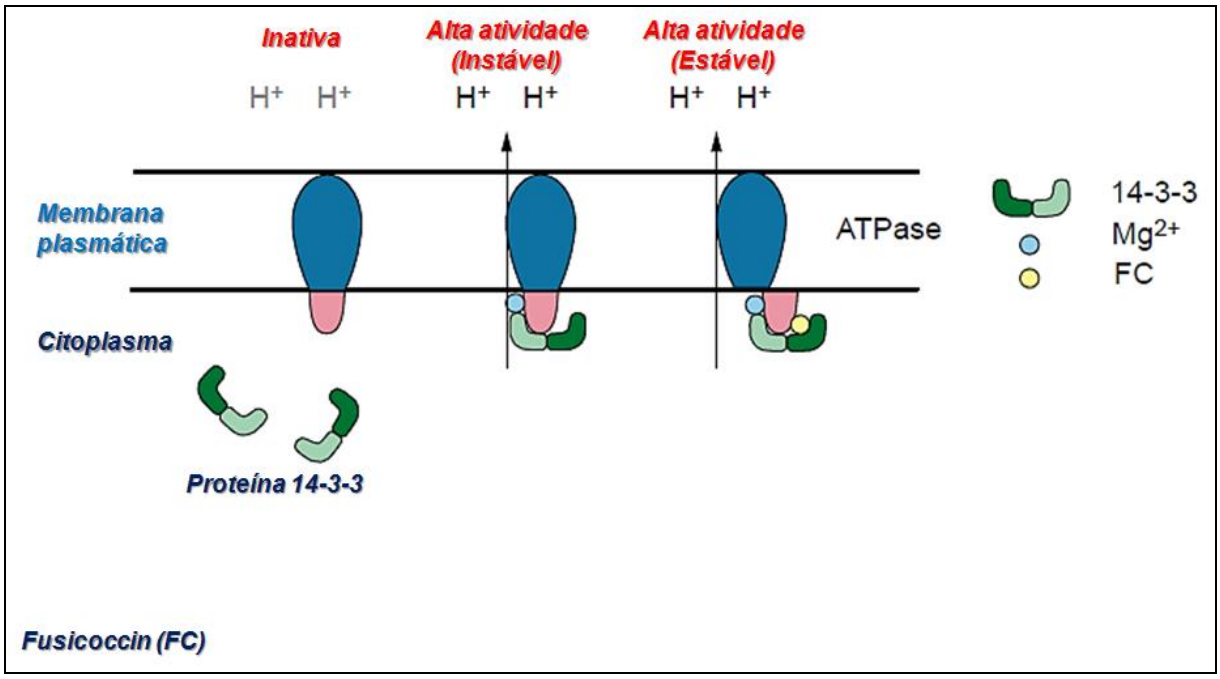

Figura 5 - Processo de ativação da enzima ATPase a partir da proteína 14-3-3, magnésio e fusicocina (FC). Fonte: Chung, Sehnke e Ferl (1999)

A regulação da atividade das enzimas nitrato redutase e sacarose fosfato sintase também é realizada pela proteína 14-3-3, utilizando como sensor um resíduo de serina. O processo é regulado por duas etapas. O primeiro passo é a fosforilação da enzima alvo de um resíduo de serina essencial por uma quinase dependente de CA21 (calmodulina domínio cinase de proteína, CDPK). Este passo por si só é capaz de inativar o alvo e pode ser revertido pela atividade da proteína fosfatase (ADPG). No segundo passo a ligação do magnésio na proteína 14-3-3 provoca uma mudança estrutural que permite ligação à proteína alvo fosforilada, concluindo assim, o processo de inativação (CHUNG; SEHNKE; FERL, 1999) (Figura 6).

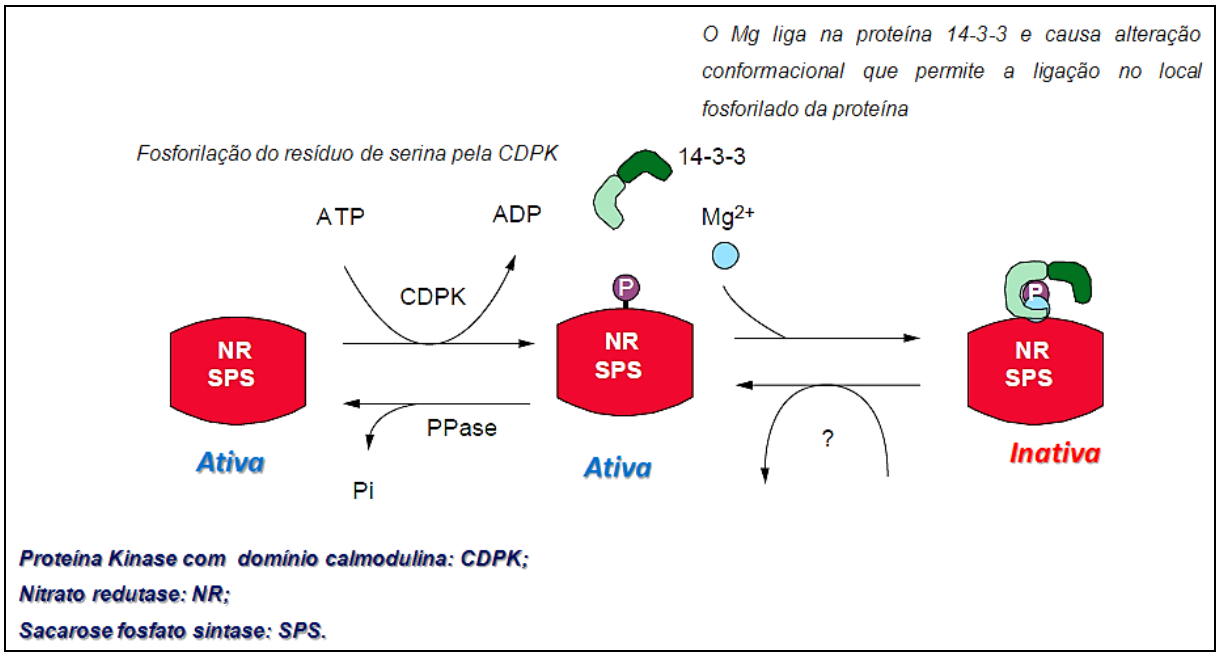

Figura 6 - Regulação de enzimas pelas proteínas 14-3-3. Fonte: Chung, Sehnke e Ferl (1999)

As aquaporinas são consideradas outra classe de proteínas do tipo canal, importantes nos processos de absorção de água e nutrientes em plantas. Essas moléculas contêm aminoácidos conservados do tipo *motif*, asparagina-prolina-alanina (NPA) no centro do poro contribuindo para a formação do canal. As aquaporinas bloqueiam o transporte de prótons devido à formação de pontes de hidrogênio entre as moléculas de água e os resíduos de asparagina do *motif* NPA (MURATA et al., 2000).

Na germinação, as aquaporinas desempenham uma grande função. A sua ação está na regulação do transporte de água durante a embebição, crescimento embrionário e protusão da radícula (GAO et al., 1999; GASPAR, 2011).

Em todas as rotas descritas acima nota-se o papel fundamental de muitos aminoácidos na sinalização, estrutura e regulação. Portanto, a aplicação de aminoácidos específicos em sementes ou fontes de matéria prima como glutamina, glutamato, aspartato e asparagina torna-se relevantes no sentido de potencialização da ação destas vias que direta ou indiretamente atuam na germinação e crescimento inicial de plântulas.

2.1.1.2.1.4 Translocação de enxofre e nitrogênio no floema e no xilema

A translocação de aminoácidos no floema e xilema constitui uma forma efetiva de transporte de N e S. Os aminoácidos livres encontrados no floema de plantas de trigo são o aspartato e o glutamato que apresentaram mais de 50% do total dos aminoácidos transportados (HAYASHI; CHINO, 1986). No entanto, durante a senescência foliar, a glutamina, torna-se o aminoácido livre predominante, tanto de folhas como em extratos do

floema (SIMPSON; DALLING, 1981). Nesta fase, a remobilização de aminoácidos é oriunda principalmente da proteólise das proteínas da folha, especialmente a rubisco (com contribuição de aproximadamente 50% da proteína da folha e 30% do N) (FELLER; ANDERS; DEMIREVSKA, 2008).

A alteração do balanço de aminoácidos durante o enchimento de grãos é uma estratégia programada para remobilização de N durante o desenvolvimento reprodutivo, além disso, aumenta o potencial de exploração para aumentar a eficiência do uso de N.

2.1.1.2.2 Hormônios

Fitormônios ou hormônios vegetais são compostos orgânicos de ocorrência natural e que em baixas concentrações (ppm) causam profundas influências na fisiologia das plantas. São mensageiros químicos que produzidos em pequena quantidade e em um local específico induzem respostas em outras localizações da planta (SRIVASTAVA, 2002).

Os hormônios podem tanto promover quanto inibir o crescimento e desenvolvimento das plantas. Dentre os promotores, destacam-se as auxinas, citocininas e giberelinas (TAIZ; ZEIGER, 2010).

Entre os principais processos regulados pela auxina estão o alongamento celular e a indução da formação de raízes laterais. A auxina aumenta rapidamente a extensibilidade da parede celular. A ativação da ATPase pela auxina induz a extrusão de prótons, os quais causam acidificação da parede celular induzindo a ativação de expansinas que quebram as cadeias lipídicas e facilitam o alongamento das células no momento em que estão túrgidas. A auxina também medeia a formação de raízes laterais, através da indução da divisão das células do periciclo. Estas duas características são importante, pois, durante a germinação e o crescimento inicial, o aparecimento de novas estruturas é dependente do alongamento e divisão celular. As raízes laterais são importantes porque aumentam a área de exploração de água e nutrientes pelas plantas, tornando estas menos suscetíveis a estresses (SRIVASTAVA, 2002; ZHAO, 2010).

As citocininas desempenham diversas funções em plantas, sendo a promoção da divisão celular a de maior relevância no momento. A rápida divisão celular é dependente da presença das citocininas, as quais diminuem o tempo de G_2, levando rapidamente à mitose e aumentando a síntese de proteínas ou enzimas que serão utilizadas na mitose (WERNER; SCHUMÜLLING, 2009).

Além do simples papel de cada um destes hormônios nas plantas, a interação entre auxina e citocinina também é relevante. Alta relação entre auxina e citocinina promove o

crescimento de raízes, enquanto que a relação inversa induz a formação de parte aérea (SKOOG; MILLER, 1957).

O principal papel das giberelinas durante a fase I é a indução da germinação. O ácido giberélico induz a ativação de enzimas que remobilizam as reservas presentes nas sementes para que estas sejam utilizadas para o crescimento do embrião. As giberelinas também podem promover o alongamento das células, devido a indução da quebra dos xiloglucanos da parede celular pela xiloglucanoendotransglicosilase (XET) (SRIVASTAVA, 2002; TAIZ; ZEIGER, 2010).

Comercialmente, existem alguns produtos a base de hormônios. Um dos principais produtos utilizados no Brasil é o Stimulate® que tem na sua composição, ácido indol butírico (auxina) 0,005%, cinetina (citocinina) 0,009% e ácido giberélico (giberelina) 0,005% (CASTRO; PACHECO; MEDINA, 1998).

As auxinas, citocininas e giberelinas encontradas no Stimulate® podem incrementar o crescimento e desenvolvimento vegetal devido ao seu efeito na divisão e expansão celular, podendo também aumentar a absorção de água e nutrientes pelas plantas por incrementar a produção de raízes secundárias (CASTRO; VIEIRA, 2001).

Em relação às citocininas alguns trabalhos mostram contradição em resultados. Wightman, Schneider e Thimann (1980) observaram que a aplicação de auxinas e citocininas promoveram a formação de raízes em plântulas de ervilha. As auxinas apresentaram concentração mais adequada em 10^{-4}M e a citocinina em 10^{-6}M, sendo que, doses acima desses valores ocasionaram inibição na formação de raízes laterais.

2.1.2 Fase II – Formação de órgãos reprodutivos

O início da Fase II é marcado pelo aparecimento da primeira flor (estádio R_1) e prossegue até o estádio R_5 (início do enchimento de grãos). Durante esta fase ocorre o pico de atividade metabólica da cultura devido à alta demanda de energia para formar novos órgãos. Dessa forma, será aqui o momento de determinação do potencial produtivo das plantas (MURATA, 1969).

O potencial produtivo é determinado pelo número de vagens por área e pelo peso individual dos grãos. O número de vagens depende do número de gemas florais. Normalmente, plantas de soja produzem flores em abundância, mas até 80% dessas são abortadas durante o desenvolvimento (KOKUBUN, 2011; EGLI, 2013). Dessa forma, aumento na fixação de flores poderia potencializar a produtividade.

Estudos realizados por Kokubun (1988) mostram que o aborto das flores é regulado pela disponibilidade de fotoassimilados. O sombreamento das plantas durante as fases de

florescimento, elongação das vagens ou início do enchimento reduziu, em média, 33% da produtividade. Além disso, a disponibilidade de fotoassimilados é importante para manter elevado número de células em processo de divisão. Isso é importante, pois, segundo Galardo, Thompson e Burstin (2008), a força do dreno é determinada pelo número de células dividindo no tecido (cotilédone). Ainda, de acordo com Peet e Kramer (1980), o tamanho do dreno determina a taxa fotossintética, sendo que drenos com tamanho reduzido reduz a fotossíntese. Assim, a potencialização da atividade fotossintética através da suplementação de carbono e nutrientes via folha poderia aumentar a produtividade.

No caso da soja, a presença dos cloroembriões (embriões verdes) também é uma característica importante para ser explorada com objetivo de potencializar a produtividade. Estes cloroembriões contêm vários componentes da maquinaria fotossintética. A energia produzida por eles é fundamental para a fixação das vagens (PUTHUR et al., 2013). Dessa forma, a manutenção de plantas com tamanho reduzido para minimizar o sombreamento do estrato inferior é importante, pois permite a interceptação da luz até as vagens da parte baixeira, mantendo a atividade fotossintética dessas.

2.1.3 Fase III – Enchimento de grãos

O enchimento dos grãos marca o início da Fase III. Durante essa fase, as vagens produzidas na Fase II são preenchidas com a energia da fotossíntese e parte da energia armazenada durante as outras fases. Vários fatores afetam o preenchimento dos grãos, entre eles, deficiência hídrica, temperatura e disponibilidade de nutrientes (MURATA, 1969).

A manutenção de folhas sadias e com elevada taxa fotossintética durante a fase III é de suma importância devido a alta demanda de fotoassimilados para preencher os grãos. Normalmente, a limitação de fotoassimilados é o primeiro caminho para o não enchimento do grão (RUAN et al., 2012), pois, em soja, a energia armazenada (amido) representa apenas 15% da massa total das sementes (EGLI, 1997).

Durante esta fase é intenso o transporte de energia no floema. O fluxo no floema é determinado por fatores como a atividade dreno, o conteúdo de água e o estado nutricional das plantas. Nutrientes como fósforo e potássio desempenham papel fundamental nesse processo pois, o potássio regula inúmeras enzimas que regulam o transporte de açúcares além da manutenção do pH, o qual controla o fluxo. O fósforo regula a saída do amido do cloroplasto, além da participação na ATPase, a qual mantem a polaridade das membranas, fato essencial para que o transporte ocorra (SONDERGAARD; SCHULZ; PALMGREN, 2004). As citocininas também desempenham seu papel, pois estas regulam a atividade das

invertases, que quebram os açúcares quando estes são descarregados no órgão dreno (LARA et al., 2004).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local

Os experimentos foram conduzidos em áreas experimentais do Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Estresse de Plantas (NUFEP) do Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM), município de Patos de Minas, MG. Foram conduzidos dois experimentos, sendo o primeiro experimento (Experimento I) em casa de vegetação (18° 34’ 39” de latitude Sul, 46° 29’ 15” de longitude Oeste e 890 m de altitude) e o segundo (Experimento II) em campo experimental (18° 36’ 36” de latitude Sul, 46° 29’ 11” de longitude Oeste e 890 m de altitude), entre os meses de janeiro e outubro de 2013. Patos de Minas, segundo a classificação de Köppen, apresenta um clima tropical de altitude (Cwa), com precipitação média anual em torno de 1400 mm (SOUZA et al., 2005), sendo a temperatura média anual igual a 21,1º C, a máxima anual 27,8º C e a mínima anual 16,3º C, conforme dados da Estação Meteorológica de Sertãozinho (EPAMIG) localizada no município de Patos de Minas, MG.

3.2 Experimento I: influência de micronutrientes, aminoácidos e hormônios via tratamento de sementes em aspectos fisiológicos da cultura de soja

3.2.1 Caracterização do experimento

Utilizou-se a espécie [*Glycine max* (L.) Merrill], cultivar NA-7255-RR, cultivada em casa de vegetação. A casa de vegetação apresenta área de 18 m^2, sendo 6 m de comprimento, 3 m de largura e pé direito de 3 m e cobertura com filme de polietileno de baixa densidade. Foram semeadas 10 sementes em cada vaso preenchido com 10 dm^3 de areia. Após a emergência e o estabelecimento das plantas foi realizado desbaste para quatro plantas por vaso. A irrigação foi realizada diariamente, a fim de manter os vasos com 80% da capacidade de campo. A adubação foi realizada semanalmente, utilizando a solução nutritiva proposta por Johnson et al. (1957), conforme Tabela 1.

Tabela 1 - Descrição da solução nutritiva utilizada na cultura da soja, cultivar NA-7255-RR. Patos de Minas-MG, 2013

Sais	g 1000 L^{-1}
$Ca(NO_3)_2.4H_2O$	457,7
KNO_3	251,3
KH_2PO_4	142,9
$MgSO_4.7H_2O$	251,3
FeDTPA	23,8
H_3BO_3	1,3
$MnSO_4$	0,794
$ZnSO_4.7H_2O$	0,106
$CuSO_4.5H_2O$	0,026
$H_2MoO_4.H_2O$	0,013

Fonte: Johnson et al. (1957)

3.2.2 Delineamento experimental

Foi adotado o delineamento experimental em blocos ao acaso com quatro tratamentos e seis repetições, constituído por diferentes tratamentos de sementes (Tabela 2). Cada unidade experimental foi composta por um vaso com quatro plantas.

Tabela 2 - Descrição dos tratamentos de sementes utilizados na cultura da soja, cultivar NA-7255-RR. Patos de Minas-MG, 2013

Tratamento	Descrição
T_1 - Controle	Controle
T_2 – M	Zn + Mn + Mo + B + Ni + Co [(1)]
T_3 – H	AIB + Cinetina + GA_3 [(2)]
T_4 – Aa	AG + Cisteína + Met + Arg + Gly [(3)]

[(1)] Micronutrientes: Zn (Librel Zn - Zn EDTA 14%): 0,875 g kg de sementes^{-1}, Mn (Librel Mn - Mn EDTA 13%): 0,187 g kg de sementes^{-1}, B (Vitta Boro - B-MEA – Monoetanolamina 10%): 0,062 g kg de sementes^{-1}, Mo (Molibdato de amônio): 0,4 g kg de sementes^{-1}, Co (Librel Co - Co EDTA 13,7%): 0,044 g kg de sementes^{-1}, Ni (Níquel Produquímica - Ni EDTA 13,7%): 0,013 g kg de sementes^{-1};
[(2)] Stimulate [Ácido 4-indol-3-ilbutírico (AIB, 0,05 g i.a L^{-1}) + Cinetina (0,09 g i.a L^{-1}) + Ácido giberélico (GA_3, 0,05 g i.a L^{-1})]: 5,0 mL kg de sementes^{-1};
[(3)] Ácido glutâmico (AG): 0,00314 g kg de sementes^{-1}; Glicina (Gly): 0,003 g kg de sementes^{-1}; Arginina (Arg): 0,00343 g kg de sementes^{-1}; Metionina (Met): 0,00420 g kg de sementes^{-1}; Cisteína (Cisteína): 0,00370 g kg de sementes^{-1}

3.3. Experimento II: contribuição do tratamento de sementes e do sistema de manejo na produtividade da cultura de soja

3.3.1. Caracterização do experimento

Foi utilizada a espécie [*Glycine max* (L.) Merrill], cultivar NS-8490-RR, cultivada em condições de campo. Antes da semeadura foi realizada a amostragem de solo para avaliar a necessidade de correção bem como a adubação de manutenção da lavoura. A semeadura foi realizada em função dos resultados da análise de solo. Dessa forma, foram aplicados 430 kg ha^{-1} da formulação 8:28:16 + 1,01% de Ca + 3,42% de S + 0,2% de B + 0,2% de Zn.

Antes da semeadura, as sementes foram inoculadas com Gelfix 5® na dose de 100 ml 50 kg $sementes^{-1}$ e semeadas mecanicamente no dia 28 de janeiro de 2013 no espaçamento de 0,5 m entre linhas e 22 sementes metro linear. Após a emergência foi feito o desbaste para 10 plantas por metro, totalizando uma população final de 200.000 plantas ha^{-1}. Os controles de plantas daninhas, insetos e doenças foram realizados de acordo com a Tabela 3.

Tabela 3 - Descrição do manejo adotado na cultura da soja, NS-8490-RR. Patos de Minas, MG, 2013

Manejo	Época	Descrição
Dessecação para plantio	15-01-2013	Glifosato (650 g i.a L^{-1}) dose de 2,2 kg p.c. ha^{-1}
Aplicação de herbicida	16-02-2013	Glifosato (650 g i.a L^{-1}) na dose de 2,2 kg p.c. ha^{-1}
Aplicação de herbicida	04-04-2013	Glifosato (650 g i.a L^{-1}) na dose de 2,2 kg p.c. ha^{-1}
Aplicação de inseticida	04-04-2013	Metomil (215 g i.a ha^{-1}) na dose de 1,0 L p.c. ha^{-1}
Aplicação de fungicida	14-04-2013	Piraclostrobina (133 g i.a ha^{-1}) + Epoxiconazol (50 g i.a ha^{-1}) na dose de 0,6 L p.c. ha^{-1}, Bendazol (663 g i.a L^{-1}) na dose de 0,6 L p.c. ha^{-1}
Aplicação de inseticida	14-04-2013	Metamidofós (600 g i.a. L^{-1}) na dose de 1,0 L p.c. ha^{-1}
Aplicação de fungicida	30-04-2013	Piraclostrobina (133 g i.a ha^{-1}) + Epoxiconazol (50 g i.a ha^{-1}) na dose de 0,6 L p.c. ha^{-1}, Bendazol (663 g i.a L) na dose de 0,6 L p.c. ha^{-1}
Aplicação de inseticida	30-04-2013	Metomil (215 g i.a ha^{-1}) na dose de 2,0 L p.c. ha^{-1}

3.2.3 Manejo fisiológico

Durante a fase vegetativa, a partir do estádio V_4, foram realizadas aplicações a cada 20 dias de organominerais nas plantas cultivadas em sistemas de produção potencial (SPP) a fim de manter elevada a sua atividade fisiológica. Utilizou-se ureia (6 kg ha^{-1}), sacarose (12 kg ha^{-1}), mono-amônio-fosfato purificado (2,5 kg ha^{-1}), aminoácidos (Concorde®,

1,5 L ha^{-1}), zinco (63 g ha^{-1}), cobre (58 g ha^{-1}), manganês (150 g ha^{-1}), molibdênio (52 g ha^{-1}), cobalto (2,4 g ha^{-1}) e níquel (4,8 g ha^{-1}), além das aplicações convencionais de herbicidas, inseticidas e fungicidas. Também foi utilizado Lactofen (Cobra® - 0,75 L ha^{-1}) no estádio V_7 com o objetivo de reduzir o crescimento das plantas. Na fase reprodutiva, a cada 20 dias até o fim do estádio R_6, as aplicações foram mantidas, adicionadas de nitrato de potássio (KNO_3 - 1,5 kg ha^{-1}) (Tabela 4). No sistema de manejo para produtividade comercial (SPC) foi realizado apenas aplicação de molibdênio (52 g ha^{-1}) e cobalto (2,4 g ha^{-1}) no estádio V_4 e controle de plantas daninhas, pragas e doenças.

3.2.4 Delineamento experimental

Foi adotado o delineamento experimental em blocos as acaso. Foram utilizados 12 tratamentos e quatro repetições, constituído por diferentes tratamentos de sementes e dois sistemas de manejo (Tabela 4). Cada unidade experimental continha quatro linhas de sete metros de comprimento cada, ocupando uma área de 14 m^2. Dessa forma, a área total do experimento foi de 672 m^2.

Tabela 4 - Descrição dos tratamentos de sementes (Inseticida + Fungicida, Micronutrientes, Hormônios e Aminoácidos) e sistemas de manejo (Aplicação foliar) utilizados na cultura da soja, cultivar NS-8390-RR

Inseticida + Fungicida[1]	Micronutrientes[2]	Hormônios[3]	Aminoácidos[4]	Sistema de manejo[5]
Fipronil + Piraclostrobina + Tiofanato Metílico	-	-	-	SPP
				SPC
	Ni+ Co+ Mo +Zn + B + Co	AIB + Cinetina + GA_3	-	SPP
				SPC
	Ni+ Co+ Mo +Zn + B + Co		AG + Cys + Met + Arg + Gly	SPP
				SPC
	-		AG + Cys + Met + Arg + Gly	SPP
				SPC
	-	AIB + Cinetina + GA_3	-	SPP
				SPC
	Ni+ Co+ Mo +Zn + B + Co	-	-	SPP
				SPC

(1) Standak Top [Fipronil (250 g i.a L^{-1}) + Piraclostrobina (25 g i.a L^{-1}) + Tiofanato Metílico (225 g i.a L^{-1})]: 2,0 mL p.c kg de sementes^{-1}. (2) Micronutrientes: Zn (Librel Zn - Zn EDTA 14%): 0,875 g kg de sementes^{-1}, Mn (Librel Mn - Mn EDTA 13%): 0,187 g kg de sementes^{-1}, B (Vitta Boro - B-MEA – Monoetanolamina 10%): 0,062 g kg de sementes^{-1}, Mo (Molibdato de amônio): 0,4 g kg de sementes^{-1}, Co (Librel Co - Co EDTA 13,7%): 0,044 g kg de sementes^{-1}, Ni (Níquel Produquímica - Ni EDTA 13,7%): 0,013 g kg de sementes^{-1}. (3) Stimulate [Ácido 4-indol-3-ilbutírico (AIB, 0,05 g i.a L^{-1}) + Cinetina (0,09 g i.a L^{-1}) + Ácido giberélico (GA_3, 0,05 g i.a L^{-1})]: 5,0 mL kg de sementes^{-1}. (4) Ácido glutâmico (AG): 0,00314 g kg de sementes^{-1}; Glicina (Gly): 0,003 g kg de sementes^{-1}; Arginina (Arg): 0,00343 g kg de sementes^{-1}; Metionina (Met): 0,00420 g kg de sementes^{-1}; Cisteína (Cisteína): 0,00370 g kg de sementes^{-1}. (5) SPP: sistema de manejo fisiológico para produtividade potencial; SPC: sistema de manejo para produtividade comercial.

As aplicações foliares foram realizadas com pulverizador costal propelido a CO_2. A barra utilizada continha quatro bicos tipo leque, perfazendo 2,25 m de comprimento e com pressão de 2 bar. Para todas as aplicações foi utilizado volume de calda de 200 L ha^{-1}.

3.3 Avaliações

3.3.1 Épocas das avaliações

No experimento I, a emergência das plântulas foi realizada diariamente até os 10 dias após a semeadura As demais avaliações foram realizadas aos 26 e 50 dias após a emergência (DAE) das plantas. Aos 26 DAE, avaliou-se a atividade das enzimas nitrato redutase, urease,

superóxido dismutase, catalase e peroxidase, teor de prolina nas folhas, peroxidação lipídica, valor Spad, fotossíntese líquida, taxa de crescimento de raízes, caule e folhas, massa de matéria seca total e área foliar. Aos 50 DAE, avaliou-se a atividade da enzima nitrato redutase, valor Spad, taxa de crescimento de raízes, caule e folhas, massa de matéria seca total e área foliar.

No experimento II, foram avaliadas a atividade das enzimas nitrato redutase, urease, superóxido dismutase, catalase e peroxidase, teor de prolina nas folhas, peroxidação lipídica e valor Spad aos 26, 45 e 47 dias após a emergência (DAE), que coincidiu com os 4, 3 e 2 dias após a aplicação (DAA) de organominerais no estádio V_4 e Lactofen e organominerais no estádio V_7, respectivamente. A fotossíntese líquida foi determinada aos 5 DAA de organominerais em V_4 e aos 1 DAA de Lactofen no estádio V_7. Também foi avaliado o número total de vagens, massa de 1000 grãos e produtividade no momento da colheita.

3.3.2 Avaliações bioquímicas

3.3.2.1 Atividade da nitrato redutase

A atividade da nitrato redutase (EC 1.6.6.1) foi realizada seguindo a metodologia proposta por Cataldo et al. (1975). Foram retirados 200 mg de folhas frescas na forma de disco com 0,8 cm de diâmetro, os quais foram colocados em tubos de ensaio de 15 mL com tampas contendo 4 mL de KNO_3 (0,25 M) em tampão fosfato. Os tubos de ensaio foram envolvidos em papel alumínio e mantidos em banho Maria a 35ºC durante 2 h agitado de 5 em 5 minutos. Logo após, foi pipetado 1 mL da solução de cada tubo de ensaio para balão volumétrico de 50 mL para cada um dos respectivos tratamentos, evitando partículas de folhas. Em seguida colocou-se H_2O destilada até completar 25 mL do balão e a seguir 1 mL de ácido sulfanílico. Essa solução foi mantida em repouso de 5 a 10 min. Posteriormente adicionou-se 1 mL de alfanaftalamina e 1 mL do tampão de acetato de sódio e completou-se o volume a 50 mL com H_2O destilada. A leitura foi realizada depois de 10 e antes de 30 minutos no Espectrofotômetro, o qual foi ajustado ao valor zero com água destilada, a uma leitura de 540 nm.

A estimativa da atividade da nitrato redutase foi obtida através da curva padrão de nitrito (NO_2^-), ajustada de acordo com as concentrações de N na forma de NO_2^- de 0, 5, 10, 15, 20 e 25 µg L^{-1}. A partir das absorbâncias, ajusta-se o gráfico (concentração x leitura) obtendo-se a equação de regressão linear (y = ax + b). De acordo com esses dados procede-se o cálculo da atividade da nitrato redutase de acordo com a Equação 1.

$$ANR = 5.FV.4.CN.0{,}5 \quad [1]$$

em que ANR se refere à atividade da nitrato redutase em µg $N\text{-}NO_2$ g de fitomassa $verde^{-1}$ h^{-1}, FV é a quantidade de fitomassa verde colocada no tubo de ensaio (200 mg) e CN é a concentração de nitrito (mg L^{-1}) obtida pela equação ajustada pela curva padrão de acordo com a absorbância da amostra e os valores 5, 4 e 0,5 foram utilizados na correção dos valores para µg $N\text{-}NO_2$ por g de fitomassa verde por hora.

3.3.2.2 Atividade da urease

A atividade da urease (EC 3.5.1.5) foi determinada adaptando os métodos propostos por Hogan, Swift e Done (1983). As folhas foram maceradas em nitrogênio líquido, e 100 mg do material vegetal macerado foi transferido para tubos de ensaio contendo 4 mL de tampão fosfato com ureia (pH 7,4) para determinação do teor de NH_3. O tampão foi preparado com NaH_2PO_4 (0,20 M), Na_2HPO_4 (0,50 M), n-propanol (0,66 M), ureia (0,21 M). O n-propanol, adicionado à solução tampão, tem como finalidade aumentar a permeabilidade dos tecidos e evitar a formação de amônia pela presença de contaminantes microbianos. Os tubos foram cobertos com papel alumínio e mantidos em banho Maria a 30°C por 3 horas.

A determinação do $N\text{-}NH_4$ foi realizada de acordo com a metodologia proposta por McCullough (1967), com algumas adaptações. Após o período de incubação, uma alíquota de 0,1 mL do extrato foi adicionada a 1 mL do Reagente I [Fenol (0,1 M) + nitroprussiato de sódio (170 µM)] e em seguida, adicionou-se 1 mL do Reagente II [NaOH (0,125 M) + $Na_2HPO_4.12\ H_2O$ (0,15 M) + hipoclorito de sódio (3% Cl)] para extrair a amônia retida aos tecidos foliares. Os tubos foram tampados para evitar a perda de NH_3 e deixados por 35 minutos em banho Maria a 37 °C e em seguida foi feita a leitura em espectrofotômetro a 625 nm. A atividade da enzima foi determinada pela quantidade de amônio (NH_4^+) produzida, sendo que, os valores encontrados foram comparados com uma curva padrão de amônio, previamente estabelecida, utilizando NH_4Cl. Os resultados obtidos foram expressos em µmol NH_4^+ h^{-1} g^{-1} MF.

3.3.2.3 Prolina

Para determinação do teor de prolina, 200 mg de material vegetal liofilizado foram adicionados a 8 mL de ácido sulfossalicílico (3%), sendo a mistura deixada em agitação constante por uma hora à temperatura ambiente (25ºC). Após esse período, o homogenato foi centrifugado a 3.000 x g por 10 minutos à temperatura ambiente. O extrato foi utilizado para determinação de prolina livre, de acordo com o método descrito por Bates, Waldren e Teare (1973), com algumas adaptações. Para uma alíquota de 1 mL do extrato, foi adicionado 1 mL de solução de ninhidrina ácida [1,25 g ninhidrina ácida + 30 mL de ácido acético glacial + ácido fosfórico (6 M)] + 1 mL de ácido acético glacial. Essa mistura foi mantida em tubos

com tampa rosqueável em banho Maria a 100ºC durante uma hora. Em seguida, os tubos de ensaio foram colocados em banho de gelo por 10 minutos para cessar a reação. A extração do cromóforo foi feita pela adição de 2 mL de tolueno à mistura de reação, seguida de agitação vigorosa. Após repouso e formação da mistura bifásica, a fase superior foi retirada para a quantificação dos níveis de prolina livre, através de medidas de absorbância em 520 nm realizadas em espectrofotômetro. Utilizou-se como branco apenas o tolueno. Como padrão foi utilizado a prolina pura e os resultados expressos em µmol g^{-1} MF.

3.3.2.4 Atividade de enzimas antioxidantes

3.3.2.4.1 Obtenção do extrato vegetal

Para estas análises, amostras de folhas completamente expandidas e expostas à radiação solar, foram coletadas entre oito e dez da manhã. Estas foram colocadas em sacos plásticos e envoltas em papel alumínio e, imediatamente, congeladas em nitrogênio líquido, a fim de paralisar todas as reações.

As folhas foram maceradas utilizando nitrogênio líquido, posteriormente, foi adicionado 5 mL de tampão de fosfato de potássio (0,1 mol L^{-1} pH 6,8) para a diluição do extrato. As amostras foram então, transferidas para eppendorf's e centrifugadas a 10.000 rpm (6.000 g) por 30 min a 4ºC. Ao final, as amostras foram armazenadas a -20ºC para posterior determinação das atividades enzimáticas (KAR; MISHRA, 1976).

3.3.2.4.2 Conteúdo de proteína na folha

O teor de proteína na folha foi determinado de acordo com a metodologia descrita por Bradford (1976). Para preparação do reativo de Bradford, 100 mg de *brilhant blue* foram diluídos em 50 mL de etanol. Essa mistura foi diluída em 100 mL de ácido fosfórico (85%) e o volume completado para 1 L com água destilada. Essa solução foi filtrada em papel filtro 5 vezes. Para obtenção da curva padrão de caseína, 100 mg de caseína foram adicionados a 5 mL de água. Posteriormente, foi adicionado solução de NaOH (0,5 mol L^{-1}) até a completa dissolução da caseína. Quando dissolvido, o volume foi completado para 100 mL com água destilada. A partir desta solução, obteve a curva padrão de caseína com base nas concentrações de 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1 µg de caseína mL^{-1} e 1 mL do reativo de Bradford.

A atividade de enzimas antioxidantes foi determinada com base no teor de proteínas presentes nas folhas. Para isto, utilizou-se 30 µL de extrato enzimático, em mistura com 1 mL de reagente de Bradford (100 mg de brilhant blue, 50 mL de álcool etílico 95% e 100 mL de ácido fosfórico 85%, completando-se o volume para 1L com água destilada). As leituras de absorbância foram realizadas em espectrofotômetro a 595 nm.

3.3.2.4.3 Superóxido dismutase

A superóxido dismutase (SOD) foi determinada segundo a metodologia de Beauchamp e Fridovich (1971), citados por Bor, Ozdemir e Turkan, (2003). Durante a preparação dos reagentes, todos os recipientes foram envolvidos com papel alumínio para evitar reação com a luz. Foi adicionado a um tubo de ensaio 2000 μL de tampão de fosfato de sódio (50 mmol L^{-1} pH 7,8), 30 μL de extrato enzimático, 450 μL de solução de Nitroblue Tetrazolium (NBT) + EDTA (5:4) e 500 μL de solução de Metionina + Riboflavina (1:1). Todas as amostras foram preparadas em duplicata, sendo que, após o preparo do sistema de reação, uma das amostras foi exposta a luz durante 10 minutos, sem o papel alumínio, e a outra permaneceu coberta com o papel alumínio. Após esse período foram realizadas leituras de absorbância a 560 nm em espectrofotômetro.

3.3.2.4.4 Catalase

Para a determinação da atividade da catalase (CAT - EC 1.11.1.6), foram colocados em um tubo de ensaio 950 μL de tampão fosfato de sódio (50 mmol L^{-1} pH 7,0) + H_2O_2 (12,5 mmol L^{-1}) e 50 μL de extrato enzimático, resultando em um volume final de 1 mL. As leituras de absorbância foram realizadas a 240 nm, e foram avaliadas durante 60 segundos, para que possa ocorrer a estabilização da leitura. As leituras foram realizadas sob luz ultravioleta, utilizando-se cubetas de quartzo, as quais permitem leituras em comprimentos de ondas menores. Para os cálculos da atividade da enzima foi utilizado o coeficiente de extinção molar do H_2O_2 de 39,4 mmol L^{-1} cm^{-1}. A atividade da catalase foi expressa em nmol de H_2O_2 consumido min^{-1} mg^{-1} proteína (PEIXOTO et al., 1999).

3.3.2.4.5 Atividade da peroxidase

A atividade da POD (POD - EC 1.11.1.7) foi determinada de acordo com Teisseire e Guy (2000). Para isto, foi adicionado a um tubo de ensaio 500 μL de tampão fosfato de potássio (50 mmol L^{-1} pH 6,5), 30 μL de extrato enzimático, 250 μL de pirogalol (1,2,3-benzenotriol) (20 mmol L^{-1}) e 220 μL de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (5 mmol L^{-1}), totalizando um volume de 1 mL. Posteriormente, os tubos de ensaio foram deixados por 5 minutos à temperatura em torno de 25ºC. Após esse período, a formação de purpurogalina foi determinada em espectrofotômetro UV-visível, a 430 nm. Para o cálculo da atividade da enzima foi utilizado o coeficiente de extinção molar de 2,5 mmol L^{-1} cm^{-1}, sendo a atividade expressa em μmol de purpurogalina min^{-1} mg^{-1} de proteína.

3.3.2.4.6 Peroxidação lipídica

Foi determinada de acordo com a técnica de Heath e Packer (1968) citados por Rama Devi e Prasad (1998). Material vegetal (200 mg) liofilizado em nitrogênio líquido foi homogeneizado em 5 mL de solução contendo ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,25% e ácido tricloroacético (TCA) 10%. Em seguida, o conteúdo foi transferido para tubos de ensaio com rosca e papel filme, e incubado em banho Maria a 90ºC por 1 h. Após resfriamento, o homogeneizado foi centrifugado a 10.000 x g por 15 minutos a temperatura ambiente, e, em seguida, o sobrenadante coletado de cada amostra foi submetido a leituras de absorbância em espectrofotômetro na faixa de 560 e 600 nm. Os resultados foram expressos em nmol de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) por grama de matéria fresca.

3.3.2.5 Avaliações fisiológicas

3.3.2.5.1Trocas gasosas

As determinações de trocas gasosas foram realizadas através de um sistema aberto portátil de trocas gasosas, IRGA (*Infra Red Gas Analyzer*), modelo LI-6200 (Li-cor®), sempre nas folhas do extrato superior, completamente expandidas e totalmente expostas à radiação solar.

Durante as medições, a folha da planta foi colocada dentro da câmara selada, não suprida por ar externo. A radiação luminosa utilizada para calcular a atividade fotossintética corresponde a aquela incidente no momento no meio externo. A concentração de CO_2 na câmara foi diminuída pela atividade fotossintética da folha. Dessa forma, a mudança na concentração de CO_2 por unidade de tempo serviu para estimar, conforme equações previamente estabelecidas no equipamento, a fotossíntese líquida.

3.3.2.6 Avaliações fenométricas

3.3.2.6.1 Emergência

Foram contabilizadas as plântulas emergidas em cada unidade experimental amostrada. A transformação dos dados para porcentagem foi realizada conforme Equação 2.

$$PPE = \frac{NSE.100}{NSS} \qquad [2]$$

em que: PPE (%) refere-se a porcentagem de plântulas emergidas, NSE é o número de sementes emergidas na unidade experimental amostrada e NSS é o número de sementes semeadas na unidade experimental amostrada.

3.3.2.6.2 Índice de velocidade de emergência

Para determinação do índice de velocidade de emergência, foi contabilizado o número de plântulas emergidas diariamente até os 10 dias após a semeadura (DAS) e este foi calculado pela fórmula descrita por Popinigis (1977), conforme equação 3.

$$IVE = \frac{E_1}{t_1} + \frac{E_2}{t_2} + \frac{E_3}{t_3} \cdots \frac{E_n}{t_n} \quad [3]$$

em que *E* se refere ao número de sementes emergidas, e *t* aos dias transcorridos a partir da semeadura, os índices *1, 2, 3* e *n-ésimo* correspondem aos dias de ocorrência.

3.3.2.6.3 Valor Spad

Para determinar a quantidade de clorofila na folha foi utilizado clorofilômetro *Soil Plant Analyzis Development* (SPAD, marca Minolta, modelo SPAD-502®), que permite leituras instantâneas do teor relativo de clorofila na folha sem destruí-la.

O clorofilômetro possui diodos que emitem radiação em 650 nm (luz vermelha) e 940 nm (radiação infravermelha). A luz passa pela folha e é recebida por um fotodiodo de silicone onde é convertida, primeiramente, em sinais elétricos analógicos e, depois, em sinais digitais. Estes sinais passam por um microprocessador que calcula valores proporcionais aos de teor de clorofila presente na folha. A absorbância das clorofilas é muito eficiente em 650 nm, mas é desprezível em 940 nm. Deste modo, o sinal derivado da emissão em 650 nm serve de base para o cálculo do teor relativo de clorofila, enquanto que o sinal originado da emissão em 940 nm serve como um fator de correção para compensar pela absorção de fótons em 650 nm por moléculas do tecido foliar desprovidas de clorofila (MINOLTA, 1989; JESUS; MARENCO, 2008).

3.3.2.6.4 Massa de matéria seca

As determinações de massa de matéria seca de folha, raiz e caule foram realizadas utilizando uma planta para cada repetição. Cada órgão da planta foi acondicionado, separadamente, em sacos de papel, e a secagem das diferentes partes da planta foi realizada utilizando-se o método padrão de secagem em estufa com circulação de ar forçada e com temperatura de 65ºC, até peso constante.

3.3.2.6.5 Taxa de crescimento

Os dados de massa de matéria seca de raiz, caule e folha foram utilizados para determinar a taxa de crescimento (TC, g planta^{-1} dia^{-1}), conforme equação 4.

$$TC = \frac{FS_2 - FS_1}{ND} \quad [4]$$

em que MMS_2 se refere à massa de matéria seca na segunda época de avaliação (g planta^{-1}), MMS_1 à massa de matéria seca na primeira época de avaliação (g planta^{-1}), e *ND* ao número de dias de crescimento das plantas.

3.3.2.6.6 Área foliar

A área foliar foi determinada pelo método de discos, que constitui na retirada de 10 discos em folhas aleatórias, com auxílio de um vazador com área de 0,9672 cm^2. O cálculo da área foliar foi determinado conforme a Equação 5.

$$AF = \frac{AD.FSF.ND}{FSD} \quad [4]$$

em que AD se refere à área dos discos (cm^2), MSF à massa de matéria seca de folhas (g), ND ao número de discos retirados das folhas e MSD à massa de matéria seca de discos (g). Os dados foram expressos em cm^2 planta^{-1}.

3.3.3 Número total de vagens

Antes da colheita das plantas, foi contabilizado o número de vagens com um, dois, três e quatro grãos. O somatório destas resultou no número total de vagens por planta.

3.3.4 Produtividade

No Experimento II, as plantas foram colhidas manualmente considerando-se as duas fileiras centrais e descartado 0,5 m em cada extremidade. Foi determinado o teor de água dos grãos e efetuado o cálculo da produtividade (produção por unidade de área) com o teor de água corrigido para 13% (0,13 g g^{-1}). Para pesagem dos grãos, utilizou-se balança digital com precisão de 0,01 grama.

3.3.5 Massa de 1000 grãos

Após colheita do Experimento II, os grãos foram secos a umidade padrão de 13% e pesados 1000 deles, escolhidos aleatoriamente.

3.4 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do software SISVAR® (FERREIRA, 2000). A normalidade dos resíduos da ANOVA e a homogeneidade entre as variâncias foram testadas a partir dos testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente, ambos a 1% de significância. Logo após, foi realizada análise de variância, sendo análise simples para o Experimento I e fatorial para o Experimento II. As comparações entre as médias foram realizadas por meio do teste de Tukey a 5% de significância.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Experimento I: influência de micronutrientes, aminoácidos e hormônios via tratamento de sementes em aspectos fisiológicos da cultura de soja

O tratamento de sementes com Hormônios proporcionou maior porcentagem de plântulas emergidas. No entanto, este não diferiu do tratamento com Aminoácidos e do Controle. No geral, as menores porcentagens de emergência foram observadas no tratamento que recebeu Micronutrientes (Figura 7), possivelmente devido ao efeito salino destes. Um dos problemas relacionados ao tratamento de sementes com micronutrientes é a toxidez.

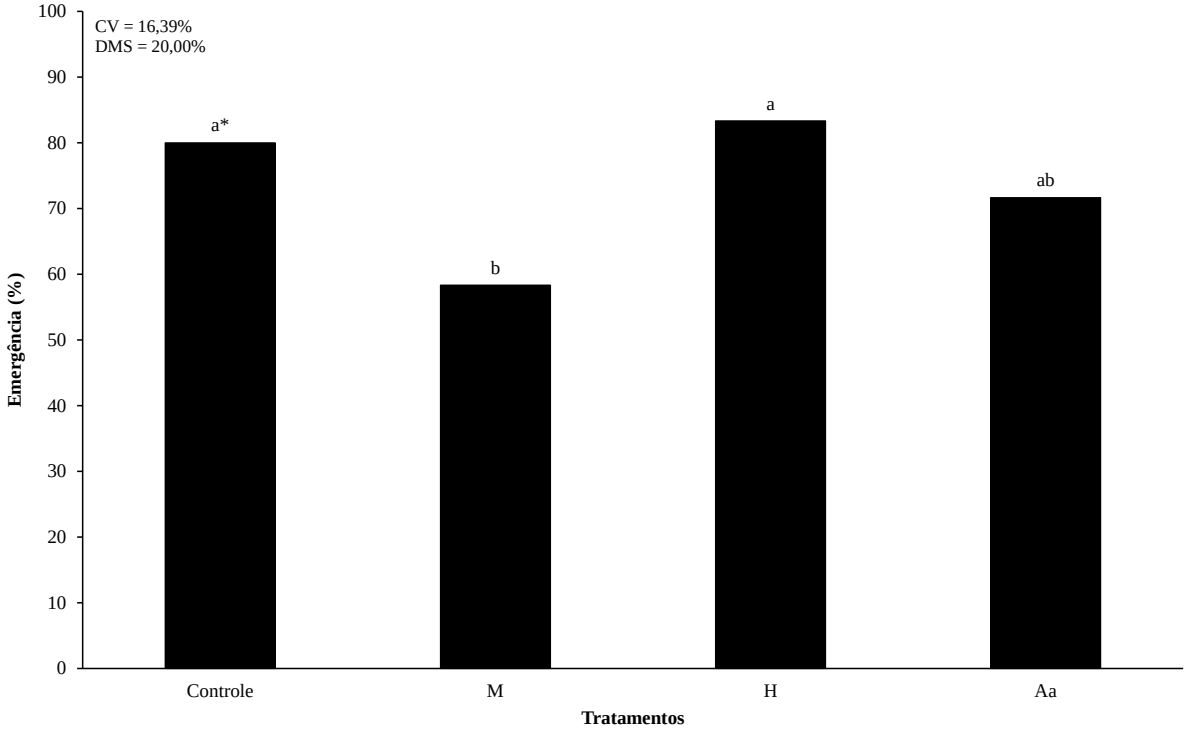

Figura 7 - Emergência (%) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 10 DAS. (* médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

O limite entre o nível ideal para promover a germinação e o nível tóxico é muito estreito, sendo que as sementes não possuem mecanismos fisiológicos eficientes para controlar a entrada destes, que ocorre passivamente (PESSOA; LUCHESE; LUCHESE, 2000). Esta informação permite inferir, que nestas condições estudadas, os micronutrientes reduzem a germinação das sementes, embora, em condições de cultivo em solo, os efeitos prejudiciais poderiam ser amenizados, pelos mecanismos de adsorção.

Os resultados da emergência refletiram no índice de velocidade de emergência (IVE). Foram observados maiores IVE nos tratamentos com Hormônios, Aminoácidos e no Controle (Figura 8). Esse processo, possivelmente é o reflexo da baixa emergência evidenciada no tratamento com Micronutrientes na Figura 7.

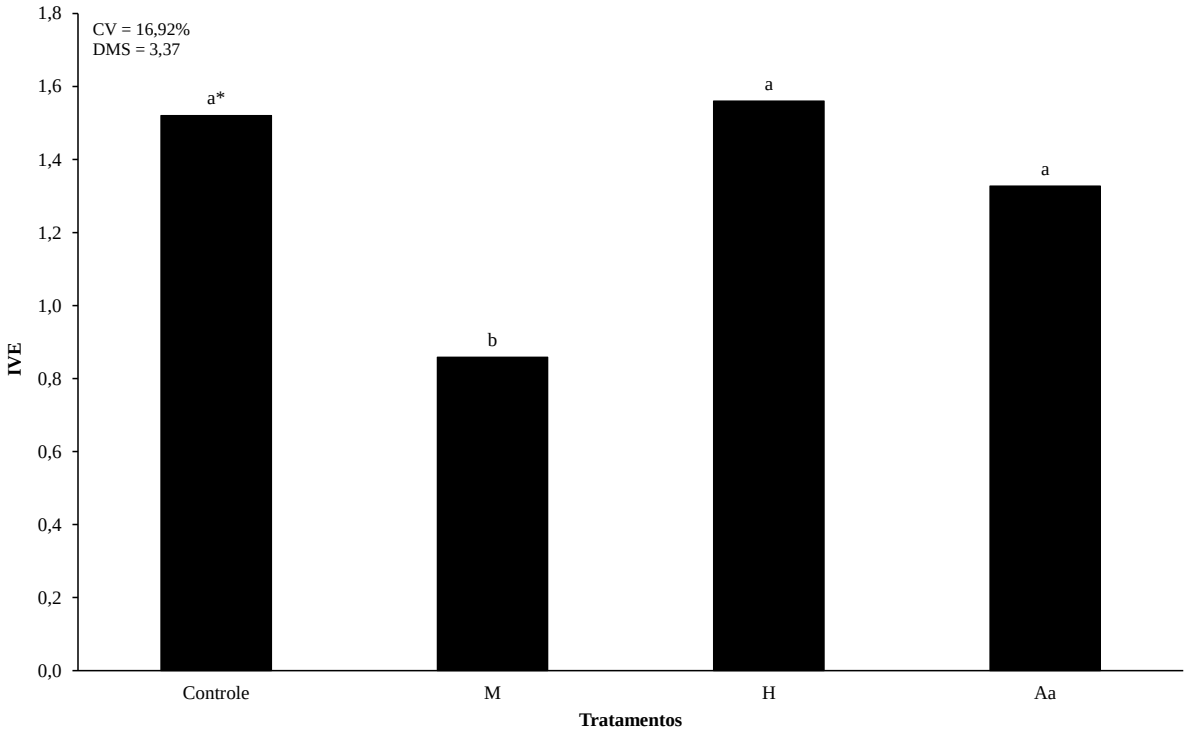

Figura 8 - Índice de velocidade de emergência (IVE) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina]. (* médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

A atividade da enzima nitrato redutase foi influenciada pelos tratamentos de sementes durante a fase inicial de desenvolvimento da cultura. Aos 26 dias após a emergência (DAE) constatou-se que a utilização de Micronutrientes incrementou a atividade em 51,6% em relação ao Controle, demostrando o papel destes nutrientes na atividade da enzima (Figura 9).

Nesta fase, a assimilação de N via nitrato é fundamental, pois a maior parte do N assimilado é oriunda do solo, o que torna viável, em nível de campo, o uso de aplicações de até 20 kg ha^{-1} N na semeadura, sem prejuízos a FBN.

Aos 50 dias após a emergência (DAE) as plantas apresentavam incremento na assimilação de N via FBN, e dessa forma, a atividade da nitrato redutase passa a não ser tão relevante quanto na fase inicial.

Estes resultados realçam o papel dos micronutrientes na atividade da nitrato redutase (NR). Dentre os micronutrientes utilizados, o molibdênio desempenha papel fundamental. A NR é uma enzima dímera com três grupos prostéticos de transferência de elétrons por subunidade, a flavina (FAD), heme e cofator molibdênio (MoCo) (CAMPBELL, 1999; TAIZ; ZIEGER, 2010). O MoCo consiste de um átomo de Mo covalentemente ligado a dois átomos de enxofre da molécula de pterina. O Mo no MoCo está ligado a um terceiro átomo de enxofre de um resíduo de cisteína (SCHWARZ; MENDEL, 2006).

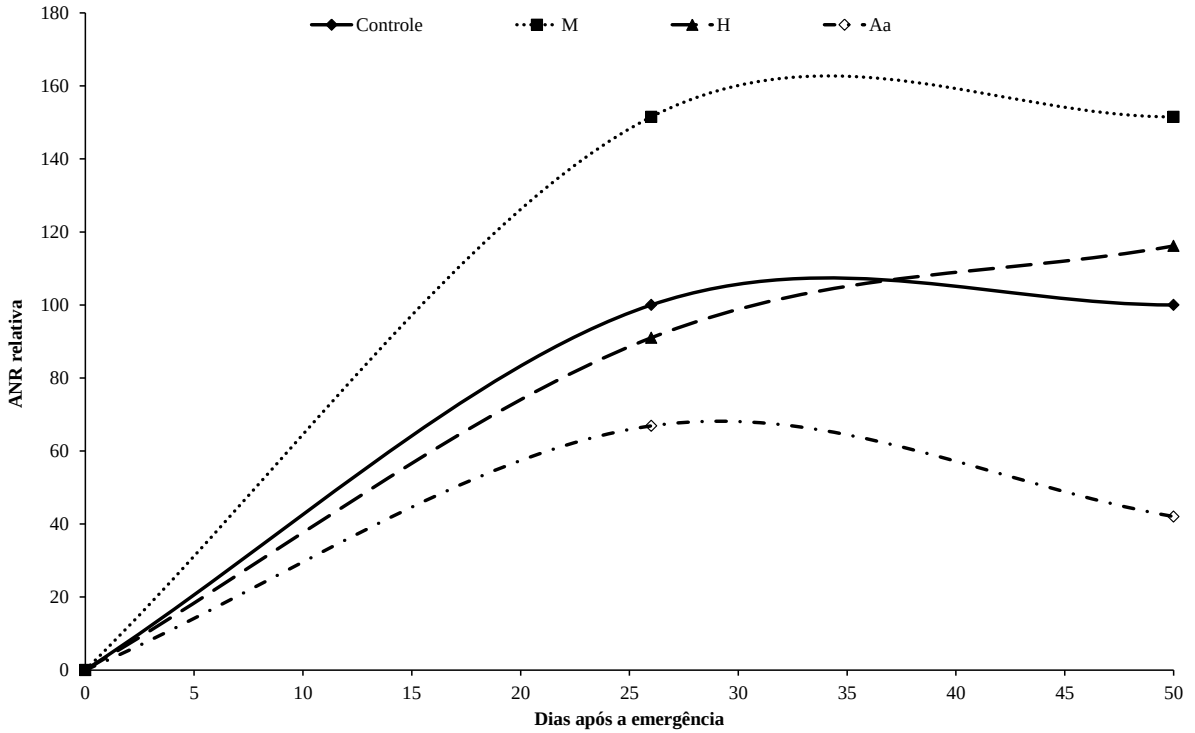

Figura 9 - Valores relativos da atividade da enzima nitrato redutase de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 e 50 dias após a emergência (DAE)

Outro nutriente que desempenha papel fundamental na atividade da nitrato redutase é o Mn, embora seja de forma indireta. A NR é uma enzima altamente dependente de energia. Dessa forma, plantas deficientes em Mn apresentam reduzidas taxas fotossintéticas, devido o papel do Mn na fotossíntese, tem menor capacidade de suprir a energia necessária para a redução do NO_3^-. Também, a menor taxa de crescimento devido à deficiência de Mn, reduz a demanda de nitrogênio, inibindo a atividade da NR (MARSCHNER, 2012).

O tratamento que recebeu Aminoácidos apresentou baixa atividade da NR (Figura 9, Tabela 5). Este comportamento era esperado, visto que a atividade da enzima pode ser regulada via *feedback* negativo (TAIZ; ZEIGER, 2010).

A NR é uma enzima chave na via de assimilação do nitrogênio. Mesmo em soja, que adquire nitrogênio a partir da FBN, a assimilação de nitrato via NR não é descartada. Normalmente a manutenção de maior atividade da NR está relacionada a incrementos na taxa de crescimento. Isso é explicado, em partes, pela sensibilidade desta enzima. Vários tipos de estresses como hídrico, térmico, nutricional ou por herbicidas reduzem drasticamente a atividade da nitrato redutase e também o crescimento das plantas.

Tabela 5 - Atividade da nitrato redutase (ANR, µg $N\text{-}NO_2$ g^{-1} FV h^{-1}) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 e 50 dias após a emergência (DAE)

Tratamento	ANR (µg $N\text{-}NO_2$ g^{-1} FV h^{-1})	
	26 DAE	50 DAE
Controle	27,3 b*	33,6 b*
M	41,4 a	50,9 a
H	24,9 b	39,0 b
Aa	18,3 b	14,1 c
CV (%)	28,97	11,03
DMS	13,48	6,32

* médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro

Em relação à urease, nota-se que a maior atividade da enzima ocorreu quando utilizou Aminoácidos. Este incremento foi de 205% em relação ao Controle (Figura 10). Tal comportamento era esperado, devido à presença da arginina no tratamento de sementes. O catabolismo da arginina pela arginase é uma das vias de síntese de ureia em plantas. A ureia produzida é hidrolisada pela urease, formando NH_3, e posteriormente NH_4 devido à acidez da célula, que é utilizado na biossíntese de outros aminoácidos. O tratamento com hormônios também incrementou a atividade da enzima, sendo este de 205% em relação ao Controle (Figura 10).

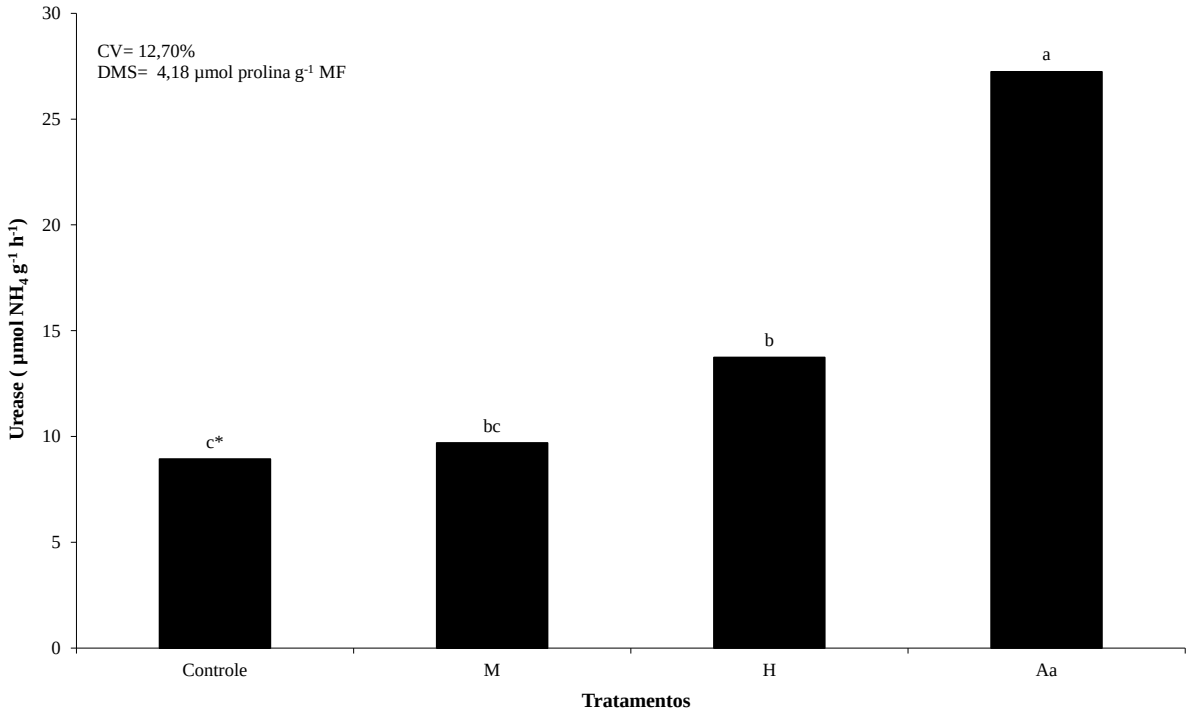

Figura 10 - Atividade da urease (µmol NH_4 g^{-1} h^{-1}) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 dias após a emergência (DAE). (* médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

Embora seja contraditório na literatura, a ureia também pode ser produzida na via de degradação dos ureídeos. Em soja, a principal forma de transportar nitrogênio são os ureídeos. Esses são catabolizados por uma via extremamente complexa, a qual, segundo Todd et al. (2006) e Muñoz et al. (2011), produz ureia. Algumas enzimas desta via estão relacionadas ao Mn. A alantoato amidohidrolase (AAH) é ativada por Mn, enquanto que a alantoinase tem a sua atividade apenas estimulada na presença de Mn (WERNER; WITTE, 2011). A ureia produzida nesta via também é degradada pela urease dependente de Ni.

A prolina é considerado um aminoácido chave em plantas sob condições de estresse. Em algumas plantas, o nível de acúmulo de prolina pode alcançar 100 vezes mais do que plantas não estressadas (VERBRUGGEN; HERMANS, 2008). O menor teor de prolina nas folhas foi observado no tratamento com Hormônios. A redução em relação ao Controle foi de 67% (Figura 11).

Dentre as inúmeras funções da prolina, as propriedades osmoprotetora e antioxidante, a proteção da atividade de enzimas e a capacidade de fornecer elétrons para a mitocôndria

podem ser destacadas. Tem sido sugerido que moléculas orgânicas, como a prolina são excluídas da superfície das proteínas. Dessa forma, a adição desta ao meio cria uma situação termodinâmica desfavorável, sendo incrementado o potencial químico tanto das proteínas como do aditivo. Esta situação estabiliza a conformação da proteína ou enzima, o que mantém a sua atividade (CROWE et al., 1988; SHARMA; DUBEY, 2005).

Sob condições de estresse, a taxa de carboxilação do Ciclo de Calvin diminui, o que previne a oxidação do NADPH e a restauração do $NADP^+$. Quando combinado com alta luminosidade, o fluxo de elétrons na cadeia transportadora é suprimido pela insuficiente quantidade de aceptores $NADP^+$, levando a formação de oxigênio singleto. A síntese de prolina é uma via redutiva e requer NADPH para a redução do glutamato e gera $NADP^+$ que pode ser utilizado como aceptor de elétrons. A fosforilação do glutamato consome ATP e gera ADP, o qual é o substrato para a formação de ATP durante a fotossíntese. Aumento na síntese de prolina durante estresses pode manter baixa taxa NADPH:$NADP^+$, contribuindo para a sustentação do fluxo de elétrons nos centros de excitação, estabilizando o balanço redox e reduzindo a fotoinibição e os danos no aparato fotossintético. Depois do período de estresse, a oxidação da prolina na mitocôndria supre o potencial redutivo, fornecendo elétrons e contribuindo para o suprimento de energia durante a retomada do crescimento (SZABADOS; SAVOURÉ, 2009).

A prolina é considerada um ótimo antioxidante. Esta propriedade está relacionada ao potencial de ionização (capacidade de fornecer elétrons) da amina. O baixo potencial de ionização torna a amina com baixo potencial de ionização apta a formar um reversível complexo de transferência de carga, capaz de extinguir o oxigênio singleto ($^1O_2$) (MATYSIK et al., 2002).

A prolina não é sintetizada apenas a partir do glutamato, mas também a partir do ciclo arginina/ornitina, coincidindo com a mesma via onde está presente a urease. A elevada atividade da urease no tratamento com Aminoácidos (Figura 10) direcionou o N da arginina para a formação de outros aminoácidos, e não de prolina (Figura 11). Neste trabalho, nota-se que o tratamento que apresentou baixo teor de prolina (Hormônios) conseguiu manter alta atividade enzimática (nitrato redutase e urease). Isso significa que a prolina não foi necessária para manter baixo o nível de estresse.

No entanto, comparando o Controle, nota-se que mesmo o alto teor de prolina em relação aos demais tratamentos não foi capaz de manter a atividade das enzimas. Isso significa que as reservas contidas (micronutrientes) ou metabolizadas (aminoácidos e hormônios)

durante a germinação não são capazes de manter a atividade enzimática elevada, sendo necessária a suplementação.

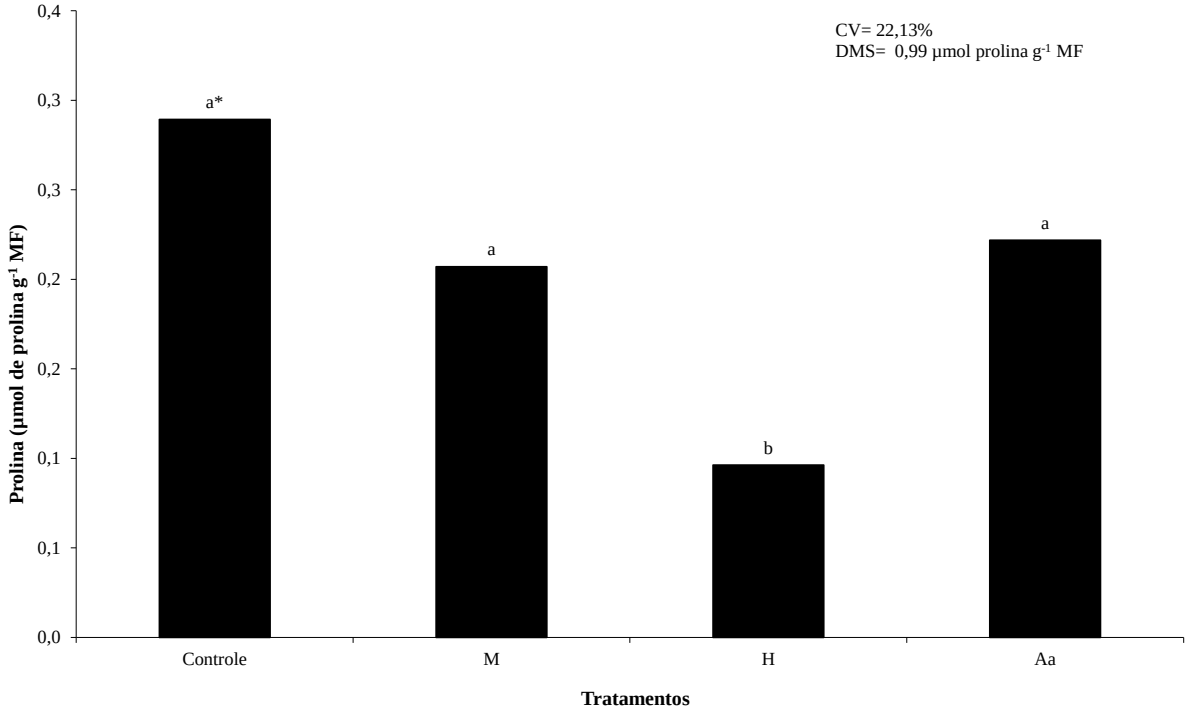

Figura 11 - Teor de prolina (µmol de prolina g^{-1} MF) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 dias após a emergência (DAE). (* médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

A atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) foi inferior em todos os tratamentos que receberam tratamento de sementes. Em média, esse valor foi 49% inferior ao Controle (Figura 12). A SOD é uma metaloenzima antioxidante efetiva em organismos aeróbicos. A SOD constitui a primeira linha de defesa contra o radical superóxido ($^{\bullet}O_2^-$) que é produzido em praticamente todas as cadeias de transporte de elétrons. Através da dismutação, essa enzima remove duas moléculas de $^{\bullet}O_2^-$ produzindo uma de H_2O_2 e a outra é oxidada a O_2 primeiramente (GILL; TUTEJA, 2010). A baixa atividade da enzima nos tratamentos de sementes que receberam Aminoácidos, Micronutrientes e Hormônios pode ser derivada da baixa produção de radicais livres nesses tratamentos devido à ação dos mesmos como redutores de estresses oxidativos.

O aumento da atividade da enzima SOD depende de cofatores como Zn, Mn, Fe e Cu, considerados micronutrientes essenciais para as plantas. Os dois primeiros fizeram parte do

tratamento de sementes e, portanto, podem ser relevantes para a ativação da enzima, embora isto não tenha sido observado no presente trabalho. Outro fator importante é o acúmulo de espécies reativas de oxigênio, que nesse caso é representado pelo radical superóxido ($^{\bullet}O_2^-$), substrato da enzima. Em condições padrões, a produção de ERO é amenizada pela atividade das enzimas antioxidantes (FOYER; NOCTOR, 2005).

O equilíbrio entre a produção de ERO e a atividade das enzimas antioxidantes pode ser perturbado por estresses abióticos e bióticos, como salinidade, deficiência nutricional, radiação ultravioleta, *deficit* hídrico, temperaturas extremas, poluição do ar, herbicidas e ataque de patógenos (GILL; TUTEJA, 2010). Provavelmente alguns destes fatores podem ter atuado sobre os tratamentos, induzindo aumento na síntese de radicais livres, porém apenas no Controle foi efetivo para incrementar a atividade da SOD.

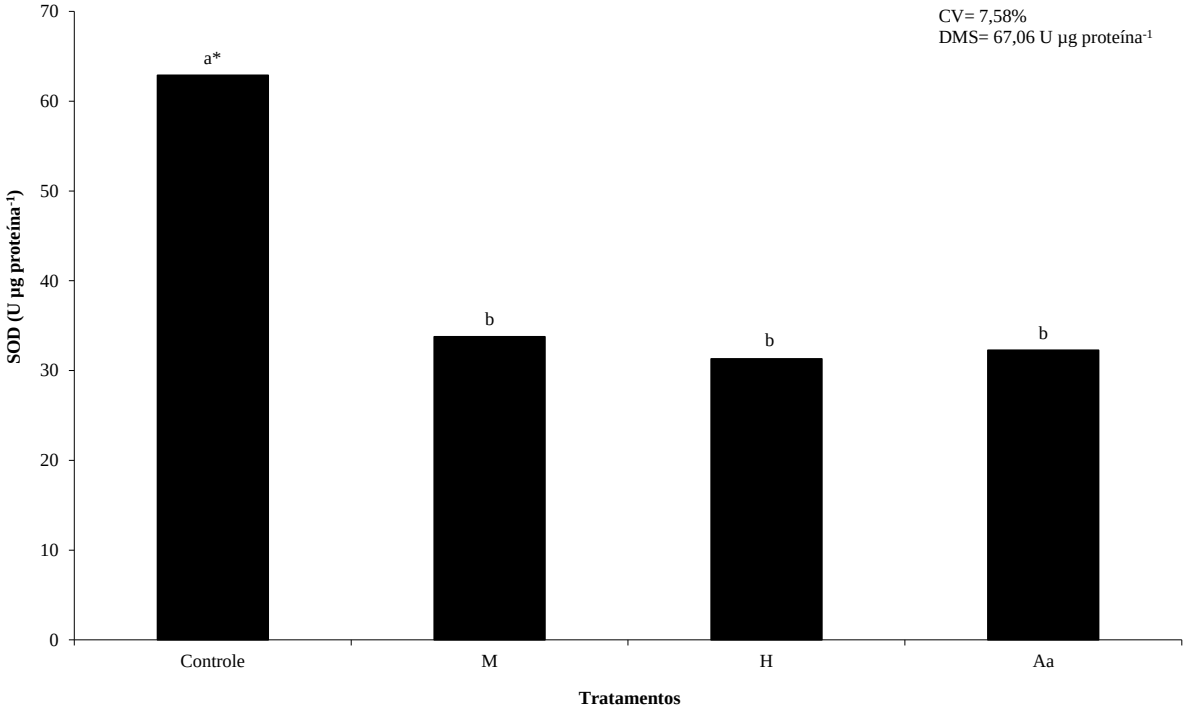

Figura 12 - Atividade da superóxido dismutase (SOD, U µg proteína^{-1}) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 dias após a emergência (DAE). (* médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

A catalase é uma enzima contendo um grupo heme tetramérico que catalisa a dismutação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) produzido pela enzima SOD em água e oxigênio (GARG; MANCHANDA 2009). Esse fator provavelmente foi preponderante para o

maior incremento da atividade da enzima no tratamento que apresentou aminoácidos em relação aos demais (4,37 µmol min^{-1} µg $proteína^{-1}$ em relação ao Controle) (Figura 13).

O acréscimo na atividade da enzima catalase é destacado como uma via de defesa em plantas. A catalase protege as estruturas celulares contra danos ocasionados por H_2O_2 produzidos nos peroxissomos e demais organelas celulares, devido à elevada concentração de CO_2 durante a fotorrespiração e oxidação de ácidos graxos. Plantas com deficiência de catalase não demonstram alterações quando submetidas à luz baixa, mas em elevada taxa luminosa rapidamente apresentam lesões de necrose foliar (PEI et al., 2000).

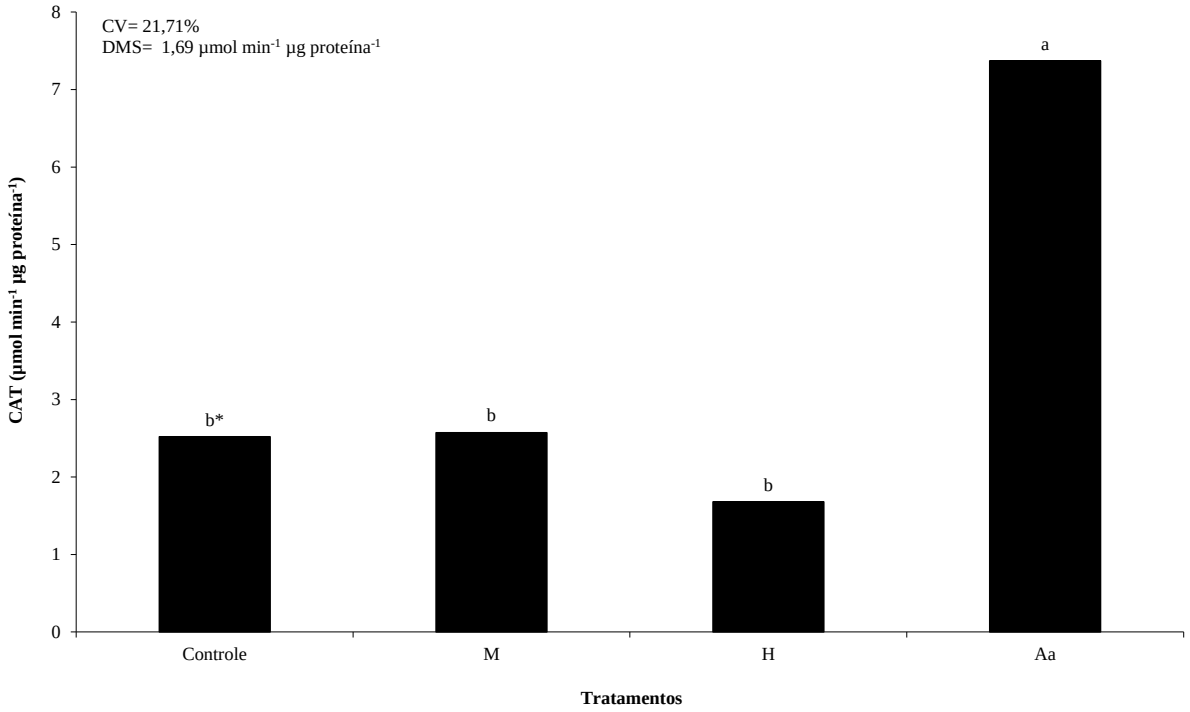

Figura 13 - Atividade da catalase (CAT, µmol min^{-1} µg $proteína^{-1}$) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 dias após a emergência (DAE). (* médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

O incremento na atividade da enzima SOD provavelmente aumentou as reações de transformação de espécies tóxicas de oxigênio ($^{\bullet}O_2^-$) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2). O peróxido de hidrogênio também é considerado um radical livre que posteriormente é transformado em H_2O por enzimas como a catalase e peroxidase. Essa hipótese foi comprovada nesse trabalho para a enzima catalase como citado anteriormente na Figura 13.

Para a enzima peroxidase, o comportamento não repetiu, onde o tratamento com aminoácidos, foi o que proporcionou menor atividade da POD (52% inferior ao Controle) (Figura 14).

A peroxidase é amplamente distribuída em plantas superiores e envolvida em vários processos incluindo o metabolismo de lignificação, das auxinas, tolerância a estresses salinos e por metais pesados (PASSARDI et al., 2005). O aumento da atividade das peroxidases é uma resposta metabólica relacionada a diferentes tipos de estresses (CAKMAK; HORST, 1991; ANDERSON; PRASAD; STEWART, 1995; ZHANG; KIRKHAM, 1996; JIMÉNEZ et al., 1998 e MORAES et al., 2002). Dessa forma, essa enzima, frequentemente tem sido utilizada como um parâmetro metabólico durante alterações de crescimento e condições de estresse ambiental.

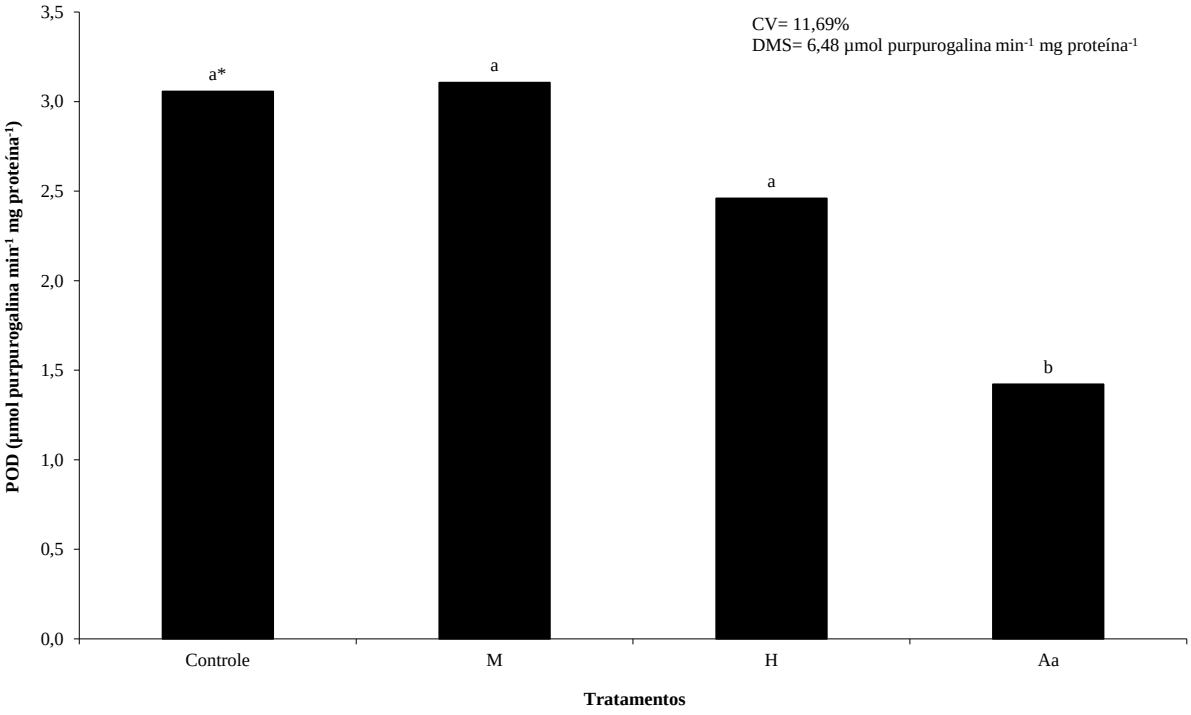

Figura 14 - Atividade da peroxidase (POD, µmol purpurogalina min^{-1} mg $proteína^{-1}$) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 dias após a emergência (DAE). (* médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

A produção de radicais livres pode ser neutralizada pelas enzimas antioxidantes. Porém, quando esse estresse é muito prolongado ou extenso, ocorre uma "explosão oxidativa" (aumento da ERO) que não é acompanhada na mesma proporção pelo incremento da atividade de enzimas antioxidantes, culminando assim na morte celular (CARVALHO, 2008). Isso

porque, as membranas fosfolipídicas são impermeáveis a moléculas de O_2^- carregadas, as quais atuam destruindo as ligações entre os ácidos graxos.

Sendo assim, para que o processo seja efetivo, torna-se de fundamental importância detectar o nível de peroxidação lipídica. Nesse trabalho, verificou-se uma relação inversamente proporcional entre peroxidação lipídica e atividade da SOD, CAT e POD para o tratamento a base de Hormônios (Figura 15), constatando assim, uma grande efetividade do tratamento.

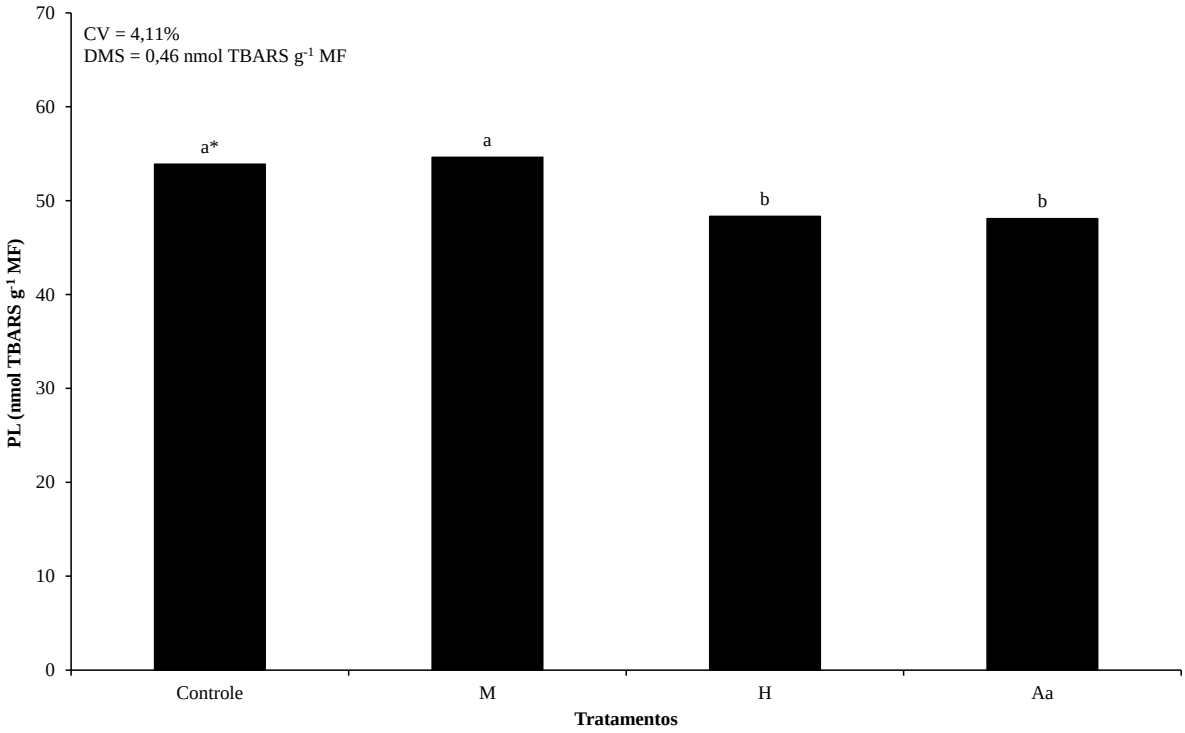

Figura 15 - Peroxidação de lipídios (PL, nmol TBARS g^{-1} MF) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 dias após a emergência (DAE). (* médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

Os dados relativos do valor Spad aos 26 dias após a emergência estão apresentados na Figura 16. Nota-se diferença significativa apenas do Controle em relação aos demais tratamentos. Em média, as plantas de soja receberam tratamento de sementes com micronutrientes, hormônio e aminoácidos apresentaram incremento de 58% em relação ao Controle(Figura 16, Tabela 6).

No entanto, aos 50 dias após a emergência (DAE), o tratamento que recebeu Micronutrientes incrementou o valor Spad em 50,5 e 19,2% em relação ao Controle e ao

tratamento que recebeu Hormônios e Aminoácidos (Figura 16, Tabela 6). Dentre os micronutrientes utilizados, apenas o Mn desempenha função direta na produção de clorofila. Este está envolvido na ativação de enzimas presentes na via de biossíntese destas (BUCHANAN; GRUÍSSEM; JONES, 2000).

No entanto, o Mo tem papel fundamental no metabolismo do nitrogênio, por fazer parte da nitrato redutase e da nitrogenase. A maior assimilação de N, comprovado pelo incremento na atividade da nitrato redutase (Figura 9, Tabela 5) pode ter contribuído para o incremento na produção de clorofilas. O Co, por estar relacionado à FBN pode ter contribuído para o maior teor de clorofila (MARSCHNER, 2012).

O Ni e o Co têm papel indireto na manutenção das clorofilas. Estes dois micronutrientes são conhecidos na literatura como forte inibidores da síntese de etileno, o qual é responsável pela degradação da clorofila. Segundo Lau e Yang (1976), o Ni poderia inibir a atividade da enzima ácido 1-carboxílico-1-amino ciclopropano oxidase (ACC oxidase), enquanto que Taiz e Zeiger (2010) ressaltam o papel no Co na inibição da biossíntese de etileno.

Em relação aos aminoácidos, duas vias de biossíntese das clorofilas têm sido descritas. Uma delas utiliza o ácido glutâmico como matéria prima, enquanto a outra tem como base a glicina. Não se sabe ao certo qual a representatividade de cada uma das vias, no entanto é conhecido que ambas são importantes para as plantas (TAIZ; ZEIGER, 2010; MARSCHNER, 2012).

Dentre os hormônios utilizados, as citocininas são as que desempenham funções relacionadas às clorofilas. Estas são conhecidas como capazes de incrementar a atividade fotossintética através do estímulo do desenvolvimento dos cloroplastos e clorofilas, além de estimular a expansão foliar, taxa de assimilação de carbono, a condutância estomática e a atividade da rubisco. Em muitas espécies, o teor de N está diretamente ligado à concentração de N nos tecidos (SONG et al., 2013). No trabalho o aumento da atividade da nitrato redutase no tratamento com Micronutrientes (Figura 9) pode estar relacionado a produção de clorofila neste tratamento. Isso porque, aumentos na atividade da nitrato redutase induz maior assimilação de NO_3^-, o qual potencializa a síntese se citocininas, promovendo maior teor de clorofila e taxa fotossintética.

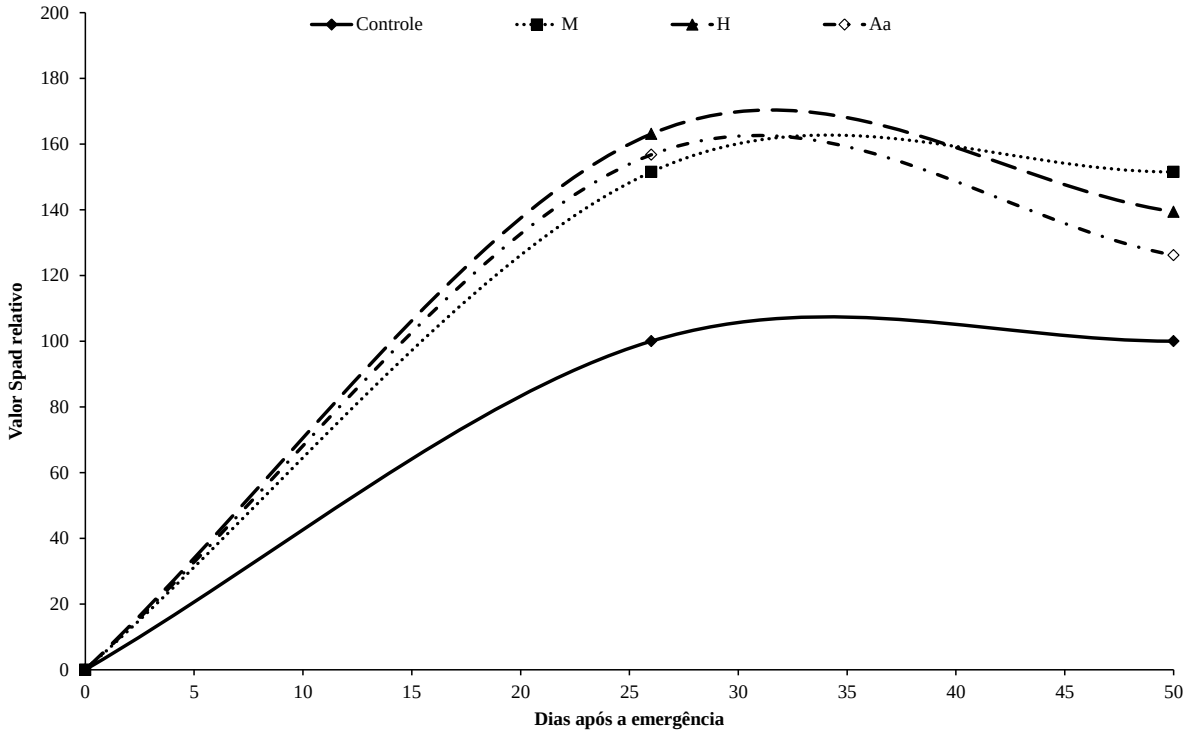

Figura 16 - Valores relativos do valor Spad de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 e 50 dias pós a emergência (DAE)

Tabela 6 - Valor Spad de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 e 50 dias após a emergência (DAE)

Tratamento	Valor Spad	
	26 DAE	50 DAE
Controle	21,0 b*	16,1 c*
M	31,9 a	24,4 a
H	34,3 a	22,5 ab
Aa	32,9 a	20,3 b
CV (%)	5,32	2,7
DMS	2,65	3,5

* médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro

Os tratamentos de sementes ocasionaram incrementos na fotossíntese líquida (Figura 17). Todos os tratamentos apresentaram incremento em relação às sementes não tratadas (Controle), sendo que este foi de 53%, em média (Figura 16).

Estes efeitos estão relacionados aos micronutrientes, aminoácidos e hormônios utilizados. O manganês é constituinte do complexo de fotólise da água no fotossistema II. A mudança do estado de oxidação do átomo de manganês (S_0-S_4) pela incidência de *flashs* de luz torna o manganês capaz de liberar elétrons para as reações fotoquímicas. O estado S_4 oxida a água, liberando O_2, e recupera os elétrons doados (BUCHANAN; GRUÍSSEM; JONES, 2000).

Quanto aos aminoácidos, o ácido glutâmico e a glicina são conhecidos como precursores da síntese de clorofilas, que potencializam a atividade fotossintética (TAIZ; ZEIGER, 2010; MARSCHNER, 2012). Entretanto, os aminoácidos também podem ter sido utilizados para formar outras estruturas fotossintéticas, visto que todos eles são considerados partes das proteínas (BUCHANAN; GRUÍSSEM; JONES, 2000).

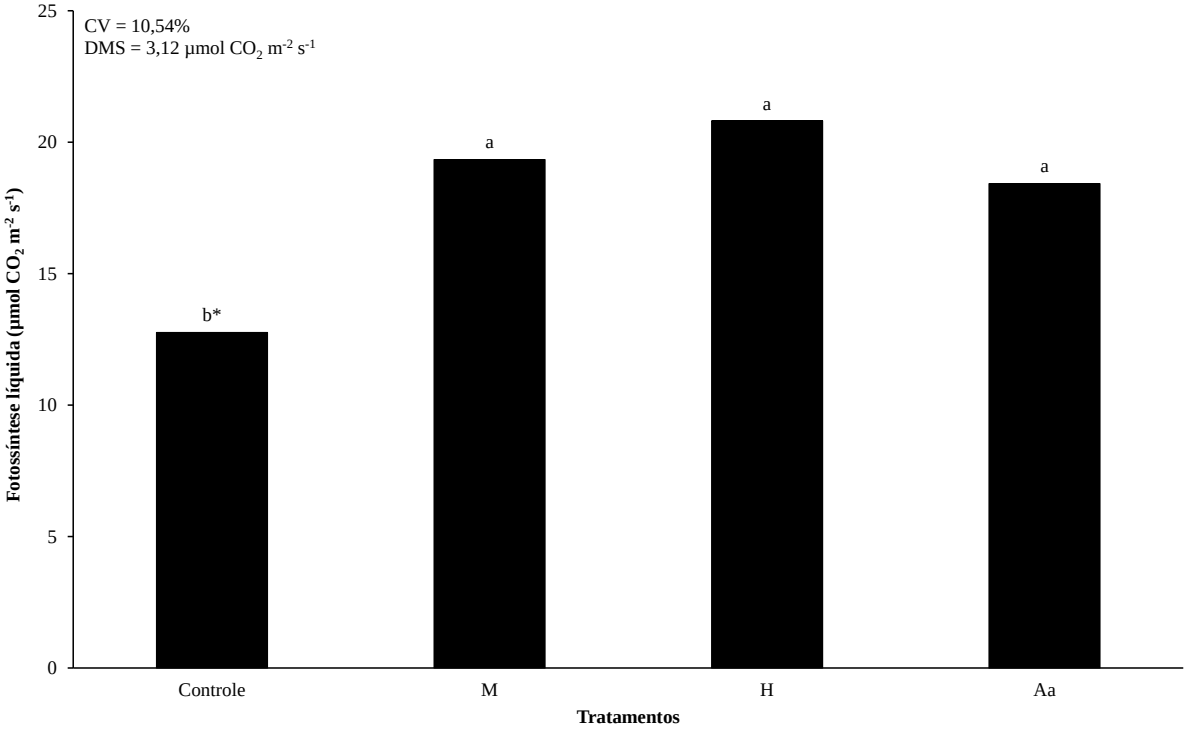

Figura 17 - Fotossíntese líquida (µmol CO_2 m^{-2} s^{-1}) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 dias após a emergência (DAE). (* médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

Durante o desenvolvimento inicial das plantas de soja, as raízes são os órgãos que recebem a maior quantidade de energia para o crescimento e absorção de nutrientes. Neste trabalho, constatou-se que a taxa de crescimento de raízes (TCR) foi superior nos tratamento

que receberam Hormônios e Aminoácidos em relação aos demais tratamentos. Esse acúmulo foi de 0,0066 g planta dia^{-1} enquanto que no Controle esse valor foi de 0,0022 g planta dia^{-1} (Figura 18, Tabela 7). Posteriormente notou-se uma inversão do comportamento, quando foram utilizados micronutrientes. Esse incremento foi de 21 e 28% em relação ao Controle e ao tratamento com Aminoácidos. Segundo Larcher (2004), a taxa de crescimento aumenta com um maior ganho de CO_2 e, portanto, está correlacionada com a capacidade fotossintética.

Cerca de 50% de toda energia produzida pelas plantas no período inicial desenvolvimento é direcionada para as raízes. O rápido crescimento das raízes é importante, pois garante ampla exploração da água e nutrientes disponíveis no solo. Plantas com área radicular superior são mais tolerantes a possíveis estresses devido a maior área de exploração do solo (LARCHER, 2004).

No caso da soja, as raízes são os pontos de infecção das bactérias fixadoras do nitrogênio atmosférico. Alta disponibilidade de raízes já no início do crescimento da plântula maximiza a infecção pelas bactérias e potencializa a FBN. Isto porque normalmente as bactérias infectam, preferencialmente, nas regiões de alongamento e nas zonas de formação dos pelos radiculares.

Os hormônios também desempenham papel fundamental na FBN. A divisão celular é modulada pelo gradiente de auxinas e citocininas, promovendo o desenvolvimento do nódulo. Durante a infecção o rizóbio promove inibição temporária no transporte de auxina, causando seu acúmulo na região do nódulo. A regulação é feita por intermédio das lipoquitinas e oligossacarídeos induzidos pela ação desse hormônio vegetal. De modo geral as lipoquitinas e oligossacarídeos perturbam o fluxo da auxina na raiz durante o início da nodulação, fluxo que seria mediado por flavonóides endógenos (MATHESIUS et al., 1998). De acordo com Fei e Vessey (2004), elevados níveis de citocinina estão associados com aumento na nodulação, enquanto que baixos níveis são correlacionados com aumento de N no solo. Entretanto os níveis de auxinas mostram declínio após o início da nodulação, mas com incremento subsequente.

As auxinas são os hormônios que mais influenciam o crescimento radicular. Estas estão envolvidas na formação de raízes laterais e na manutenção da dominância apical. O desenvolvimento de raízes laterais pode ser dividido em três partes, sendo o primeiro a iniciação e o desenvolvimento do primórdio radicular, o segundo a emergência e por último a ativação do meristema. Em Arabidopsis é conhecido que as auxinas se acumulam nas células adjacentes ao xilema das células do periciclo, com o objetivo de iniciar a formação das raízes laterais através da reespecificação destas em células criadoras de raízes laterais

(DUBROVSKY et al., 2008). Além disso, também estão envolvidas no crescimento e organização do primórdio radicular e na emergência a partir da raiz principal (LASKOWSKI et al., 2006; HODGE et al., 2009).

A maior formação de raízes laterais também é importante para a síntese das citocininas. Estas são produzidas nas pontas das raízes e transportadas para a parte aérea, onde estimulam o crescimento (TAIZ; ZEIGER, 2010).

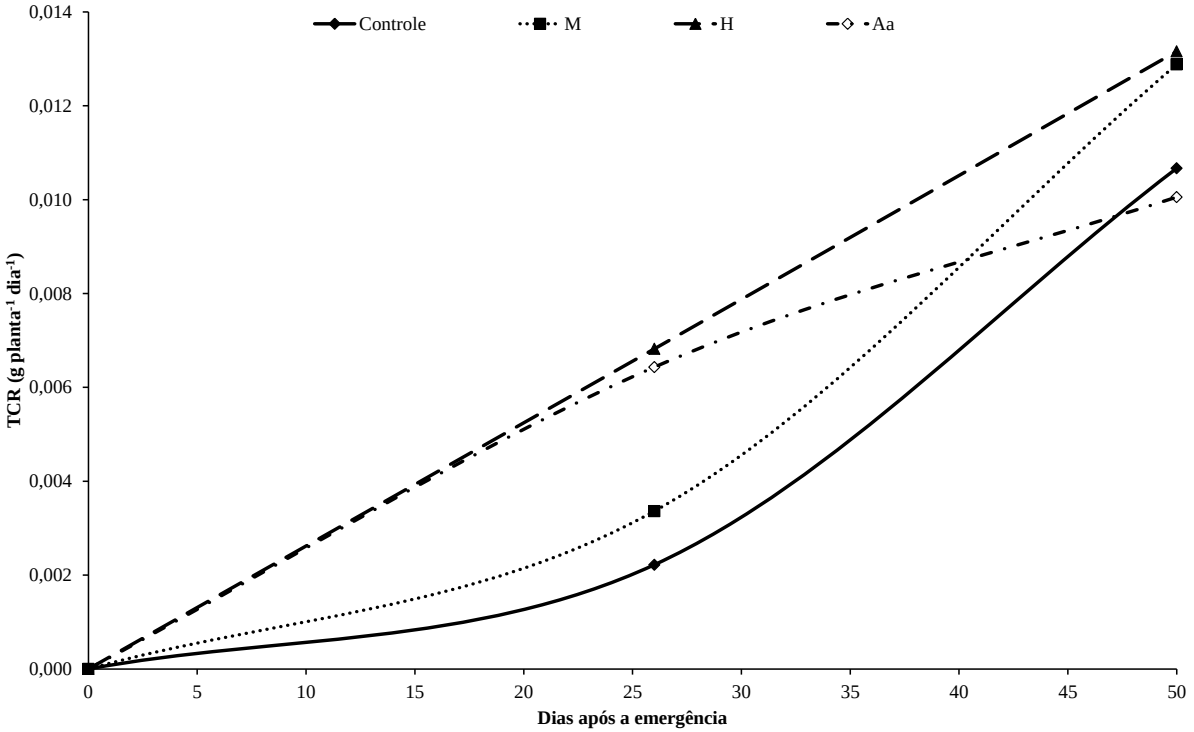

Figura 18 - Taxa de crescimento de raízes (TCR, g planta^{-1} dia^{-1}) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 e 50 dias após a emergência (DAE)

Tabela 7 - Taxa de crescimento de raízes (TCR, g planta^{-1} dia^{-1}) plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 e 50 dias após a emergência (DAE)

Tratamento	TCR (g planta^{-1} dia^{-1})	
	26 DAE	50 DAE
Controle	0,0022 b*	0,0107 b*
M	0,0034 b	0,0129 a
H	0,0068 a	0,0132 a
Aa	0,0064 a	0,0101 b
CV (%)	24,71	15,35
DMS	0,0019	0,0021

* médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro

Após a rápida formação dos órgãos de absorção de água e nutrientes, o objetivo das plantas é construir caules e folhas que irão sustentar a futura produção. Neste trabalho, observou-se que os tratamentos que receberam Hormônios ou Aminoácidos apresentam maior taxa de crescimento de caule (TCC) aos 26 dias após a emergência. Em média, este aumento foi de 0,00315 e 0,00175 em relação ao Controle e aos demais tratamentos, respectivamente (Figura 19, Tabela 8). Posteriormente, o tratamento com Micronutrientes proporcionou maior TCC. O mesmo comportamento foi observado para a taxa de crescimento de folha (TCF) (Figura 20, Tabela 9).

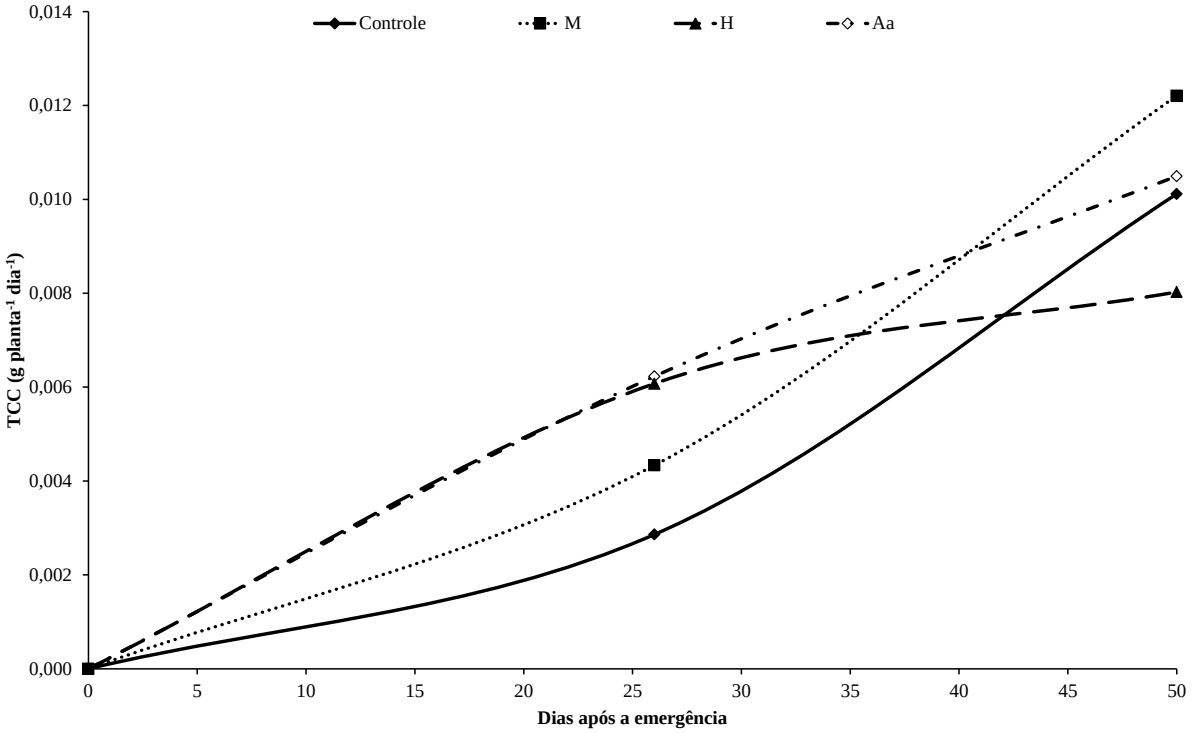

Figura 19 - Taxa de crescimento de caule (TCC, g planta^{-1} dia^{-1}) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 e 50 dias após a emergência (DAE)

Tabela 8 - Taxa de crescimento de caule (TCC, g planta^{-1} dia^{-1}) plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 e 50 dias após a emergência (DAE)

Tratamento	TCC (g planta^{-1} dia^{-1})	
	26 DAE	50 DAE
Controle	0,0029 c*	0,0101 ab*
M	0,0043 b	0,0122 a
H	0,0061 a	0,0080 b
Aa	0,0062 a	0,0105 ab
CV (%)	13,60	15,33
DMS	0,0011	0,0026

* médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro

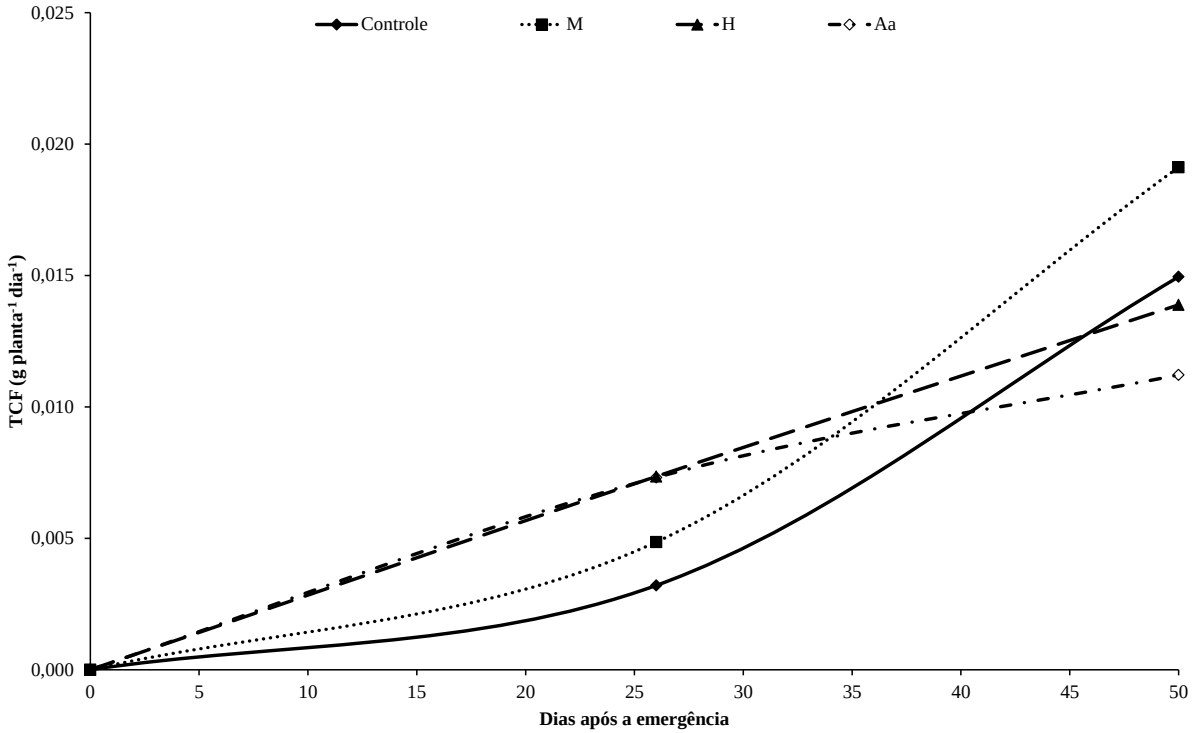

Figura 20 - Taxa de crescimento de folhas (TCF, g planta^{-1} dia^{-1}) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 e 50 dias após a emergência (DAE)

Tabela 9 - Taxa de crescimento de folhas (TCF, g planta^{-1} dia^{-1}) plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 e 50 dias após a emergência (DAE)

Tratamento	TCF (g planta^{-1} dia^{-1})	
	26 DAE	50 DAE
Controle	0,0032 b*	0,0149 b
M	0,0049 b	0,0191 a
H	0,0074 a	0,0139 bc
Aa	0,0073 a	0,0112 c
CV (%)	18,48	13,75
DMS	0,0018	0,0034

* médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro

O incremento na absorção de nitrogênio via nitrato redutase, associado a maior fotossíntese liquida e ao menor índice de estresse potencializou o acúmulo de fitomassa seca total (Figura 21, Tabela 10). Embora a concentração de nitrogênio na planta represente apenas 3% da massa seca total de uma planta, Levin, Mooney e Field (1989) afirmam que a deficiência deste elemento é altamente limitante para o crescimento e produtividade das culturas, pois este é controlador de diversos processos tais como, distribuição de matéria seca pela planta e assimilação de carbono através da fotossíntese. Segundo Lawlor (2002), o papel do nitrogênio na produção de fitomassa seca e, consequentemente, remobilização para os grãos, está diretamente relacionado com a fotossíntese, pois a energia dos fótons é convertida em energia química, armazenada em ATP e metabólitos secundários, primeiramente o NADH, o qual é utilizado na síntese de assimilados de carbono e nitrogênio, particularmente carboidratos e aminoácidos. Taiz e Zeiger (2010) afirmam que uma rápida assimilação de CO_2 requer grande quantidade de cloroplastos, principalmente os complexos coletores de luz.

Para culturas em geral, o acúmulo de massa de matéria seca no caule pode ser uma característica importante, pois parte desta pode ser remobilizada para os grãos durante a sua formação, principalmente em períodos de estresses e, portanto, constitui-se num fator importante para determinar a produtividade final de grãos (VAN KEULER; WOLF, 1986; CHAVES, 2002).

O incremento na TCR, TCC e TCF repercutiu no acúmulo de massa de matéria seca total. Aos 26 dias após a emergência, os tratamentos que receberam apenas Aminoácidos ou Hormônios, apresentaram as maiores taxa de crescimento total de plantas (Figura 21, Tabela 10). Aos 50 dias após a emergência, todas as sementes que receberam algum tipo de tratamento apresentaram incremento na massa se matéria seca total (Figura 21, Tabela 10). O rápido crescimento inicial resulta numa antecipada ocupação do espaço, característica importante em situações de competição (GRIME; HUNT, 1975).

Segundo Evans (1989) a produção de fitomassa seca pelas culturas em geral está ligada principalmente a disponibilidade de nitrogênio, juntamente com a maior assimilação de CO_2 pela fotossíntese. O incremento na atividade da nitrato redutase (maior assimilação de nitrogênio) ligado a uma maior área foliar provavelmente proporcionou aumento na área fotossintética que ocasionou incremento na fotossíntese líquida e consequentemente maior produção de açúcares que posteriormente serão translocados para órgãos drenos em crescimento, neste caso o enchimento de grãos.

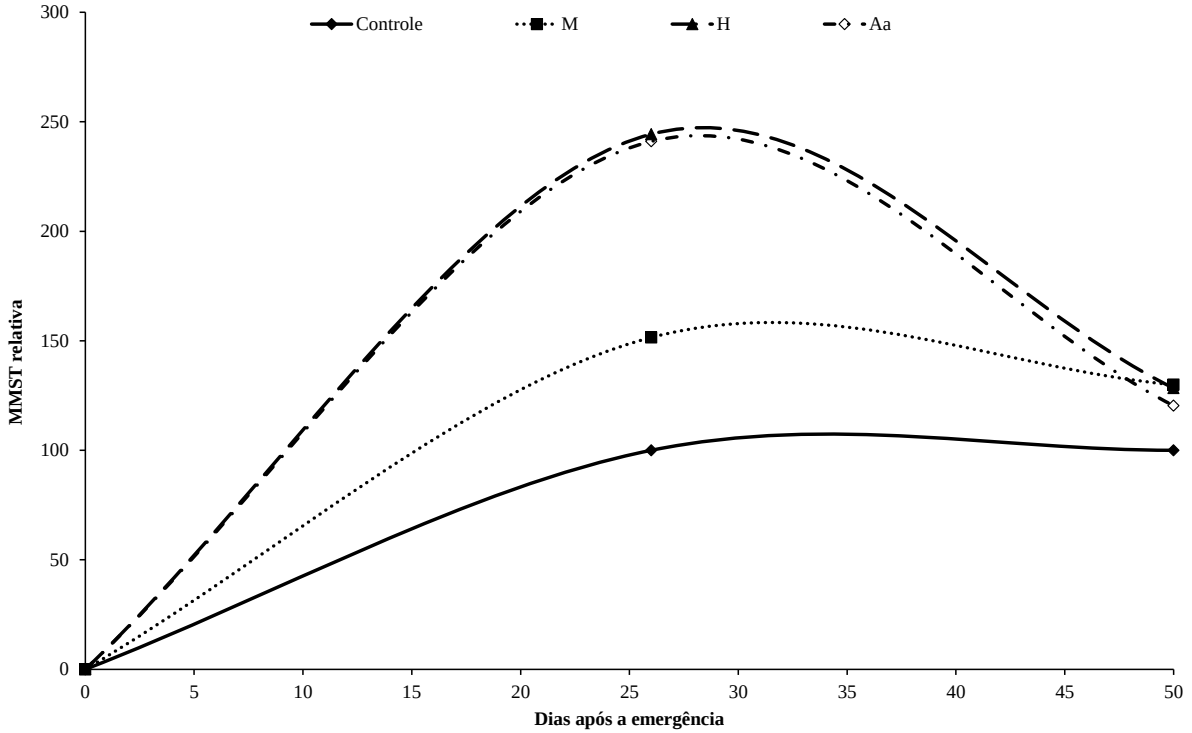

Figura 21 - Massa de matéria seca total relativa de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 e 50 dias após a emergência (DAE)

Tabela 10 - Massa de matéria seca total (MMST, g planta^{-1}) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 e 50 dias após a emergência (DAE)

Tratamento	MMST (g planta^{-1})	
	26 DAE	50 DAE
Controle	0,2237 c*	1,0813 b*
M	0,3390 b	1,4050 a
H	0,5467 a	1,3883 a
Aa	0,5393 a	1,3017 a
CV (%)	14,53	5,21
DMS	0,099	0,15

* médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro

A maior taxa de crescimento de folhas (TCF) traduziu em maior área foliar (Figura 23). Aos 26 dias após a emergência (DAE), os tratamentos com Hormônios e Aminoácidos proporcionou maior área foliar em relação aos de mais tratamentos. O incremento médio foi de 30 e 18 cm^2 $planta^{-1}$ em relação ao Controle e aos tratamentos com Micronutrientes (Figura 22, Tabela 11). Aos 56 dias após a emergência (DAE), o tratamento com Micronutrientes apresentou a maior área foliar, embora não tenha diferido do tratamento com Hormônios. Este valor foi 32,5% maior em relação ao Controle (Figura 22, Tabela 11).

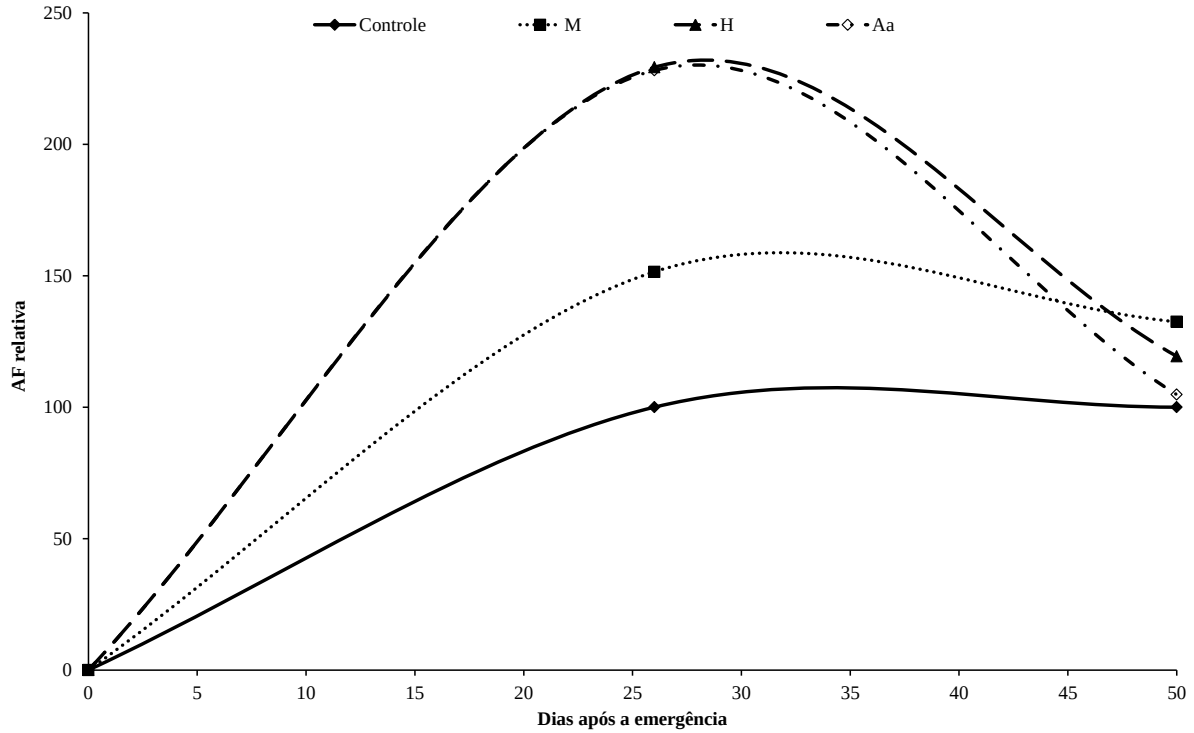

Figura 22 - Área foliar relativa de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 e 50 dias após a emergência (DAE)

Tabela 11 - Área foliar (AF, cm^2 $planta^{-1}$) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes [Controle; M: Zn + B + Mn + Mo + Ni + Co; H: AIB + GA_3 + Cinetina; Aa: Ácido glutâmico + Cisteína + Metionina + Arginina + Glicina] aos 26 e 50 dias após a emergência (DAE)

Tratamento	AF (cm^2 $planta^{-1}$)	
	26 DAE	50 DAE
Controle	23,27 b*	151,88 c*
M	35,26 b	201,22 a
H	53,35 a	178,33 ab
Aa	53,08 a	159,16 bc
CV (%)	19,64	7,97
DMS	13,48	23,01

* médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro

A interceptação luminosa, a fotossíntese e consequentemente a matéria seca acumulada estão diretamente relacionadas à área foliar. Normalmente existe uma relação direta entre a área foliar e a taxa de produção e acúmulo de massa de matéria seca. A redução da área foliar durante o estádio reprodutivo reduz o período de enchimento de grãos.

Em soja, o aumento da massa de matéria seca e de área foliar durante o enchimento de grãos é relatado por Nelson (1986) como sendo um dos principais fatores que influenciam no aumento da produtividade da cultura. Já Board e Modali (2005) ressaltam que o acúmulo de fitomassa seca a partir do estádio R_1 e durante o R_5 é um componente importante para estimar a produtividade da cultura da soja, principalmente devido a maior interceptação de radiação solar e particionamento de fotoassimilados para os órgãos reprodutivos, o que auxilia na otimização da produtividade. Portanto, o uso de fungicidas a base de estrobilurina pode ser um fator importante no aumento de produtividade da cultura de soja, por propiciar o maior acúmulo de massa de matéria seca.

Com base nestes resultados é possível concluir que, nas doses utilizadas no tratamento de sementes, os micronutrientes reduzem a germinação, entretanto incrementam a atividade da nitrato redutase e a fotossíntese líquida aos 26 dias após a emergência (DAE), o valor Spad, a taxa de crescimento de raiz, caule e folha, a massa de matéria seca total e área foliar das plantas aos 50 DAE. Tanto os hormônios quanto os aminoácidos reduzem o nível de estresse das plantas e aumentam a fotossíntese líquida, a taxa de crescimento de raiz, caule e folha, a massa de matéria seca total e a área foliar no período inicial de crescimento das plantas, no entanto aminoácidos inibiram a atividade da enzima nitrato redutase aos 50 DAE.

A atividade da urease incrementa no tratamento de sementes com aminoácidos aos 50 DAE e todos os tratamentos de sementes incrementam o valor Spad.

4.2 Experimento II: contribuição do tratamento de sementes e do sistema de manejo na produtividade da cultura de soja

No estádio inicial de desenvolvimento das plantas, a aplicação de organominerais via foliar no sistema de produtividade potencial (SPP), reduziu a atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) quando foram utilizados Micronutrientes e Hormônios no tratamento de sementes, isolados ou em mistura. Esta redução foi de 50, 31 e 42% em relação ao Controle. Nos demais tratamentos de sementes, a atividade foi influenciada. Quando foi comparado o sistema de produção em cada tratamento de sementes, a atividade foi inferior o Controle no tratamento de sementes com Micronutrientes + Hormônios, Micronutrientes e Hormônios no SPP, enquanto que no sistema de produtividade convencional (SPC) a redução da atividade dessa enzima em relação o Controle foi verificada no tratamento de sementes com Micronutrientes e Micronutrientes + Aminoácidos. Esta redução foi de 43 e 22% em relação o Controle, respectivamente (Figura 23).

Para o estádio $V_{7,}$ foram apresentados os dados médios entre as duas avaliações realizadas, exceto para a SOD e fotossíntese líquida. Os efeitos do sistema de produção na atividade da SOD apresentou no estádio V_7 comportamento diferenciado ao observado no estádio V_4. Neste estádio fenológico, no SPC o uso do tratamento de sementes com Micronutrientes isolados induziu maior atividade da SOD, seguido pelo Controle. No SPP, notou-se comportamento similar ao observado para o SPC, onde novamente a utilização do tratamento de sementes com Micronutrientes foi superior aos demais (Figura 24). É importante ressaltar que no SPP foi realizada aplicação de Lactofen 5 dias antes da avaliação da atividade enzimática, com o intuito de inibir a dominância apical e induzir a formação de ramificações. Portanto, era esperado que em cada sistema de tratamento de sementes que foi conduzido sob SPP, apresenta-se maior atividade da SOD, embora isso possa estar relacionado ao elevado nível de degradação molecular induzida pelo Lactofen ter ocasionado redução na capacidade da planta em sintetizar e ativar esta enzima (Figura 24).

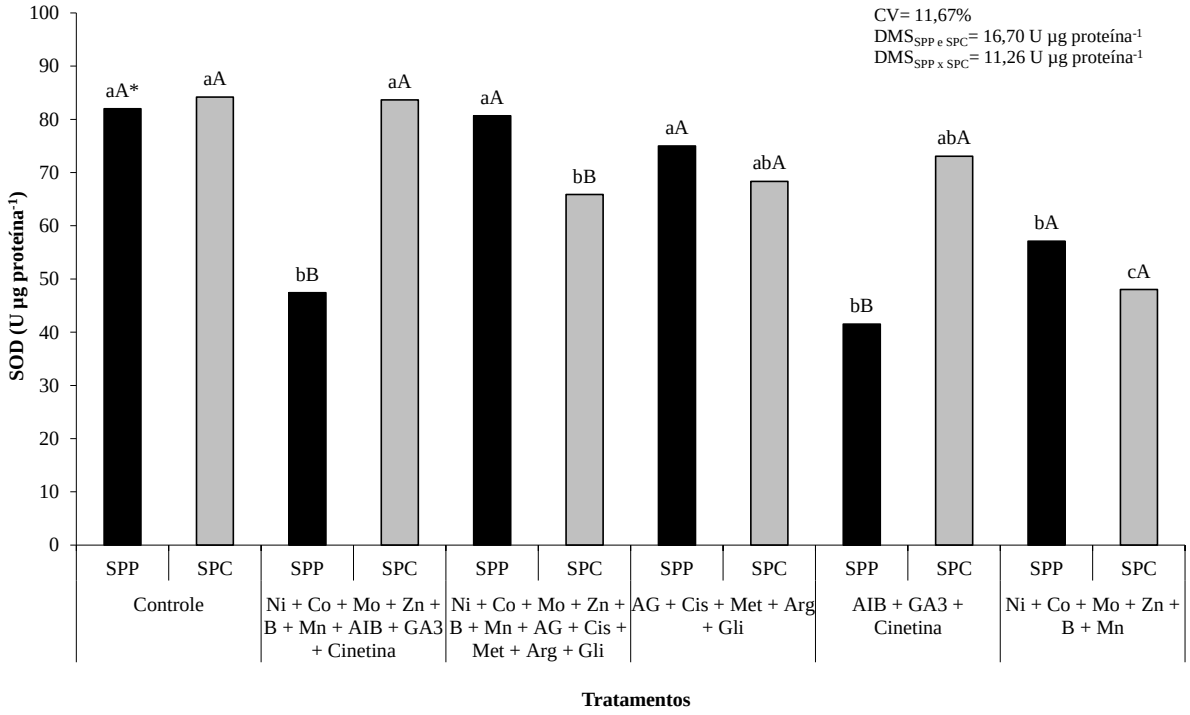

Figura 23 - Atividade da superóxido dismutase (SOD, U µg proteína^{-1}) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. Valores referentes aos 26 DAE e 4 DAA de organominerais no estádio V_4. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

Tem sido apresentado que a atividade da SOD incrementa com o aumento no nível de estresse, entretanto, estresses intensos causam inibição da atividade da enzima (FOYER; DESCOURVIÈRES; KUNERT, 1994). A elevada produção de $^{\bullet}O_2^-$ e H_2O_2 causa inibição da SOD através da modificação oxidativa do resíduo de histidina no sítio catalítico, sendo esta mais sensível ao H_2O_2 (HODGSON; FRIDOVICH, 1975; CASANO et al., 1997). A inibição da atividade da SOD pela aplicação de Paraquat é um exemplo deste comportamento (BOWLER; VAN MONTAGU; INZE, 1992).

Essa enzima tem papel fundamental na tolerância de plantas ao estresse oxidativo, pois a mesma atua nos radicais $^{\bullet}O_2^-$, transformando-os em H_2O_2. Normalmente a expressão de genes que codificam esta enzima é incrementada sob condições de estresse oxidativo (DODGE, 1994). As plantas cultivadas em condições de campo estão em constante interação com vários tipos de estresses, os quais incluem excesso de temperatura, elevada luminosidade, *deficit* hídrico, principalmente, que estão diretamente ligados a produção de radicais $^{\bullet}O_2^-$ e

consequentemente no incremento da atividade da SOD. Portanto, pode-se inferir que nos SPC, as plantas estão expostas fisiologicamente a maior intensidade desses estresses, devido a não utilização de nutrientes e moléculas com atividade antioxidante e estruturais.

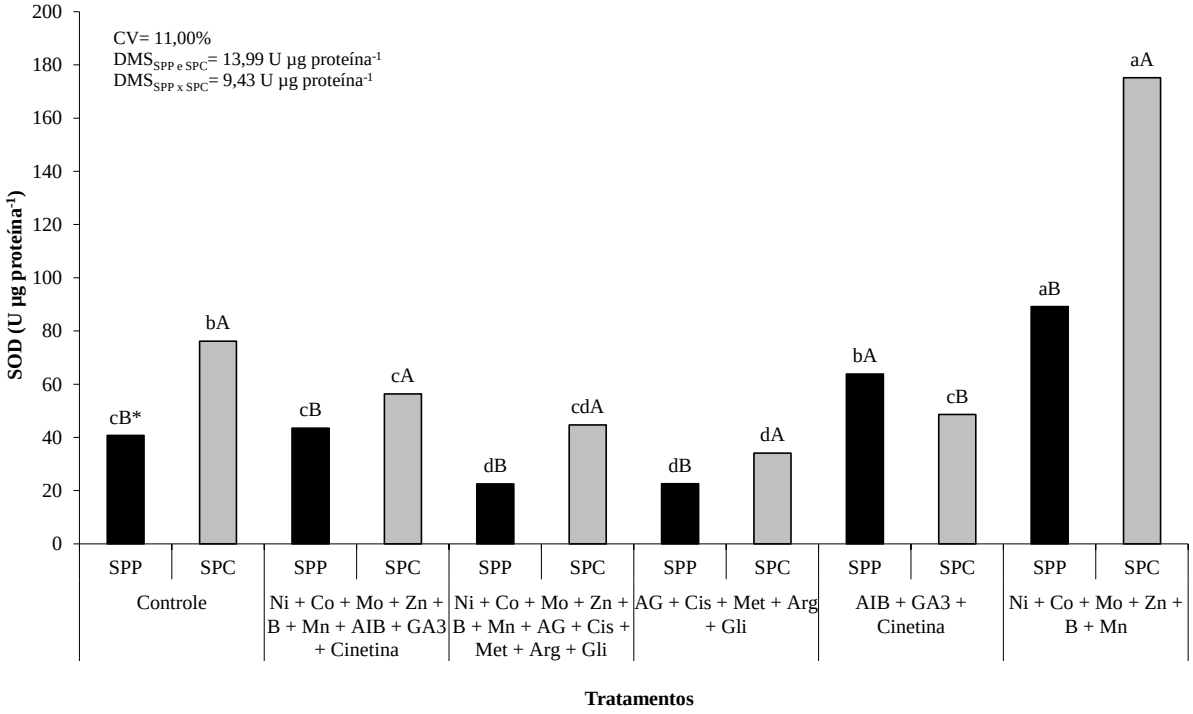

Figura 24 - Atividade da superóxido dismutase (SOD, µg proteína^{-1}) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. Valores referentes aos 5 DAA do Lactofen e 2 DAA de organominerais no estádio V_7. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

O Lactofen é um herbicida do grupo éter difenílico que inibe a protoporfirinogênio-IX oxidase (Protox), a qual catalisa a oxidação do protoporfirinogênio-IX a protoporfirina-IX (Proto-IX) e induz a geração de ERO como mecanismo de ação, causando estresse oxidativo em plantas (MATRINGE et al., 1989). Além da elevada produção de ERO, o Lactofen reduz a concentração de açúcares solúveis (FERREIRA et al., 2011), os quais desempenham papel fundamental na detoxificação destas espécies. Estes podem estar relacionadas à vias metabólicas pelas quais são produzidas os agentes detoxificantes. Ainda, podem alimentar a produção metabólica de NADPH, tal como na via oxidativa das pentoses fosfato, que pode contribuir para detoxificação das ERO (COUÉE et al., 2006).

Dessa forma, Roman (2000) tem proposto que este herbicida causa interrupção transitória no crescimento de soja poucas horas após a aplicação através das injúrias causadas nas folhas, as quais podem resultar em necrose. Entretanto, normalmente as plantas reiniciam o crescimento depois de três ou quatro semanas.

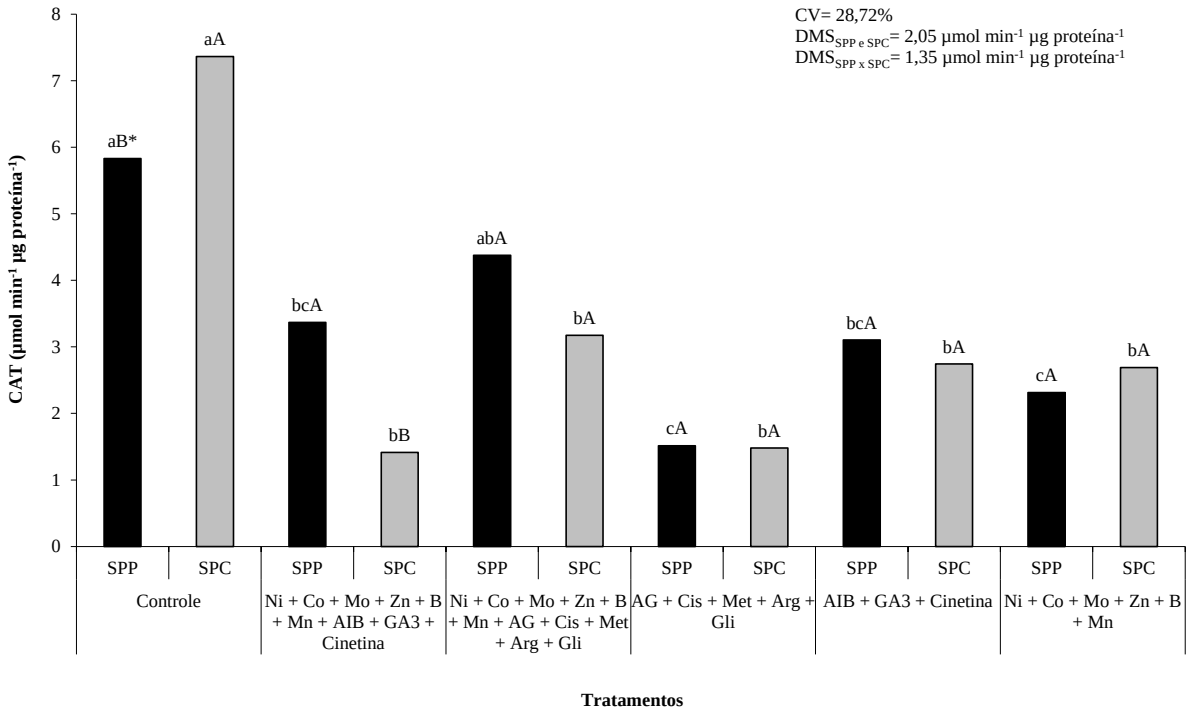

Figura 25 - Atividade da catalase (CAT, µmol min^{-1} µg $proteína^{-1}$) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. Valores referentes aos 26 DAE e 4 DAA de organominerais no estádio V_4. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

Quanto à atividade da enzima catalase (CAT), constatou-se grande diferença na atividade do Controle comparada aos demais tratamentos, tanto no SPP quanto no SPC. Em média, para o SPP, o Controle apresentou atividade 199% superior em relação aos demais tratamentos, enquanto que para o SPC este valor foi de 220% (Figura 25). Uma possível causa deste comportamento está ligada ao fato da maior atividade da SOD neste período, pois esta enzima produz H_2O_2, que é catalisado pela CAT. Isso porque, sem tratamento de sementes, estas plantas não apresentaram crescimento radicular suficiente para suprir a demanda de água e nutrientes durante o crescimento inicial, fator pelo qual pode ter sido potencializada a síntese de ERO.

No estádio V_7, a atividade da CAT esteve correlacionada com a utilização de Lactofen. No SPC, onde não foi utilizado o herbicida, o tratamento que apresentou maior atividade da enzima CAT foi aquele em que foram utilizados Hormônios e Micronutrientes isolados, sendo estes incrementos de 356 e 256% em relação ao Controle, respectivamente. Contudo, no SPP, a utilização de Lactofen provavelmente causou nível de estresse mais intenso, que reduziu a atividade da enzima em relação ao SPC. Embora, mesmo que a atividade tenha sido inferior ao SPP, ainda detectou-se destaque para a utilização de Micronutrientes no tratamento de sementes (Figura 26).

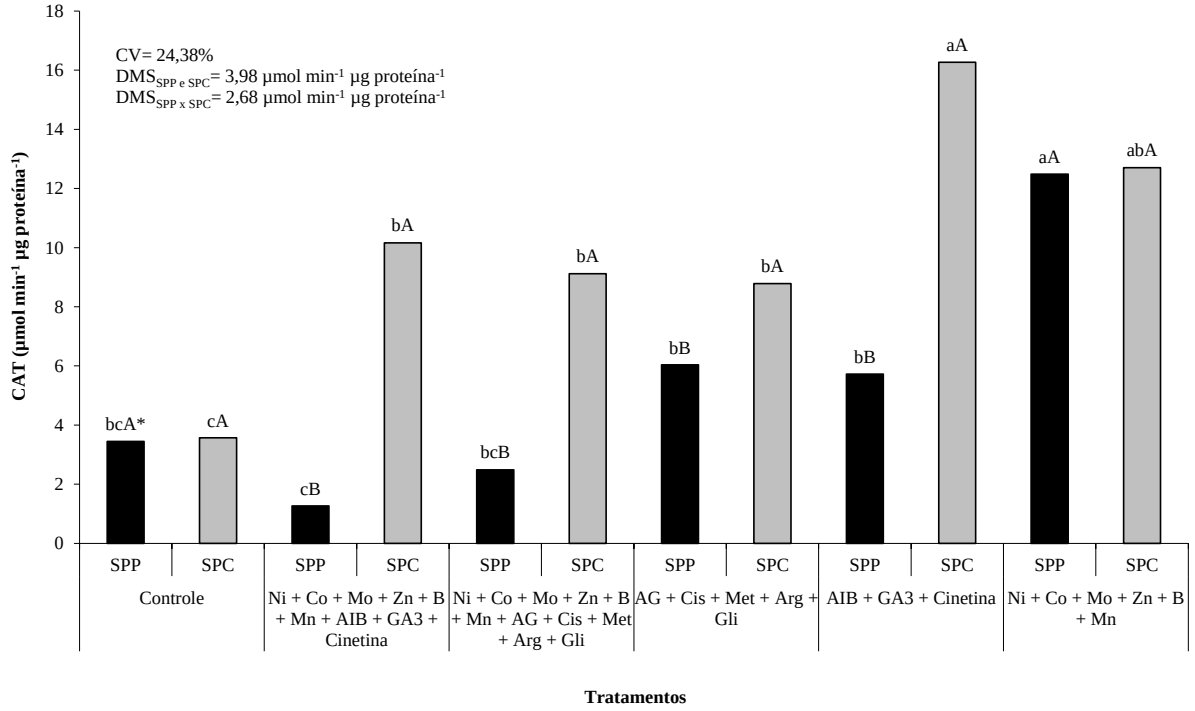

Figura 26 - Atividade da catalase (CAT, µmol min^{-1} µg $proteína^{-1}$) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. Valores médios entre os dados de 3 DAA do Lactofen e 2 DAA de organominerais no estádio V_7. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

Outra linha de defesa considerada relevante para as plantas refere-se à enzima peroxidase (POD). Esta enzima, ao contrário da CAT, utiliza energia proveniente da fotossíntese para realizar a redução do H_2O_2 (GILL; TUTEJA, 2010). Portanto, sistemas de cultivo que direcionam maior quantidade de energia pode promover a atividade da enzima.

O Controle e o tratamento a base de Micronutrientes + Aminoácidos foram os que responderam em maior atividade da POD à aplicação de organominerais via foliar, quando avaliado aos 4 DAA. Estes valores foram de 25,3 e 40,3%, respectivamente. Nos demais não foi detectado diferença significativa. Porém, em cada sistema de produção, notou-se maior atividade da POD no Controle em relação aos demais no SPP, que pode estar ligado a dois fatores: ao efeito compensatório da baixa a atividade ocorrida antes da aplicação foliar dos organominerais e do alto nível de estresse oxidativo pelo qual estas plantas estavam sendo submetidas (Figura 27).

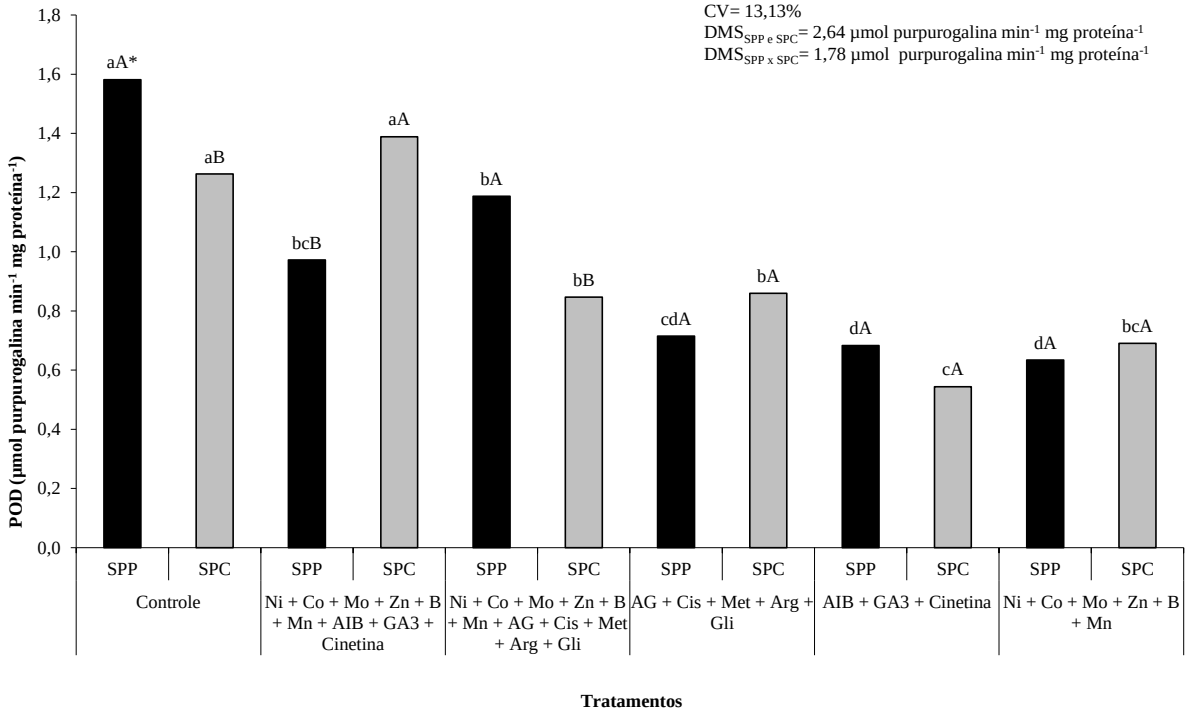

Figura 27 - Atividade da peroxidase (POD, µmol purpurogalina min^{-1} mg $proteína^{-1}$) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. Valores referentes aos 26 DAE e 4 DAA de organominerais no estádio V_4. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

Organominerais contém uma diversidade de compostos, entre eles, alguns com propriedades antioxidantes. A utilização destes produtos causa aumento na atividade das enzimas de defesa contra o estresse oxidativo, o que torna as plantas mais tolerantes (VASCONCELOS et al., 2009). Como exemplo, as citocininas presentes nestes produtos possuem propriedades anti-senescência, que estão relacionadas à sua atividade antioxidantes

(ZHANG; ERVIN, 2004). Segundo Thimann (1987), esta mantém a integridade da membrana do tonoplasto através da inibição da lipoxigenases, inibindo a senescência.

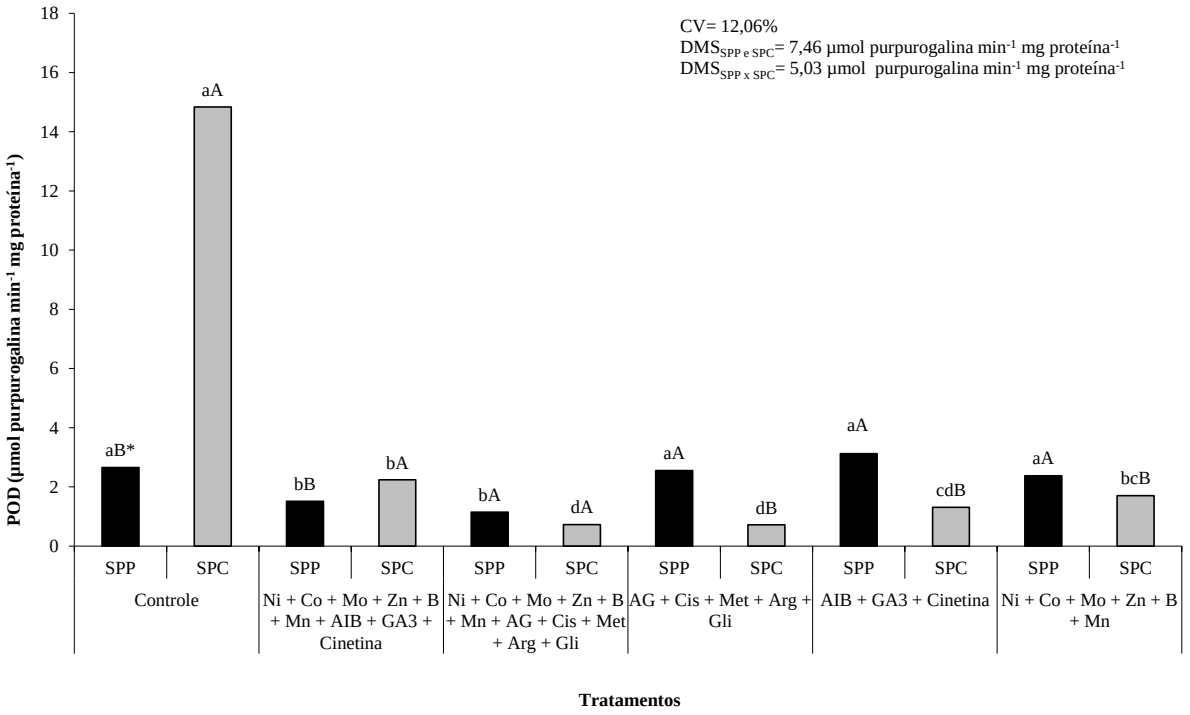

Figura 28 - Atividade da peroxidase (POD, µmol purpurogalina min^{-1} mg $proteína^{-1}$) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. Valores médios entre os dados de 3 DAA do Lactofen e 2 DAA de organominerais no estádio V_7. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

O estresse oxidativo quando não é minimizado pela atividade das enzimas antioxidantes resulta na peroxidação lipídica. Isso porque as moléculas, principalmente radical superóxido, não apresentam facilidade em atravessar a membrana, e consequentemente ligam-se as ligações duplas das moléculas de ácidos graxos saturados induzindo a degradação destes (GILL; TUTEJA, 2010). Quando se analisa aos 26 dias após a emergência, que corresponde aos 4 DAA a aplicação de organominerais via foliar no SPP, não se constatou diferença entre os sistemas de produção nos tratamentos de sementes. Contudo, ao comparar os tratamentos de sementes no mesmo sistema de produção, é possível detectar diferenças relevantes do Controle em relação aos demais. Este tratamento proporcionou maior nível de peroxidação lipídica, tanto no SPP quanto no SPC (Figura 29).

Estes resultados demonstram que o tratamento de sementes pode atuar como atenuador de estresse oxidativo. Ao utilizar como referência a atividade de enzimas antioxidante, notou-se que a SOD, CAT e POD apesentaram elevada atividade neste período, porém, possivelmente esta elevada atividade encontrava-se em nível de exaustão. Isso quer dizer que a concentração de ERO era tão elevada que mesmo o aumento da atividade enzimática não foi o suficiente para minimizar o estresse oxidativo e consequentemente a peroxidação lipídica.

No início do estresse as concentrações intracelulares de ERO e enzimas antioxidantes são mantidas a níveis baixos. Com o passar do tempo, a produção de ERO aumenta como reflexo da inativação de rotas de oxirredução que ocorre nas mitocôndrias, cloroplastos e peroxissomos. Concomitante a este processo, inicia-se o aumento da atividade de enzimas antioxidante como resposta inicial de defesa. Porém, quando esse estresse é muito prolongado ou extenso, ocorre uma "explosão oxidativa" (aumento da ERO) que não é acompanhada na mesma proporção pelo incremento da atividade de enzimas antioxidantes, culminando assim na morte celular (CARVALHO, 2008).

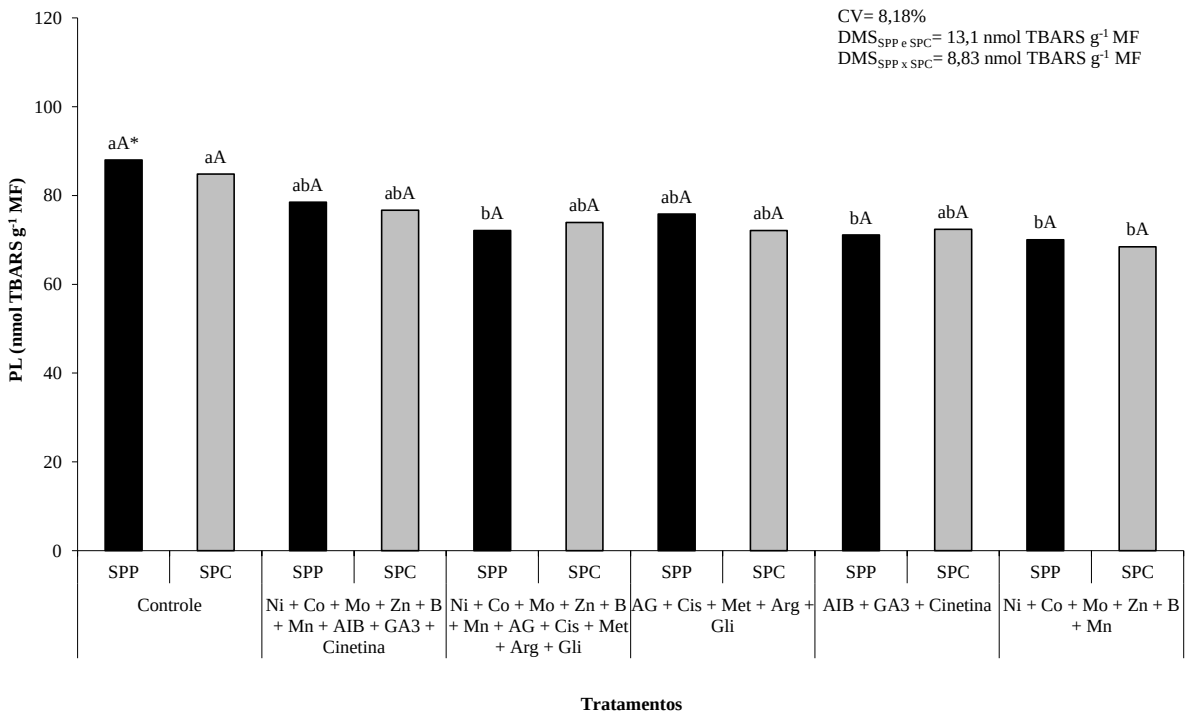

Figura 29 - Peroxidação de lipídios (PL, nmol TBARS g^{-1} MF) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. Valores referentes aos 26 DAE e 4 DAA de organominerais no estádio V_4. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

O uso do Lactofen proporcionou incremento no nível da peroxidação lipídica em relação ao SPC em todos os tratamentos de sementes, não havendo diferenciação entre os mesmos. Em média, este incremento foi de 19% (Figura 30). Isso se deve ao fato de o Lactofen induzir a geração de ERO como mecanismo de ação, causando estresse oxidativo em plantas (MATRINGE et al., 1989). Este herbicida ocasiona acúmulo de protoporfirina-IX como resultado da translocação do substrato da Protox (Protoporfirinogênio IX) para o citoplasma (LEHNEN et al., 1990), seguido pela oxidação não enzimática ou por oxidases insensíveis ao herbicida. Na presença de luz, a protoporfirina-IX acumulada, agora compartimentalizada, está incapaz de ser utilizada e reage com o O_2, formando oxigênio singleto ($^{-}O_2$). O $^{-}O_2$ formado causa a peroxidação dos lipídios e, eventualmente, mata as células (HESS, 2000; GRAHAM, 2005).

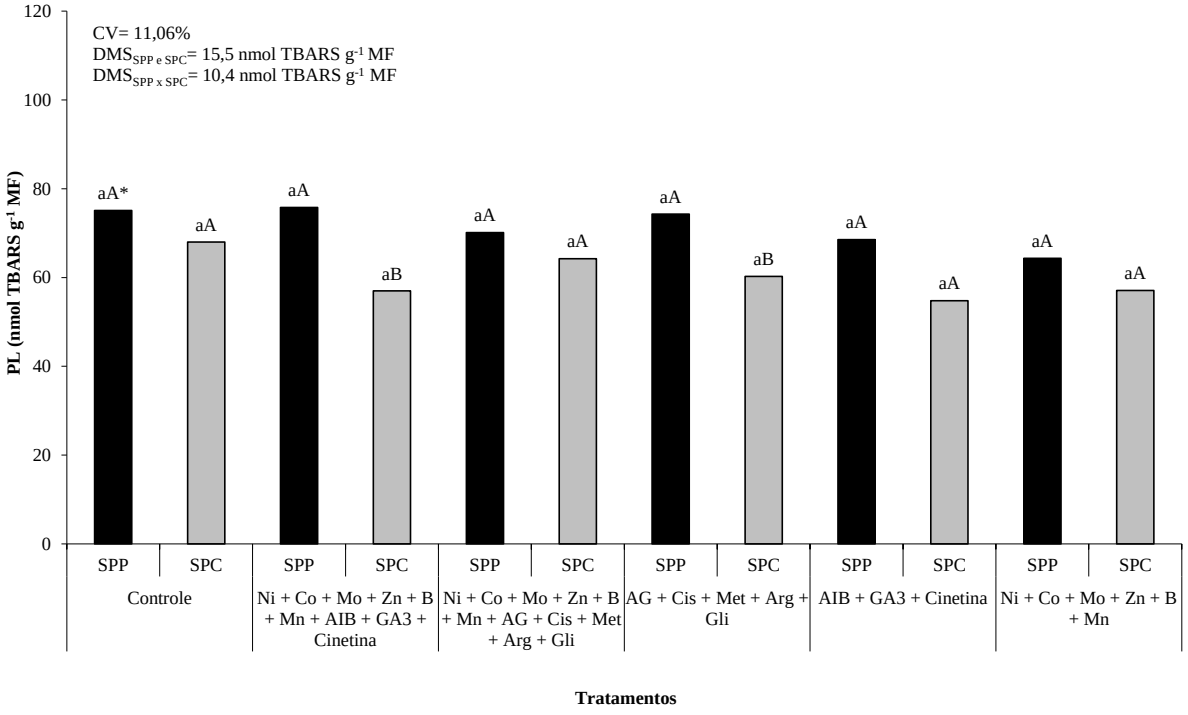

Figura 30 - Peroxidação de lipídios (PL, nmol TBARS g^{-1} MF) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. Valores médios entre os dados de 3 DAA do Lactofen e 2 DAA de organominerais no estádio V_7. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

O tratamento de sementes repercutiu no aumento da atividade da enzima nitrato redutase nos dois sistemas de produção. No SPP destacou-se a utilização de Aminoácidos, seguido por Micronutrientes isolados, Micronutrientes + Hormônios e Micronutrientes + Aminoácidos. Estes incrementos foram de 86, 65, 52 e 27% em relação ao Controle, respectivamente. No SPC, foram destacados os tratamentos com Micronutrientes + Hormônios, seguido por Micronutrientes. Os incrementos foram de 163 e 153% quando comparado o Controle, respectivamente (Figura 31).

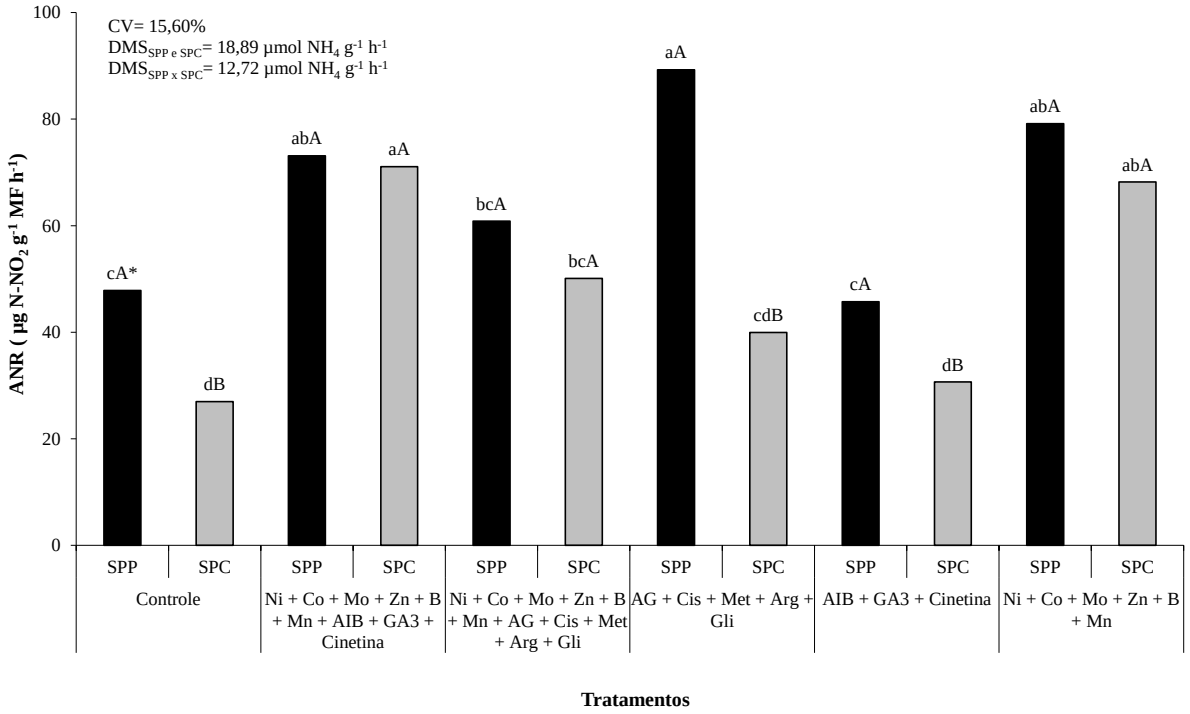

Figura 31 - Atividade da nitrato redutase (ANR, µg $N\text{-}NO_2$ g^{-1} MF h^{-1}) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. Valores referentes aos 26 DAE e 4 DAA de organominerais no estádio V_4. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

No estádio V_7, notou-se que o Lactofen não induziu redução na atividade da enzima nitrato redutase, o que é facilmente observado quando se analisa o SPP e o SPP. Provavelmente este comportamento é o reflexo da utilização de organominerais via foliar como atenuadores do estresse. Além disso, em períodos de 3 a 4 DAS à atividade fisiológica das plantas incrementam a fim de restaurar o equilíbrio metabólico. Provavelmente, os

organominerais potencializaram este efeito, o que responde o comportamento observado na Figura 32.

A utilização de Micronutrientes no tratamento de sementes foi fundamental para aumentar a atividade da nitrato redutase, como pode ser verificado tanto no SPP como no SPC. Tal efeito pode ser um reflexo do desenvolvimento radicular induzido por estes micronutrientes, especialmente pelo Zn, B e Co.

O Zn atua na síntese do triptofano (Trp), aminoácido precursor do ácido indol acético (AIA, auxina endógena). As auxinas são importantes no processo germinativo, pois são sinalizadoras para a divisão e expansão celular. No processo de biossíntese das auxinas, várias vias são descritas, sendo estas dependentes ou não do Trp. As rotas da triptamina (TAM) e a do ácido indol-3-pirúvico (AIP), as quais são dependentes do Trp, são as que contribuem pela maior parte do AIA sintetizado (TAIZ; ZEIGER, 2010). Segundo Tao et al. (2008), o mutante *taa1*, o qual apresenta falha em produzir uma proteína homóloga a uma aminotransferase que catalisa a produção de AIP a partir do Trp, contém 60% menos AIA livre. No entanto, pouco se sabe sobre a importância de cada rota na biossíntese de auxina. O tipo de rota para a produção de AIA varia entre tecidos e fases de desenvolvimento e, a existência de várias rotas é justificada pela importância desses hormônios para as plantas (TAIZ; ZEIGER, 2010).

A síntese de AIA é controlada pelo B. Este elemento regula a formação da AIA oxidase, a qual controla o nível de AIA nos tecidos. Desta forma a deficiência de B ocasiona um acréscimo na concentração de AIA diminuindo na formação e expansão de células durante a germinação, bem como, a emissão de raízes secundárias durante a emergência e desenvolvimento inicial (TAIZ; ZEIGER, 2010).

De acordo com Hsu, Chao e Kao (2013), o Co ativa as enzimas heme oxigenases, as quais medeiam resposta auxínica, induzindo a formação de raízes laterais. Isto torna este nutriente um grande potencializador de enraizamento, auxiliando assim na absorção de água e nutrientes nas fases iniciais de crescimento das plântulas.

O molibdênio utilizado no tratamento de sementes também pode ter contribuído para a maior atividade da nitrato redutase. Este nutriente é componente do cofator molibdênio (MoCo), o qual está presente nesta enzima (SCHWARZ; MENDEL, 2006).

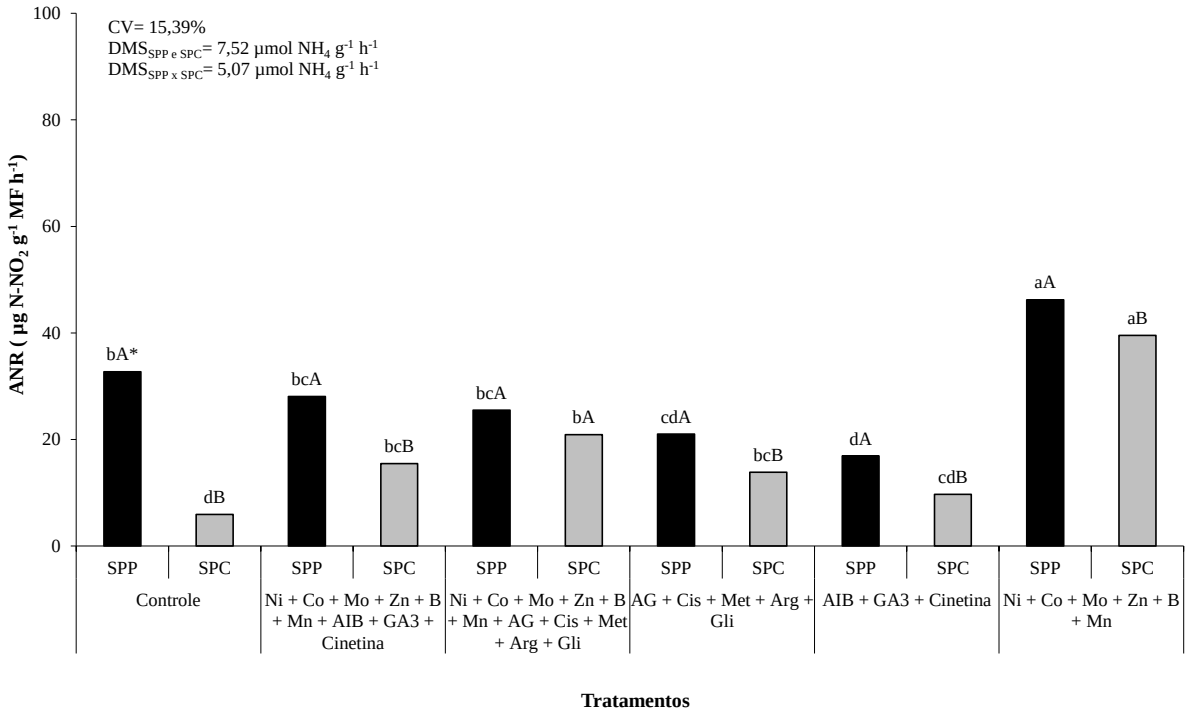

Figura 32 - Atividade da nitrato redutase (ANR, µg $N\text{-}NO_2$ g^{-1} MF h^{-1}) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. Valores médios entre os dados de 3 DAA do Lactofen e 2 DAA de organominerais no estádio V_7. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

Os tratamentos de sementes que proporcionaram maior atividade da urease foram quando foram utilizados Micronutrientes + Aminoácidos no SPP (80,7% superior em relação ao Controle) e Hormônios e Micronutrientes isolados e Micronutrientes + Hormônios no SPC (201, 198 e 193% a mais quando comparado ao Controle). Em todos os casos, o tratamento de sementes foi superior ao Controle, tanto no SPP quanto no SPC, sendo que no SPP os valores de urease sempre foram superiores aos SPC, mostrando o efeito da aplicação foliar de organominerais (Figura 33).

Nas aplicações foliares, o Ni foi um dos micronutrientes utilizados, o qual é requerido como cofator da urease (WITTE, 2011). Em plantas que fixação nitrogênio atmosférico, como é caso da soja, o nitrogênio é transportado para a parte aérea na forma de ureídeos. Embora ainda seja contraditório na literatura, existem evidências que a degradação destes produz ureia, a qual é hidrolisada pela urease (TODD et al., 2006; MUÑOZ et al., 2011). A arginina

também estava presente nos organominerais utilizados e pode ter contribuído para o aumento da atividade da urease, pois a degradação desta pela arginase produz ureia (MARSCHNER, 2012).

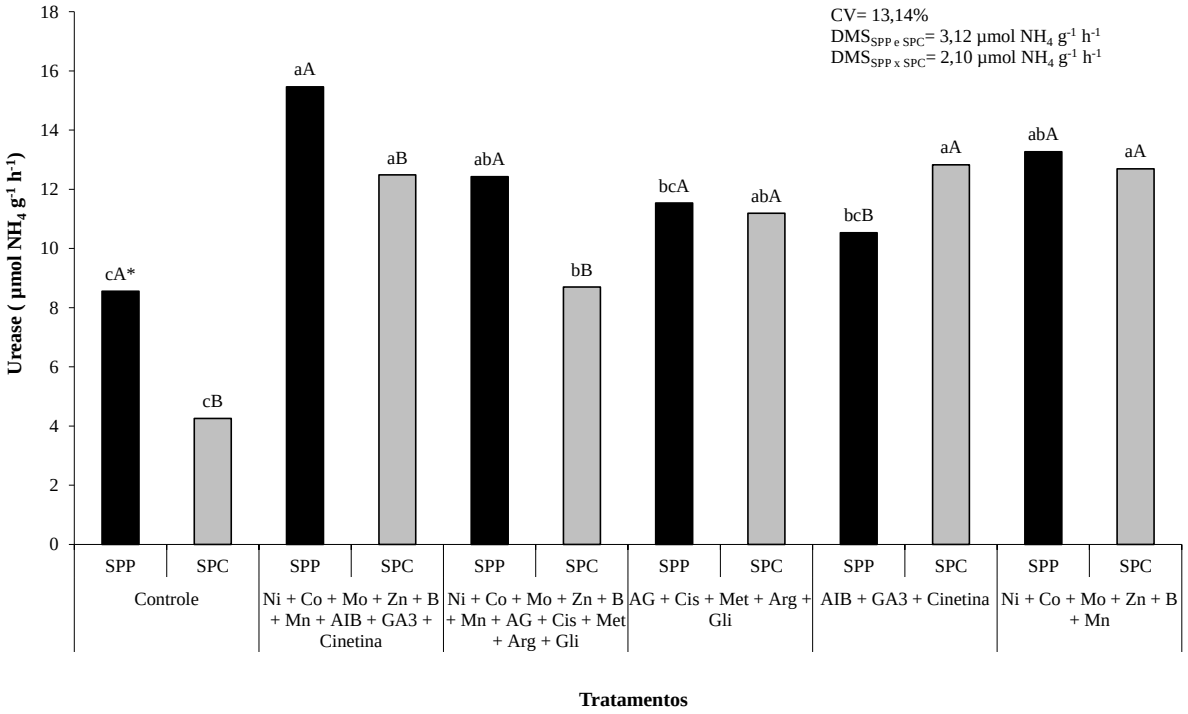

Figura 33 - Atividade da urease (µmol NH_4 g^{-1} h^{-1}) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. Valores referentes aos 26 DAE e 4 DAA de organominerais no estádio V_4. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

No SPP, após a aplicação do Lactofen não foi observado efeito negativo na atividade da urease em relação ao SPC. No sistema que utilizou como tratamento de sementes Aminoácidos, Micronutrientes e Hormônios isolados, a atividade foi superior ao convencional, que pode estar relacionado ao uso organominerais 2 dias antes da avaliação. O tratamento de sementes que ocasionou a maior atividade da urease no SPP foi o que utilizou Hormônios e Micronutrientes isolados, não diferindo do Controle e da mistura de Micronutrientes + Aminoácidos (Figura 34).

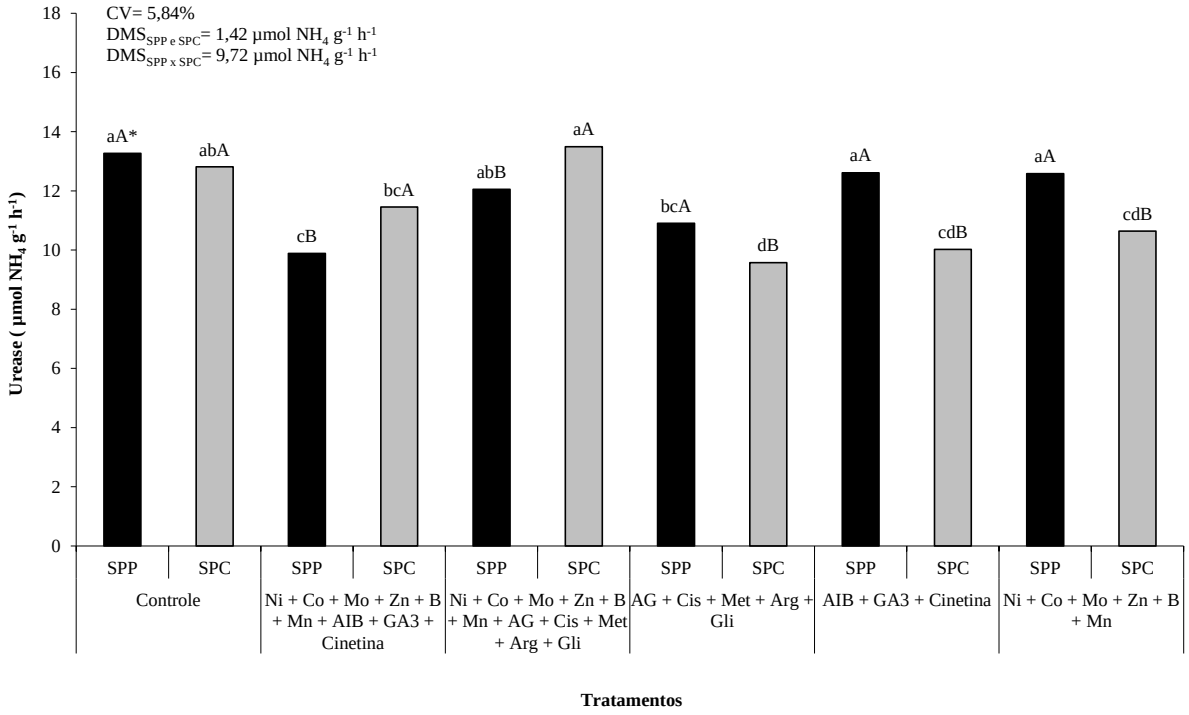

Figura 34 - Atividade da urease (µmol NH_4 g^{-1} h^{-1}) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. Valores médios entre os dados de 3 DAA do Lactofen e 2 DAA de organominerais no estádio V_7. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

O aumento da concentração de prolina é o reflexo do nível de estresse que a planta está sendo submetida, pois esse aminoácido atua como osmorregulador, antioxidante e protetor da atividade de enzimas. Em V_4, não se notou um padrão na síntese desse aminoácido nos sistemas de produção e no tratamento de sementes, exceto quando foram utilizados Hormônios e Micronutrientes isoladamente como tratamento de sementes. Neste, a concentração de prolina aumentou 118 e 142% no SPP em relação ao SPC, respectivamente. (Figura 35).

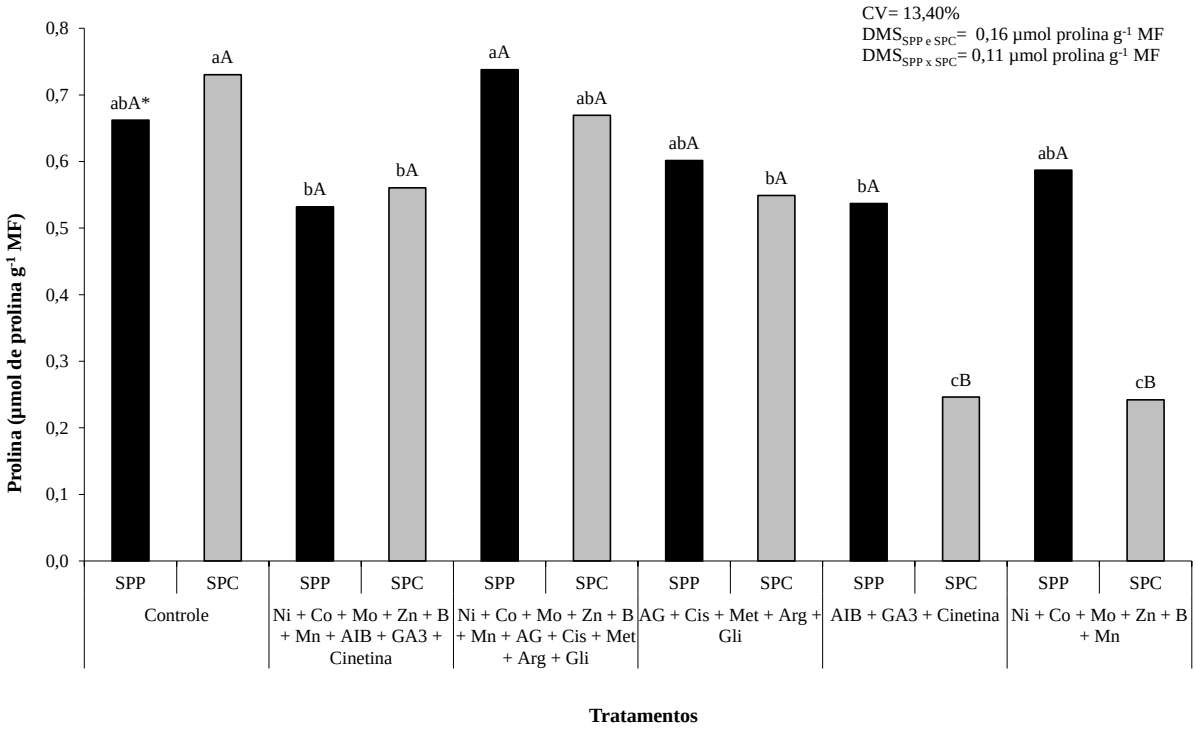

Figura 35 - Teor de prolina (µmol de prolina g^{-1} MF) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. Valores referentes aos 26 DAE e 4 DAA de organominerais no estádio V_4. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

No SPP, no estádio V_7, a concentração de prolina nas folhas aumentou em praticamente todos os tratamentos de sementes, exceto quando utilizou Aminoácidos isolados e no Controle. No Controle, não foi verificado diferença significativa entre os sistemas de produção possivelmente pela limitada capacidade da planta em sintetizar este aminoácido, que foi o reflexo da não realização do tratamento de sementes. Nos demais, comprova que o tratamento de sementes tem papel fundamental na potencialização da planta em sintetizar prolina, o que pode estar relacionado à maior área de solo explorada induzida pelo vigor das raízes nesses sistemas. O tratamento de sementes mais efetivo para a síntese de prolina em SPP foi aquele que utilizou Hormônios e Micronutrientes isolados, seguido pelo tratamento com Micronutrientes + Aminoácidos. Em SPC, novamente constatou-se destaque dos tratamentos com Hormônios e Micronutrientes isolados, porém neste caso não houve diferença em relação ao Controle (Figura 36).

A prolina desempenha diversas funções em plantas, sendo que sua síntese é aumentada como um mecanismo de tolerâncias a estresses. Como já citado na discussão do Experimento I, a prolina atua como um forte osmoprotetor, antioxidante e protetor da atividade de enzimas (SZABADOS; SAVOURÉ, 2009). Dessa forma, a maior concentração de prolina nos tecidos foi fundamental para manter menor o nível de estresse no sistema de alta atividade fisiológica (SPP).

Entretanto, a síntese demasiada deste aminoácido é prejudicial às plantas, pois esta consome entre 0,4 e 0,6% do N total das folhas (ERNST; NELISSEN; BOOKUM, 2000) e dessa forma, a elevada síntese de prolina pode consumir parte no N que poderia ser utilizado para o crescimento, além da inibição do crescimento devido a toxidez desses aminoácidos quando presente em altas concentrações.

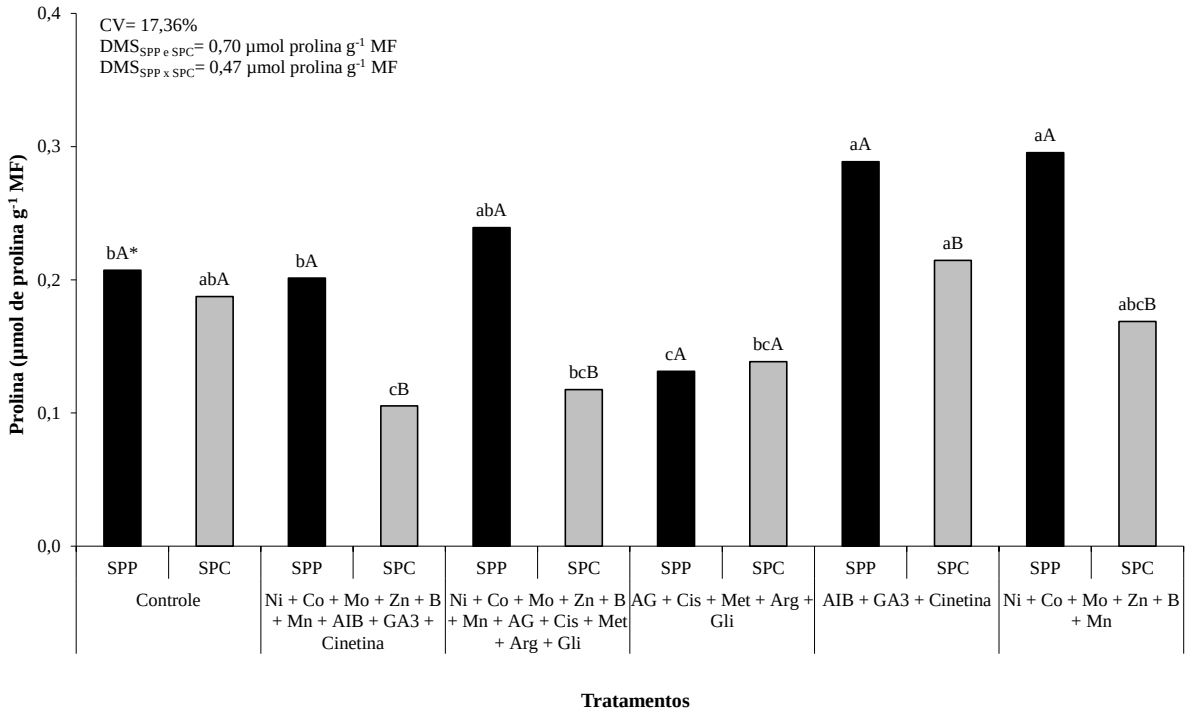

Figura 36 - Teor de prolina (µmol de prolina g^{-1} MF) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. Valores médios entre os dados de 3 DAA do Lactofen e 2 DAA de organominerais no estádio V_7. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

O teor de clorofila, no início do desenvolvimento das plantas, somente diferiu entre os sistemas de produção nos tratamentos com Micronutrientes + Hormônios e no Controle.

Nestes, o SPP induziu incremento médio no valor Spad em 4,7 e 4,9% em relação ao SPC, respectivamente (Figura 37). Esse processo demostra que estas plantas necessitaram da suplementação de micronutrientes e demais substâncias com efeitos bioestimulantes para a síntese de clorofila com maior efetividade.

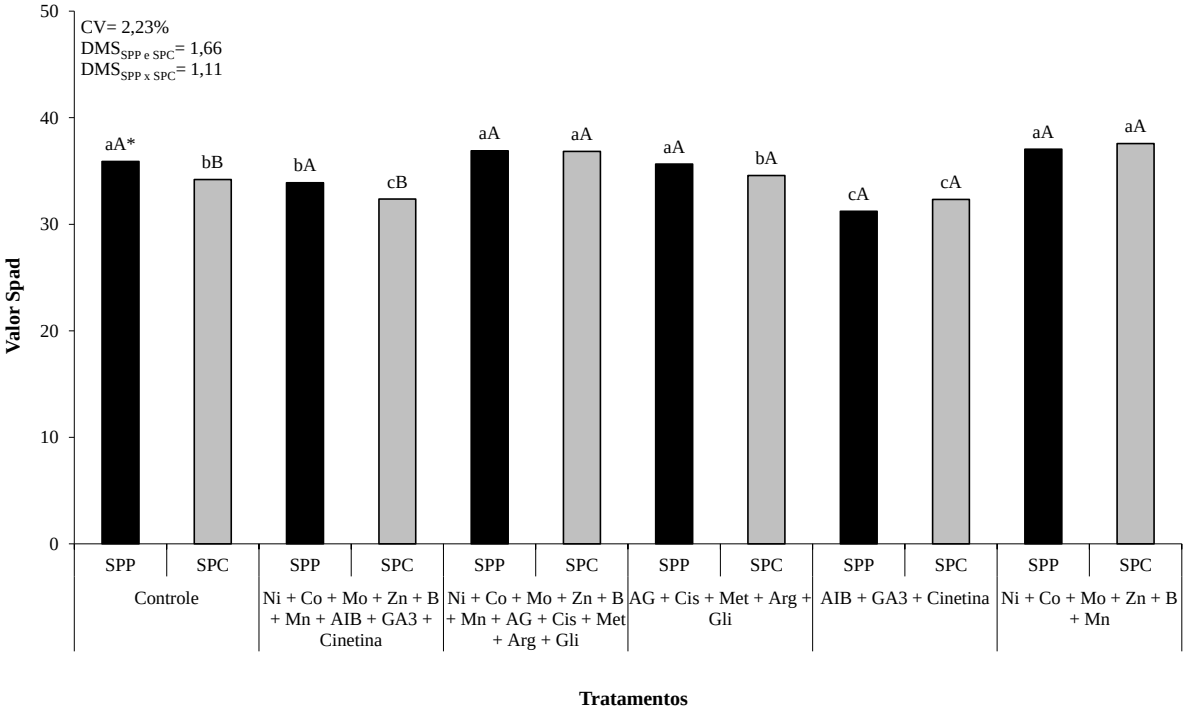

Figura 37 - Valor SPAD de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. Valores referentes aos 26 DAE e 4 DAA de organominerais no estádio V_4. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

No entanto, no estádio V_7, o SPP apresentou superioridade em todos os tratamentos de sementes. As maiores diferenças em relação ao SPC foram observadas quando foram utilizados Micronutrientes + Hormônios, sendo esta de 22% (Figura 38). O aumento no teor de clorofila está relacionado principalmente a citocinina e aminoácidos (glicina e glutamato), macronutrientes (nitrogênio e magnésio) e micronutrientes (ferro e manganês) que atuam na sua rota de síntese. No sistema SPP, foram utilizados produtos que tinha dentro da sua formulação estas substâncias.

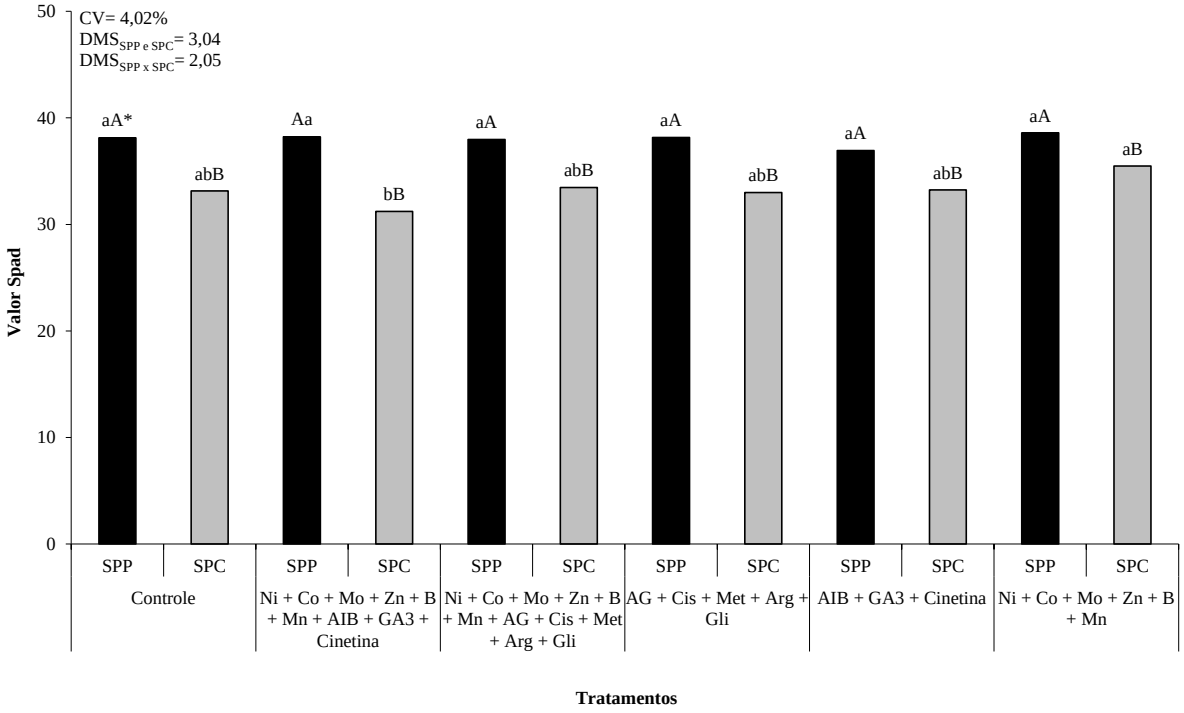

Figura 38 - Valor SPAD de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. Valores médios entre os dados de 3 DAA do Lactofen e 2 DAA de organominerais no estádio V_7. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

A glicina e o ácido glutâmico são descritos na literatura como os precursores da síntese das clorofilas, embora não se saiba ao certo qual a participação de cada uma das rotas (TAIZ; ZEIGER, 2010; MARSCHNER, 2012). Já as citocininas são conhecidas como inibidoras da senescência, através da manutenção das clorofilas (ZHANG; ERVIN, 2004).

Durante a via de biossíntese das clorofilas, alguns nutrientes são necessários. O nitrogênio é o requerido em maior quantidade, pois ele faz parte da estrutura central destas. As moléculas de clorofilas são compostas por uma estrutura central onde um átomo de Mg está liga a quatro átomos de nitrogênio, o que justifica a importância do Mg na biossíntese destas. O Fe e o Mn são envolvidos na ativação de enzimas ao longo da via (BUCHANAN; GRUISSEM; JONES, 2000).

O maior teor de clorofila em sistemas de alta produtividade é de extrema importância, pois garante maior eficiência de aproveitamento da radiação luminosa (LARCHER, 2004). A elevada taxa fotossintética esta diretamente relacionada ao teor de clorofila nos tecidos, pois,

segundo Taiz e Zeiger (2010), uma rápida assimilação de CO_2 requer elevada quantidade de cloroplastos.

O aumento no valor Spad refletiu na fotossíntese líquida. Somente não foi observado diferença entre os sistemas de produção quando se utilizou como tratamento de sementes Micronutrientes + Hormônios. As maiores diferenças entre os sistemas de produtividade potencial e convencional foram observadas no Controle (26,4%) e no tratamento que recebeu apenas Hormônios (18,9%). Isso ressalta o efeito responsivo quando se adiciona organominerais via foliar, demostrando que as plantas apresentavam concentrações destas substâncias insuficientes para promover plena atividade fisiológica (Figura 39).

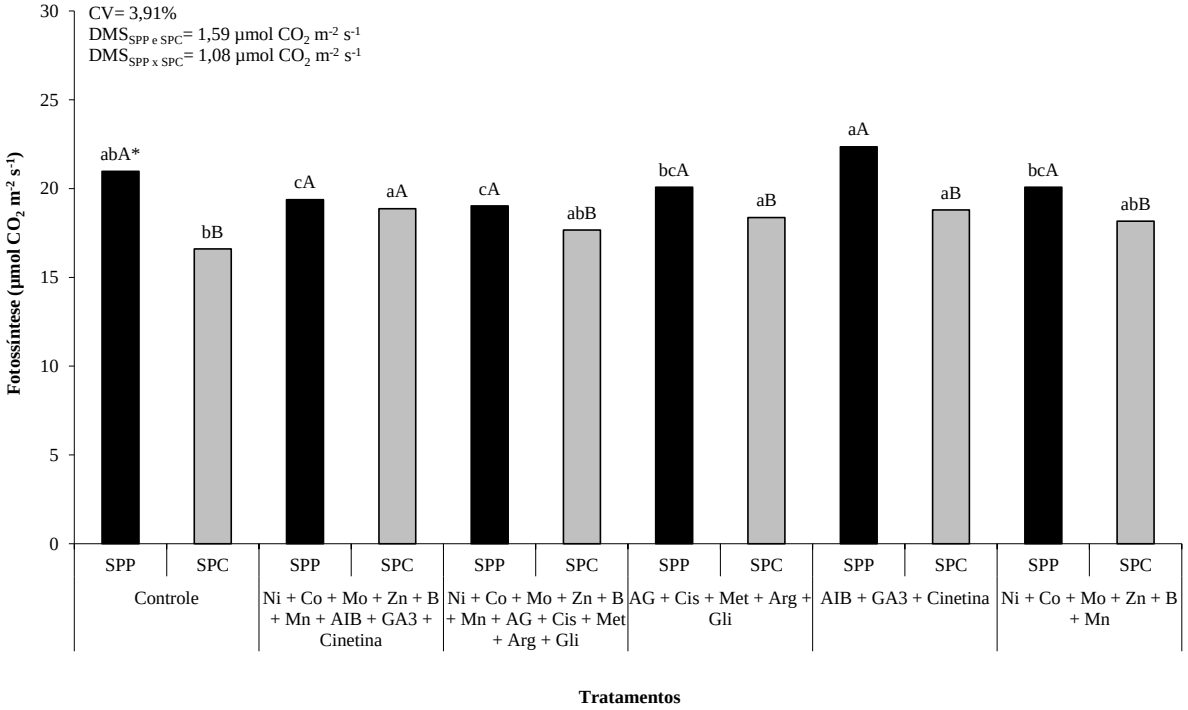

Figura 39 - Fotossíntese líquida (µmol CO_2 m^{-2} s^{-1}) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. Valores referentes aos 27 DAE e 5 DAA de organominerais no estádio V_4. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

Em relação a 1 DAA do Lactofen, não houve diferença estatística significativa quanto aos sistemas de produção para os valores de fotossíntese líquida. Em relação aos tratamentos de sementes, no SPC também não foi observado diferença estatística. Para o SPP, observou-se superioridade no tratamento de sementes com Micronutrientes, seguido pelos tratamentos com

Hormônios, Micronutrientes + Aminoácidos e Controle. Os tratamentos com Micronutrientes + Hormônios e Aminoácidos não diferiram dos demais (Figura 40).

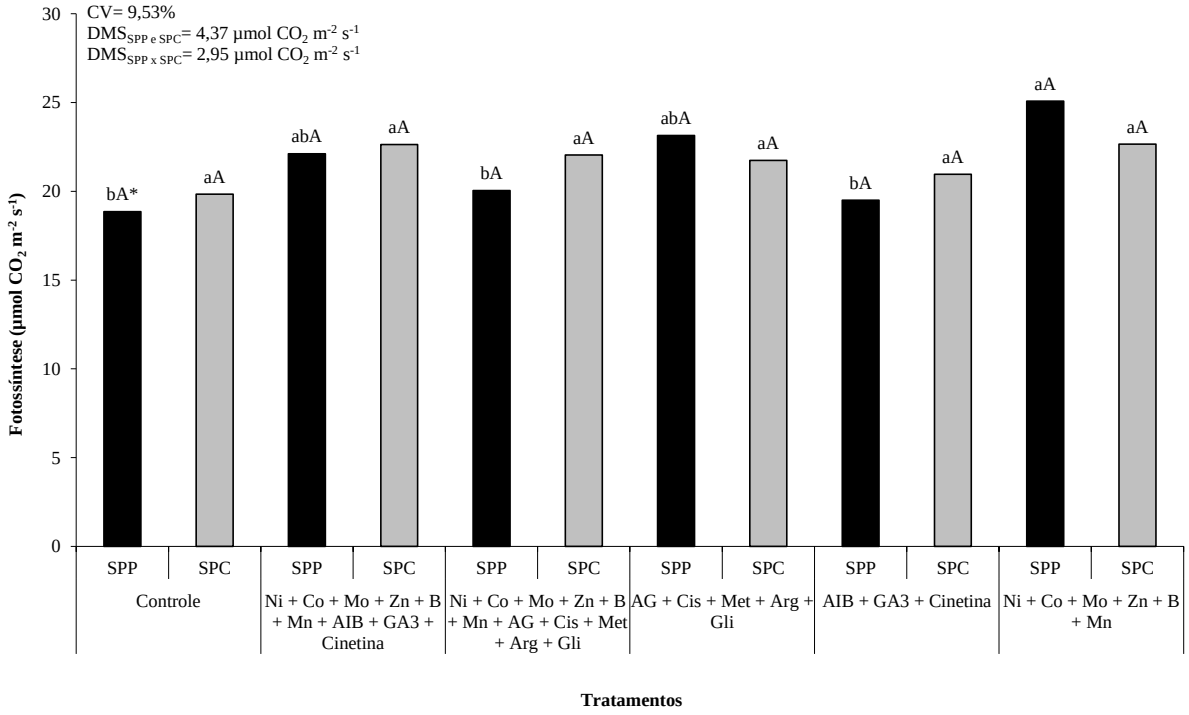

Figura 40 - Fotossíntese líquida (µmol CO_2 m^{-2} s^{-1}) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. Valores referentes ao 1 DAA do Lactofen no estádio V_7. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

A utilização de organominerais via foliar nas fases vegetativas e reprodutivas foi determinante para o incremento no número total de vagens por planta no SPP em relação ao SPC em todos os tratamentos de sementes. A manutenção de elevada atividade metabólica, principalmente durante os estádios reprodutivos, é importante, pois no caso da soja, apenas 15% do que é translocado para os grãos faz parte da energia armazenada na planta, sendo o restante produzido durante a fase reprodutiva (EGLI, 1997). Entretanto, notou-se que alguns tratamentos de sementes proporcionaram maior resposta do sistema de produção adotado. Aminoácidos isoladamente não proporcionaram este efeito. Este foi observado apenas quando foi utilizado em sistemas associados a Micronutrientes. O destaque foi para a utilização de Micronutrientes + Aminoácidos, seguido por Micronutrientes isolados e Micronutrientes + Hormônios com incrementos em relação ao Controle de 52, 33 e 20%, respectivamente

(Figura 41). Quando não foram utilizadas aplicações foliares de organominerais (SPC) novamente verificou-se destaque dos tratamentos citados anteriormente para o SPP. Isso revela que a utilização de Micronutrientes + Hormônios ou Micronutrientes + Aminoácidos é essencial em qualquer sistema de produção para aumento na eficiência de produção de vagens.

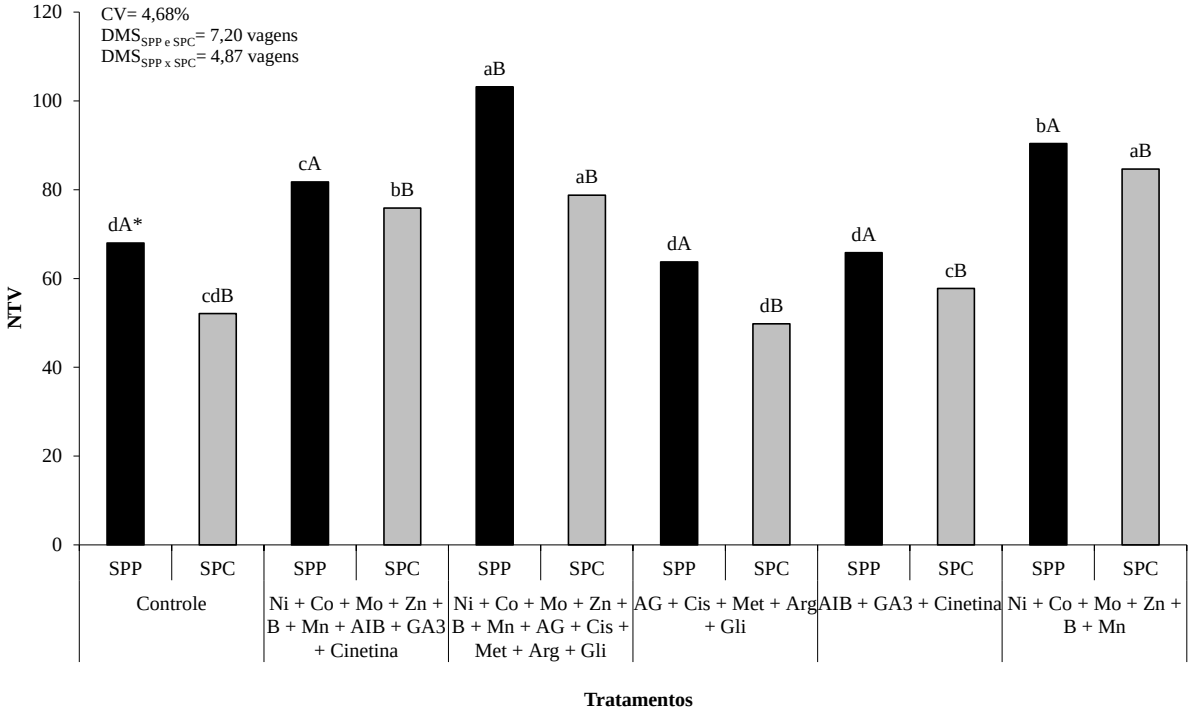

Figura 41 - Número total de vagens (NTV) produzidas por plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

O sistema de produção utilizando como critério a adubação foliar não interferiu na massa de 1000 grãos (Figura 42). Provavelmente esse comportamento está ligado ao aumento do número de vagens no SPP que induziu assim aumento no número de drenos e limitou a energia.

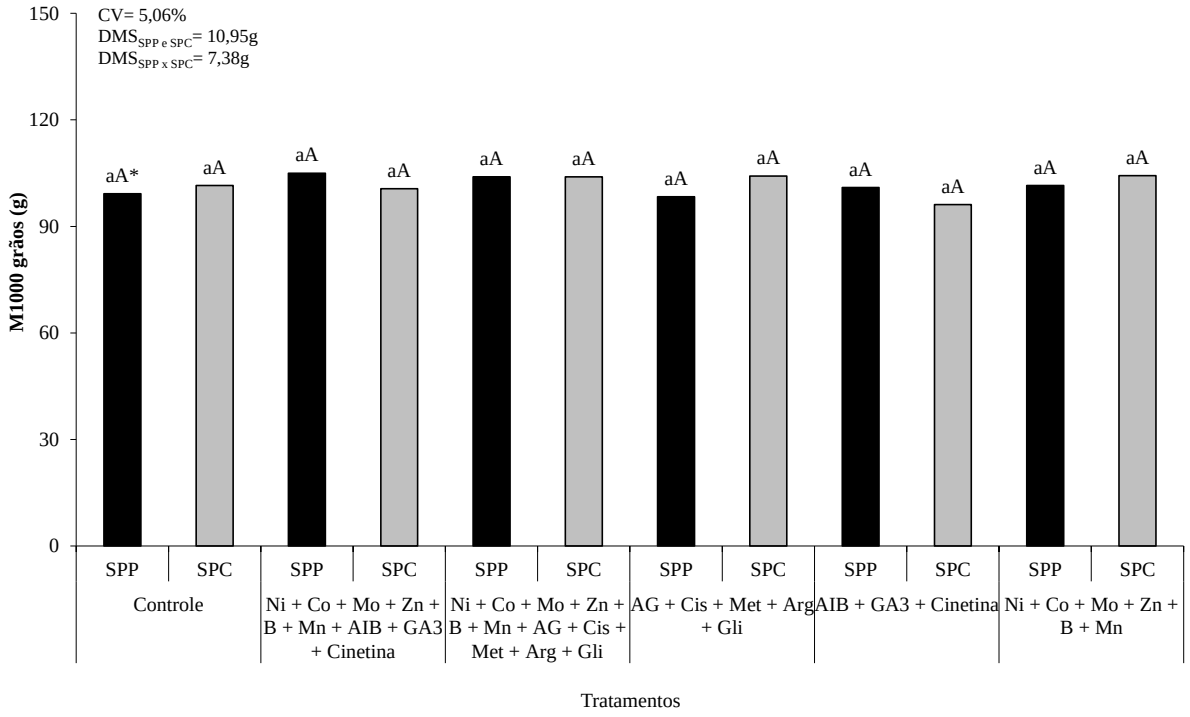

Figura 42 - Massa de 1000 grãos (M1000, g) produzidos por plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

A produtividade é um reflexo de várias atividades fisiológicas desenvolvidas pela planta que são restringidas ou amplificadas durante o desenvolvimento da mesma. Basicamente verificou-se que o SPP foi um importante amplificador das reações relacionadas a assimilação de carbono e nitrogênio, minimização do estresse oxidativo por meio da diminuição da produção de radicais livres e na síntese de prolina, o que o tornou superior em termos de incrementos de produtividade em todos os tratamentos de sementes testados. Nesse sistema, o papel do tratamento de sementes na produtividade variou de 1,3 a 16,5%. Quando foi utilizado tratamento de sementes que teve na sua constituição Aminoácidos, foram observados os maiores incrementos de produtividades em relação ao SPC (Figura 43), demostrando assim que a utilização de aminoácidos provavelmente torna a planta mais tolerante a estresses iniciais, tornado a mesma menos dependente da suplementação foliar nos estádios de crescimento posteriores (vegetativo e reprodutivo).

Contudo, a utilização de Hormônios e Micronutrientes no tratamento de sementes foram os que mais incrementaram a participação do tratamento de sementes na produtividade,

com valores que oscilaram de 8,7 (Hormônios isolados) até 18,5% (Micronutrientes isolados). Sendo assim, supõe-se que a utilização destes tratamentos de sementes são os que mais aumentam o potencial de resposta de planta de soja a sistema de alto nível tecnológico (Figura 43).

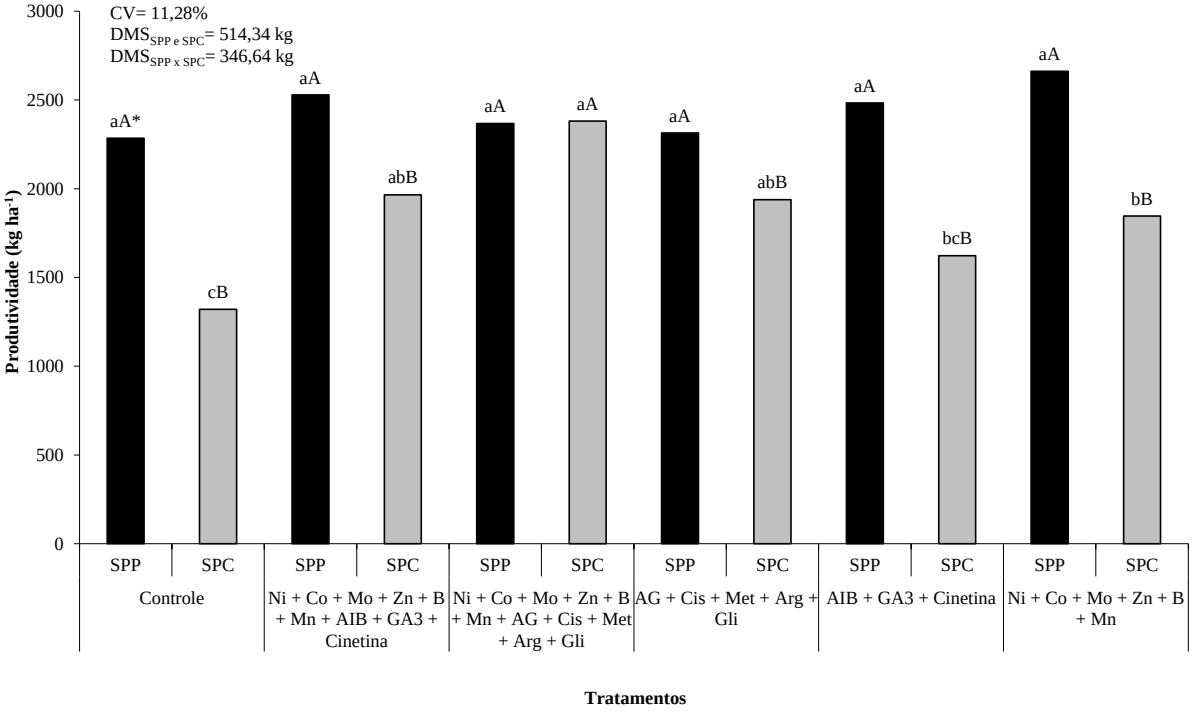

Figura 43 - Produtividade (kg ha^{-1}) de plantas de soja submetidas a tratamentos de sementes e sistemas de manejo. (* letras maiúsculas referem-se à comparação entre os sistemas de produção, dentro de cada tratamento de sementes, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos de sementes, dentro de cada sistema de produção, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

Em sistemas convencionais (SPC), onde a tecnologia de aplicação via foliar é restrita ao Co e Mo em V_4 e produtos fitossanitários de acordo com a necessidade da planta, a associação de Micronutrientes + Aminoácidos via tratamento de sementes é a tecnologia mais promissora, tendo como participação de até 80% na produtividade. Ainda pode ser observado que no SPC a utilização de tratamento de sementes tem papel relevante mesmo quando utiliza apenas Hormônios, Micronutrientes ou Aminoácidos isolados. Isso porque o aumento no crescimento e desenvolvimento inicial das plantas proporcionado pelo tratamento de sementes torna essas plantas mais resistentes a estresses bióticos e abióticos ao longo do seu desenvolvimento vegetativo e reprodutivo. Nesse trabalho ainda fica claro o efeito aditivo do uso de organominerais via foliar. Esta é uma forma de minimizar os efeitos de depleção de

produtividade induzidas pelo ambiente de desenvolvimento da planta. Por fim, a aplicação de Lactofen também teve papel relevante no sentido de aumentar o número de ramificações pela quebra da dominância apical, embora não tenha sido avaliado, e consequentemente o numero de nós, que resulta no acréscimo de produção de vagens.

Frequentemente, as variações na produtividade de soja estão relacionadas a alterações no número de vagens e sementes por unidade de área. Isto sugere que a obtenção de altas produtividades está diretamente relacionada ao maior número de nós por unidade de área (EGLI, 2013). Portanto, embora não tenho sido avaliado no presente trabalho, a aplicação do Lactofen provavelmente induziu a ramificação das plantas e consequentemente a maior formação de nós, que contribui para o aumento de produtividade no SPP.

Devido à quebra da dominância apical causada pelo Lactofen, as plantas provavelmente apresentaram menor altura, embora isso também não tenha sido avaliado. A altura das plantas também é uma característica que pode influenciar na produtividade, pois plantas com altura elevada apresentam maior nível de autosombreamento, o que reduz a eficiência fotossintética das folhas do estrato inferior (LARCHER, 2004). Isto reduz a quantidade de energia disponível, a qual e extremamente importante para a fixação das vagens. Segundo Ruan et al. (2012), a maior fixação dos órgãos reprodutivos é relacionada ao maior fluxo de energia da fonte para os drenos, que pode ser limitado pela baixa atividade fotossintética.

Outra característica importante que deve ser abordada é a presença dos cloroembriões em soja. Estes cloroembriões contêm vários componentes da maquinaria fotossintética e a energia produzida por eles é fundamental para a fixação das vagens (PUTHUR et al., 2013). Dessa forma, a manutenção de plantas com tamanho reduzido para minimizar o sombreamento do estrato inferior é importante, pois permite a interceptação da luz até as vagens da parte baixeira, mantendo a atividade fotossintética dessas.

Com base nestes resultados é possível concluir que o SPP potencializa a atividade metabólica das plantas e consequentemente aumenta o número de vagens por planta e a produtividade em relação ao SPC. O tratamento de sementes proporciona incrementos na produtividade que variam de 8,7 (Hormônios isolados) até 18,5% (Micronutrientes isolados) em SPP. Em SPC, estes incrementos variam de 22 (Hormônios) até 80% (Micronutrientes + Aminoácidos).

5 CONCLUSÕES

O tratamento de sementes com Micronutrientes potencializa a assimilação de nitrogênio e a fotossíntese líquida, incrementa o teor de clorofila (valor Spad) e a taxa de crescimento de plantas de soja.

A utilização de Aminoácidos ou Hormônios reduz o nível de estresse das plantas durante o período inicial de crescimento das plantas e aumentam o acúmulo de massa de matéria seca de plantas.

O tratamento de sementes com Micronutrientes, Hormônios ou Aminoácidos incrementa o teor de clorofila (valor Spad).

O SPP potencializa a atividade fisiológica das plantas e, consequentemente, aumenta o número de vagens por planta e a produtividade em relação ao SPC.

O tratamento de sementes com Micronutrientes isolados é o mais responsivo em sistemas de alto nível tecnológico (SPP), sendo o aumento de produtividade de 18,5%. No entanto, em SPC, o tratamento com Micronutrientes + Aminoácidos aumentou a produtividade em 80%.

REFERÊNCIAS

ADRIANO, D.C. **Trace elements in the terrestrial environment**. New York: Springer-Verlag, 1986. 533 p.

ALIA; SARADHI, P.P.; MOHANTY, P. Involvement of proline in protecting thylakoid membranes against free radical-induced photodamage. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**. Oxford, v. 38, n. 2/3, p. 253-257, 1997.

ALLOWAY, B.J. Soil factors associated with zinc deficiency in crops and humans. **Environmental Geochemistry and Health**, Houten, v. 31, p. 537–548, 2009.

ANDERSON, M.D.; PRASAD, T.K.; STEWART, C.R. Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotylus of maize seedlings. **Plant Physiology**, Washington, v. 109, p. 1247-1257, 1995.

ANDRÉO-SOUZA, Y.; CECHIN, I.; SOARES, B.J.A. Morphological and physiological alterations induced by Lactofen in soybeans leaves are reduced with nitric oxide. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 29, n. 4, p. 837-847, 2011.

ATIQUE-UR-REHMAN, FAROOQ, M.; CHEEMA, Z.A.; WAHID, A. Role of boron in leaf elongation and tillering dynamics in fine-grain aromatic rice. **Journal of Plant Nutrition**, Oxford, v. 36, n. 1, p. 42-54, 2013.

AZEVEDO NETO, A.D.; PRICO, J.T.; ENEAS FILHO, J.; ABREU, C.E.B.; GOMES FILHO, E. Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. **Environmental Experimental of Botany**, Elmsford, v. 56, p. 235–241, 2006.

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

BAUM, G.; LEV-YADUN, S.; FRIDMANN, Y.; ARAZI, T.; KATSENELSON, H.; ZIK, M,; FROMM, H. Calmodulin binding to glutamate decarboxylase is required for regulation of glutamate and GABA metabolism and normal development in plants. **The EMBO Journal**, Heidelberg, v. 15, p. 2988-2996, 1996.

BLEVINS, D.G.; LUKASZEWSKI, K.M. Boron in plant structure and function. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 49, p. 481-500, 1998.

BLOOM, A.J.; SUKRAPANNA, S.S.; WARNER, R.L. Root respiration associated with ammonium and nitrate absorption and assimilation by barley. **Plant Physiology**, Rockville, v. 99, p. 1294-1301, 1992.

BOARD, J.E.; MODALI, H. Dry matter accumulation predictors for optimal yield in soybean. **Crop Science**, Madison, v. 45, p. 1790-1799, 2005.

BOOIJ, P.P.; ROBERTS, M.R.; VOGELZANG, S.A.; KRAAYENHOF, R.; DeBOER, A.H. 14-3-3 proteins double the number of outward-rectifying K^+ channels available for activation in tomato. **The Plant Journal,** Oxford, v. 20, p. 673-683, 1999.

BOR, M.F.; ÖZDEMIR, F.; TÜRKAN, I. The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritime* L. **Plant Science**, Amsterdam, v. 164, p. 77–84, 2003.

BOWLER, C.; VAN MONTAGU, C.; INZE, D. Superoxide dismutase and stress tolerance. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology,** Palo Alto, v. 43, p. 83-116, 1992.

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

BRAY, E.A. Plant response to water deficit. **Trends in Plant Science**, Cambridge, v. 2, n. 2, p. 48-54, 1997.

BRENNER, E.D.; MARTINEZ-BABOZA, N.; CLARK, A.P.; LIANG, Q.S.; STEVENSON, G.M.; CORUZZI, G.M. Arabidopsis mutants resistant to S(+)-beta-methylalpha, beta-diaminopropionic acid, a cycad-derived glutamate receptor agonist**. Plant Physiology**, Rockville, v. 124, p. 1615-1624, 2000.

BROWN, P.H.; BELLALOUI, N.; WIMMER, M.A.; BASSIL, E.S. RUIZ, J.; HU, H.; PFEFFER, H.; DANNEL, F.; ROMHELD, V. Boron in plant biology. **Plant Biology**, Chichester, v. 4, p. 205-223, 2002.

BROWN, P.H.; WELCH, R.M.; CARY, E.E. Nickel: a micronutrient essential for higher plants. **Plant Physiology**. Rockville, v. 85, p. 801–803, 1987.

BUCHANAN, B. B.; GRUÍSSEM, W.; JONES, R. L. **Biochemistry and molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000. 1367 p.

CAKMAK, I.; HORST, W.J. Effect of aluminum on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 83, p. 463-468, 1991.

CAMPBELL, W.H. Nitrate reductase structure, function and regulation: bridging the gap between biochemistry and physiology. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 50, p. 277-303, 1999.

CAMPO, R.L.; ALBINO, U.B.; HUNGRIA, M. Importance of molybdenum and cobalt to the biological nitrogen fixation. **Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture**, London, v. 38, p. 597-598, 2002.

CARVALHO, M.H.C. Drought stress and reactive oxygen species. **Plant Signaling & Behavior**, Austin, v. 3, n. 3, p. 156-165, 2008.

CASANO, L.M.; GOMEZ, L.D.; LASCANO, H.R.; GONZALEZ, C.A.; TRIPPI, V.S. Inactivation and degradation of CuZn-SOD by active oxygen species in wheat chloroplasts exposed to photooxidative stress. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v. 38, n. 4, p. 433-440, 1997.

CASTRO, P.R.C.; PACHECO, A.C.; MEDINA, C.L. Efeitos de Stimulate e de micro-citros no desenvolvimento vegetativo e na produtividade da laranjeira 'Pêra' (*Citrus sinensis* L. Osbeck). **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 55, p. 338-341, 1998.

CASTRO, P.R.C.; VIEIRA, E.L**. Aplicação de reguladores vegetais na agricultura tropical.** Guaíba: Agropecuária, 2001. 132 p.

CATALDO, D.A.; HAROON, M.; SCHRADEV, L.E.; YOUNGS, V.L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. **Communications in Soil Science and Plant Analysis,** New York, v. 6, p. 71-80, 1975.

CHAVES, M.M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annals of Botany**, Oxford, v.103, p. 551-560, 2009.

CHAVES, M.M.; PEREIRA, J.S.; MAROCO, J.P.; RODRIGUES, M.L.; RICARDO, C.P.P.; OSÓRIO, M.L.; CARVALHO, I.; FARIA, T.; PINHEIRO, C. How plants cope with water stress in the field: photosynthesis and growth. **Annals of Botany**, London, v. 89, p. 907-916, 2002.

CHOUDARY, S.P.; KANWAR, M. BHARDWAJ, R.; YU, J.Q.; TRAN, L.S. 2012. Chromium stress mitigation by polyamine–brassinosteroid application involves phytohormonal and physiological strategies in *Raphanus sativus* L. **Plos One**, San Francisco, v. 7, n. 3, e33210, 2012.

CHUNG, H-J.; SEHNKE, P.C.; FERL, R.J. The 14-3-3 proteins: cellular regulators of plant metabolism. **Trends in Plant Science**, Cambridge, v. 4, n. 9, p. 367-371, 1999

COUÉE, I.; SULMON, C.; GOUESBET, G.; EL AMRANI, A. Involvement of soluble sugars in reactive oxygen species balance and responses to oxidative stress in plants. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 57, n. 3, p. 449-459, 2006.

CRAIGIE, J.S. Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. **Journal of Applied Phycology**, Sidney, v. 23, p. 371-393, 2011.

CROWE, J.H.; CROWE, L.M.; CARPENTER, J.F.; RUDOLPH, A.S.; WISTROM, C.A.; SPARGO, B.J.; ANCHORDOGUY, T.J. Interaction of sugars with membranes. **Biochimica et Biophysica Acta – Reviews on Biomembranes**, Amsterdam, v. 947, p.367–384, 1988.

DeLILLE, J.M.; SEHNKE, P.C.; FERL, R.J. The Arabdopsis 14-3-3 family of signaling regulators. **Plant Physiology**, Rockville, v. 126, p.35-38, 2011.

DeRONDE, J.A.; CRESS, W.A.; KRÜGER, G.H.; STRASSER, R.J.; Van STADEN, J. Photosynthetic response of transgenic soybean plants, containing an Arabidopsis P5CR gene, during heat and drought stress. **Journal of Plant Physiology**, Baltimore, v. 161, n. 11, p. 1211-1224, 2004.

DIEVART, A.; CLARK, S.E. LRR-containing receptors regulating plant development and defense. **Development**, Cambridge, v. 131, p. 251-261, 2004.

DING, Z.; SMET, I. Localized ABA signaling mediates root growth plasticity. **Trends in Plant Science**, Cambridge, v. 18, p. 533-535, 2013

DIVI, U.K.; KRISHNA, P. Brassinosteroid: a biotechnological target for enhancing crop yield and stress tolerance. **Nature Biotechnology**, New York, v. 26, p. 131-136, 2009.

DODGE, A. Herbicide action and effects on detoxification processes. In.: FOYER, C.H.; MULLINEAUZ, P.M. **Causes of photooxidative stress and amelioration of defense systems in plants.** Boca Raton: CRC Press, 1994. p. 219-236.

DOURADO NETO, D.; DARIO, G.A.; MARTIN, T.N.; SILVA, M.R.; PAVINATO, P.S.; HABITZREITER, T.L. Adubação mineral com cobalto e molibdênio na cultura da soja, **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, p. 2741-2752, 2012.

DUBROVSKY, J.G.; SAUER, M.; NAPSUCIALY-MENDIVIL, S.; IVANCHENKO, M.G.; FRIML, J.; SHISHKOVA, S.; CELENZA, J.; BENKOVÁ, E. Auxin acts as a local morphogenetic trigger to specify lateral roots founder cells. **Proceedings of the National Academy Sciences of the USA,** Washington, v. 105, p. 8790-8794, 2008.

EGLI, D.B. Cultivar maturity and response of soybean to shade stress during seed filling. **Field Crop Research**, London, v. 52, p. 1-8, 1997.

EGLI, D.B. The relationship between the number of nodes and pods in soybean communities. **Crop Science**, Madison, v. 53, p. 1668-1676, 2013.

ERNST, W.H.O.; NELISSEN, H.J.M.; BOOKUM, W.M.T. Combination toxicology of metal-enriched soils: physiological responses of a Zn- and Cd-resistant ecotype of *Silene vulgaris* on polymetallic soils. **Environmental and Experimental Botany**, Philadelphia, v. 43, n. 1, p. 55-71, 2000.

EVANS, J.R. Improving photosynthesis. **Plant Physiology**, Rockville, v. 162, p. 1780-1793, 2013.

EVANS, J.R. Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C_3 plants. **Oecologia**, Berlin, v.78, p.9-19, 1989.

FAROOQ, M.; WAHID, A.; SIDDIQUE, K.H.M. Micronutrients application through seed treatment: a review. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, Temuco, v. 12, n. 1, p. 125-142, 2012.

FEI, H.; VESSEY. J.K. Further investigation of the roles of auxin and cytokinin in the NH_4 1-induced stimulation of nodulation using white clover transformed with the auxin-sensitive reporter GH3: gusA. **Physiologia Plantarum**, Malden, v. 12, p. 674–681, 2004.

FELLER, U.; ANDERS, I.; DEMIREVSKA, K. Degradation of rubisco and other chloroplast proteins under abiotic stress. **General and Applied Plant Physiology**, Elena, v. 34, p. 5-18, 2008.

FERREIRA, D.F. **Manual do sistema Sisvar para análises estatísticas**. Lavras: UFLA, 2000. 66 p.

FERREIRA, L.C.; CATANEO, A.C.; REMAEH, L.M.R.; BÚFALO, J.; SCAVRONI, J.;

FILKELSTEIN, R.R.; GAMPALA, S.S.L.; ROCK, C.D. Abscisic acid signaling in seeds and seedlings. **The Plant Cell**, Rockville, v. 14, S15-S45, 2002.

FORNAZIER, R.F.; AZEVEDO, R.A.; FERREIRA, R.R.; VARISI, V.A. Lysine catabolism: flow, metabolic role and regulation. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 15, n. 1, p. 9-18, 2003.

FOYER, C.H.; DESCOURVIÈRES, P.; KUNERT, K.J. Protection against oxygen radicals: an important defense mechanism studied in transgenic plants. **Plant, Cell & Environment**, Malden, v. 17, p. 507-523, 1994.

FOYER, C.H.; NOCTOR, G. Redox homeostis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses. **Plant Cell**, Rockville, v. 17, p. 1866-1875, 2005.

FULGOSI, H.; SOLL, J.; MARASCHIN, S.F.; KORTHOUT, H.A.A.J.; WANG, M.; TESTERINK, C. 14-3-3 proteins and plant development. **Plant Molecular Biology**, Boston, v. 50, p. 1019-1029, 2002.

GALILI, G.; TANG, G.; ZHU, X.; GAKIERE, B. Lysine catabolism: a stress and development super-regulated metabolic pathway. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 4, n. 3, p. 262-266, 2001.

GALLARDO, K.; THOMPSON, R.; BURSTIN, J. Reserve accumulation in legumes seeds. **Comptes Rendus Biologies**, Paris, v. 331, p. 755-762, 2008.

GAO, Y-P.; YOUNG, L.; BONHAN-SMITH, P.; GUSTA, L.V. Characterization and expression of plasma and tonoplast membrane aquaporins in primed seed of *Brassica napus* during germination under stress conditions. **Plant Molecular Biology**, Boston, v. 40, p. 635-644, 1999.

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

GASPAR, M. Aquaporinas: de canais de água a transportadores multifuncionais em plantas. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 34, n. 4, p. 481-491, 2011.

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

GRAHAM, M.Y. The diphenylether herbicide lactofen induces cell death and expression of defense-related genes in soybean. **Plant Physiology**, Rockville, v. 139, p. 1784-1794, 2005.

GRIME, J.P.; HUNT, R. Relative growth-rate: its range and adaptative significance in a local flora, **Journal of Ecology**, London, v. 63, n. 2, p. 393-422, 1975.

HA, S.; VANKOVA, R.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K.; TRAN, L.S.P. Cytokinins: metabolism and function in plant adaptation to environmental stresses. **Trends in Plant Science**, Cambridge, v. 17, p. 172-179, 2012.

HANSON, A.D.; HITZ, W.D. Metabolic responses of mesophytes to plant water defict. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 33, p. 163-203, 1982.

HARE, P.; CRESS, W. Metabolic implications of stress induced proline accumulation in plants. **Plant Growth Regulation**, Dorchester, v. 21, p. 79-102, 1997.

HARE, P.; CRESS, W.; VAN STADEN, J. Proline synthesis and degradation: a model system for elucidating stress-related signal transduction. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 50, n. 333, p. 413-434, 1999.

HAYASHI, H.; CHINO, M. Collection of pure phloem sap from weath and its chemical composition. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v. 27, p. 1387-1393, 1986.

HEAGELE, J.W.; BELOW, F.E. **The six secrets of soybean success:** improving management practices for high yield soybean production. 2013. Disponível em: <http://cropphysiology.cropsci.illinois.edu/documents/2012%20Six%20Secrets%20of%20Soybean%20Success%20report.pdf>. Acesso em: 08 nov. 2013.

HESS, F.D. Light-dependent herbicides: an overview. **Weed Science**, Lawrence, v. 48: p. 160–170, 2000.

HODGE, A.; BERTA, G.; DOUSSAN, C.; MERCHAN, F.; CRESPI, M. Plant root growth, architecture and function. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 321, p. 153-187, 2009.

HODGSON, E.K.; FRIDOVICH, I. The interaction of bovine erythrocyte superoxide dismutase with hydrogen peroxide: inactivation of enzyme. **Biochemistry**, Washington, v. 14, p. 5294-5299, 1975.

HOGAN, M.E.; SWIFT, I.E.; DONE, J. Urease assay and ammonia release from leaf tissues. **Phytochemistry**, Chichester, v. 22, p. 663-667, 1983.

HSU, Y.Y.; CHAO, Y-Y.; KAO, C.H. Cobalt chloride-induced lateral root formation in rice: the role of heme oxygenase. **Journal of Plant Physiology**, Baltimore, v. 170, n. 12, p. 1075-1081, 2013.

HUGHES, N.P.; WILLIAMS, R.J.P. An introduction to manganese biological chemistry. In.: GRAHAM, R.D.; HANNAM, R.J.UREN, N.C. (Ed.). **Manganese in soils and plants**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1988. p. 7-19.

IRIGOYEN, R.; EMERICH, D.W.; SÁNCHEZ-DÍAZ, M. Water stress induced changes in concentration of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 84, n. 1, p, 55-60, 1992.

ISHIZUKA, J. Characteristics of molybdenum absorption and translocation in soybean plants. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v. 28, n. 1, p. 63-77, 1982.

JEON, J.; KIM, N.Y.; KIM, S.; KANG, N.Y.; NOVÁK, O.; KU, S.J.; CHO, C.; LEE, D.J.; LEE, E.J.; STRNAD, M.; KIM, J. A subset of cytokinin two component signaling system plays a role in cold temperature stress response in Arabidopsis. **The Journal of Biological Chemistry**, Rockville, v. 285, p. 23371-23386, 2010.

JESUS, S.V.; MARENCO, R.A. O SPAD-502 como alternativa para a determinação dos teores de clorofila em espécies frutíferas. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 38, n. 4, p. 815-818, 2008.

JIMÉNEZ, A.; HERNÁNDEZ, J.A.; PASTORI, G.; DEL RIO, L.A.; SEVILLA, F. Role of ascorbate-glutathione cycle of mitochondria and peroxisomes in the senescence of pea leaves. **Plant Physiology**, Washington, v. 118, p. 1327-1335, 1998.

JOHNSON, C.M.; STOUTS, P.R.; BROYER, T.C.; CARLTON, A.B. Comparative chlorine requirements of different plants species. **Plant and Soil**, The Hague, v. 8, p. 337-353, 1957.

JONES, M.M.; OSMOND, C.B.; TURNER, N.C. Accumulation of solutes in leaves of sorghum and sunflower in response to water deficits. **Australian Journal of Plant Physiology**, Collingwood, v. 7, p. 193-205, 1980.

KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant Physiology**, Rockville, v. 57, p. 315-319, 1976.

KAVI-KISHOR, P.B.; SANGAM, S. AMRUTHA, R.N.; SRI-LAXMI, P.; NAIDU, K.R.; RAO, K.R.S.S.; SRENATH-RAO; REDDY, K.J.; THETIAPPAN, P.; SREENIVASULU, N. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. **Current Science**, Bangalore, v. 88, p. 424-438, 2005.

KHAN, W.; RAYIRATH, U.P.; SUBRAMANIAN, S.; JITHESH, M.N.; RAYORATH, P.; HODGES, D.M.; CRITCHLEY, A.T.; CRAIGIE, J.S.; NORRIE, J.; PRITHIVIRAJ, B. Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. **Journal of Plant Growth Regulation**, Secaucus, v. 28, p. 386-399, 2009.

KLESSIG, D.F.; DURNER, J.; NOAD, R.; NAVARRE, D.A.; WENDEHENNE, D.; KUMAR, D.; ZHOU, J.M.; SHAH, J.; ZHANG, S.; KACHROO, P.; TRIFA, Y.; PONTIER, D.; LAM, E.; SILVA, H. Nitric oxide and salicylic acid signaling in plant defense**. Proceedings of the National Academy Sciences of the USA,** Washington, v. 97, p. 8849-8855, 2000.

KLIEWER, M.; EVANS, H.J. Cobamide coenzyme contents of soybean nodule and nitrogen fixing bacteria in relation to physiological conditions. **Plant Physiology**, Rockville, v. 38, p. 99-104, 1963.

KOCA, H.; BOR, M.; ÖZDEMIR, F.; TÜRKAN, I. The effect of salt stress on lipid peroxidation, antioxidative enzymes and proline content of sesame cultivars. **Environmental Experimental of Botany**, Elmsford, v. 60, p. 344-351, 2007.

KOKUBUN, M. Design and evaluation of soybean ideotypes, **Bulletin of Tohoku National Agricultural Experiment Station**, Ibaraki, v. 77, p. 77-142, 1988.

KOKUBUN, M. Physiological mechanisms regulating flower abortion in soybean. In.: NG, T-B. **Soybean**: biochemistry, chemistry and physiology. Rijeka: InTech, 2011. p. 541-554. Disponível em: <http://www.intechopen.com/books/soybean-biochemistry-chemistry-and-physiology/physiologicalmechanisms-regulating-flower-abortion-in-soybean>. Acesso em: 05 nov. 2013.

KRAMER, U.; COTTER-HOWELLS, J.D.; CHARNOCK, J.M.; BAKER, A.J.M.; SMITH, J.A.C. Free histidine as a metal chelator in plants that accumulate nickel. **Nature**, New York, v. 379, p. 635-638, 1996.

LAM, H.M.; CHIU, J.; HSICH, M.H.; MEISEL, L.; OLIVEIRA, I.C.; SHIN, M. CORUZZI, G. Glutamate-receptor genes in plants**. Nature,** New York, v. 396, p. 125-126, 1998.

LANA, R.M.Q.; FARIA, M.V.; BONOTTO, I.; LANA, A.M.Q. Cobalt and molybdenum concentrated suspension for soybean seed treatment. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 33, n. 6, p. 1715-1720, 2009.

LARA, M.E.B.; GARCIA, M.G.; FÁTIMA, T.; EHNEB, R.; LEE, T.K.; PROELS, R.; TANNER, W.; ROITSCH, T. Extracellular invertase is an essential component of cytokinin-mediated delay of senescence. **The Plant Cell**, Rockville, v. 16, p. 1276-1287, 2004.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMa, 2004. 531p.

LASKOWSKI, M.; BILLER, S.; STANLEY, K.; KAJSTURA, T.; PRUSTY, R. Expression profiling of auxin-treated *Arabdopsis* roots: toward a molecular analysis of lateral root emergence. **Plant & Cell Physiology**, Oxford, v. 47, p. 788-792, 2006.

LAU, O-L.; YANG, S.F. Inhibition of ethylene production by cobaltous ion. **Plant Physiology**, Rockville, v. 58, p. 144-117, 1976.

LAWLOR, D.W. Carbon and nitrogen assimilation in relation to yield: mechanisms are the key to understanding production systems. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 53, n. 370, p. 773-787, 2002.

LEHMANN, S.; FUNCK, D.; SZABADOS, L.; RENTSCH, D. Proline metabolism and transport in plant development. **Amino Acids**, Vienna, v. 39, n. 4, p. 949-962, 2010.

LEHNEN, L.P.; SHERMAN, T.D.; BECERRIL, J.M.; DUKE, S.O. Tissue and cellular localization of acifluorfen-induced porphyrins in cucumber cotyledons. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, Philadelphia, v. 37, p. 239-248, 1990.

LEVIN, S.A.; MOONEY, H.A.; FIELD, C. The dependence of plant root: shoot ratios on internal nitrogen concentration. **Annals of Botany**, London, v. 151, p. 135-143, 1989.

LIU, J-H. NADA, K.; HONDA, C.; KITASHIBA, H.; WEN, X-P.; PANG, X-M.; MORIGUCHI, T. Polyamine biosynthesis of apple callus under salt stress: importance of the arginine descarboxylase pathway in stress response. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 57, n. 11, p. 2589-2599, 2006.

MAEDA. H.; DUDAREVA, N. The shikimate pathway and aromatic amino acids biosynthesis in plants. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v.63, p. 73-105, 2012.

MANO, Y.; NEMOTO, K. The pathway of auxin biosynthesis in plants. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 63, p. 2853-2872, 2012.

MARSCHNER, P. **Mineral nutrition of higher plants**. 3rd ed. Amsterdam: Elsevier, 2012. 643 p.

MARTIN, T.; OSWALD, O. GRAHAM, I.A. Arabidopsis seedling growth, storage lipid mobilization, and photosynthetic gene expression are regulated by carbon:nitrogen availability. **Plant Physiology**, Rockville, v. 128, p. 472-481, 2002.

MATHESIUS, U.; SCHALMAN, H.R.; SPAINK, H.P.; SAUTTER, C.; ROLFE, B.G.; DJORDJEVIC, M.A. Auxin transport inhibition precedes root nodule formation in white clover roots and is regulated by flavonoids and derivates of chitin oligosaccharides. **The Plant Journal**, Oxford, v. 14, n. 1, p. 23-34, 1998.

MATRINGE, M.; CAMADRO, J-M.; LABBE, P.; SCALLA, R. Protoporphyrinogen oxidase as a molecule target for diphenyl ether herbicides. **Biochemical Journal**, London, v. 260, n. 1, p. 231-235, 1989.

MATYSIK, J.; ALIA, BHALU, B.; MOHANTY, P. Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants. **Current Science**, Bangalore, v. 82, p. 525-532, 2002.

McCULLOUGH, H. The determination of ammonium in whole blood by a direct colorimetric method. **Clinica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 17, n. 2, p. 297-304, 1967.

MEHTA, S.K.; GAUR, J.P. Heavy-metal-induced proline accumulation and its role in ameliorating metal toxicity in *Chlorella vulgaris*. **New Phytologist**, Oxford, v. 143, n. 2, p. 253-259, 1999.

MICALLEF, B.J.; SHELP, B.J. Arginine metabolism in developing soybean cotyledons. 1. Relationship to nitrogen nutrition. **Plant Physiology**, Rockville, v. 90, p.624-630, 1989.

MINOLTA. **Chlorophyll meter SPAD-502:** instruction manual. Osaka, 1989. 22 p.

MISHRA, S.; DUBEY, R.S. Inhibition of ribonuclease and protease activities in arsenic exposed rice seedlings: role of proline as enzyme protectant. **Journal of Plant Physiology**, Baltimore, v. 163, p. 927-936, 2006.

MITCHELL, R.L. Cobalt and nickel in soil and plants. **Soil Science**, Philadelphia, v. 60, p. 63-70, 1945.

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

MORAES, R.M.; KLUMP, A.; FURLAN, C.M.; KLUMP, G.; DOMINGOS, M.; RINALDI, M.C.S.; MODESTO, I.F. Tropical fruit trees as bioindicator of industrial air pollution in Southeast Brazil. **Environment International**, Holland, v. 28, p. 367-374, 2002.

MUNÕZ, A.; BANNENBERG, G.L.; MONTERO, O.; CABELLO-DIAZ, J.M.; PIEDRAS, P.; PINEDA, M. An alternative pathway for ureide usage in legumes: enzymatic formation of a ureidoglycolate adduct in *Cicer arietinum* and *Phaseolus vulgaris*. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 62, p. 307-318, 2011.

MURATA, K.; MITSUOKA, K.; HIRAI, T.; WALZ.; T.; AGRE, P.; HEYMANN, B.; ENGEL, A.; FUJIYOSHI, Y. Structural determinants of water permeation through aquaporin-1. **Nature**, New York, v. 407, p. 599-605, 2000.

MURATA, Y. Physiological responses to nitrogen in plants.. In.: EASTIN, J.D. (Ed.). **Physiological aspects of crop yield**. Madison: American Society of Agronomy, 1969. p. 235-259.

MYLONA, P.; PAWLOWSKI, K.; BISSELING, T. Symbiotic nitrogen fixation. **The Plant Cell**, Rockville, v. 7, p. 869-885, 1995.

NAMBARA, E. MARION-POLL, A. Abscisic acid biosynthesis and catabolism. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 56, p. 165-185, 2005.

NAVARI-IZZO, F.; QUARTACCI, M.F.; IZZO, R. Water stress induced changes in protein and free amino acids in field grown maize and sunflower. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 28, n. 4, p. 531-537, 1990.

NELSON, L.R. Defining the seed-filling period in soybeans to predict yield. **Crop Science,** Madison, v. 26, p. 132-135, 1986.

NUCCIO, M.L.; RHODES, D.; McNEIL, S.D.; HANSON, A.D. Metabolic engineering of plants for osmotic stress resistance. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 2, p. 128-134, 1999.

OSAKABE, Y.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. SHINOZAKI, K. TRAN, L-M.P. Sensing the environment: key roles of membrane-localized kinases in plant perception and response to abiotic stress. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 64, n. 2, p. 445-458, 2013.

PASSARDI, F.; COSIO, C.; PENEL, C.; DUNAND, C. Peroxidases have more functions than a Swiss army knife. **Plant Cell Reports**, Berlin, v. 24, p. 255-265, 2005.

PEET, M.M.; KRAMER, P.J. Effects of decreasing source-sink ratio in soybeans on photosynthesis, photo-respiration, transpiration and yield. **Plant, Cell and Environment,** Chichester, v. 3, p. 201-206, 1980.

PEI, Z.M.; MURATA, Y.; BENNING, G.; THOMINE, S.; KLUSENER, B.; ALLEN, G.J.; GRILL, E.; SCHROEDER, J.I. Calcium channels activated by hydrogen peroxide mediate abscisic signaling in guard cells. **Nature**, New York, v. 406, p. 731–734, 2000.

PEIXOTO, H.P.P.; CAMBRAIA, J.; SANT'ANA, R.; MOSQUIM, P.R.; MOREIRA, A.M.; Aluminum effects on lipid peroxidation and the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Lavras, v. 11, n. 3, p. 137-143, 1999.

PESSOA, A.C.S.; LUCHESE, E.B.; LUCHESE, A.V. Germinação e desenvolvimento inicial de plantas de milho, em resposta ao tratamento de sementes com boro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa**, v. 24, p. 939-945, 2000.

PETERSEN, L.N.; MARINEO, S.; MANDALA, S.; DAVIDS, F.; SEWELL, B.T.; INGLE, R.A. The missing link in plant histidine biosynthesis: Arabdopsis *myoinositol monophosphatase-like2* encodes a functional histidinol-phosphate phosphatase. **Plant Physiology**, Rockville, v. 152, p. 1186-1196, 2010.

PHAM, J.; LIU, J.; BENNETT, M.H.; MANSFIELD, J.W.; DESIKAN, R. Arabidopsis histidine kinase 5 regulates salt sensitivity and resistance against bacterial and fungal infection. **New Phytologist**, Oxford, v. 194, p. 168-180, 2012.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente.** Brasília: AGIPLAN, 1977. 289p.

PUTHUR, J.T.; SHACKIRA, A.M.; SARADHI, P.; BARTELS, D. Chloroembryos: a unique photosynthesis system. **Journal of Plant Physiology**, Baltimore, v. 170, p. 1131-1138, 2013.

QUILES, F.A.; RASO, M.J.; PINEDA, M.; PIEDRAS, P. Ureide metabolism during seedling development in French bean (*Phaseolus vulgaris*). **Physiologia Plantarum**, Malden, v. 135, p. 19–28, 2009

RAHNAMA H., EBRAHIMZADEH H. The effect of NaCl on antioxidant enzyme activities in potato seedlings. **Biology of Plants**, Dordrecth, v. 49, p. 93–97, 2005.

RAJJOU, L.; DUVAL, M.; GALLARDO, K.; CATUSSE, J.; BALLY, J.; JOB, C.; JOB, D. Seed germination and vigor. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 63, p. 507-533, 2012.

RAMA DEVI, S.; PRASAD, M.N.V. Copper toxicity in *Ceratophyllum demersum* L. (Coontail), a free floating macrophyte: response of antioxidant enzymes and antioxidants. **Plant Science**, Amsterdam, v.138, p.157-165, 1998.

REES, D.C.; AKIF TEZCAN, F.; HAYNES, C.A.; WALTON, M.Y.; ANDRADE, S.; EINSLE, O.; HOWARD, J.B. Structural basis of biological nitrogen fixation. **Philosophical Transactions the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences**, London, v. 363, p. 971-984, 2005.

ROMAN, E.S. Estresses ocasionados por fitotoxicidade de herbicidas. In: BONATO, E.R. (Ed.). **Estresses em soja**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2000. p. 103-143.

RUAN, Y-L.; PATRICK, J.W.; BOUZAYEN, M.; OSORIO, S.; FERNIE, A.R. Molecular regulation of seed and fruit set. **Trends in Plant Science**, Cambridge, v.17, n. 11, p. 656-665, 2012.

SAVOURÉ, A.; HUA, X.J.; BERTAUCHE, N.; Van MONTAGU, M.; VERBRUGGEN, N. Abscisic acid-independent and abscisic acid-dependent regulation of proline biosynthesis following cold and osmotic stresses in *Arabidopsis thaliana*. **Molecular Genetics and Genomics**, Berlin, v. 254, p. 104-109, 1997.

SCHALLER, G.E.; KIEBER, J.J.; SHIU, S-H. Two-component signaling elements and histidyl–aspartyl phosphorelays. **The Arabidopsis Book**, Rockville, v. 6, p. 1-12, 2008.

SCHON, M.K.; BLEVINS, D.G. Foliar boron applications increase the final number of branches and pods on branched of field-grown soybeans. **Plant Physiology**, Rockville, v. 92, p. 602-607, 1990.

SCHWARZ, G.; MENDEL, R.R. Molybdenum cofactor biosynthesis and molybdenum enzymes. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 57, p. 623-647, 2006.

SFREDO, G.J.; OLIVEIRA, M.C.N. **Soja:** molibdênio e cobalto. Londrina: EMBRAPA Soja, 2010. 34 p. (Documentos, 322).

SHARMA, P.; DUBEY, R.S. Modulation of nitrate reductase activity in rice seedlings under aluminium toxicity and water stress: role of osmolytes as enzyme protectant. **Journal of Plant Physiology**, Rockville, v. 162, p. 854-864, 2005.

SHARMA, S.S.; DIETZ, K.J. The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 57, n. 4, p. 711-726, 2006.

SHIU, S.H.; BLEECKER, A.B. 2001. Plant receptor-like kinase gene family: diversity, function, and signaling. **Science Signaling STKE**, Washington, v. 2001, n. 113, re22, 2001.

SIMPSON, R.J.; DALLING, M.J. Nitrogen redistribution during grain-growth in wheat (*Triticum aestivum* L.). III: Enzymology and transport of amino acids from senescing flag leaves. **Planta**, Berlin, v. 151, p. 447-456, 1981.

SKOOG, F.; MILLER, C.O. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured in vitro. **Symposia of the Society for Experimental Biology**, Ames, v. 11, p. 118-131, 1957.

SMIRNOFF, N.; CUMBES, Q.J. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. **Phytochemistry**, Murcia, v. 28, p. 1057-1060, 1989.

SONDERGAARD, T.E.; SCHULZ, A.; PALMGREN. Energization of transport processes in plant. Roles of the plasma membrane H^+-ATPase. **Plant Physiology**, Rockville, v. 136, p. 2475-2482, 2004.

SONG, W.; LI, J.; SUN, H.; HUANG, S.; GONG, X.; MA, Q.; ZHANG, Y.; XU, G. Increased photosynthetic capacity in response to nitrate is correlated with enhanced cytokinin levels in rice cultivar with high responsiveness to nitrogen nutrients. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 373, n. 1-2, p. 981-993, 2013.

SOUZA, D.V. de; CABRAL, J.B.P.; LOPES, R.M.; REIS, M.A.S.; OLIVEIRA, S.F. Análise pluviométrica da carta topográfica de Patos de Minas referente ao período de 1978 a 2003. In: REUNIÃO ANUAL DA SBPC, 57., 2005, Fortaleza. **Anais eletrônicos…** São Paulo: SBPC/UECE, 2005. Disponível em: <http://www.sbpcnet.org.br/livro/57ra/>. Acesso em: 05 nov. 2013.

SRIVASTAVA, L.M. **Plant growth and development:** hormones and the environment. Oxford: Academic Press, 2002. 772 p.

STEWART, C.R.; BOGGESS, S.F.; ASPINALL, D. PALEG, L.G. Inhibition of proline oxidation by water stress. **Plant Physiology**, Rockville, v. 59, p. 930-932, 1977.

STEWART; C.R.; LARHER, F. Accumulation of amino acids and related compounds in relations to environmental stress. In.: MIFLIN, B.J. (Ed.). **The biochemistry of plants**: a comprehensive treatise, New York: Academic Press, 1980. p. 609-635.

STREETER, J.G. Effects of nitrogen and calcium supply on the accumulation of oxalate in soybean seeds. **Crop Science**, Madison, v. 45, p. 1464-1468, 2005.

SZABADOS, L.; SAVOURÉ, A. Proline: a multifunctional amino acid. **Trends in Plant Science,** Cambridge, v. 15, n. 2, p. 89-97, 2010.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology.** 5th ed, Sunderland: Sinauer Associates, 2010. 782 p.

TAO, Y.; FERRER, J.L.; LJUNG, K.; POJER, F.; HONG, F.; LONG, J.A.; MORENO, J.E.; BOWMAN, M.E.; IVANS, L.J.; CHENG, Y.; LIM, J.; ZHAO, Y.; BALLARÉ, C.L.; SANDBERG, G.; NOEL, J.P.; CHORY, J. Rapid synthesis of auxin via a new tryptophan-dependent pathway is required for shade avoidance in plants. **Cell**, Cambridge, v. 133, n. 1, p. 164-176, 2008.

TEISSEIRE, H.; GUY, V. Copper-induced changes in antioxidant enzymes activities in fronds of duckweed (*Lemna minor*). **Plant Science**, Amsterdam, v. 153, p. 65-72, 2000.

THAUER, R.K.; DIEKERT, G.; SCHÖNHEIT, P. Biological role of nickel. **Trends in Biochemical Sciences**, Cambridge, v. 5, p. 304-306, 1980.

THIMANN, K.V. Plant senescence: A proposed integration of the constituent processes. In.: THOMSON, W.W.; NOTHNAGEL, E.A (Ed.). **Plant senescence**: its biochemistry and physiology. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 1987. p. 1–19.

TODD, C.D.; TRIPTON, P.A.; BLEVINS, D.G.; PIEDRAS, P.; PINEDA, M.; POLACCO, J.C. Update on ureides degradation in legumes. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 57, p. 5-12, 2006.

TRAN, L.S.; SHINOZALI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Role of cytokinin responsive two-component system in ABA and osmotic stress signaling. **Plant Signaling Behavior**, Austin, v. 5, p. 148-150, 2010.

TRAN, L.S.; URAO, T.; QIN, F.; MARUYAMA, K.; KAKIMOTO, T.; SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Functional analysis of AHK1/ATHK1 and cytokinin receptor histidine kinases in response to abscisic acid, drought, and salt stress in Arabidopsis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 104, p. 20623-20628, 2007.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Disponível em: <http://www.fas.usda.gov/psdonline/psdQuery.aspx>. Acesso em: 05 nov. 2013.

URAO, T.; YAKUBOV, B.; SATOH, R.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. SEKI, M.; HIRAYAMA, T.; SHINOZAKI, K. A transmembrane hybrid-type histidine kinase in Arabidopsis functions as an osmosensor. **The Plant Cell,** Rockville, v. 11, p. 1743-1754, 1999.

VALLEE, B.L.; AULD, D.S. Zinc coordination, function, and structure of zinc enzymes and other proteins. **Biochemistry**, Washington, v. 29, p. 5647–5659, 1990.

VAN ETTEN, C.H.; KWOLWK, W.F.; PETERS, J.E.; BARCLAY, A.S. Plant seeds as protein sources for food or feed: evolution based on amino acid composition of 379 species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 15, p. 1077-1085, 1967.

VAN KEULER, H.; WOLF, J. **Modelling of agricultural production:** weather, soils and crops. Wageningen: Pudoc, 1986, 478 p.

VAN NORMAN, J.M.; BREAKFIELD, N.W.; BENFEY, P.N. 2011. Intercellular communication during plant development. **The Plant Cell,** Rockville, v. 23, p. 855-864, 2011.

VASCONCELOS, A.C.F.; ZHANG, X.; ERVIN, KIEHL, J.C.; Enzymatic antioxidant responses to biostimulants in maize and soybean subjected to drought. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 66, n. 3, p. 395-402, 2009.

VENTIMIGLIA, L.A.; COSTA, J.A.; THOMAS, A.L. PIRES, J.L.F. Potencial de rendimento da soja em razão da disponibilidade de fósforo no solo e dos espaçamentos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** Brasília, v. 34, n. 2, p. 195-199, 1999.

VERBRUGGEN, N.; HERMANS, C. Proline accumulation in plants: a review. **Amino Acids**, Vienna, v. 35, p. 753-759, 2008.

VERSLUES, P.E.; BRAY, E.A. Role of abscisic acid (ABA) and *Arabidopsis thaliana* ABA-insensitive loci in low water potential-induced ABA and proline accumulation. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 57, n. 1, p. 201–212, 2006.

WANG, Z-Y. Brassinosteroids modulate plant immunity at multiple levels. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 109, n. 1, p. 7-8, 2012.

WELTMEIER, F.; EHLERT, A.; MAYER, C.S.; DIETRICH, K.; WANG, X.; SCHÜTZE, K.; ALONSO, R.; HARTER, K.; VICENTE-CARBAJOSA, J.; DRÖGE-LASER, W. Combinatorial control of Arabidopsis proline dehydrogenase transcription by specific heterodimerization of bZIP transcription factors. **The EMBO Journal**, London, v. 25, p. 3133-3143, 2006.

WERNER, A.K.; WITTE, C.P. The biochemistry of nitrogen remobilization: purines rings catabolism. **Trends in Plant Science**, Cambridge, v. 16, p. 381-387, 2011.

WERNER, T.; SCHUMÜLLING, T. Cytokinin action in plant development. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 12, n. 5, p. 527-538, 2009.

WIGHTMAN, F.; SCHNEIDER, E.A.; THIMANN, K.V. Hormonal factors controlling the initiation and development of lateral roots. II. Effects of exogenous factors on lateral root formation in pea roots. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 49, p. 304-314, 1980.

WITTE, C-P. Urea metabolism in plants. **Plant Science**, Cambridge, v. 180, p. 431-438, 2011.

WOHLBACH, D.J.; QUIRINO, B.F.; SUSSMAN, M.R. Analysis of the Arabidopsis histidine kinase ATHK1 reveals a connection between vegetative osmotic stress sensing and seed maturation. **The Plant Cell**, Rockville, v. 20, p. 1101-1117, 2008.

WOLTERS, H.; JURGENS, G. Survival of the flexible: hormonal growth control and adaptation in plant development. **Nature Reviews Genetics**, New York, v. 10, p. 305-317, 2009.

XU, S.; ZHANG, B.; CAO, Z-Y.; LING, T-F.; SHEN, W-B. Heme oxygenase is involved in cobalt chloride-induced lateral root development in tomato. **Biometals**, The Hague, v. 24, p. 181-191, 2011.

ZAGDANSKA, B. Influence of water stress upon photosynthetic carbon metabolism in wheat. **Journal of Plant Physiology**, Baltimore, v. 166, p. 153-160, 1984.

ZHANG, J.; KIRKHAM, M.B. Lipid peroxidation in sorghum and sunflower seedlings as affected by ascorbic acid, benzoic acid, and propyl gallate. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 149, p. 489-493, 1996.

ZHANG, X.; ERVIN, E.H. Cytokinin-containing seaweed and humic acid extracts associated with creeping bentgrass leaf cytokinins and drought resistance. **Crop Science**, Madison, v. 44, p. 1737–745, 2004.

ZHANG, Y.; GLADYSHEV, V.N. Comparative genomics of trace elements: emerging dynamic view of trace element utilization and function. **Chemical Reviews,** Washington, v. 109, p. 4828-4861, 2009.

ZHAO, Y. Auxin biosynthesis and its role in plant development. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 61, p. 49-64, 2010.

ZHU, X-G.; LONG, S.P.; ORT, D.R. Improving photosynthetic efficiency for greater yield. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 61, p. 235-261, 2010.