**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**A cultura de soja: modelo de crescimento e aplicação da estrobilurina
piraclostrobina**

Evandro Binotto Fagan

Tese apresentada para a obtenção do título de Doutor em
Agronomia. Área de concentração: Fitotecnia

**Piracicaba
2007**

Evandro Binotto Fagan
Engenheiro Agrônomo

A cultura de soja: modelo de crescimento e aplicação da estrobilurina piraclostrobina

Orientador:

Prof. Dr. **DURVAL DOURADO NETO**

Tese apresentada para a obtenção do título de Doutor em
Agronomia. Área de concentração: Fitotecnia

Piracicaba

2007

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP

Fagan, Evandro Binotto

A cultura de soja: modelo de crescimento e aplicação da estrobilurina
piraclostrobina / Evandro Binotto Fagan. - - Piracicaba, 2007.
83 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2007.
Bibliografia.

1. Fisiologia vegetal 2. Fungicidas – Aplicações 3. Produtividade 4. Soja I.
Título

CDD 633.34

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

A Deus, por me guiar em todos os momentos de minha vida,

Dedico

Ofereço aos meus pais Fiorindo e Tereza pelos ensinamentos que vou guardar por toda minha vida, incentivo e amor e aos irmãos Elaine, Solange e Milton pela confiança e ajuda nos momentos mais difíceis. A minha noiva Ariandner pelo companheirismo, amor, dedicação e compreensão.

AGRADECIMENTOS

Agradeço:

- Aos professores Dr. Durval Dourado Neto e Dr. Ricardo Ferraz de Oliveira pela orientação, ensinamentos, companheirismo e contribuição na minha formação acadêmica;
- Ao professor Dr. Paulo Augusto Manfron pelo companheirismo, amizade, incentivo e contribuição na minha formação acadêmica;
- Aos Engenheiros Agrônomos Edson Begliomini e Marco Antônio Tavares Rodrigues (M.Sc.) pelo incentivo e auxílio nos experimentos realizados;
- Aos meus amigos Adalberto Luís de Paula, Fabiana Matielo, Rafael Vivian, Jales, Lúcio Flavo, Derblai Casaroli, Marcelo Gimenes, Héctor A. San Martins Matheis, Luana Salintet e outros que, involuntariamente, foram omitidos, obrigado pelo auxílio nos experimentos, amizade, companheirismo e pelos momentos de descontração proporcionados;
- Aos bolsistas e amigos Matheus Pizzinatto Yeda, Luiz Fernando Druzina Massignan, Lenita Aparecida Conus e Roberta Brancher Franco pelo auxílio na realização dos experimentos e amizade;
- Aos funcionários do Departamento de Produção Vegetal, especialmente aos funcionários de campo; Engenheiro Agrônomo Erreinaldo Bortolazzo, Adilson Aparecido Dias, Ananias F. de Souza, Adilson Jesus Teixeira, Rodrigo C. Campos, Wilson Goes da Silva pela amizade, momentos de descontração e colaboração na realização do trabalho;
- À Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" pela oportunidade de realização do Curso; Ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia do Curso de Pós-Graduação em Agronomia pela oportunidade concedida;
- À Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de estudos e do auxílio pesquisa;
- À BASF por fornecer produtos para a realização dos experimentos; e
- A todos que de alguma forma auxiliaram na realização deste trabalho.

“Quanto mais aumenta nosso conhecimento, mais
evidente fica a nossa ignorância”.

Jonh Kennedy

SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT	10
1 INTRODUÇÃO.....	11
Referências	12
2 EFEITO FISIOLÓGICO DE PIRACLOSTROBINA NA CULTURA DE SOJA (EXPERIMENTO DE CAMPO).....	13
Resumo	13
Abstract.....	13
2.1 Introdução.....	14
2.2 Material e métodos	15
2.3 Resultados e discussão	19
2.4 Conclusões.....	26
Referências	26
3 MODELOS DE CRESCIMENTO E APLICAÇÃO DE PIRACLOSTROBINA NA CULTURA DE SOJA	30
Resumo	30
Abstract.....	30
3.1 Introdução.....	31
3.2 Material e métodos	32
3.2.1 Potencial diário de assimilação bruta da planta.....	35
3.2.2 Taxa diária de assimilação bruta da planta.....	35
3.2.3 Taxa diária de assimilação bruta de vagens.....	35
3.2.4 Taxa de respiração de manutenção das vagens	35
3.2.5 Taxa diária de assimilação líquida de vagens.....	36
3.2.6 Incremento diário de fitomassa seca de vagens.....	36
3.3 Resultados e discussão	36
3.4 Conclusões.....	43
Referências	43

4 EFEITO DA APLICAÇÃO DE PIRACLOSTROBINA NA TAXA DE ASSIMILAÇÃO DE CARBONO, ATIVIDADE DA ENZIMA NITRATO REDUTASE E PRODUTIVIDADE DE GRÃOS DE SOJA.....	47
Resumo	47
Abstract.....	47
4.1 Introdução.....	48
4.2 Material e métodos	49
4.2.1 Potencial diário de assimilação bruta da planta.....	52
4.2.2 Taxa diária de assimilação bruta da planta.....	52
4.2.3 Taxa diária de assimilação bruta de vagens.....	52
4.2.4 Taxa de respiração de manutenção das vagens	52
4.2.5 Taxa diária de assimilação líquida de vagens.....	52
4.3 Resultados e discussão	54
4.4 Conclusões.....	58
Referências	58
5 ANÁLISE DA RESPOSTA TEMPORAL DE VARIÁVEIS FISIOLÓGICAS DA CULTURA DE SOJA À APLICAÇÃO DE PIRACLOSTROBINA	61
Resumo	61
Abstract.....	61
5.1 Introdução.....	62
5.2 Material e métodos	63
5.3 Resultados e discussão	66
5.4 Conclusões.....	72
Referências	72
6 CONCLUSÕES	75
APÊNDICES	76

RESUMO

A cultura de soja: modelo de crescimento e aplicação da estrobilurina piraclostrobina

No Brasil, a soja ocupa a maior área cultivada. Problemas relacionados com doenças fúngicas na cultura têm sido responsáveis por perdas de produtividade de grãos de até 95%. A utilização de compostos a base de piraclostrobina (estrobilurina) tem provido aumento de produtividade e controle de doenças, principalmente da ferrugem asiática, considerada uma das principais doenças da soja no momento. Visando um aporte à pesquisa nas respostas fisiológicas da cultura, este estudo objetivou avaliar o efeito fisiológico de um fungicida a base da estrobilurina piraclostrobina em diferentes cultivares de soja. Realizaram-se dois experimentos, de novembro de 2005 a maio de 2006, no campo experimental da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, utilizando as variedades cultivadas 'M-SOY 8008 RR' e 'BRS 245 RR' e um experimento conduzido com a variedade cultivada 'BRS Conquista', em casa-de-vegetação (condições parcialmente controladas), de janeiro a maio de 2007. Foram realizadas medidas fisiológicas (fotossíntese líquida, respiração, síntese de etileno e atividade da enzima nitrato redutase), fenométricas (fitomassa seca de folhas, caule e total e área foliar), além da produtividade. Os dados obtidos nos ensaios a campo foram utilizados nos modelos propostos por Van Keuler e Wolf (1986). Nos dois experimentos a campo, o delineamento experimental foi de blocos ao acaso com três tratamentos (T₁: sem aplicação de fungicida, T₂: duas aplicações da estrobilurina piraclostrobina e T₃: duas aplicações de tebuconazol - triazol - em R₁ e R_{5.1}) com 4 repetições. Em casa-de-vegetação, o delineamento adotado foi o de blocos ao acaso com dois tratamentos (T₁: aplicação da estrobilurina piraclostrobina e T₂: sem aplicação) e cinco repetições. Na variedade cultivada 'M-SOY 8008 RR', a aplicação da estrobilurina piraclostrobina no estágio fenológico R₁ e R_{5.1} incrementa a taxa fotossintética nos dois períodos de aplicação. A atividade da enzima nitrato redutase somente é incrementada quando a aplicação é realizada no estágio fenológico R₁. A taxa respiratória decresce após a aplicação da estrobilurina piraclostrobina (estádio fenológico R_{5.1}). A estrobilurina piraclostrobina incrementa a taxa de assimilação bruta de CO₂ da planta e a taxa de assimilação líquida de CO₂ nas vagens, a massa de 1000 grãos e a produtividade de 13 e 4 sacas ha⁻¹ em relação ao tratamento sem aplicação e ao tratamento com aplicação de triazol, respectivamente. Em relação a variedade cultivada 'BRS 245 RR', a estrobilurina piraclostrobina aumenta o acúmulo de fitomassa seca de folhas, caule e total e da área foliar em torno de 14 dias após a primeira aplicação, mantida até o final do ciclo. Os resultados obtidos em casa-de-vegetação revelaram que a aplicação da estrobilurina piraclostrobina aumenta a taxa fotossintética e atividade da enzima nitrato redutase até o 7 dias após a aplicação, com valores máximos aos 7 DAA para a fotossíntese e ao 0 DAA para a atividade da enzima nitrato redutase. A condutância estomática e a transpiração aumentaram até 3 dias após a aplicação, momento onde é verificado o máximo efeito. O decréscimo na taxa respiratória é mantido até os 7 DAA, entretanto a biossíntese de etileno é inibida progressivamente até os 18 DAA. Com base nos resultados, conclui-se que a aplicação da estrobilurina piraclostrobina em soja causa aumento da atividade fisiológica ocasionando incremento da produtividade de grãos, sendo que a maior atividade na taxa de assimilação de carbono e nitrogênio ocorre até o os 7 DAA.

Palavras-chave: Efeito fisiológico; *Glycine max* L. Merrill; Produtividade; Fungicida

ABSTRACT

The soybean crop: growth model and pyraclostrobin application

In Brazil, the soybean is one of the most cultivated crop. However, problems related to fungal diseases caused losses in yield up to 95%. The use of pyraclostrobin had provided increase in yield and diseases control, as Asian rust mainly, considered one of the main soybean disease actually. With the purpose of studying the physiological effect of the pyraclostrobin (strobilurin) application on soybean crop, three experiments were carried out at Piracicaba, State of São Paulo, Brazil (University of São Paulo, Escola Superior "Luiz of Queiroz"), using different cultivars (two field experiments, from November 2005 to May 2006, with 'M-SOY 8008 RR' and 'BRS 245 RR' cultivar and one greenhouse experiment, from January to May 2007, with 'BRS Conquista' cultivar). Physiological (net photosynthesis, respiration, ethylene production and the nitrate reductase - enzyme - activity) and phenometric analysis (total - shoot + root - leaves and stem dry mass and leaf area) and soybean yield were evaluated. The statistical field experiment design was complete randomized block design with three treatments (T₁: no fungicide application; T₂: two applications of pyraclostrobin and T₃: two applications of tebuconazole - triazol - at R₁ and R_{5.1} soybean phenological stages) and four replications. The statistical greenhouse experiment design also was complete randomised block design with two treatments (T₁: pyraclostrobin application and T₂: no fungicide application) and five replications. The field experiment observed data had been used according to the Van Keuler and Wolf (1986) models. The nitrate reductase enzyme activity was increased when the fungicide was applied at R₁ stage. The respiratory rate decreases soon after the pyraclostrobin application (stage R_{5.1}). The pyraclostrobin (strobilurin) increased: (i) the plant CO₂ gross assimilation rate; (ii) the pod CO₂ net assimilation rate; (iii) the mass of 1000 seeds and (iv) yield (13 and 4 bags ha⁻¹ in relation to T₁ and T₃, respectively). In relation to 'BRS 245 RR' cultivar, the pyraclostrobin increased leaves, stem and total (shoot + root) dry mass and leaf area from 14 days after first application to end of the crop cycle. The greenhouse observed data demonstrated that the pyraclostrobin application increased the photosynthesis rate (maximum values occurred 7 days after application - DAA) and the nitrate reductase enzyme activity (maximum values occurred 0 DAA) until 7 DAA. The physiological effect of pyraclostrobin application on the stomatal conductance and transpiration rate occurred until 3 DAA, period of maximum effect. The respiratory rate decreased until 7 DAA, however the ethylene biosynthesis was inhibited gradually until 18 DAA. The observed data allows to conclude that the pyraclostrobin application increased the soybean physiological activity and the yield, being that the highest activity in the carbon assimilation and nitrogen rate occurred until the 7 DAA.

Key words: Physiological effect; *Glycine max* L. Merrill; Yield; Fungicide

1 INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* L. Merrill) é uma cultura de clima tropical, cuja produção é mais concentrada nos Estados Unidos (EUA) e Brasil, devido às condições ambientais favoráveis ao seu cultivo. No Brasil a soja é a cultura com maior área cultivada e atualmente encontra-se em expansão principalmente nas regiões Centro-Oeste e Norte. Segundo dados da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2006) deverão ser cultivados em torno de 21 milhões de hectares de soja na safra 2006/07, com uma produção esperada em torno de 53,5 milhões de toneladas.

Diversos fatores têm influenciado na produtividade da soja, como manejo a campo, e controle de plantas daninhas, pragas e doenças bacterianas e fúngicas. A incidência de doenças, principalmente as ocasionadas por fungos tem promovido grandes perdas aos produtores, as quais podem atuar durante todo o ciclo ou apenas no final do ciclo de cultivo. As doenças incidentes durante a fase final do ciclo causam prejuízos na produção de até 21%, sendo este decréscimo principalmente na redução da massa de 1000 sementes (GUERZONI, 2001).

As doenças mais comuns durante o ciclo vegetativo e reprodutivo são o oídio, míldio e atualmente tem se destacado a incidência da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*). Essa doença esteve restrita por um longo tempo as regiões tropicais e subtropicais da Ásia, atualmente tem causado perdas de produtividade significativa na América do Sul e continente Australiano (BROMFIELD, 1984). As perdas ocasionadas na produção de soja no Brasil, em 2002, foram estimadas em 112.000 t, ou US\$ 24,7 milhões (YORINORI, 2002). Os estados do Rio Grande do Sul, do Paraná, de São Paulo, de Mato Grosso do Sul, de Mato Grosso e de Goiás foram os mais afetados. Nestes locais, as reduções de rendimento de grãos foram estimadas entre 30% e 70% nas áreas mais atingidas (COSTAMILAN; BERTAGNOLLI; YORINORI, 2007).

Em função da importância da ferrugem asiática na cultura de soja, várias técnicas de manejo têm sido utilizadas por produtores. Uma das principais refere-se ao uso de fungicidas, especialmente os que apresentam como princípio ativo a estrobilurina piraclostrobina.

Esta molécula tem sido alvo de estudos por pesquisadores na área de fisiologia, pois além de sua ação fungicida, tem se observado a campo vários efeitos fisiológicos que tem proporcionado aumento em produtividade mesmo em regiões onde não ocorre a incidência de ferrugem.

No entanto, a maior parte das pesquisas tem enfatizado o efeito da estrobilurina piraclostrobina na produção de grãos, isto é, na consequência do efeito fisiológico e não na causa, o qual refere-se ao efeito da estrobilurina em parâmetros fisiológicos como, taxa de assimilação de carbono e nitrogênio e na partição de fitomassa seca e sua relação com a produtividade e qualidade de grãos.

Referências

BROMFIELD, K.R. **Soybean rust**. Saint Paul: American Phytopathological Society, 1984. 64 p. (Monograph, 11).

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 18 out. 2006.

COSTAMILAN, L.M.; BERTAGNOLLI, P.F.; YORINORI, J.T. **Avaliação de danos em soja causados por ferrugem asiática**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2002. 5 p. (Embrapa Trigo. Comunicado Técnico On line, 96). Disponível: <http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p_co96.htm>. Acesso em: 10 ago. 2007.

GUERZONI, R.A. **Efeito das doenças foliares de final de ciclo (*Septoria glycyini*, *Hemmi* e *Cercospora kikuchii* Matsu e Tomoyasu Gardner), na duração da área foliar sadia da soja**. 2001. 49 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

YORINORI, J.T. Ferrugem Asiática da soja (*Phakopsora pachyrhizi*): ocorrência no Brasil e estratégias de manejo. In: ENCONTRO BRASILEIRO SOBRE DOENÇAS DA CULTURA DA SOJA, 2., 2002, Passo Fundo. **Anais ...** Passo Fundo: Aldeia Norte, 2002. p. 47-54.

2 EFEITO FISIOLÓGICO DE PIRACLOSTROBINA NA CULTURA DE SOJA (EXPERIMENTO DE CAMPO)

Resumo

Visando um aporte à pesquisa sobre o efeito fisiológico de fungicida a base de piraclostrobina (estrobilurina) na cultura de soja buscou-se avaliar sua ação na assimilação de carbono e nitrogênio e na produtividade da variedade cultivada M-SOY 8008 RR em condições de campo. O experimento foi conduzido de novembro de 2005 a maio de 2006 em campo experimental da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. O efeito fisiológico do fungicida foi avaliado através da quantificação da fotossíntese líquida e respiração, da atividade da enzima nitrato redutase e da produtividade final da cultura. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso com três tratamentos (T₁ - sem aplicação de fungicida, T₂ - duas aplicações de piraclostrobina (estrobilurina) em R₁ e R_{5,1} e T₃ - duas aplicações de tebuconazol (triazol) em R₁ e R_{5,1}) com 4 repetições. A taxa fotossintética e a atividade da enzima nitrato redutase sofreram influência da estrobilurina piraclostrobina, somente após a primeira aplicação. O aumento na taxa de fotossíntese líquida foi mais acentuada aos 7 dias após a aplicação (DAA), com incremento de 17 e 56% em relação ao T₃ e T₁, respectivamente. O efeito na atividade nitrato da redutase no T₂ ocorreu logo após a aplicação (1 DAA), com valores superiores de 87% e 68% em relação ao T₁ e T₃, respectivamente. O maior decréscimo da respiração foi ao 1 DAA, onde o T₂ apresentou redução próximo a 76% e 10% comparados ao T₁ e T₃, respectivamente, sendo mantido até os 17 DAA. O tratamento com piraclostrobina (estrobilurina) promoveu aumento de 4 sacas ha⁻¹ em relação ao T₃, como possível resposta aos incrementos na fotossíntese líquida e na atividade da enzima nitrato redutase.

Palavras-chave: *Glycine max* L. Merrill; Fotossíntese; Nitrato redutase; Produtividade

PHYSIOLOGICAL EFFECT OF PYRACLOSTROBIN (STROBILURIN) IN THE SOYBEAN CROP (FIELD EXPERIMENT)

Abstract

With the purpose of studying the physiological effect of pyraclostrobin (strobilurin) fungicide application in the soybean crop ('M-SOY 8008 RR' cultivar), the action on the carbon and nitrogen assimilation was analyzed and on the productivity in field conditions. The field experiment was carried at Piracicaba (ESALQ/USP), State of São Paulo, Brazil, from November 2005 to May 2006. The physiological effect of the fungicide was evaluated through the quantification of the net photosynthesis, respiration, nitrate reductase activity and productivity. The experimental design was complete randomized blocks with three treatments (T₁: no fungicide application; T₂: two applications of pyraclostrobin (strobilurin) in R₁ and R_{5,1}; and T₃: two applications of tebuconazole - triazol - in R₁ and R_{5,1}) and four replications. The pyraclostrobin (strobilurin) effect on the photosynthesis and the nitrate reductase activity were observed after the first application, mainly. The increasing of the photosynthesis rate was more accentuated 7 days

after the application (DAA), with increment of 17 and 56% in comparison with T₃ and T₁, respectively. The effect in the nitrate reductase activity in the T₂ occurred after the application (1 DAA), with raised values of 87 and 68% in relation to T₁ and T₃, respectively. The highest decreasing of the respiration was 1 DAA, the T₂ was reduced 76 and 10% compared with T₁ and T₃, respectively, until 17 DAA. The treatment with pyraclostrobin (strobilurin) promoted increasing of 4 bags per ha in comparison with T₃, as possible response to the increments of the net photosynthesis and the nitrate reductase activity.

Key words: *Glycine max* L. Merrill; Photosynthesis; Nitrate reductase; Productivity

2.1 Introdução

A produtividade potencial da cultura da soja é determinada por fatores genéticos. Além disso, fatores externos limitantes, que atuam em algum momento durante o ciclo da cultura, também influenciam na produtividade (HEIFFIG, 2002). Os problemas mais comuns no cultivo da soja em países de clima tropical incluem a falta de adaptação de genótipos e/ou uso de genótipos inadequados, ocorrência de doenças fúngicas e bacterianas e baixa nodulação (HARTMAN et al., 1991).

A incidência de doenças, principalmente as ocasionadas por fungos, tem causado grandes perdas aos produtores. Entre as mais comuns durante o ciclo vegetativo e reprodutivo são o oídio, míldio e atualmente destaca-se a incidência da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*), a qual tem ocasionado perdas de produção estimadas em 112.000 t, cerca de US\$ 24,7 milhões (YORINORI, 2002). Os estados do Rio Grande do Sul, Paraná, São Paulo, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso e Goiás são os mais afetados. Nesses locais, as reduções de produtividade de grãos foram estimadas entre 30% e 70% nas áreas mais atingidas (COSTAMILAN; BERTAGNOLLI; YORINORI, 2007).

Como alternativa, a aplicação de fungicidas a base de estrobilurinas tem sido eficaz no controle destas doenças. No entanto além da sua reconhecida ação fúngica, estudos têm demonstrado que o uso de fungicidas a base de estrobilurina propicia aumentos em produtividade, mesmo em locais onde não houve incidência de ferrugem (GROSSMANN; RETZLAFF, 1997). Este efeito pode ser atribuído às alterações fisiológicas ocasionadas pelo fungicida, que favoreceriam o crescimento e desenvolvimento da cultura (GROSSMANN; RETZLAFF, 1997; BRYSON et al., 2000).

As estrobilurinas são compostos secundários com ação mitocondrial específica. Este composto natural inibe o transporte de elétrons entre o citocromo **b** e o citocromo **c** na cadeia

transportadora de elétrons, causando diminuição na produção de ATP (ANKE, 1995). Devido à inibição na cadeia transportadora ocorre à acidificação no citoplasma, aumentando assim a atividade da enzima nitrato redutase e conseqüentemente, a assimilação de nitrogênio (GLAAB; KAISER, 1999). A nitrato redutase também possui uma rota alternativa que produz óxido nítrico, o qual é um agente importante de sinalização contra ataque de patógenos, além de inibir os precursores do etileno, ACC sintase e ACC oxidase (VENÂNCIO et al., 2004).

A literatura apresenta duas hipóteses para explicar aumento da produtividade em plantas tratadas com estrobilurina (VENÂNCIO et al., 2004). Na primeira, o aumento da produtividade seria decorrente da alteração de processos fisiológicos incluindo: o ponto de compensação de dióxido de carbono, a senescência foliar, a ACC-sintase e desta forma biossíntese de etileno, o conteúdo de clorofila, a atividade fotossintética, a abertura de estômatos, o consumo de água, a atividade de enzimas antioxidantes, os níveis de ácido abscísico e outros hormônios vegetais e ainda, a atividade da enzima nitrato redutase (KÖEHLE et al., 2002). A segunda hipótese é de que a molécula da estrobilurina preveniria a germinação de esporos de fungos patogênicos, não patogênicos e saprófitos interrompendo assim, os elicitores que demandam perdas de energia em respostas à defesa do hospedeiro (BERGMANN et al., 1999; VENÂNCIO et al., 2004).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a ação de fungicida/fisiológica de um fungicida a base de estrobilurina na variedade cultivada de soja M-SOY 8008 RR em condições de campo, procurando caracterizar o seu efeito na produtividade final de grãos, com auxílio de medidas fisiológicas

2.2 Material e métodos

O experimento foi instalado em área experimental do Campus da ESALQ/USP do Departamento de Produção Vegetal no município de Piracicaba, SP (22° 41' 30" de latitude Sul, 47° 38' 30" de longitude Oeste e 546 m de altitude) sob um sistema de pivô central. O solo é classificado como Latossolo vermelho distrófico argiloso (HEIFFIG, 2002). O clima do local pertence ao tipo Cwah – tropical de altitude com estiagem de inverno segundo a classificação de W. Köppen. Nesta região a precipitação média anual é de 1257 mm (SENTELHAS; PEREIRA, 2000), com temperatura média anual em torno de 21,4°C.

Utilizou-se a espécie *Glycine max* L. Merrill, variedade cultivada M-SOY 8008 RR. A semeadura foi realizada em 16 de novembro de 2005, no espaçamento de 0,45 m entre linhas com

densidade de 28 sementes por metro. Posteriormente, aos 20 dias após a emergência realizou-se o desbaste para obtenção da população final de 300.000 plantas ha^{-1} .

Antes da semeadura realizou-se a análise de solo, em que foi baseada a adubação da cultura. De acordo com a análise foi necessário realizar apenas a adubação de manutenção. Na adubação de base, foi usado 250 kg ha^{-1} da formulação NPK, 0-20-20, totalizando a dose de 60 kg ha^{-1} de K_2O e 60 kg ha^{-1} de P_2O_5 . Também realizou-se adubação foliar com Cobalto e Molibdênio na dose de 200 mL ha^{-1} no estágio V_5 , segundo a escala fenológica proposta por Fehr e Caviness (1977).

Os dados meteorológicos foram obtidos da estação meteorológica da ESALQ/USP.

As sementes foram tratadas com 150 g de *Bradirizobium japonicum* e *Bradirizobium elkanii* + turfa a cada 50 kg de sementes. Posteriormente efetuou-se a aplicação de carbendazim na dose de 200 mL para cada 100 kg de semente.

Para o controle de plantas daninhas nos estádios iniciais de desenvolvimento da cultura utilizaram-se os herbicidas pré-emergentes, flumetsulan (1,0 L ha^{-1}) + pendimethalin (1,5 L ha^{-1}), logo após a semeadura. Durante o desenvolvimento da cultura o controle de plantas daninhas foi realizado através de capina manual entre os estádios V_3 e R_1 .

O experimento foi composto por 12 parcelas, com 7 m de comprimento por 2,25 m de largura cada (5 linhas), com área de 15,75 m^2 cada. A área total do experimento foi de 189 m^2 .

O delineamento experimental adotado foi em blocos ao acaso constituído por quatro tratamentos e quatro repetições (Tabela 1). As pulverizações com fungicidas foram realizadas utilizando-se pulverizador costal com injeção de CO_2 . A barra utilizada continha 4 bicos do tipo leque, perfazendo 2,25 m de comprimento e com a pressão constante de 2 bar.

A primeira aplicação dos fungicidas foi realizada no estágio R_1 (56 dias após a semeadura) e a segunda aplicação no estágio $\text{R}_{5,1}$ (77 dias após a semeadura).

As determinações de fotossíntese líquida e respiração foram realizadas em três plantas por tratamento. As análises foram programadas para as três horas após a aplicação do produto (dia da aplicação) e posteriormente aos 0, 7, 11 e 15 dias após a primeira aplicação e aos 1, 7, 13 e 17 dias após a segunda aplicação, entre as 9 e 11 horas da manhã, em dias ensolarados, em duas plantas por parcela.

As determinações de trocas gasosas foram realizadas por meio de um sistema fechado portátil de trocas gasosas, IRGA (*Infra Red Gas Analyzer*), modelo LI-6400 (Li-cor®), sempre nas folhas do estrato superior, completamente expandidas e totalmente expostas à radiação solar.

Durante as medições, uma folha selecionada em cada planta foi colocada dentro da câmara selada do equipamento, não suprida por ar externo sendo estabelecido $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ da radiação fotossinteticamente ativa (RFA). A mudança nas concentrações de CO_2 e H_2O por unidade de tempo serviu para estimar, conforme equações matemáticas pré-definidas no equipamento, a fotossíntese líquida (assimilação de carbono) e transpiração, respectivamente. Para as medidas de respiração a RFA do equipamento foi desligada ($0 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e, assim, as mudanças na concentração de CO_2 foram relacionadas com a respiração foliar.

Tabela 1 - Tratamentos e épocas de aplicação de fungicida no cultivo de soja, cultivar M-SOY 8008 RR. Piracicaba, ESALQ/USP-SP, 2006

Tratamento	Épocas de Aplicação		Especificações
	1 ^a . aplicação (Estádio R ₁)	2 ^a . aplicação (Estádio R _{5.1})	
T ₁	-	-	Testemunha absoluta.
T ₂	Estrobilurina (piraclostrobina)	Estrobilurina (piraclostrobina)	Tratamento para verificar o efeito fisiológico de duas aplicações da estrobilurina piraclostrobina ($0,5 \text{ L ha}^{-1}$ de ingrediente ativo para uma calda de 200 L ha^{-1}).
T ₃	Triazol (tebuconazol)	Triazol (tebuconazol)	Testemunha relativa. Tratamento para verificar o efeito da depleção da doença na produtividade ($0,5 \text{ L ha}^{-1}$ de ingrediente ativo para uma calda de 200 L ha^{-1}).

A partir dos valores obtidos no IRGA foram calculados os valores relativos em porcentagem onde sempre considerou o maior valor ocorrido independente do tratamento.

A análise da atividade da enzima nitrato redutase foi realizada em amostras de cinco folhas, completamente expandidas, retiradas da porção superior da planta em três plantas por

tratamento. As análises foram programadas para as três horas após a aplicação e posteriormente ao 1, 3, 7 e 15 dias após a primeira aplicação e ao 0, 1 e 6 dias após a segunda aplicação em dias ensolarados, das 9 às 11 horas.

A metodologia utilizada para determinação da atividade da enzima nitrato redutase foi a proposta por Cataldo (1975): as folhas colhidas foram picadas, e destas, adicionou-se 200 mg em tubos de ensaio juntamente com 5 mL de solução KNO_3 . Os tubos de ensaio foram envolvidos em papel de alumínio e mantidos em banho Maria a 35°C durante 2 horas agitado-se de 5 em 5 minutos. Posteriormente pipetou-se 1 mL da solução de cada tubo de ensaio e transferiu-se para o balão volumétrico de 50 mL. Logo após foi adicionado cerca de 25 mL de H_2O destilada e a seguir 1 mL de solução de ácido sulfanílico. A solução foi mantida em repouso de 5 a 10 min, sendo posteriormente, adicionado 1 mL de alfa-naftalamina e 1 mL da solução tampão de acetato de sódio, completou-se o volume do balão a 50 mL com H_2O destilada. A leitura foi realizada depois de 10 e antes de 30 minutos em colorímetro fotoelétrico, o qual foi ajustado ao zero com água destilada e usando filtro verde, correspondente a leitura de 540 nm.

A estimativa da atividade da enzima nitrato redutase foi obtida através da curva padrão de nitrito, ajustada de acordo com as concentrações de N na forma de NO_2^- de: 0,5; 10; 15; 20; e 25 $\mu\text{g L}^{-1}$. A partir das absorvâncias calculadas, ajustou-se o gráfico (concentração x leitura), obtendo-se a equação de regressão linear ($y = ax + b$). De acordo com esses dados procedeu-se o seguinte cálculo:

$$ANR = 5.FV.4.CN.0,5 \quad (1)$$

em que a *ANR* refere-se a atividade da enzima nitrato redutase em $\mu\text{g N-NO}_2$ por g de fitomassa verde por hora, *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 absorvância da amostra e os valores 5, 4 e 0,5 foram utilizados na correção dos valores para $\mu\text{g N-NO}_2$ por g de fitomassa verde por hora.

A colheita do experimento foi realizada no estágio R_9 . A produtividade de grãos foi estimada por meio da colheita das 3 fileiras centrais, eliminando-se 0,5 m das bordas iniciais e finais de cada parcela.

Os dados de trocas gasosas e de produtividade obtidos foram submetidos à análise de variância utilizando-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro, quando significativo.

2.3 Resultados e discussão

As condições meteorológicas ocorridas foram favoráveis ao crescimento e desenvolvimento da cultura durante a maior parte do período (Figuras 1a e 1b). Os valores mínimos de temperatura do ar (Figura 1a) situaram-se acima da temperatura basal inferior da cultura de soja, a qual é de 10°C, segundo Brown (1960), enquanto que os valores máximos foram inferiores a temperatura basal superior, sendo de 35°C, segundo Camargo et al. (1971). A radiação solar global incidente não foi limitante, pois se manteve acima do valor considerado como limite trófico da cultura ($8,4 \text{ MJ m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$), com valores médios de $17 \text{ MJ m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ (Figura 1b).

Analisando a precipitação diária (Figura 1b), observa-se regularidade na ocorrência de chuvas no período. A precipitação acumulada foi de 740,9 mm (344,2 mm no período vegetativo e 396,7 mm no período reprodutivo). Os valores acumulados de precipitação mantiveram-se dentro da faixa de 450 a 800 mm (EMBRAPA, 2007), embora estes valores sejam variáveis de acordo com as condições climáticas de cada região.

Figura 1 - Variação da temperatura mínima e máxima do ar (a) e da radiação solar global incidente e precipitação (b) no cultivo de soja, cultivar M-SOY 8008 RR. ESALQ/USP, Piracicaba -SP, 2006

A primeira aplicação da estrobilurina piraclostrobina ocasionou aumento significativo na fotossíntese líquida relativa (Figura 2a) até a última data de avaliação (17 DAA), porém na segunda aplicação, somente não ocorreu aumento da fotossíntese aos 13 DAA.

O efeito da estrobilurina piraclostrobina pode ser considerado como imediato, pois em torno de 3 horas após a primeira aplicação, a taxa fotossintética das plantas tratadas com a

estrobilurina piraclostrobina cresceu 3% e 10% em relação ao T₁ e T₃, respectivamente (Figura 2a). Essa diferença foi mais acentuada aos 7 DAA, com incremento de 17 a 56% em comparação ao T₃ e T₁, respectivamente (Figura 2a). Os resultados encontrados nesse trabalho corroboram com os estudos realizados por Beck et al. (2002), os quais observaram elevada atividade fotossintética em cultivares de trigo tratadas com estrobilurina sobre condições de campo.

Na segunda aplicação, a taxa fotossintética de plantas tratadas com a estrobilurina piraclostrobina não apresentou efeito significativo ($P>0,05$) apenas na análise realizada aos 13 DAA (Figura 2b). O aumento da taxa fotossintética das plantas nas plantas tratadas com a estrobilurina piraclostrobina foi constatado na literatura por Grossmann e Retzlaff (1997). Esses autores citam que o aumento na fotossíntese líquida está ligado às alterações no ponto de compensação de CO₂, o que favorece a absorção de CO₂ em oposição à liberação do mesmo pela respiração. Esse efeito pode ser explicado pela inibição transitória da respiração da planta quando tratada com fungicidas à base da estrobilurina piraclostrobina. Embora o mecanismo de ação da estrobilurina piraclostrobina seja o transporte de elétrons, Grossmann e Retzlaff (1997) trabalhando com tilacóides isolados de trigo comprovaram que essa molécula não altera o transporte de elétrons na fase fotoquímica da fotossíntese apenas tem efeito no transporte de elétrons da cadeia respiratória na mitocôndria.

Na cultura de soja, a fase crítica para produção de grãos é situada entre os estádios R₁ e R₆. Nesse período, a planta de soja apresenta a máxima atividade fotossintética (HARDMANN; BRUN, 1971; HARDY; HAVELKA, 1971) e sendo assim, o aumento da fotossíntese nesses estádios pode resultar em incrementos de produtividade. Isso porque os carboidratos produzidos na parte aérea pela fotossíntese também disponibilizam energia para os processos de absorção de nutrientes pelas plantas, especialmente o nitrogênio. Neste sentido, Touraine et al. (1992) trabalhando em soja com adição de malato, constataram que no momento que este foi adicionado praticamente dobrou a taxa de absorção de NO₃⁻, constando à relação entre a disponibilidade energética e a absorção de nitrogênio.

Figura 2 - Valores percentuais de fotossíntese líquida em soja, cultivar M-SOY 8008 RR, nos tratamentos; testemunha (T₁), com aplicação da estrobilurina piraclostrobina (T₂) e com aplicação de tebuconazol (triazol) (T₃), referentes à primeira (a) e segunda aplicação (b). ESALQ/USP, Piracicaba-SP, 2006.

Observou-se um decréscimo da respiração no tratamento que recebeu a estrobilurina piraclostrobina (Figura 3). O maior decréscimo foi no primeiro dia após a aplicação (1 DAA), onde o T₂ apresentou uma redução em torno de 76% em relação ao T₁ e 10% em relação ao T₃. Nas análises posteriores, essa diferença foi menos acentuada, apesar de ter sido mantida até os 17

DAA (Figura 3). Possivelmente, segundo Köehle et al. (2002), além de agir diretamente na cadeia transportadora de elétrons, a estrobilurina piraclostrobina atua como moderador de estresses bióticos e abióticos por participar no metabolismo do ácido nítrico e de hormônios de estresse como é o caso do ácido abscísico. Sendo assim, o decréscimo na respiração nas plantas com estrobilurina pode ser um fator importante, pois diminui o desperdício de energia da planta para o metabolismo de manutenção, o qual é aumentado em condições de estresse.

Segundo Azcon e Osmond (1983), a respiração de plantas envolve principalmente a oxidação de açúcares para formação de metabólitos secundários e energia na forma de ATP. De acordo com os autores, sob ação de fatores adversos especialmente à temperatura, a respiração de crescimento é menos sensível do que a de manutenção. Sendo assim, a ação da estrobilurina piraclostrobina possivelmente seja mais intensa sobre a respiração de manutenção e com menor atuação sobre o crescimento. Essa ação possivelmente influencie de forma direta na produção de fitomassa, pelo fato de aumentar a taxa de fotossíntese líquida da planta.

Contudo, o incremento de fitomassa seca em plantas não requer apenas o incremento de carbono pelo aumento da fotossíntese, como foi observado na Figura 2, mas também pela disponibilidade de nitrogênio. A limitação de nitrogênio em plantas C_3 é acompanhada pela diminuição da taxa fotossintética por unidade de área em folhas maduras, principalmente devido à redução considerável da partição de nitrogênio para a síntese de enzimas relacionadas com a fotossíntese, como é o caso da rubisco (EVANS, 1989).

De acordo com os resultados apresentados na Figura 4, a aplicação da estrobilurina piraclostrobina incrementa a atividade da enzima nitrato redutase. A variedade cultivada M-SOY 8008 RR respondeu a aplicação da estrobilurina piraclostrobina basicamente logo após a primeira aplicação (Figura 4a). Os maiores incrementos na atividade da enzima nitrato redutase no T_2 foram observados 1 DAA, com valores de 87% e 68%, e aos 3 DAA com incrementos de 72% e 75% em relação aos tratamentos T_1 e T_3 , respectivamente. Após a segunda aplicação, observou-se efeito somente aos 6 DAA, porém com incremento não superior a $2 \mu\text{g N-NO}_2$ por g de fitomassa verde por hora (Figura 4b). Provavelmente esse efeito se deve a baixa atividade desta enzima a partir desse período, desta forma, ficou mais difícil quantificar as diferenças entre tratamentos, uma vez que os valores de transmitância foram muito elevados e assim próximos da margem de erro do equipamento de leitura.

Figura 3 - Valores percentuais de respiração relativa (RR, %) em soja, cultivar M-SOY 8008 RR, nos tratamentos; testemunha (T₁), com aplicação da estrobilurina piraclostrobina (T₂) e com aplicação de tebuconazol (triazol) (T₃), referentes à segunda aplicação. ESALQ/USP, Piracicaba - SP, 2006

O incremento da atividade da enzima nitrato redutase pela ação da estrobilurina piraclostrobina encontrada neste trabalho, também é citada para outras culturas. Trabalhos realizados por Glaab e Kaiser (1999) demonstraram forte efeito na ativação da NADH-nitrato redutase quando foi utilizado Kresoxim-metil (fungicida a base da estrobilurina piraclostrobina), em folhas de espinafre. Köehle et al. (2002) observaram incremento na redução de nitrato três dias após a aplicação da estrobilurina piraclostrobina em plantas de trigo. Os autores verificaram que a estrobilurina piraclostrobina promoveu o incremento da absorção de nitrato *in vivo*, embora sete dias após a aplicação o conteúdo de nitrato no tecido reduziu em 10% indicando reassimilação para metabólitos mais complexos.

A estrobilurina piraclostrobina incrementa a atividade da enzima nitrato redutase em função da sua forma de modulação. O pH citosólico exerce modulação fundamental na atividade nitrato redutase (KAISER; BRENDLE-BEHNISCH, 1995). Após a aplicação da estrobilurina piraclostrobina ocorre o decréscimo do pH citosólico devido à inibição parcial no transporte de elétrons na mitocôndria, isso reflete-se em aumento da atividade da enzima nitrato redutase. Essa hipótese foi confirmada por Glaab e Kaiser (1999) que trabalhando com discos de espinafre tratados com estrobilurina observaram a mais alta ativação da enzima nitrato redutase quando o pH do citosol manteve-se em torno de 4,8.

(a)

(b)

Figura 4 - Valores da atividade da enzima nitrato redutase (AENR, $\mu\text{g N-NO}_2^-$ por g de fitomassa verde por h) da variedade cultivada M-SOY 8008 RR, nos tratamentos: testemunha (T_1), com aplicação da estrobilurina piraclostrobina (T_2) e com aplicação de tebuconazol (triazol) (T_3), referentes a primeira (a) e segunda aplicação (b). ESALQ/USP, Piracicaba -SP, 2006 (* Não significativo)

Na soja, a maior demanda de nitrogênio é compreendida do início da floração até o período final de enchimento de grãos. Sendo assim, incrementos no metabolismo do nitrogênio, devido ao aumento da atividade da enzima nitrato redutase, aliado ao aumento da fotossíntese líquida, auxiliam na potencialização da produtividade de grãos de plantas de soja tratadas com a estrobilurina piraclostrobina.

Embora na cultura de soja, a fixação biológica constitui-se na principal forma de assimilação de N, podendo atingir até 70% das necessidades da planta (FERGUNSON et al., 2007), a assimilação de nitrogênio pela nitrato redutase constitui-se numa das formas de suprimento de N a cultura. A contribuição da redução de nitrato via enzima nitrato redutase e da fixação simbiótica para a nutrição de N em soja já foi investigada por Harper (1974), Thibodeau e Jaworski (1975) e Wych e Rais (1978). Thibodeau e Jaworski (1975) citam que a redução de NO_3^- nas folhas é responsável em grande parte pelo acúmulo de nitrogênio (N) na planta durante o estágio vegetativo, alcançando o valor máximo durante o florescimento. A atividade da enzima nitrato redutase pode influenciar significativamente no metabolismo do N na planta, uma vez que, a cultura pode obter de 25 a 75% do N via decomposição de matéria orgânica do solo (FERGUNSON et al., 2007). Essa variação está relacionada ao custo energético requerido no processo de fixação, pois para cada elétron transferido da Fe-proteína para a MoFe-proteína são consumidos 2 ATP. Para reduzir uma molécula de N_2 são necessários oito elétrons e, portanto, 16 ATP.

A produtividade de grãos foi superior no tratamento que recebeu piraclostrobina (estrobilurina) em relação à testemunha relativa e a testemunha absoluta (Figura 5). Analisando apenas os tratamentos T_2 e T_3 observa-se que o efeito fisiológico da aplicação de piraclostrobina (estrobilurina) ocasionou um ganho de 4 sacas ha^{-1} (Figura 5). A testemunha sem aplicação de fungicidas apresentou depleção de produtividade que variou em torno de 10 por ha^{-1} em relação ao T_2 (Figura 5). Trabalhos realizados com trigo tem demonstrado incrementos de produtividade nas plantas tratadas com fungicidas a base da estrobilurina piraclostrobina, mesmo em cultivos com baixa incidência de doenças (BERTELSEN et al., 2001; JONES; BRYSON, 1998).

De acordo com Bertelsen et al. (2001), a retenção da área foliar é um dos principais efeitos das plantas tratadas com estrobilurinas, devido ao aumento na produção de citocininas e também a diminuição na síntese de etileno. As citocininas podem incrementar o florescimento e a produção de sementes em soja devido a sua atuação na distribuição de fotoassimilados por regular a enzima invertase ligada a parede celular (NAGEL et al., 2001).

Aliado a alteração hormonal, longos períodos de atividade fotossintética em folhas verdes durante o enchimento de grãos tem sido sugerido com um dos fatores relacionados com o aumento da produtividade em plantas tratadas com a estrobilurina piraclostrobina. Além disso, o número de sementes por unidade de área possivelmente está relacionada com a variação de

fotossíntese do dossel durante o florescimento e enchimento de grãos (BRUENING; EGLI, 1999). Desta forma, tratamentos que alteram a fotossíntese líquida, a atividade da enzima nitrato redutase e conseqüentemente o acúmulo de fitomassa seca durante este período causa alterações na produtividade final de grãos em soja.

Figura 5 - Valores produtividade (P, sacs ha⁻¹) da variedade cultivada 'M-SOY 8008 RR' nos tratamentos: testemunha (T₁), com aplicação da estrobilurina piraclostrobina (T₂) e com aplicação de tebuconazol (triazol) (T₃). ESALQ/USP, Piracicaba -SP, 2006

2.4 Conclusões

A aplicação da estrobilurina piraclostrobina em soja, variedade cultivada M-SOY 8008 RR, nos estádios fenológicos R₁ e R_{5.1}, incrementa a taxa fotossintética nos dois períodos de aplicação. A atividade da enzima nitrato redutase somente é incrementada quando a aplicação é realizada no estágio fenológico R₁. A taxa respiratória decresce após a aplicação da estrobilurina piraclostrobina (estádio fenológico R_{5.1}). Esses efeitos fisiológicos foram a possível causa do incremento de 4 sacas por ha das plantas tratadas com a estrobilurina piraclostrobina em relação à testemunha relativa (tebuconazol - triazol).

Referências

ANKE, T. The antifungal strobilurins and their possible ecological role. **Canadian Journal Botany**, Ottawa, v. 73, Suppl. 1, p. 940-945, 1995.

AZCON-BIETO, J.; OSMOND, C.B. Relationship between photosynthesis and respiration. The effect of carbohydrate status on the rate of CO₂ production by respiration in darkened and illuminated wheat leaves. **Plant Physiology**, Rockville, v.71, p.574-581, 1983.

BECK C.; OERKE, E.C.; DEHNE, H.W. Impact of strobilurins on physiology and yield formation of wheat. **Meded Rijksuniv Gent Fak Landbouwk Toegep Biol Wet**, Nussallee, v.67, n.2, p.181-187, 2002.

BERGMANN, H.; LIPPMANN, B.; LEINHOS, V.; TIROKE, S.; MACHELETT, B. Activation of stress resistance in plants and consequences for product quality. **Journal Application of Botany**, Berlin, v. 73, p.153-161, 1999.

BERTELSEN, J.R.; NEERGAARD, E. De; SMEDEGAARD-PETERSEN, V. Fungicidal effects of azoxystrobin and epoxiconazole on phyllosphere fungi, senescence and yield of winter wheat. **Plant Pathology**, Oxford, v.50, p.190-250, 2001.

BROWN, D.M. Soybean ecology. I. Development – temperature relationships from controlled environment studies. **Agronomy Journal**, Madison, v.52, n.9, p.493-496, 1960.

BRUENING, W.P.; EGLI, D.B. Relationship between photosynthesis and seed number at phloem isolated nodes in soybean. **Crop Science**, Madison, v.39, p.1769-1775, 1999.

BRYSON, R.J.; LEANDRO, L.; JONES, D.R. The physiological effects of kresoxim-methyl on wheat leaf greenness and the implication for crop yield. In: PROCEEDINGS OF THE BRIGHTON CROP PROTECTION CONFERENCE - PESTS AND DISEASES, 2000, Farnham. **Proceedings...** Farnham: British Crop Protection Council, 2000. p.739-747.

CAMARGO, A.P.; CHIARINI, J.V.; DONZELI, P.L.; SICHMANN, W. **Zoneamento da aptidão ecológica para a cultura de soja, girassol e amendoim no estado de São Paulo**. São Paulo: Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo, INSTIOLES, 1971. 35p.

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**, Athens, v.6, p.71-80, 1975.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 18 out. 2006.

COSTAMILAN, L.M.; BERTAGNOLLI, P.F.; YORINORI, J.T. **Avaliação de danos em soja causados por ferrugem asiática**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2002. 5 p. (Embrapa Trigo. Comunicado Técnico On line, 96). Disponível em: <http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p_co96.htm>. Acesso em: 10 ago. 2007.

EMBRAPA SOJA. **Recomendações técnicas para a cultura da soja na região central do Brasil 2006/07**. Londrina, 2007. 226 p. (EMBRAPA-Soja. Documentos, 132; Embrapa Agropecuária Oeste, 5).

EVANS J.R. Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C₃ plants. **Oecologia**, Berlin, v.78, 1989. p.9-19.

FERGUNSON, B.R.; SHAPIRO, C.A.; DOBERMANN, A.R.; WORTMANN, C.S. Fertilizer recommendations for soybeans. **Published by University of Nebraska-Lincoln extension, Institute of Agriculture and natural Resources**, p.1-4, 2007. Disponível em: <http://www.ianrpubs.unl.edu/epublic/live/g859/build/g859.pdf>. Acesso em: 10 oct. 2007.

FHER, W.R.; CAVINESS, C.E. **Stages of soybean development**, Iowa: Agricultural Experimental Station, 1977. 81p. (Spec. Rep.).

GLAAB, J.; KAISER, W.M. Increased nitrate reductase activity in leaf tissues after application of the fungicide Kresoxim-methyl. **Planta**, Berlin, v. 207, p.442-448, 1999.

GROSSMANN, K.; RETZLAFF, G. Bioregulatory effects of the fungicidal strobilurin kresoxim methyl in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Pesticide Science**, Oxford, v.50, p.11-20, 1997.

HARDMANN, L.L.; BRUN, W.A. Effect of atmospheric carbon dioxide enrichment at different developmental stages on growth and yield components of soybeans. **Crop Science**, Madison, v.11, p.886-888, 1971.

HARDY, R.W.F; HAVELKA, U.D. Photosynthate as a major factor limiting nitrogen fixation by field grown legumes with emphasis on soybeans. In: NUTMAN, P.S. (Ed.) **Symbiotic nitrogen fixation in plants**, IBP 7. Cambridge: University Press, 1971. p. 421-439.

HARPER, J.E. Soil and symbiotic nitrogen requirements for optimum soybeans production. **Crop Science**, Madison, v.14, p.255-260, 1974.

HARTMAN, G.L.; WANG, T.C.; TSCHANZ A.T. Soybean rust development and the quantitative relationship between rust severity and soybean yield. **Plant Disease**, Saint Paul, v.75, n.6, p.506-600, 1991.

HEIFFIG, L.C. **Plasticidade da cultura da soja** (*Glycyne max*, L. Merril) **em diferentes arranjos espaciais**. 2002. 85p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

JONES, D.R.; BRYSON, R.J. **Physiological effects of strobilurins and plant activators in relation to yield of winter wheat**. London, UK: Home Grown Cereals Authority Project Report, n.164, 1998.

KAISER, W.M.; BRENDLE-BEHNISCH, E. Acid-base-modulation of nitrate reductase in leaf tissues. **Planta**, Berlin, v.196, p.1-6, 1995.

KÖEHLE, H.; GROSSMANN, K.; JABS, T.; GERHARD, M.; KAISER, W.; GLAAB, J.; CONRATH, U.; SEEHAUS, K.; HERMS, S. Physiological effects of the strobilurin fungicide F 500 on plants. In: DEHNE, H.-W.; GISI, U.; KUCK, K.H.; RUSSELL, P.E.; LYR, H. (Ed.) **Modern fungicides and antifungal compounds III**. Andover. 2002, p. 61–74.

NAGEL, L.; BREWSTER, R.; RIEDELL, W. E.; REESE, R. N. Cytokinin regulation of flower and pod set in soybeans (*Glycine max* (L.) Merrill.). **Annals of Botany**, London, v.88, p.27-31, 2001.

SENTELHAS, P.C.; PEREIRA, A.R. A maior estiagem do século? **Notícias Piracema**, Piracicaba, v.6, n.50, p.1 2000.

THIBODEAU, P.S; JAWORSKI, E.G. Patterns of nitrogen utilization in the soybean. **Planta**, Berlin, v.127, p.133-147, 1975.

TOURAINÉ, B.; MULLER, B.; GRIGNON, C. Effect of phloem-translocated malate on NO₃⁻ uptake by roots of intact soybean plants. **Plant Physiology**, Lancaster, v.99, p.1118-1123, 1992.

VENÂNCIO, W.S.; RODRIGUES, M.A.T.; BEGLIOMINI, E.; SOUZA, N.L. Physiological effects of strobilurin fungicides on plants. **Publication UEPG**, Ponta Grossa, v.9, n.3, p.59-68, 2004.

WYCH, R.D; RAINS, D.W. Nitrate absorption and acetylene reduction by soybeans during reproductive development. **Plant Physiology**, Washington, v.62, p.443-448, 1978.

YORINORI, J.T. Ferrugem Asiática da soja (*Phakopsora pachyrhizi*): ocorrência no Brasil e estratégias de manejo. In: ENCONTRO BRASILEIRO SOBRE DOENÇAS DA CULTURA DA SOJA, 2., 2002, Passo Fundo. **Anais...** Passo Fundo: Aldeia Norte, 2002, p.47-54.

3 MODELOS DE CRESCIMENTO E APLICAÇÃO DE PIRACLOSTROBINA NA CULTURA DE SOJA

Resumo

O trabalho foi realizado em área experimental do Campus da ESALQ/USP do Departamento de Produção Vegetal no município de Piracicaba-SP, de novembro de 2005 a maio de 2006. O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito de um fungicida a base de piraclostrobina (estrobilurina) no acúmulo e partição de fitomassa seca, além da estimativa de parâmetros fisiológicos por meio de modelos matemáticos e sua relação com a produtividade de grãos na cultura de soja, variedade cultivada BRS 245 RR. Foi avaliado o acúmulo de fitomassa seca de folhas, caule e total, área foliar (AF), e trocas gasosas (fotossíntese líquida e respiração). Em função destes dados foi determinado o potencial de assimilação bruta de CO₂ na planta, taxa de assimilação líquida de CO₂ e incremento de fitomassa de vagens e sua relação com a produtividade de grãos. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso constando de três tratamentos (T₁ - sem aplicação de fungicida, T₂ - duas aplicações de estrobilurina piraclostrobina em R₁ e R_{5,1} e T₃ - duas aplicações de tebuconazol - triazol - em R₁ e R_{5,1}) com 4 repetições. A aplicação de estrobilurina aumentou o acúmulo de fitomassa seca de caule, folhas e total a partir de 14 dias após a primeira aplicação. O potencial de assimilação bruta de carbono na planta e taxa de assimilação líquida e o incremento de fitomassa seca de vagens aumenta com o uso de estrobilurina, ocasionando acréscimos de produtividade de 8 e 18 sacas ha⁻¹ em relação ao tratamento com triazol e sem aplicação, respectivamente. Conclui-se que a aplicação de estrobilurina proporciona maior acúmulo de fitomassa e assimilação de carbono, refletindo-se na produção de grãos.

Palavras-chave: *Glycine max* L. Merrill; Potencial de assimilação bruta; Taxa de assimilação líquida; Incremento de fitomassa

GROWTH MODELS AND PYRACLOSTROBIN APPLICATION IN THE SOYBEAN CROP

Abstract

With the purpose of evaluating the pyraclostrobin (strobilurin - fungicide) effect on the dry mass accumulation and partition, beyond the physiological parameters estimative using mathematical models and its relation with the soybean ('BRS 245 RR' cultivar) crop yield, the field experiment was carried out at Crop Science Department, Campus Luiz de Queiroz (ESALQ/USP), in Piracicaba, State of São Paulo, from November 2005 to May 2006, using a randomised complete block design with three treatments (T₁ - without fungicide application, T₂ - two applications of pyraclostrobin (strobilurin) in R₁ and R_{5,1} and T₃ - two applications of tebuconazole - triazol - in R₁ and R_{5,1}) and four replications. The following parameters were evaluated: total (shoot + root), leaves and stem dry mass, leaf area and gas exchanges (net photosynthesis and respiration). The potential gross and net assimilation rate of CO₂, and the pod dry mass increment, and its relation with yield, were evaluated in the plant. The pyraclostrobin application increased the leaves, stem and total (shoot + root) dry mass from 14 days after the first

application. The potential CO₂ gross assimilation rate in the plant, CO₂ net assimilation rate and the pod dry mass raised with the continuous strobilurin use increasin soybean productivity (8 and 18 bags ha⁻¹ in comparison with the T₃ and T₁, respectively). The results allowed to conclud that the pyraclostrobin (strobilurin) application provides greater dry mass and carbon assimilation, reflecting itself in the soybean yield.

Key words: *Glycine max* L. Merrill; Potential gross assimilation; CO₂ Net assimilation rate; Dry mass increment

3.1 Introdução

Ao longo dos anos, a cultura de soja (*Glycine max* L. Merril) no Brasil tem apresentado diversas mudanças nas técnicas de manejo. Atualmente as principais se referem ao controle de doenças fúngicas. A utilização de fungicidas do grupo das estrobilurinas é uma das principais adaptações no manejo utilizadas pelos produtores. Esse fungicida tem proporcionado o controle eficiente de diversas doenças, incluído a ferrugem asiática, além de promover ganhos significativos em produtividade.

A estrobilurinas atuam como inibidor da respiração mitocondrial causando diversas alterações fisiológicas nas plantas (SAUTER et al., 1995; ANKE, 1995). Entre elas incluem a maior taxa fotossintética e atividade da enzima nitrato redutase, além do atraso na senescência, aumento da tolerância a estresses abióticos e favorecimento no acúmulo de fitomassa e produção de grãos (GROSSMANN; RETZLAFF, 1997).

Uma das técnicas para quantificar o balanço de carbono em plantas é a utilização de análises fenométricas, entre elas destacam-se as análises de crescimento (PEREIRA, 2002), sendo método bastante usado para estimar a taxa fotossintética líquida, produção e partição de fitomassa das plantas em intervalos de tempo.

Aliado as medidas de análise de crescimento, a utilização de modelos matemáticos tem auxiliado no estudo das relações entre clima-planta (BOOTE et al., 1994). Nos últimos anos tem sido utilizado modelos para descrever o acúmulo de fitomassa seca em plantas anuais e perenes e sua interação com a produtividade final (TURCO et al., 1998; OVERMAN; SCHOLTZ, 2003).

O uso de modelos matemáticos para estimar o crescimento de plantas possibilita o estudo simplificado de processos fisiológicos. Para esse tipo de estudo, modelos mecanísticos têm sido utilizados como importante ferramenta, permitindo a descrição. Esses modelos apresentam uma descrição quantitativa dos mecanismos e processos que explicam o desempenho da planta. Nesse

sentido, buscam ampliar o entendimento sobre os processos envolvidos nas interações cultura-ambiente, principalmente processos fisiológicos (PENNING DE VRIES et al., 1989; PEREIRA, 2002).

Um dos modelos mecanísticos mais utilizados atualmente foram os desenvolvidos por Penning De Vries et al. (1989) para determinar produtividade potencial. Esse modelo utiliza diversos parâmetros fisiológicos como taxa fotossintética, respiratória e transpiratória, além de taxas de alocação de fotoassimilados para diferentes órgãos da planta.

O uso desses modelos pode auxiliar no entendimento do efeito da aplicação de produtos de ação fisiológica em grandes culturas, especialmente de soja. Ao mesmo tempo é importante conhecer o potencial de assimilação de carbono na planta e sua partição para diferentes órgãos, principalmente para os órgãos reprodutivos (grãos), que determinará a produtividade final da cultura.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de um fungicida a base da estrobilurina piraclostrobina no acúmulo e partição de fitomassa seca, além da estimativa de parâmetros fisiológicos por meio de modelos matemáticos e sua relação com a produtividade de grãos na cultura de soja.

3.2 Material e métodos

O experimento foi instalado em área experimental do Campus da ESALQ/USP do Departamento de Produção Vegetal no município de Piracicaba – SP (22° 41' 30" de latitude Sul; 47° 38' 30" de longitude Oeste e 546 m de altitude) sob sistema de pivô central. O solo é classificado como Latossolo Vermelho distrófico argiloso. O clima do local segundo a classificação de W. Köppen pertence ao tipo Cwah – tropical de altitude com estiagem de inverno. Nesta região a precipitação média anual é de 1257 mm (SENTELHAS; PEREIRA, 2000), com temperatura média de 21,4°C.

A espécie utilizada foi a *Glycine max* L. Merrill, variedade cultivada BRS 245 RR. A semeadura foi realizada no espaçamento de 0,45m entre linhas na densidade de 28 sementes por metro. Posteriormente realizou-se o desbaste para alcançar a população final de 300.000 plantas por ha.

A adubação da cultura foi baseada de acordo com a análise de solo. Na adubação de base foram usados 250 kg da formulação NPK, 00-20-20, totalizando a dose de 60 kg ha⁻¹ de K₂O e 60

kg ha⁻¹ de P₂O₅, posteriormente foi realizado adubação foliar com Cobalto e Molibdênio na dose de 200 mL ha⁻¹ no estágio V₅, segundo a escala fenológica proposta por Fher e Caviness (1977).

As sementes foram tratadas com 150 g de *Bradirizobium japonicum* e *Bradirizobium elkanii* + turfa a cada 50 kg de sementes. Posteriormente realizou-se a aplicação de Carbendazim na dose de 200 mL para 100 kg de semente.

Para o controle de plantas daninhas nos estágios iniciais de desenvolvimento da cultura utilizaram-se os herbicidas pré-emergentes, flumetsulan (1,0 L ha⁻¹) + pendimethalin (1,5 L ha⁻¹), logo após a semeadura. Durante o desenvolvimento da cultura o controle de plantas daninhas foi realizado através de capina manual entre os estádios V₃ e R₁.

O experimento foi composto por 12 parcelas, com 7 m de comprimento por 2,25 m de largura cada (5 linhas), com área de 15,75 m² cada. A área total do experimento foi de 189 m².

O delineamento experimental adotado foi em blocos ao acaso constituído por três tratamentos e quatro repetições (Tabela 1). As pulverizações com fungicidas foram realizadas utilizando-se pulverizador costal com injeção de CO₂. A barra utilizada continha 2,25m de comprimento, com 4 bicos do tipo leque, a pressão constante de 2 bar.

A primeira aplicação dos fungicidas foi realizada no estágio R₁ (56 dias após a semeadura) e a segunda aplicação no estágio R_{5.1} (77 dias após a semeadura).

Foram selecionadas três plantas por tratamento para as determinações de fotossíntese e respiração. Estas análises foram realizadas aos 7, 14, 21, 28 e 35 dias após a primeira aplicação, entre as 9 e 11 horas da manhã, em dias ensolarados, em duas plantas por parcela.

As medidas de trocas gasosas foram realizadas por meio de um sistema fechado portátil de trocas gasosas, IRGA (*Infra Red Gas Analyzer*), modelo LI-6400 (Li-cor®), sempre nas folhas do estrato superior, completamente expandidas e totalmente expostas à radiação solar.

Durante as medições, a folha selecionada em cada planta foi colocada dentro da câmara selada do equipamento, não suprida por ar externo, sendo estabelecido 1500 µmol m⁻² s⁻¹ da radiação fotossinteticamente ativa (RFA). A mudança nas concentrações de CO₂ e H₂O por unidade de tempo serviu para estimar, conforme equações matemáticas pré-definidas no equipamento, a fotossíntese líquida (assimilação de carbono) e transpiração, respectivamente. Para as medidas de respiração a RFA do equipamento foi desligada (0 µmol m⁻² s⁻¹) e, assim, as mudanças na concentração de CO₂ foram relacionadas com a respiração foliar.

As obtenções dos dados fenométricos (fitomassa seca) foram realizadas num intervalo de 7 dias para cada coleta, iniciando no dia da emergência e estendendo-se até o estágio R_1 . Após o estágio R_1 iniciou-se a aplicação dos tratamentos, desta forma o esquema de coleta foi alterado para 0, 7, 14, 28 e 35 dias após a primeira aplicação. Durante as coletas foram retiradas duas plantas por parcela para avaliação de fitomassa seca de cada órgão.

Tabela 1 - Tratamentos e épocas de aplicação de fungicida no cultivo de soja, cultivar BRS 245 RR. Piracicaba, ESALQ/USP-SP, 2006

Tratamento	Épocas de Aplicação		Especificações
	1 ^a aplicação (Estádio R_1)	2 ^a aplicação (Estádio $R_{5,1}$)	
T ₁	-	-	Testemunha absoluta.
T ₂	Estrobilurina (Piraclostrobina)	Estrobilurina (Piraclostrobina)	Tratamento para verificar o efeito fisiológico de duas aplicações de estrobilurina piraclostrobina (0,5 L ha ⁻¹ de i.a. para uma calda de 200 L ha ⁻¹).
T ₃	Triazol (Tebuconazol)	Triazol (Tebuconazol)	Testemunha relativa. Tratamento para verificar o efeito da depleção da doença na produtividade (0,5 L ha ⁻¹ de i.a para uma calda de 200 L ha ⁻¹).

No momento da coleta das plantas foi realizado a separação de suas folhas, caule, vagens e raízes. Posteriormente, estes órgãos foram colocados em sacos de papel individualizados, identificados e levados à estufa de secagem de ventilação forçada de ar a 65°C, até massa constante para a determinação da fitomassa seca. O somatório de todos os órgãos resultou na fitomassa seca total das plantas. As pesagens de fitomassa foram realizadas em balança digital com precisão de 0,001 grama. De acordo com dados ajustados na análise de crescimento, calculou-se o crescimento relativo de vagens (Frv) através da relação entre fitomassa seca total de vagens e fitomassa seca total (kg kg⁻¹).

Durante a coleta das plantas, foi determinada a área foliar (AF, m² planta⁻¹) por intermédio de um integrador de área (modelo Li-3100C, Li-cor®). O índice de área foliar (IAF, m² m⁻²) foi

calculado pela relação entre a área foliar e a área de domínio da planta em relação ao solo (AS , m^2 planta $^{-1}$).

$$IAF = \frac{AF}{AS} \quad (1)$$

Os dados obtidos nos ensaios foram utilizados nos modelos de estimativa ajustados de acordo com os modelos propostos por Van Keuler e Wolf (1986).

3.2.1 Potencial diário de assimilação bruta da planta

$$PAB = FL + R \quad (2)$$

em que PAB é o potencial diário de assimilação bruta da planta ($kg\ ha^{-1}\ dia^{-1}$ - kg de CO_2 por ha por dia); FL é a fotossíntese líquida ($kg\ ha^{-1}\ dia^{-1}$ - kg de CO_2 por ha por dia); e R é a respiração ($kg\ ha^{-1}\ dia^{-1}$ - kg de CO_2 por ha por dia). Cabe salientar que FL e R foram obtidos pelo IRGA.

3.2.2 Taxa diária de assimilação bruta da planta

$$TAB = PAB \cdot Fr_{luz} \quad (3)$$

em que TAB é taxa diária de assimilação bruta da planta ($kg\ ha^{-1}\ dia^{-1}$ - kg de CO_2 por ha por dia); e Fr_{luz} é o fator de redução do potencial diário de assimilação bruta devido a incompleta interceptação de radiação assim obtida:

$$Fr_{luz} = 1 - e^{-k \cdot IAF} \quad (4)$$

em que Fr_{luz} é fator de redução do potencial diário de assimilação bruta devido a incompleta interceptação de radiação; k é o coeficiente de extinção para a cultura da soja (0,7 de acordo com VAN KEULER; WOLF, 1986); IAF é o índice de área foliar.

3.2.3 Taxa diária de assimilação bruta de vagens

$$TAB_v = TAB \cdot Fr_v \quad (5)$$

em que TAB_v é a taxa de assimilação bruta de CO_2 nas vagens ($kg\ ha^{-1}\ dia^{-1}$ - kg de CO_2 por ha por dia) e Fr_v que é a fração de CO_2 assimilados alocados para a vagens considerado conforme o seu crescimento relativo ($kg\ kg^{-1}$ - kg de CO_2 alocado por $kg\ CO_2$ assimilado).

3.2.4 Taxa de respiração de manutenção das vagens

$$TRM_v = FS_v \cdot TRM_{v_{ref}} \quad (6)$$

em que TRM_v é a taxa de respiração de manutenção das vagens ($kg\ ha^{-1}\ dia^{-1}$ - kg de CO_2 por ha por dia); FS_v é a fitomassa seca total de vagens ($kg\ ha^{-1}$ - kg de fitomassa seca total de vagens por ha), $TRM_{v_{ref}}$ é a taxa de respiração de manutenção de referência das vagens para fabáceas (0,018

kg kg⁻¹ dia⁻¹ - kg de CO₂ por kg de fitomassa seca total de vagens por dia) segundo Amthor (1984).

3.2.5 Taxa diária de assimilação líquida de vagens

$$TAL_v = TAB_v - TRM_v \quad (7)$$

em que TAL_v é a taxa de assimilação líquida de CO₂ nas vagens (kg ha⁻¹ dia⁻¹ - kg de CO₂ por ha por dia).

3.2.6 Incremento diário de fitomassa seca de vagens

Os valores de referência para eficiência da conversão foram retirados de Van Keuler e Wolf (1986):

$$IFS_v = TAL_v \cdot EFC_v \quad (8)$$

em que: IFS_v é o incremento de fitomassa seca de vagens (kg ha⁻¹ dia⁻¹ - kg de fitomassa seca de vagens por ha por dia); e EFC_v é eficiência da conversão de vagens (kg kg⁻¹ - kg de fitomassa seca de vagens por kg de CO₂ assimilado).

A colheita do experimento foi realizada em 20 de maio de 2006 quando as plantas se encontravam no estágio fenológico R₉. A produtividade de grãos foi estimada pela colheita de 3 fileiras centrais, onde foi eliminado 0,5m das bordas iniciais e finais de cada parcela.

Os dados meteorológicos foram obtidos da estação meteorológica da ESALQ/USP.

Os dados de produtividade foram submetidos à análise de variância onde foi utilizado o teste Tukey a 5% de probabilidade de erro.

3.3 Resultados e discussão

Nas plantas onde foi aplicada a estrobilurina piraclostrobina, o potencial diário de assimilação bruta de CO₂ foi superior aos demais tratamentos, na maioria das avaliações (Figura 1). Como a estrobilurina atua na respiração celular e no modelo utilizado para potencial de assimilação bruta, é considerado fotossíntese líquida + respiração, nem sempre foram observado maiores valores de potencial de assimilação nas plantas tratadas com estrobilurina, como o observado aos 14 DAA e aos 35 DAA (Figura 1).

Contudo, como sugerido por Venâncio et al. (2004), a estrobilurina piraclostrobina possui ação mais intensa sobre a respiração de manutenção e menor sobre a de crescimento. Esse fato, possivelmente ocasionou o aumento da taxa de assimilação líquida de carbono nas folhas, a qual foi translocada para as vagens (Figura 2). Nas vagens esse incremento médio foi de 17,8 e 4,3

kg ha⁻¹ dia⁻¹ de CO₂ na taxa de assimilação líquida de carbono em relação ao T₁ e T₃, respectivamente (Figura 2). Köehle et al. (1997), aplicando 0,5 L ha⁻¹ de estrobilurina, obtiveram aumento de 37% na assimilação líquida de CO₂ em plantas de trigo, os quais sugeriram ser a consequência da diminuição no ponto de compensação de CO₂ nessas plantas, o que proporcionou maior eficiência fotossintética.

O aumento da assimilação de carbono das plantas que foram tratadas com estrobilurina piraclostrobina (Figura 1) ocasionou um incremento extra de fitomassa alocada para as vagens (Figura 3). Dos 7 aos 21 DAA, esse incremento manteve-se em torno de 28 kg ha⁻¹ dia⁻¹ de CO₂, diferença que decresceu para 5,5 kg ha⁻¹ dia⁻¹ de CO₂ aos 35 DAA (Figura 3).

Portanto, como a aplicação da estrobilurina piraclostrobina ocorreu nos estádios R₁ e R_{5.1} e essa molécula potencializou a assimilação de carbono e nitrogênio na planta, houve maior acúmulo de fitomassa seca na planta (Figura 1), a qual foi redistribuída para os órgãos reprodutivos (Figuras 2 e 3). A mobilização de assimilados, principalmente carbono é importante para cultivos quando estresses ocorrem durante a fase reprodutiva (LUDLOW; MUCHOW, 1990; SABRAS; CONNOR, 1991). Conseqüentemente maiores acúmulos de fitomassa durante a fase reprodutiva potencializa a mobilização de assimilados para os grãos.

Outro fator que pode ser levado em conta é o fato da estrobilurina favorecer a síntese de citocinina (GROSSMANN et al., 1999). A citocinina é um grupo de hormônios em plantas que promove a divisão celular e tem um papel importante na regulação de vários processos biológicos associados com crescimento, metabolismo e desenvolvimento. Pelo fato desses processos estarem associados com o aumento da demanda de fotoassimilados a ligação da partição de fotoassimilados e da relação fonte e dreno têm sido especulada por alguns autores (ROITSCH; EHNESS, 2000; LARA et al., 2004). Lara et al. (2004) tem sugerido que as citocininas regulam a atividade de uma enzima denominada de invertase extracelular. Esta enzima tem papel crucial na regulação fonte dreno e no suprimento de carboidratos para os órgãos drenos, sendo considerado um modulador na atividade dreno devido sua ação na quebra da sacarose em hexoses na parede celular (frutose e glicose), o que conduz a elevada absorção desses carboidratos nos órgãos drenos.

Figura 1 - Potencial diário de assimilação bruta de carbono da planta de soja, cultivar BRS 245 RR, nos tratamentos; testemunha (T₁), com aplicação da estrobilurina piraclostrobina (T₂) e com aplicação de tebuconazol (triazol) (T₃). ESALQ/USP, Piracicaba -SP, 2006

Figura 2 - Taxa de assimilação líquida de carbono em vagens de soja, cultivar BRS 245 RR, nos tratamentos; testemunha (T₁), com aplicação da estrobilurina piraclostrobina (T₂) e com aplicação de tebuconazol (triazol) (T₃). ESALQ/USP, Piracicaba -SP, 2006

Figura 3 - Incremento diário de fitomassa seca em vagens de soja, cultivar BRS 245 RR, nos tratamentos; testemunha (T₁), com aplicação da estrobilurina piraclostrobina (T₂) e com aplicação de tebuconazol (triazol) (T₃). ESALQ/USP, Piracicaba -SP, 2006

O modelo que mais se ajustou para os valores de fitomassa seca de folhas, caule, total e AF em todos os tratamentos foi o modelo de Gauss (Equação 10) por ser o que melhor representou o desempenho da cultura a campo, com R^2 sempre superior a 0,7 (Tabela 2). Os parâmetros do modelo são os seguintes: t , corresponde ao tempo, t_0 ao tempo necessário para alcançar a metade da fitomassa seca máxima, a e b os coeficientes do modelo (Equação 10).

$$FSf = a.e^{\frac{(t-t_0)^2}{2.b}} \quad (10)$$

O acúmulo de fitomassa seca de folhas (FSf) no tratamento T₂ incrementou em média 5,21 e 3,53 g planta⁻¹ em relação ao T₁ e T₃ respectivamente, aos 14 DAA. Após a segunda aplicação o incremento médio foi de 1,75 e 0,77 g planta⁻¹. O incremento na fitomassa seca de folhas ocasionou aumento na área foliar (Figura 4b) e assim na capacidade da planta em captar energia solar para realizar fotossíntese. Como consequência, a maior área fotossintética das plantas que recebeu a estrobilurina piraclostrobina proporcionou o incremento na produção de fitomassa de haste (Figura 4c), e assim de fitomassa seca total, que no final do período de crescimento (35 DAA) apresentou um incremento de 17 e 3,5 g planta⁻¹ em relação ao T₁ e T₃, respectivamente (Figura 4d). Para culturas em geral, o acúmulo de fitomassa seca no caule pode ser uma importante característica, pois parte desta fitomassa pode ser remobilizada para os grãos durante a sua formação, principalmente em períodos de estresse e, portanto, constitui-se num fator

importante para determinar a produtividade final de grãos (VAN KEULER; WOLF, 1986; CHAVES, 2002).

O aumento no acúmulo de fitomassa observado nas plantas tratadas com estrobilurina piraclostrobina está relacionado com o aumento da atividade fisiológica das mesmas. O incremento na fotossíntese líquida das plantas e a diminuição da respiração associado com o aumento da assimilação de nitrogênio (aumento da atividade nitrato redutase) foi a possível causa do aumento do acúmulo de fitomassa nestas plantas. Segundo Glaab e Kaiser (1999), os fungicidas do grupo das estrobilurinas causam alterações no metabolismo e crescimento de plantas, que em muitos casos resulta no incremento na produção de fitomassa e de grãos.

O aumento de fitomassa seca e de AF durante o enchimento de grãos é relatado por Nelson (1986) como sendo um dos principais fatores que influenciam no aumento da produtividade de cultura de soja. Board e Modali (2005) ressaltam que o acúmulo de fitomassa seca a partir do estágio 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 partição de fotoassimilados para os órgãos reprodutivos, o que auxilia na otimização da produtividade. Portanto, os dados observados neste trabalho evidenciam a importância do efeito fisiológico da estrobilurina no acúmulo de fitomassa seca neste período.

Figura 4 - Valores de fitomassa seca de folha (a), caule (b), total (c) e área foliar (d) em soja, cultivar BRS 245 RR, nos tratamentos: testemunha (T_1), com aplicação da estrobilurina piraclostrobina (T_2) e com aplicação de tebuconazol (triazol) (T_3), referentes à primeira e à segunda aplicação. ESALQ/USP, Piracicaba-SP, 2006

Tabela 2 - Parâmetros do modelo Gaussiano (Pa) ajustados aos dados de fitomassa seca de folhas, caule, total e área foliar (AF), cultivar BRS 245 RR, nos tratamentos nos tratamentos; testemunha (T₁), com aplicação de estrobilurina (T₂) e com aplicação de triazol (T₃), referentes à primeira e segunda aplicação. ESALQ/USP, Piracicaba - SP, 2006

Pa	Folhas			Caule			Total			AF		
	T ₁	T ₂	T ₃	T ₁	T ₂	T ₃	T ₁	T ₂	T ₃	T ₁	T ₂	T ₃
a	6,4	9,6	7,5	15,3	23,3	18,5	28,6	43,3	58,1	1787	2577	1864
b	20,7	19,2	23,9	27,3	17,9	25,2	29,7	24,9	39,7	17,7	16,4	22,7
t ₀	69,8	72,2	75,9	89,2	72,1	88,2	90,9	87,7	123	66,4	68,9	72,2
R ²	0,88	0,93	0,94	0,88	0,94	0,97	0,9	0,95	0,96	0,87	0,97	0,9

O efeito da estrobilurina piraclostrobina na assimilação de carbono nas vagens (Figura 2) e seu posterior incremento (Figura 3) no acúmulo de fitomassa seca (Figura 4) foi a possível causa do aumento na produtividade de 8 sacas ha⁻¹ do tratamento T₂ em relação ao T₃ (Figura 5). A testemunha sem aplicação de fungicidas (T₁) apresentou depleção de produtividade em torno de 18 sacas ha⁻¹ em relação ao T₂ (Figura 5).

Trabalhos realizados com trigo têm demonstrado incrementos de produtividade nas plantas tratadas com fungicidas a base de estrobilurina, mesmo em cultivos onde não ocorreu incidência de doenças (BERTELSEN et al., 2001; NIELSEN, 1994; JONES; BRYSON, 1998).

De acordo com Bertelsen et al. (2001), a retenção da área foliar é um dos principais efeitos das plantas tratadas com estrobilurina, devido à diminuição na síntese de etileno e também no aumento na produção de citocininas. As citocininas podem incrementar a produção de sementes em soja devido a sua atuação na distribuição de fotoassimilados ocasionado pela ativação da enzima invertase ligada a parede celular (NAGEL et al., 2001).

Aliado a alteração hormonal, longos períodos de atividade fotossintética em folhas verdes durante o enchimento de grãos têm sido sugeridos com um dos fatores que estão relacionados com o aumento da produtividade em plantas tratadas com estrobilurina. Além disso, o número de sementes por unidade de área possivelmente está relacionada com a variação de fotossíntese do dossel durante o florescimento e enchimento de grãos (BRUENING; EGLI, 1999). Dessa forma, tratamentos que alteram a fotossíntese líquida, a atividade da enzima nitrato redutase e, conseqüentemente, o acúmulo de fitomassa seca durante este período causa alterações na produtividade final de grãos.

De acordo com Gay et al. (1980) diferença de produtividade encontrada em diversas variedades cultivadas de soja tem correlação com a duração do período de enchimento de grãos e, conseqüentemente, com a duração de AF. Portanto, o uso de fungicidas a base de estrobilurina por propiciar o maior acúmulo de fitomassa seca pode ser um fator importante para o aumento de produtividade da cultura de soja.

Figura 5 - Valores produtividade de soja, cultivar BRS 245 RR, nos tratamentos: testemunha (T₁), com aplicação da estrobilurina piraclostrobina (T₂) e com aplicação de tebuconazol (triazol) (T₃). ESALQ/USP, Piracicaba - SP, 2006 (Coeficiente de variação: 12,1%)

3.4 Conclusões

A aplicação da estrobilurina piraclostrobina na cultura de soja, variedade cultivada BRS 245 RR, aumenta o acúmulo de fitomassa seca de folhas, caule e total e da área foliar em torno de 14 dias após a primeira aplicação, mantida até o final do ciclo.

Com base nos modelos fisiológicos, comprova-se que a estrobilurina piraclostrobina aumenta o potencial de assimilação bruta de carbono na planta e nas vagens, a taxa de assimilação líquida e a produção de fitomassa seca, ocasionando aumento de produtividade.

Referências

BERTELSEN, J.R.; NEERGAARD, E. de; SMEDEGAARD-PETERSEN, V. Fungicidal effects of azoxystrobin and epoxiconazole on phyllosphere fungi, senescence and yield of winter wheat. **Plant Pathology**, Oxford, v.50, p.190-250, 2001.

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

BOOTE, K.J.; PICKERING, N.B.; BAKER, J.T.; ALLAN, L.H. Modeling leaf and canopy photosynthesis of rice in response to carbon dioxide and temperature. **International Rice Research Notes**, Laguna, v.19, n.3, p.47-48, 1994.

BRUENING, W.P.; EGLI, D.B. Relationship between photosynthesis and seed number at phloem isolated nodes in soybean. **Crop Science**, Madison, v.39, p.1769-1775, 1999.

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.

FHER, W.R.; CAVINESS, C.E. **Stages of soybean development**, Iowa: Agricultural Experimental Station, 1977. 81p. (Spec. Rep.).

GAY, S.; EGLI, D.B.; REICOSKY, D.A. Physiological aspects of yield improvement in soybeans. **Agronomy Journal**, Madison, v.72, p.387-391, 1980.

GLAAB, J.; KAISER, W.M. Increased nitrate reductase activity in leaf tissues after application of the fungicide Kresoxim-methyl. **Planta**, Berlin, v. 207, p.442-448, 1999.

GROSSMANN, K.; KWIATKOWSKI, J.; CASPAR, G. Regulation of phytohormone levels, leaf senescence and transpiration by the strobilurin Kresoxim-methyl in wheat (*Triticum aestivum* L.), **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v.154, p. 805-808, 1999.

GROSSMANN, K.; RETZLAFF, G. Bioregulatory effects of the fungicidal strobilurin kresoxim methyl in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Pesticide Science**, Oxford, v.50, p.11-20, 1997.

JONES, D.R.; BRYSON, R.J. **Physiological effects of strobilurins and plant activators in relation to yield of winter wheat**. London, Oxford University Press, 1998: Home Grown Cereals Authority Project Report, n.164.

KÖEHLE, H.; GROSSMANN, K.; RETZLAFF, G.; AKERS, A. Physiologische einflüsse des neuen getreidefungizides juwel auf die ertragsbildung. **Gesunde Pflanzen**, Berlin, v. 49, p. 267-71, 1997.

LARA, M.E. B.; GARCIA, M.G.; FÁTIMA, T.; EHNESS, 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.

LUDLOW, M.M.; MUCHOW, R.C. A critical evaluation of traits for improving crop yield in water-limited environments. **Advances in Agronomy**, San Diego, v.43, p.107-153, 1990.

NAGEL, L.; BREWSTER, R.; RIEDELL, W. E.; REESE, R. N. Cytokinin regulation of flower and pod set in soybeans (*Glycine max* (L.) Merrill.). **Annals of Botany**, London, v.88, p.27-31, 2001.

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

OVERMAN, A.R.; SCHOLTZ, R.V. Model analysis for growth response of soybean. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v.34, n.17, p.2619–2632, 2003.

PENNING DE VRIES, F.W.T.; JANSEN, D.M.; TEN BERGE, H.F.M.; BAKEMA, A. **Simulation of ecophysiological processes of growth in several annual crops**. Wageningen: Pudoc, 1989. 271p.

PEREIRA, C.R. **Análise do crescimento e desenvolvimento da cultura de soja sob diferentes condições ambientais**. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola), 282p. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2002, Viçosa, 2002.

ROITSCH, T.; EHNESS, R. Regulation of source/sink relations by cytokines. **Plant Growth Regulation**, Netherlands, v.32, p.359-367, 2000.

SADRAS, V.O.; CONNOR, D.J. Physiological basis of the response of harvest index to the fraction of water transpired after anthesis: A simple model to estimate harvest index for determinate species. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.26, p.227-240, 1991.

TURCO, J.E.P.; PINOTTI JÚNIOR, M.; FERNANDES, E.J.; RODRIGUES, T. de J.D. Adequação de um modelo de crescimento da cultura de soja para terrenos com diferentes exposições e declividade. **Engenharia Agrícola**, Sorocaba, v.17, n.4, p.25-34, 1998.

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

SAUTER, H.; AMMERMAN, E.; BENOIT, R.; BRAND, S.; GOLD, R. E. GRAMMENOS, W.; KOHL, H.; LORENZ, G.; MULLER, B. ROHL, F.; SCHIRMER, U.; ESPEAKMAN, J. B.; WENDEROTH, B.; WINGERT, H. Mitochondrial respiration as a target for antifungal: lessons learned from research on strobilurins. In: DIXON, G. K.; COPING, L. G.; HOLLOMAN, D. W. (Ed). Antifungal agents-discovery and mode of action. Oxford: Bios, 1995. p.173-191.

SENTELHAS, P.C.; PEREIRA, A.R. A maior estiagem do século? **Notícias Piracema**, v.6, n.50, p.1, 2000.

VENÂNCIO, W.S.; RODRIGUES, M.A.T.; BEGLIOMINI, E.; SOUZA, N.L. Physiological effects of strobilurin fungicides on plants. **Publication UEPG**, Ponta Grossa, v.9, n.3, p.59-68, 2004.

4 EFEITO DA APLICAÇÃO DE PIRACLOSTROBINA NA TAXA DE ASSIMILAÇÃO DE CARBONO, ATIVIDADE DA ENZIMA NITRATO REDUTASE E PRODUTIVIDADE DE GRÃOS DE SOJA

Resumo

Com objetivo de avaliar o efeito da aplicação da estrobilurina piraclostrobina em variáveis fisiológicas e fenométricas da cultura de soja, realizou-se um experimento no campo experimental da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” de novembro de 2005 a maio de 2006. Foram realizadas avaliações de trocas gasosas (fotossíntese líquida e respiração), fitomassa seca de planta e de folhas e área foliar, dos quais foram calculados através de modelos propostos por VAN KEULER e WOLF (1986), a taxa bruta de assimilação de carbono na planta e a taxa de assimilação líquida de carbono nas vagens. Também foi avaliado a atividade da enzima nitrato redutase, massa de 1000 grãos e produtividade. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso com três tratamentos (T_1 - sem aplicação de fungicida, T_2 - duas aplicações da estrobilurina piraclostrobina em R_1 e $R_{5,1}$ e T_3 - duas aplicações de tebuconazol - triazol - em R_1 e $R_{5,1}$) com 4 repetições. A aplicação de estrobilurina ocasionou incremento na taxa de assimilação bruta de carbono na planta e líquida nas vagens. A atividade da enzima nitrato redutase foliar somente foi incrementada pela aplicação de estrobilurina nos 15 dias após a primeira aplicação. As plantas tratadas com estrobilurina apresentaram o acréscimo de 7 e 8% na massa de 1000 grãos e de 13 e 4 sacas ha^{-1} na produtividade quando comparado à testemunha sem aplicação e ao tratamento com triazol (tebuconazol), respectivamente. Os resultados indicam que a estrobilurina piraclostrobina afeta a taxa de assimilação de carbono e de nitrogênio na cultura de soja, o que é refletido na produtividade de grãos.

Palavras-chave: Taxa de assimilação líquida de carbono em vagens

EFFECT OF PYRACLOSTROBIN APPLICATION ON THE CARBON ASSIMILATION RATE, NITRATE REDUCTASE ACTIVITY ON THE SOYBEAN CROP PRODUCTIVITY

Abstract

With the objective of evaluating the effect of the pyraclostrobin application on physiological and phenometric variables of the soybean crop, a field experiment was carried out at Piracicaba, State of São Paulo, Brazil (Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, University of São Paulo), from November 2005 to May 2006. It was used evaluations of gas exchanges (net photosynthesis and respiration), plant dry mass, leaf dry mass and leaf area, that was calculated through considered models from Van Keuler and Wolf (1986), CO_2 gross assimilation rate plant and CO_2 potential net assimilation pod. The nitrate reductase activity, mass of 1000 seeds and soybean productivity were analyzed. The statistical design was complete randomized blocks with three treatments (T_1 : no fungicide application; T_2 : two applications of pyraclostrobin at R_1 and $R_{5,1}$ and T_3 : two applications of tebuconazole - triazol - at R_1 and $R_{5,1}$) and four replications. The pyraclostrobin application raised the plant CO_2 gross assimilation rate

and the pod CO₂ potential net assimilation. The effect of pyraclostrobin application on the nitrate reductase activity was observed 15 days after the first application. The strobilurin application increased 7 and 8% in the mass of 1000 seeds and the soybean productivity (13 and 4 bags ha⁻¹ when compared to T₁ and T₃, respectively). Thus, the results indicated that the application of strobilurin affects carbon and nitrogen assimilation in soybean crop that is reflected on the yield.

Key words: Carbon net assimilation rate in pod

4.1 Introdução

Na cultura de soja (*Glycine max* L. Merrill), a interferência de fatores bióticos e abióticos na assimilação de carbono e de nitrogênio na fase reprodutiva são os principais determinantes da produtividade de grãos. Essa é a fase em que a cultura apresenta elevada atividade fisiológica, alcançando a máxima taxa de assimilação de carbono e nitrogênio (NELSON-SCREIBER; SCHWEITZER, 1985). Técnicas de manejo que possibilitem a maximização dessas variáveis fisiológicas são de grande interesse por pesquisadores da área.

Por ocasião do aparecimento da ferrugem asiática a utilização de fungicidas do grupo das estrobilurinas, vem se tornando alternativa para incrementar a atividade fisiológica de plantas neste estágio fenológico (CLOUGH et al., 1995). Pelo fato desse produto ser aplicado na fase reprodutiva seu efeito benéfico em variáveis fisiológicas tem sido correlacionado com a produtividade e qualidade de grãos (GROSSMANN; RETZLAFF, 1997).

Foi constatado que o uso de fungicidas a base de estrobilurina na cultura do trigo ocasiona aumentos na atividade da enzima nitrato redutase (KAISER; BRENDLE-BEHNISCH, 1995) e diminuição na síntese de etileno (GROSSMANN; RETZLAFF, 1997). BRYSON et al. (2000) ainda ressaltam que estrobilurina incrementa a taxa fotossintética e diminui a respiração celular. Seu efeito é também correlacionado a maior tolerância da planta a estresses abióticos devido a sua ação no metabolismo do ácido abscísico e de enzimas antioxidantes (GROSSMANN et al., 1999).

Além dos efeitos fisiológicos citados, Dimmock e Gooding (2002) ressaltam que a estrobilurina incrementa o período de atividade fotossintética nas folhas de trigo, acrescendo a qualidade e o teor de nitrogênio dos grãos. O aumento da qualidade de grãos pode ser benéfico para o processo de germinação de sementes.

Entretanto, pouco se sabe sobre o efeito da estrobilurina na cultura da soja no que diz respeito a sua interação na taxa de assimilação de carbono e nitrogênio e consequentemente na produtividade e qualidade de grãos.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de um fungicida a base da estrobilurina piraclostrobina na taxa de assimilação de carbono, incremento de fitomassa seca de vagens, atividade da enzima nitrato redutase, massa de 1000 grãos e produtividade.

4.2 Material e métodos

O experimento foi instalado em área experimental do campus da ESALQ/USP do Departamento de Produção Vegetal no município de Piracicaba - SP (22° 41' 30" de latitude Sul, 47° 38' 30" de longitude Oeste e 546 m de altitude) sob um sistema de pivô central. O solo é classificado como Latossolo vermelho distrófico argiloso (HEIFFIG, 2002). O clima do local segundo a classificação de W. Köppen pertence ao tipo Cwah – tropical de altitude com estiagem de inverno. Nesta região a precipitação média anual é de 1257 mm (SENTELHAS; PEREIRA, 2000), com temperatura média de 21,4°C.

A espécie utilizada foi a *Glycine max* L. Merrill, variedade cultivada M-SOY 8008 RR. A semeadura foi realizada em 16 de novembro de 2005, no espaçamento de 0,45 m entre linhas com densidade de 28 sementes por metro linear. Posteriormente, aos 20 dias após a emergência realizou-se o desbaste para obtenção da população final de 300.000 plantas ha⁻¹.

Antes da semeadura realizou-se a análise de solo, em que foi baseada a adubação da cultura. De acordo com a análise foi necessário realizar apenas a adubação de manutenção. Na adubação de base foi aplicado 250 kg da formulação NPK, 00-20-20, totalizando a dose de 60 kg ha⁻¹ de K₂O e 60 kg ha⁻¹ de P₂O₅. Foi realizado a adubação foliar com Cobalto e Molibdênio na dose de 200 mL ha⁻¹ no estágio V₅, segundo a escala fenológica proposta por Fehr e Caviness (1977).

As sementes foram tratadas com 150 g de *Bradirizobium japonicum* e *Bradirizobium elkanii* + turfa a cada 50 kg de sementes. Posteriormente, efetuou-se a aplicação de carbendazim na dose de 200 mL para cada 100 kg de semente.

Para o controle de plantas daninhas nos estágios iniciais de desenvolvimento da cultura utilizaram-se os herbicidas pré-emergentes, flumetsulan (1,0 L ha⁻¹) + pendimethalin (1,5 L ha⁻¹), logo após a semeadura. Durante o desenvolvimento da cultura o controle de plantas daninhas foi realizado através de capina manual entre os estádios V₃ e R₁.

O experimento foi composto por 12 parcelas, com 7 m de comprimento por 2,25 m de largura cada (5 linhas), com área de 15,75 m² cada. A área total do experimento foi de 189 m².

O delineamento experimental adotado foi em blocos ao acaso constituído por três tratamentos e quatro repetições (Tabela 1). As pulverizações com fungicidas foram realizadas utilizando-se pulverizador costal com injeção de CO₂. A barra utilizada continha 2,25m de comprimento, com 4 bicos do tipo leque, a pressão constante de 2 bar.

A primeira aplicação dos fungicidas foi realizada no estágio R₁ (56 dias após a semeadura) e a segunda aplicação no estágio R_{5,1} (77 dias após a semeadura).

As determinações de fotossíntese e respiração foram realizadas aos 7, 14, 21, 28 e 35 dias após a primeira aplicação, entre as 9 e 11 horas da manhã, em dias ensolarados, em duas plantas por parcela.

As determinações de trocas gasosas foram realizadas por meio de um sistema fechado portátil de trocas gasosas, IRGA (*Infra Red Gas Analyzer*), modelo LI-6400 (Li-cor[®]), sempre nas folhas do estrato superior, completamente expandidas e totalmente expostas à radiação solar.

Durante as medições a folha selecionada em cada planta foi colocada dentro da câmara selada do equipamento, não suprida por ar externo sendo estabelecido 1500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ da radiação fotossinteticamente ativa (RFA). A mudança nas concentrações de CO₂ por unidade de tempo serviu para estimar, conforme equações matemáticas pré-definidas no equipamento, a fotossíntese líquida (assimilação de carbono) e respiração. Para as medidas de respiração a RFA do equipamento foi desligada (0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e, assim, as mudanças na concentração de CO₂ foram relacionadas com a respiração foliar.

Tabela 1 - Tratamentos e épocas de aplicação de fungicida no cultivo de soja, cultivar BRS 245 RR. Piracicaba, ESALQ/USP-SP, 2006

Tratamento	Épocas de Aplicação		Especificações
	1 ^a aplicação (Estádio R ₁)	2 ^a aplicação (Estádio R _{5,1})	
T ₁	-	-	Testemunha absoluta.
T ₂	Estrobilurina (piraclostrobina)	Estrobilurina (piraclostrobina)	Tratamento para verificar o efeito fisiológico de duas aplicações da estrobilurina piraclostrobina (0,5 L ha ⁻¹ de i.a para uma calda de 200 L ha ⁻¹).
T ₃	Triazol (tebuconazol)	Triazol (tebuconazol)	Testemunha relativa. Tratamento para verificar o efeito da depleção da doença na produtividade (0,5 L ha ⁻¹ de i.a para uma calda de 200 L ha ⁻¹).

No momento da coleta das plantas foi realizado a separação de suas folhas, caule, vagens e raízes. Posteriormente estes órgãos foram colocados em sacos de papel individualizados, identificados e levados à estufa de secagem de ventilação forçada de ar a 65°C, até massa constante para a determinação da fitomassa seca. O somatório de todos os órgãos resultou na fitomassa seca total das plantas. As pesagens de fitomassa foram realizadas em balança digital com precisão de 0,001 grama. De acordo com dados ajustados na análise de crescimento calculou-se o crescimento relativo de vagens (*Frvagens*) através da relação entre fitomassa total e fitomassa de vagens.

Durante a coleta das plantas, foi determinada a área foliar (AF, m² planta⁻¹) por intermédio de um integrador de área (modelo Li-3100C, Li-cor®). O índice de área foliar (IAF, m² m⁻²) foi calculado pela relação entre a área foliar e a área de domínio da planta em relação ao solo (AS, m² planta⁻¹).

$$IAF = \frac{AF}{AS} \quad (1)$$

Os dados obtidos nos ensaios foram utilizados nos modelos de estimativa ajustados de acordo com os modelos propostos por Van Keuler e Wolf (1986). Os modelos utilizados foram os seguintes: (i) potencial diário de assimilação bruta da planta; (ii) taxa diária de assimilação bruta

da planta; (iii) taxa diária de assimilação bruta de vagens; (iv) taxa de respiração de manutenção das vagens e (v) taxa diária de assimilação líquida de vagens.

4.2.1 Potencial diário de assimilação bruta da planta

$$PAB = FL + R \quad (2)$$

em que PAB é o potencial diário de assimilação bruta da planta ($\text{kg ha}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ - kg de CO_2 por ha por dia); FL é a fotossíntese líquida ($\text{kg ha}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ - kg de CO_2 por ha por dia); e R é a respiração ($\text{kg ha}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ - kg de CO_2 por ha por dia). Cabe salientar que FL e R foram obtidos pelo IRGA.

4.2.2 Taxa diária de assimilação bruta da planta

$$TAB = PAB.Fr_{luz} \quad (3)$$

em que TAB é taxa diária de assimilação bruta da planta ($\text{kg ha}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ - kg de CO_2 por ha por dia); e Fr_{luz} é o fator de redução do potencial diário de assimilação bruta devido a incompleta interceptação de radiação assim obtida:

$$Fr_{luz} = 1 - e^{-k.IAF} \quad (4)$$

em que ' k ' é o coeficiente de extinção para a cultura da soja (0,7 de acordo com VAN KEULER; WOLF, 1986).

4.2.3 Taxa diária de assimilação bruta de vagens

$$TAB_v = TAB.Fr_v \quad (5)$$

em que TAB_v é a taxa de assimilação bruta de CO_2 nas vagens ($\text{kg ha}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ - kg de CO_2 por ha por dia) e Fr_v que é a fração de CO_2 assimilados alocados para a vagens considerado conforme o seu crescimento relativo (kg kg^{-1} - kg de CO_2 alocado por kg CO_2 assimilado).

4.2.4 Taxa de respiração de manutenção das vagens

$$TRM_v = FS_v.TRM_{v_{ref}} \quad (6)$$

em que TRM_v é a taxa de respiração de manutenção das vagens ($\text{kg ha}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ - kg de CO_2 por ha por dia); FS_v é a fitomassa seca total de vagens (kg ha^{-1} - $\text{kg de fitomassa seca total de vagens por ha}$), $TRM_{v_{ref}}$ é a taxa de respiração de manutenção de referência das vagens para fabáceas ($0,018 \text{ kg kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ - kg de CO_2 por $\text{kg de fitomassa seca total de vagens por dia}$) segundo Amthor (1984).

4.2.5 Taxa diária de assimilação líquida de vagens

$$TAL_v = TAB_v - TRM_v \quad (7)$$

em que TAL_v é a taxa de assimilação líquida de CO_2 nas vagens ($kg\ ha^{-1}\ dia^{-1}$ - kg de CO_2 por ha por dia).

A análise da atividade da enzima nitrato redutase (ANR) foi realizada em amostras de cinco folhas retiradas da porção superior da planta completamente expandidas em três plantas por tratamento. As análises foram programadas para as três horas após a aplicação e posteriormente ao 1, 3, 7 e 15 dias após a primeira aplicação e ao 0, 1 e 6 dias após a segunda aplicação em dias ensolarados, das 9 às 11 horas.

A metodologia utilizada foi para a determinação da ANR foi a ajustada por Cataldo (1975). De acordo com esta metodologia, as folhas colhidas foram picadas, e destas, adicionou-se 200 mg em tubos de ensaio juntamente com 5 mL de solução KNO_3 . Os tubos de ensaio foram envolvidos em papel de alumínio e mantidos em banho Maria a $35^{\circ}C$ durante 2 horas agitado-se de 5 em 5 min. Posteriormente pipetou-se 1 mL da solução de cada tubo de ensaio e transferiu-se para o balão volumétrico de 50 mL. Logo após foi adicionado cerca de 25 mL de H_2O destilada e a seguir 1 mL de solução de ácido sulfanílico. A solução foi mantida em repouso de 5 a 10 min, sendo posteriormente, adicionado 1 mL de alfa-naftalamina e 1 mL da solução tampão de acetato de sódio, completou-se o volume do balão a 50 mL com H_2O destilada. A leitura foi realizada depois de 10 e antes de 30 minutos em colorímetro fotoelétrico, o qual foi ajustado ao zero com água destilada e usando filtro verde, correspondente a leitura de 540 nm.

A estimativa da atividade da enzima nitrato redutase foi obtida através da curva padrão de nitrito, ajustada de acordo com as concentrações de N na forma de NO_2^- de: 0,5; 10; 15; 20; 25 $\mu g\ L^{-1}$. A partir das absorvâncias calculadas, ajustou-se o gráfico (concentração x leitura), obtendo-se a equação de regressão linear ($y = ax + b$). De acordo com esses dados procedeu-se o seguinte cálculo:

$$ANR = 5.FV.4.CN.0,5 \quad (8)$$

em que a ANR refere-se a atividade da enzima nitrato redutase em $\mu g\ N-NO_2\ g$ 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 absorvância da amostra e os valores 5, 4 e 0,5 foram utilizados na correção dos valores para $\mu g\ N-NO_2$ por g de fitomassa verde por hora.

A análise de 1000 grãos foi realizada no laboratório de sementes da ESALQ/USP, de acordo com as regras de análises de sementes (BRASIL, 1992).

A colheita foi realizada em 28 de maio de 2006, quando as plantas se estavam no estágio R₉. A produtividade de grãos foi realizada através da colheita de 3 fileiras centrais, eliminando-se 0,5m das bordas iniciais e finais de cada parcela.

Os valores da atividade nitrato redutase, massa de 1000 grãos e produtividade foram submetidos à análise de variância utilizando-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro, quando significativo.

4.3 Resultados e discussão

A aplicação da estrobilurina piraclostrobina (T₂) ocasionou incremento na taxa de assimilação bruta de carbono em relação aos demais tratamentos (Figura 1). O maior aumento ocorreu aos 7 DAA (183 e 50 kg CO₂ ha⁻¹ dia⁻¹ em relação ao T₁ e T₃, respectivamente), posteriormente, os valores médios mantiveram-se em torno de 46 e 9,8 kg CO₂ ha⁻¹ dia⁻¹ em comparação ao T₁ e T₃, respectivamente (Figura 1). Provavelmente o incremento na assimilação de carbono está relacionado a maior eficiência fotossintética dessas plantas ocasionado pelo decréscimo no ponto de compensação de CO₂ (RETZLAFF, 1995).

O nitrogênio assimilado via atividade da enzima nitrato redutase (ANR) foi superior nas plantas em que foi aplicado a estrobilurina piraclostrobina (Figura 2). Exceto ao 0 DAA, em todas as análises houve incremento da atividade da enzima nitrato redutase (Figura 2). Os maiores acréscimos proporcionado pela aplicação da estrobilurina piraclostrobina foi observado ao 1 DAA, com superioridade de 87 e 68% e aos 3 DAA com incrementos de 72 e 75% em relação ao T₁ e T₃, respectivamente (Figura 2).

Entretanto, após a segunda aplicação, a utilização da estrobilurina piraclostrobina não ocasionou efeito na ANR. Possivelmente, pelo fato que a assimilação de NO₃⁻ via enzima nitrato redutase alcança o máximo durante o florescimento e decresce quando ocorre o início do desenvolvimento dos grãos (SCHWEITZER; HARPER, 1985).

Figura 1 - Valores de taxa de assimilação bruta de CO₂ em soja, cultivar M-SOY 8008 RR, nos tratamentos; testemunha (T₁), com aplicação da estrobilurina piraclostrobina (T₂) e com aplicação de tebuconazol (triazol) (T₃). ESALQ/USP, Piracicaba -SP, 2006

A assimilação de nitrogênio (N) na cultura de soja é realizada através da fixação biológica e da atividade da enzima nitrato redutase. A última pode perfazer até 70% do N necessário para a planta, dependendo das características de fertilidade do solo (FERGUNSON et al., 2007). Portanto, o aumento na capacidade da planta em assimilar N no período de florescimento pode proporcionar acréscimo no teor de proteína foliar (THIBODEAU; JAWORSKI, 1975). Sendo assim, o acúmulo de proteína neste estágio pode se tornar uma fonte importante de N durante a fase de enchimento de grãos (SCHWEITZER; HARPER, 1985), quando a absorção de N pela planta decresce significativamente.

Parte da energia extra produzida pelo aumento da taxa de assimilação bruta de CO₂ nas plantas onde foi aplicado a estrobilurina piraclostrobina (Figura 3), possivelmente foi alocada para as vagens, como pode se observar pelo aumento da taxa de assimilação de carbono nas mesmas (Figura 3). Nas três avaliações os valores foram em média 15 e 5,6 kg ha⁻¹ dia⁻¹ de CO₂ superior ao T₁ e T₃, respectivamente (Figura 3). Essa hipótese é fundamentada através de resultados obtidos por Fader e Koller (1983), os quais ressaltam que na cultura de soja o crescimento de grãos é dependente da exportação de fotoassimilados das folhas. Os autores também observaram que existe relação direta entre a taxa de assimilação de carbono e a taxa de exportação de sacarose para os grãos. Como neste trabalho houve incremento na taxa de assimilação bruta das plantas em que foi aplicada a estrobilurina piraclostrobina, isso pode ter ocasionado o acúmulo de fotoassimilados nas folhas e estes exportados para as vagens, proporcionando assim seu maior crescimento.

Na soja, a maior demanda de nitrogênio é compreendida do início do florescimento até o período final de enchimento de grãos. Sendo assim, incrementos no metabolismo do nitrogênio, devido ao aumento da atividade da enzima nitrato redutase, aliado ao aumento da fotossíntese líquida, auxiliam na potencialização da produtividade de grãos de plantas de soja tratadas com e: lurinas.

Figura 2 - Valores da atividade da enzima nitrato redutase da variedade cultivada M-SOY 8008 RR, nos tratamentos: testemunha (T₁), com aplicação da estrobilurina piraclostrobina (T₂) e com aplicação de tebuconazol (triazol) (T₃), referentes a primeira (a) e segunda aplicação (b). ESALQ/USP, Piracicaba -SP, 2006 (* Não significativo)

O aumento da disponibilidade de carbono nas vagens e da atividade da enzima nitrato redutase nas folhas foi a provável causa do incremento no crescimento de grãos do tratamento T₂ em relação aos demais. O tratamento T₂ foi superior em 7 e 8% comparado aos tratamentos T₁ e T₃, respectivamente (Figura 4a). Sendo assim, o aumento da disponibilidade de carbono nas vagens e da atividade da enzima nitrato redutase nas folhas pode ter sido uma das causas do acréscimo de produtividade de 18,5 e 8,1 sacas ha⁻¹ em comparação ao T₁ e T₃, respectivamente (Figura 4b). Esse efeito também foi observado em trigo por Gooding et al. (2000), os quais ressaltam o efeito benéfico da estrobilurina piraclostrobina no crescimento e massa de 1000 grãos.

Figura 3 - Taxa diária de assimilação líquida de CO₂ em vagens de soja, cultivar M-SOY 8008 RR, nos tratamentos: testemunha (T₁), com aplicação da estrobilurina piraclostrobina (T₂) e com aplicação de tebuconazol (triazol) (T₃). ESALQ/USP, Piracicaba -SP, 2006

Figura 4 - Massa de 1000 grãos (a) e produtividade de soja (b), cultivar M-SOY 8008 RR, nos tratamentos: testemunha (T₁), com aplicação da estrobilurina piraclostrobina (T₂) e com aplicação de tebuconazol (triazol) (T₃). ESALQ/USP, Piracicaba-SP, 2006

Segundo Munier-Jolain et al. (1998), a duração da taxa de crescimento dos grãos de soja diminui se a atividade fotossintética da planta não for suficiente para manter o enchimento dos mesmos. Desta forma, a partir dos dados encontrados neste trabalho sugere-se que o aumento da disponibilidade de fotoassimilados foi a possível causa do maior enchimento de grãos.

No tratamento com a estrobilurina piraclostrobina foi observado incremento na massa de 1000 (Figura 4a) e na produtividade grãos (Figura 4b).

4.4 Conclusões

A aplicação da estrobilurina piraclostrobina na cultura de soja, variedade cultivada M-SOY 8008 RR, incrementa a taxa de assimilação bruta de CO₂ da planta e a taxa de assimilação líquida de CO₂ nas vagens. O aumento da atividade da enzima nitrato redutase foliar somente é observado quando a estrobilurina é aplicada no florescimento e não no período de enchimento de grãos. Também ocorre aumento na massa de 1000 grãos e incremento na produtividade de 18,5 e 8,1 sacas ha⁻¹ em relação ao tratamento sem aplicação e ao tratamento com aplicação de tebuconazol (triazol), respectivamente.

Referências

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para análise de sementes**. Brasília, snad/clav, 1992.

BRYSON, R.J.; LEANDRO, L.; JONES, D.R. The physiological effects of kresoxim-methyl on wheat leaf greenness and the implication for crop yield. In: PROCEEDINGS OF THE RIGHTON CROP PROTECTION CONFERENCE - PESTS AND DISEASES, 2000, Farnham. **roceedings...** Farnham: British Crop Protection Council, 2000. p.739-747.

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**, Athens, v.6, p.71-80, 1975.

CLOUGH, J.M.; ANTHONY, V.M.; FRAINE, de P.J.; FRASER, T.E.M.; GODFREY, C.R.A.; GODWIN, J.R.; YOULE, D. The synthesis of fungicidal b-methoxyacrylates. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF PESTICIDE CHEMISTRY, 8., 1995, Washington, D.C. Proceedings... Washington, D.C.: ACS, 1995. p-58-73.

DIMMOCK, J.P.R.E.; GOODING, M.J. The effects of fungicides on rate and duration of grain filling in winter wheat in relation to maintenance of flag leaf green area. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, n.138, p.1-16, 2002.

FADER, F. G.; KOLLER, H. R. Relationships between carbon assimilation, partitioning and export in leaves of two soybean cultivars. **Plant Physiology**, Lancaster, n.2, v.73, p.297–303, 1983.

FERGUNSON, B.R.; SHAPIRO, C.A.; DOBERMANN, A.R.; WORTMANN, C.S. **Fertilizer recommendations for soybeans**. Published by University of Nebraska-Lincoln extension, Institute of Agriculture and natural Resources, p.1-4, 2007. Disponível em: <http://www.ianrpubs.unl.edu/epublic/live/g859/build/g859.pdf>. Acesso em: 10 de out. 2007

FHER, W.R.; CAVINESS, C.E. Stages of soybean development, Iowa: Agricultural Experimental Station, 1977. 81p. (Spec. Rep.).

GOODING, M.J.; DIMMOCK, J.P.R.E.; FRANCES, J.; JONES, S.A. Green leaf area decline of wheat flag leaves; the influence of fungicides and relationships with mean grain weight and grain yield. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v.136, p.77-87, 2000.

GROSSMANN, K.; KWIATKOWSKI, J.; CASPAR, G. Regulation of phytohormone levels, leaf senescence and transpiration by the strobilurin Kresoxim-methyl in wheat (*Triticum aestivum* L.), **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v.154, p. 805-808, 1999.

GROSSMANN, K.; RETZLAFF, G. Bioregulatory effects of the fungicidal strobilurin kresoxim methyl in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Pesticide Science**, Oxford, v.50, p.11-20, 1997.

HEIFFIG, L.C. **Plasticidade da cultura da soja** (*Glycyne max*, L. Merrill) **em diferentes arranjos espaciais**. 2002. 85p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

KAISER, W.M.; BRENDLE-BEHNISCH, E. Acid-base-modulation of nitrate reductase in leaf tissues. **Planta**, Berlin, v.196, p.1-6, 1995.

MUNIER-JOLAIN, N.G.; MUNIER-JOLAIN, N.M.; ROCHE, R.; NEY, B.; DUTHION, C. Seed growth rate in grain legumes I. Effect of photoassimilate availability on seed growth rate. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.49, n.329, p.1963-1969, 1998.

NELSON-SCREIBER, B. M.; SCHWEITZER, L. E. Limitations on leaf nitrate reductase activity during flowering and pod fill in soybean. **Plant Physiology**, Lancaster, v.80, p.454-458, 1985.

PEPLER, S.; GOODING, M.J.; FORD, K.E.; ELLIS, R.H.; JONES, S.A. Delaying senescence of wheat with fungicides has interacting effects with cultivar on grain sulphur concentration but not with sulphur yield or nitrogen: sulphur ratios. **Europe Agronomy Journal**, Oxford, v.22, p.405-416, 2005.

POTTER, B. **Triazole and strobilurin foliar fungicide effects on soybean disease suppression, senescence and yield.** Minnesota. University of Minnesota Department of Entomology and Southwest Research and Outreach Center. 2005 (Fungicide Class Study).

RETZLAFF, G. Untersuchungen zur strobirulinwirkung in gramineen. **Phytomedizin**, Hamburg, v.25, p.45, 1995.

SCHWEITZER, L.E.; HARPER, J.E. Effect of multiple factor source-sink manipulation on nitrogen and carbon assimilation by soybean. **Plant Physiology**, Lancaster, n.1, v.78, p.57-60, 1985.

SENTELHAS, P.C.; PEREIRA, A.R. A maior estiagem do século? **Notícias Piracema**, Piracicaba, v.6, n.50, p.1, 2000.

THIBODEAU, P.S.; JAWORSKI, E.G. Patterns of nitrogen utilization in the soybean. **Planta**, Berlin, v.127, p.133-147, 1975.

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

5 ANÁLISE DA RESPOSTA TEMPORAL DE VARIÁVEIS FISIOLÓGICAS DA CULTURA DE SOJA À APLICAÇÃO DE PIRACLOSTROBINA

Resumo

O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação de janeiro a maio de 2007 com objetivo de avaliar o tempo de resposta de variáveis fisiológicas de uma variedade cultivada de soja a aplicação da estrobilurina piraclostrobina. Utilizou-se a variedade cultivada 'BRS Conquista' semeada em vasos com capacidades de 3,8 L (15 x 25 cm - Ø x altura), preenchidos igualmente com solo Latossolo Vermelho-Amarelo. As irrigações foram feitas diariamente, respeitando as condições ótimas estabelecidas para a cultura da soja (em torno de 80% da capacidade de campo). Quando a cultura atingiu o estágio fenológico V₈-V₉, foram realizadas medidas foliares de fotossíntese líquida, respiração, condutância estomática, transpiração através de um medidor portátil de trocas gasosas (IRGA Li 6400®), além disso, foi avaliado a atividade da enzima nitrato redutase e biossíntese de etileno. O delineamento adotado foi de blocos ao acaso com dois tratamentos (T₁ - com aplicação da estrobilurina piraclostrobina e T₂ - sem aplicação) e cinco repetições. O efeito da estrobilurina piraclostrobina no aumento na taxa fotossintética e na atividade da enzima nitrato redutase foi observado até os 7 dias após a aplicação (DAA). A fotossíntese líquida apresentou maior incremento aos 7 DAA (14% em relação ao controle) e a atividade da enzima nitrato redutase ao 0 DAA (95% em relação ao controle). A condutância estomática e a transpiração apresentaram aumento até os 3 DAA, quando foram observados os maiores acréscimos. A respiração da folha foi parcialmente inibida até os 10 DAA, sendo o efeito máximo aos 3 DAA (20% menor em comparação ao controle), enquanto que a produção de etileno sofreu um decréscimo progressivo até os 18 DAA, quando esta variável apresentou os menores valores (68% comparado ao controle). A partir destes resultados conclui-se que a aplicação de estrobilurina interfere na fisiologia da cultura de soja, entretanto, o efeito residual varia de acordo com a variável fisiológica estudada.

Palavras-chave: Trocas gasosas; *Glycine max* L. Merrill; Nitrato redutase; Etileno

TIME RESPONSE ANALYSES OF PHYSIOLOGICAL VARIABLES IN SOYBEAN WITH PYRACLOSTROBIN APPLICATION

Abstract

The greenhouse experiment was carried out at Piracicaba, State of São Paulo, Brazil, from January to May 2007, with the objective of evaluating the time response of the pyraclostrobin (strobilurin) application on the physiological variables for soybean plant ('BRS Conquista' cultivar). When the soybean plant reached the V₈-V₉ phenological stage, the net photosynthesis, respiration, transpiration and stomatal conductance were measured through a gas exchanges portable equipment (IRGA Li 6400®), moreover the nitrate reductase enzyme activity and the ethylene biosynthesis were evaluated. The complete randomized blocks design with two treatments (T₁: pyraclostrobin application and T₂: no fungicide application) and five replications. The effect of pyraclostrobin (strobilurin) application on the photosynthesis and the nitrate reductase enzyme activity were observed 7 days after the application (DAA). The photosynthesis and the nitrate reductase enzyme activity increased 7 DAA (14% compared with the control) and

0 DAA (95% compared with the control), respectively. The stomatal conductance and respiration rate improved until 3 DAA, when the highest values were observed. The respiration was inhibited partially until 10 DAA with the maximum effects 3 DAA (20% lowest in comparison with the control), while the ethylene production suffered a gradual decreasing until 18 DAA, when this variable presented the lowest values (68% compared with the control). The results allowed to conclude that the pyraclostrobin (strobilurin) application affects the soybean crop physiology.

Key words: Gas exchange; *Glycine max* L. Merrill; Nitrate reductase; Ethylene

5.1 Introdução

O aparecimento da ferrugem asiática na cultura de soja tem causado prejuízos aos produtores e estimulado pesquisas que busquem o desenvolvimento de fungicidas eficientes. Entre os principais produtos de ação antifúngica tem se destacado os produtos a base de estrobilurinas e triazol.

As estrobilurinas representam uma classe relativamente nova de compostos naturais produzidos por fungos da ordem Basidiomycetes pertencente à espécie *Strobilurus tenacellus* (CLOUGH et al., 1995). Esses compostos possuem ação específica na mitocôndria inibindo o transporte de elétrons entre o citocromo b e o citocromo c na cadeia transportadora (ANKE, 1995). Como a respiração mitocondrial oferece energia necessária para o desenvolvimento da doença pelo fungo através da ligação do NADH acoplado ao transporte de prótons e a síntese de ATP (YAMAGUCHI; FUJIMURA, 2005), a estrobilurina reduz a produção de energia e conseqüentemente o crescimento do fungo (LEINHOS, 1997).

A aplicação de estrobilurina tem proporcionado controle de doenças em plantas, além de alterações fisiológicas, o qual parece ter correlação positiva com a produtividade (GROSSMANN; RETZLAFF, 1997).

Apesar da constatação do efeito benéfico da estrobilurina na produtividade das culturas, pouco se sabe sobre o efeito da estrobilurina no metabolismo da planta. Sauter et al. (1995) citam que as células eucarióticas, como é o caso das células vegetais, em presença de estrobilurina conseguem uma rápida desintoxicação no citoplasma, entretanto, o efeito na inibição da respiração mitocondrial acontece de modo semelhante ao dos organismos procariontes.

A maior parte das informações sobre o efeito fisiológico das estrobilurinas em plantas se refere à cultura do trigo (*Triticum aestivum* L). Nesta cultura foi observado aumento do potencial antioxidante (YUE-XUAN; TIEDEMANN, 2001), diminuição na produção de etileno (GROSSMAN; RETZLAFF, 1997) atraso na senescência (GOODING et al., 2000; YUE-XUAN;

TIEDEMANN, 2001), aumento da atividade da enzima nitrato redutase (GLAAB; KAISER, 1999) e da fotossíntese líquida e diminuição da taxa respiratória (RETZLAFF, 1995).

No entanto, ainda não se tem dados específicos sobre o efeito desse fungicida na cultura de soja. Também existe carência de informações sobre o tempo de ação do produto no metabolismo da planta, especialmente nas medidas de trocas gasosas, na atividade da enzima nitrato redutase e na biossíntese de etileno. Esses dados podem informar o tempo de contribuição da estrobilurina no incremento da atividade fisiológica da planta, principalmente em estádios onde a cultura de soja mais necessita de energia, como é o caso do período compreendido entre o florescimento e enchimento de grãos.

Portanto, este trabalho tem por objetivo avaliar o tempo de resposta de variáveis fisiológicas (fotossíntese líquida, respiração, condutância estomática, transpiração, atividade da enzima nitrato redutase e biossíntese de etileno) de uma variedade cultivada de soja a aplicação da estrobilurina piraclostrobina em condições parcialmente controladas.

5.2 Material e métodos

O experimento foi instalado na área experimental do Campus da ESALQ/USP do Departamento de Ciências Biológicas em casa-de-vegetação de janeiro a maio de 2007. As coordenadas geográficas do local são: 22° 41' 30" de latitude Sul 47° 38' 30" longitude Oeste e 546 m de altitude. O solo é classificado como Latossolo vermelho distrófico argiloso (HEIFFIG, 2002). O clima do local segundo a classificação de W. Köppen pertence ao tipo Cwah – tropical de altitude com estiagem de inverno.

A casa de vegetação apresentou cobertura plástica de polietileno com espessura de 150 micras e nas laterais telas plásticas de proteção contra insetos. Nessa foi instalado uma mini-estação de monitoramento de variáveis micrometeorológicas que realizou medidas de temperatura do ar.

A espécie utilizada foi a *Glycine max*, L. Merrill, variedade cultivada BRS Conquista. A semeadura foi realizada em 06 de março de 2007, no espaçamento de 0,45m entre linhas em uma densidade de 28 sementes por metro linear. Antes da semeadura realizou-se a análise de solo para recomendação da adubação da cultura. Entretanto, para melhor controle experimental e evitar as possíveis variações de distribuição da adubação no vaso, optou-se pela fertirrigação contínua do solo. Para isso foram preparadas soluções padrões concentradas de solução nutritiva, atendendo a

necessidade da cultura. A fertirrigação iniciou a partir dos 10 dias iniciais após a emergência das plântulas.

O experimento foi instalado em vasos com capacidades de 3,8 L (15 x 25 cm - Ø x altura), preenchidos igualmente com solo Latossolo Vermelho-Amarelo. As irrigações foram feitas diariamente, respeitando as condições ótimas estabelecidas para a cultura da soja (em torno de 80% da capacidade de campo).

As determinações de trocas gasosas (fotossíntese líquida, respiração, condutância estomática e transpiração) foram programadas para as três horas após a aplicação do produto (dia da aplicação) e posteriormente 0, 1, 3, 10 e 18 dias, das 9 h às 11 h da manhã em dias ensolarados. As análises foram realizadas em três plantas por parcela no estágio fenológico V₈-V₉, quando as plantas estavam próximas ao início do florescimento (R₁).

As medidas de trocas gasosas foram realizadas por meio de um sistema fechado portátil de trocas gasosas, IRGA (*Infra Red Gas Analyzer*), modelo LI-6400 (Li-cor®), sempre nas folhas do estrato superior, completamente expandidas e totalmente expostas à radiação solar.

Durante as medições a folha selecionada em cada planta foi colocada dentro da câmara selada do equipamento, não suprida por ar externo sendo estabelecido 1500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ da radiação fotossinteticamente ativa (RFA). A mudança nas concentrações de CO₂ e H₂O por unidade de tempo serviu para estimar, conforme equações matemáticas pré-definidas no equipamento, a fotossíntese líquida (assimilação de carbono) e transpiração, respectivamente. Para as medidas de respiração a RFA do equipamento foi desligada (0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e, assim, as mudanças na concentração de CO₂ foram relacionadas com a respiração foliar.

A análise da atividade de nitrato redutase foi constituída por amostras de folhas retiradas de três plantas por tratamento do estrato superior. As medidas foram feitas às três horas após a aplicação do produto (dia da aplicação) e posteriormente 0, 1, 3, 10 e 18 dias, das 9 h às 11 h da manhã em dias ensolarados.

A metodologia utilizada foi a ajustada por Cataldo (1975). De acordo com esta metodologia se efetuou os seguintes procedimentos; as folhas colhidas foram picadas, e destas colocou-se 200 mg em tubos de ensaio que continha 5 mL de KNO₃. Os tubos de ensaio foram envolvidos em papel de alumínio e mantidos em banho Maria a 35°C durante 2 horas agitado-se de 5 em 5 min. Depois foi pipetado 1 mL da solução de cada tubo de ensaio para balão volumétrico de 50 mL com a numeração dos respectivos tratamentos, evitando pedacinhos de

folhas. Logo após colocou-se H₂O destilada até completar 25 mL do Becker e a seguir 1 mL de ácido sulfanílico. Essa solução foi mantida em repouso de 5 a 10 min. Posteriormente foi adicionado 1 mL de alfa-naftalamina e 1 mL do tampão de acetato de sódio e completou-se o volume a 50 mL com H₂O destilada. A leitura foi realizada depois de 10 e antes de 30 minutos no colorímetro fotoelétrico, o qual foi ajustado ao zero com água destilada e usando filtro verde.

O cálculo da atividade da enzima nitrato redutase foi obtida através da curva padrão de nitrito ajustada de acordo com as concentrações de N na forma de NO₂⁻ de: 0,5; 10; 15; 20; 25 mg L⁻¹. Foi ajustado o gráfico (concentração x leitura) e calculado a equação de regressão. De acordo com esses dados procedeu-se o seguinte cálculo:

$$ANR = 5.FV.4.CN.0,5 \quad (1)$$

em que: a *ANR* refere-se a atividade da enzima nitrato redutase em µg N-NO₂ 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.

A análise de etileno foi realizada em três plantas por tratamento, dos quais foram retiradas 10 folhas completamente expandidas do estrato superior da planta. As determinações foram realizadas às três horas após a aplicação do produto (dia da aplicação) e posteriormente 0, 7, 12 e 18 dias, das 9 h às 11 h da manhã em dias ensolarados. Após a coleta, as amostras foram armazenadas em frascos de vidro, os quais apresentaram uma abertura na parte superior que foi vedado com silicone que serviu para a retirada do gás para a análise cromatográfica. As amostras foram submetidas a uma temperatura de 45 °C (por 40 minutos) com o intuito de proporcionar um aumento na produção de etileno e depois de submetidas à análise. A análise do gás retirado das amostras foi efetuada num cromatógrafo modelo TRACE GC Ultra. Em seguida as amostras de folhas foram retiradas dos frascos e levadas a estufa (75 °C) para a quantificação de fitomassa seca.

O delineamento experimental adotado foi um fatorial em blocos a acaso com dois tratamentos, T₁ com aplicação de estrobilurina (piraclostrobina) na dose de 0,5 L ha⁻¹ de ingrediente ativo para um volume de calda de 200 L e T₂ sem aplicação de estrobilurina, e cinco repetições. A aplicação da estrobilurina foi realizada através de um pulverizador costal com injeção de CO₂. Utilizou-se uma barra de 2,25m de comprimento, com 4 bicos do tipo leque com uma pressão de 2 bar.

Os dados de trocas gasosas, da atividade da enzima nitrato redutase e de etileno foram submetidos a análise estatística por intermédio do teste t-Student, $p < 0,05$. Para todas as variáveis o coeficiente de variação foi menor que 1%, e, portanto, não apresentado nas Figuras em que constam os resultados.

5.3 Resultados e discussão

A temperatura mínima e máxima média do período em que as análises foram realizadas (no estágio V₈-V₉) foram de 19,1 e 31,5°C, respectivamente, valores que se situaram dentro da faixa considerada ideal para o desenvolvimento da cultura de soja (EMBRAPA, 2007).

Não ocorreu incidência de doenças e pragas, portanto os efeitos observados nos tratamentos não tiveram influência destes fatores.

A aplicação da estrobilurina piraclostrobina causou inibição parcial da respiração celular até os 10 dias após a aplicação (Figura 1). Logo após a aplicação (0 DAA) o decréscimo na taxa respiratória nas plantas que receberam a estrobilurina piraclostrobina em relação as sem aplicação foi de apenas 5%, essa diferença aumentou progressivamente de 8% aos 3 DAA até 20% aos 7 DAA, quando atingiu o maior valor (Figura 1). Aos 10 DAA o efeito da molécula decresceu, possivelmente pelo fato das células iniciarem o processo de desintoxicação e também pela diminuição do efeito residual do produto. Neste período a diferença decresceu a 13%, diferença não mais observada a partir desse momento (Figura 1). O efeito prolongado da molécula está relacionado a liberação gradual da mesma, a qual interage com a cutícula das células, podendo também se acumular nos espaços intracelulares (WONG; WILCX, 2001).

Embora o uso da estrobilurina em plantas tenha por função o controle de fungos patogênicos e saprófitos, o mecanismo de ação do produto parece ser o mesmo em plantas e fungos. De acordo com Venâncio et al. (2004) pelo fato do complexo bc1 existente na cadeia transportadora de elétrons da mitocôndria persistir em todos eucariontes, ao menos uma inibição parcial no transporte de elétrons deve ser esperada também em células de plantas após a absorção do fungicida. Os dados encontrados nesse trabalho confirmam essa hipótese demonstrando que existe uma inibição parcial na respiração das folhas de soja quando aplicado estrobilurina.

Figura 1 - Respiração foliar de soja, variedade cultivada BRS Conquista, nos tratamentos com aplicação da estrobilurina piraclostrobina e sem aplicação de estrobilurina (controle). Asterisco (*) indica diferença estatística (teste t-Student, $p < 0,05$). ESALQ/USP, Piracicaba -SP, 2007

Analisando o tempo de ação da estrobilurina piraclostrobina na atividade fotossintética da cultura de soja (Figura 2) notou-se aumento apenas nos primeiros 7 dias após a aplicação (DAA). O maior incremento na fotossíntese ocorreu aos 3 DAA, com valor de 14% do tratamento que recebeu estrobilurina em relação ao controle (Figura 2).

O incremento na taxa fotossintética está relacionada com a inibição parcial na respiração celular ocasionada pela estrobilurina. Como esse processo causa decréscimo no ponto de compensação de CO₂, esse fenômeno eventualmente conduz a maior eficiência fotossintética nas plantas (RETZLAFF, 1995). A assimilação extra de carbono proporcionado pela aplicação de estrobilurina nos 7 primeiros dias após a aplicação é importante principalmente quando a aplicação é realizada em R₁ e R_{5.1}, pois esse carbono se traduz em energia extra para enchimento de grãos. Entretanto, esse efeito possivelmente seja refletido por maior tempo do que o observado neste trabalho devido a sua ação em outras rotas metabólicas como síntese de hormônios e atividades de enzimas responsáveis pela assimilação de nitrogênio (GROSSMANN et al., 1999; GROSSMANN; RETZLAFF, 1997).

Figura 2 – Fotossíntese líquida foliar de soja, variedade cultivada BRS Conquista, nos tratamentos com aplicação da estrobinurina piraclostrobina e sem aplicação de estrobinurina (controle). Asterisco (*) indica diferença estatística (teste t-Student, $p < 0,05$). ESALQ/USP, Piracicaba -SP, 2007

Em relação à condutância estomática e à transpiração, a aplicação da estrobinurina piraclostrobina proporcionou incremento até os 3 DAA, período de máximo efeito da molécula para essas variáveis (Figuras 3 e 4). O tratamento com aplicação de estrobinurina apresentou um valor médio para condutância estomática de $1,08 \text{ mol de H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para o tratamento com estrobinurina versus $0,85 \text{ mol de H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ na testemunha (Figura 3), e para transpiração os valores foram de $1 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ de H_2O contra $4,5 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ de H_2O da testemunha (Figura 4).

Analisando conjuntamente a respiração e atividade nitrato redutase nota-se um desempenho semelhante ao longo do tempo (Figuras 1 e 5, respectivamente). Possivelmente, a relação entre as duas variáveis está no fato de que a inibição da respiração proporciona a acidificação no pH citosólico, e assim aumenta a atividade da enzima nitrato redutase (GLABB; KAISER, 1999).

Figura 3 - Condutância estomática foliar de soja, variedade cultivada BRS Conquista, nos tratamentos com aplicação da estrobilurina piraclostrobina e sem aplicação de estrobilurina (controle). Asterisco (*) indica diferença estatística (teste t-Student, $p < 0,05$). ESALQ/USP, Piracicaba -SP, 2007

Em relação ao tempo de efeito do produto, observou-se que o maior incremento da atividade da enzima nitrato redutase ocorreu as 3 horas após a aplicação (95% maior que a testemunha), diferença que decresceu a aproximadamente 4% aos 10 DAA (Figura 5). Os dados encontrados nesse trabalho corroboram com os observados por Köehle et al. (2002) em plantas de trigo (*Triticum aestivum* L.). Os autores pulverizaram as plantas com piraclostrobina, em doses normalmente usadas para o controle de fungos a campo ($0,5 \text{ L ha}^{-1}$ de ingrediente ativo) e observaram que uma redução de nitrato *in vivo*, cerca de 100% durante o período noturno. Esse incremento na redução do nitrato persistiu por três noites após uma única aplicação de piraclostrobina.

Figura 4 - Transpiração foliar de soja, variedade cultivada BRS Conquista, nos tratamentos com aplicação da estrobilurina piraclostrobina e sem aplicação de estrobilurina (controle). Asterisco (*) indica diferença estatística (teste t-Student, $p < 0,05$). ESALQ/USP, Piracicaba -SP, 2007

O decréscimo na síntese de etileno foi progressivo, a 0 DAA (3 horas após a aplicação) foi de 12%, posteriormente os valores mantiveram-se em torno de 36% (7 e 12 DAA) atingindo o maior decréscimo aos 18 dias, com valor de 68%, período de máximo efeito do produto para essa variável (Figura 6).

No metabolismo das plantas quando uma determinada reação é afetada (como foi o caso da respiração e posteriormente da atividade nitrato redutase) existe uma repercussão imediata em reações que de certa forma dependem desta. No caso do etileno, a inibição da sua síntese tem relação com a atividade da enzima nitrato redutase. A enzima nitrato redutase possui uma rota alternativa a qual utiliza NADH e nitrito como substratos e produz óxido nítrico, este por sua vez inibe a atividade da ACC sintase e ACC oxidase, enzimas utilizadas na síntese de etileno (YAMASAKI, 1999).

Figura 5 - Valores percentuais (%) da atividade nitrato redutase foliar de soja (AENR), variedade cultivada BRS Conquista, nos tratamentos com aplicação da estrobilurina piraclostrobina e sem aplicação de estrobilurina (controle). Asterisco (*) indica diferença estatística (teste t-Student, $p < 0,05$). ESALQ/USP, Piracicaba -SP, 2007

A importância do decréscimo na síntese do etileno foi reportada por Abeles et al. (1992) com fator relacionado a produtividade da cultura de trigo. Para os autores o estresse por etileno aumenta a senescência foliar, consequentemente acelera a maturação dos grãos, diminuindo a produção de assimilados e enchimento dos mesmos. Na cultura de soja o efeito de fatores ambientais estressantes podem estimular a síntese de radicais livres e estes a atividade da ACC sintase aumentando a síntese de etileno e assim acelerando a senescência da planta. A estrobilurina piraclostrobina age como atenuador de estresse devido a sua ação na síntese de óxido nítrico que possui efeito direto nas enzimas relacionadas a síntese de etileno. Além disso, essa molécula atua como estimulador de enzimas antioxidantes como as peroxidases (KÖEHLE et al., 2002).

Figura 6 - Valores relativos de etileno foliar de soja, variedade cultivada BRS Conquista, nos tratamentos com aplicação da estrobilurina piraclostrobina e sem aplicação de estrobilurina (controle). Asterisco (*) indica diferença estatística (teste t-Student, $p < 0,05$). ESALQ/USP, Piracicaba-SP, 2007

5.4 Conclusões

A aplicação da estrobilurina piraclostrobina aumenta a taxa fotossintética e atividade da enzima nitrato redutase até o 7 dias após a aplicação, com valores máximos ao 7 DAA para a fotossíntese e no dia da aplicação para a atividade da enzima nitrato redutase. Enquanto que para condutância estomática e a transpiração esse efeito ocorre até os 3 dias após a aplicação, período de máximo efeito.

O decréscimo na taxa respiratória é mantida até os 7 DAA, entretanto a síntese de etileno é inibida progressivamente até os 18 DAA.

Referências

ABELES, F.B.; MORGAN, P.W.; SALTVEIT, M.E. **Ethylene in plant biology**, San Diego: Academic Press, 1992.

ANKE, T. The antifungal strobilurins and their possible ecological role. **Canadian Journal Botany**, Ottawa, v.73 (Supl. 1), p.940-945, 1995.

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**, Athens, v.6, p.71-80, 1975.

CLOUGH, J.M.; ANTHONY, V.M.; FRAINE, de P.J.; FRASER, T.E.M.; GODFREY, C.R.A.; GODWIN, J.R.; YOULE, D. The synthesis of fungicidal b-methoxyacrylates. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF PESTICIDE CHEMISTRY, 8., 1995, Washington, D.C. Proceedings... Washington, D.C.: ACS, 1995. p-58-73.

EMBRAPA SOJA. **Recomendações técnicas para a cultura da soja na região central do Brasil 2006/07**. Londrina: EMBRAPA/CNPSo 2007. 226p. (EMBRAPA-Soja. Documentos, 132; Embrapa Agropecuária Oeste, 5).

GLAAB, J.; KAISER, W.M. Increased nitrate reductase activity in leaf tissues after application of the fungicide Kresoxim-methyl. **Planta**, Berlin, v. 207, p.442-448, 1999.

GOODING, M.J.; DIMMOCK, J.P.R.E.; FRANCES, J.; JONES, S.A. Green leaf area decline of wheat flag leaves; the influence of fungicides and relationships with mean grain weight and grain yield. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v.136, p.77-87, 2000.

GROSSMANN, K.; KWIATKOWSKI, J.; CASPAR, G. Regulation of phytohormone levels, leaf senescence and transpiration by the strobilurin Kresoxim-methyl in wheat (*Triticum aestivum* L.), **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v.154, p. 805-808, 1999.

GROSSMANN, K.; RETZLAFF, G. Bioregulatory effects of the fungicidal strobilurin kresoxim methyl in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Pesticide Science**, Oxford, v.50, p.11-20, 1997.

HEIFFIG, L.C. **Plasticidade da cultura da soja (*Glycyne max*, L. Merrill) em diferentes arranjos espaciais**. 2002. 85p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

KÖEHLE, H.; GROSSMANN, K.; JABS, T.; GERHARD, M.; KAISER, W.; GLAAB, J.; CONRATH, U.; SEEHAUS, K.; HERMS, S. Physiological effects of the strobilurin fungicide F 500 on plants. In: DEHNE, H.-W.; GISI, U.; KUCK, K.H.; RUSSELL, P.E.; LYR, H. (Eds.) **Modern fungicides and antifungal compounds III**. Andover, 2002, p. 61-74.

LEINHOS, M.E. RANDALL, E. G.; DÜGGELIN, M.; GUGGENHEIM, R.. Development and morphology of *Uncinula necator* following treatment with the fungicides kresoxim-methyl and penconazole. **Mycological Research**, Cambridge, n.101, p.1033-1046, 1997.

RETZLAFF, G. Untersuchungen zur strobilurinwirkung in gramineen. **Phytomedizin**, Nürtingen v.25, p.45, 1995.

SAUTER, H.; AMMERMAN, E.; BENOIT, R.; BRAND, S.; GOLD, R. E. GRAMMENOS, W.; KOHL, H.; LORENZ, G.; MULLER, B. ROHL, F.; SCHIRMER, U.; ESPEAKMAN, J. B.; WENDEROTH, B.; WINGERT, H. Mitochondrial respiration as a target for antifungal: lessons learned from research on strobilurins. In: DIXON, G. K.; COPING, L. G.; HOLLOMAN, D. W. (Ed). Antifungal agents-discovery and mode of action. Oxford: Bios, 1995. p.173-191.

VENÂNCIO, W.S.; RODRIGUES, M.A.T.; BEGLIOMINI, E.; SOUZA, N.L. Physiological effects of strobilurin fungicides on plants. **Publication UEPG**, Ponta Grossa, v.9, n.3, p.59-68, 2004.

WONG, P.F.; WILCX, W.W. Comparative physical modes of action of azoxystrobin, mancozeb and metalaxyl against *Plasmopara viticola* (Grapevine Downy Mildew). **Plant Disease**, Saint Paul, v.85, n.6, p.649-655, 2001.

YAMAGUCHI, I.; FUJIMURA, M. Recent topics on action mechanisms of fungicides. **Journal of Pesticide Science**, Tokyo, v.30, n.2, p.67-74, 2005.

YAMASAKI, H.; SAKIHAMA, Y.; TAKAHASHI, S. Simultaneous production of nitric oxide and peroxynitrite by plant nitrate reductase: in vitro evidence for the NR-dependent formation of active nitrogen species. **Trends in Plant Science**, London, v.4, p.128-129, 1999.

YUE-XUAN, W.; TIEDEMANN, A.V. Physiological effects of azoxystrobin and epoxiconazole on senescence and the oxidative status of wheat. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v.71, p.1-10, 2001.

6 CONCLUSÕES

Em função dos resultados obtidos, com a aplicação da estrobilurina piraclostrobina em soja em condições de campo e em casa-de-vegetação na região de Piracicaba-SP, conclui-se que:

(i) o uso de piraclostrobina ocasiona alteração na atividade fisiológica das plantas e ocasiona acréscimo da produtividade de grãos; (ii) na variedade cultivada M-SOY 8008 RR, a estrobilurina piraclostrobina incrementa a taxa fotossintética, a atividade da enzima nitrato redutase e diminui a taxa respiratória. Também ocorre incremento na taxa de assimilação bruta de CO_2 da planta e a taxa de assimilação líquida de CO_2 nas vagens e aumento na massa de 1000 grãos e na produtividade de 13 e 4 sacas ha^{-1} em relação ao tratamento sem aplicação (efeito fungicida + efeito fisiológico) e ao tratamento com aplicação de tebuconazol (triazol) (efeito fisiológico), respectivamente; (iii) a aplicação da estrobilurina piraclostrobina na variedade cultivada BRS 245 RR aumenta o acúmulo do potencial de assimilação bruta de carbono na planta e nas vagens e a taxa de assimilação líquida, bem como aumenta a produção de fitomassa seca e a produtividade de grãos em 18,5 e 8,1 sacas ha^{-1} em relação ao tratamento sem aplicação e ao tratamento com aplicação de triazol, respectivamente; e (iv) no que se refere a curva de resposta do produto, a aplicação da estrobilurina piraclostrobina aumenta a taxa fotossintética e a atividade da enzima nitrato redutase até 7 dias após a aplicação, com valores máximos aos 7 DAA para a fotossíntese e no dia da aplicação para a atividade da enzima nitrato redutase. Enquanto que para condutância estomática e para a transpiração, esse efeito ocorre até 3 dias após a aplicação, período de máximo efeito. O decréscimo na taxa respiratória é mantida até os 7 DAA, entretanto a biossíntese de etileno é inibida progressivamente até os 18 DAA.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Valores de soma de quadrado (SQ), quadrado médio do erro (Qme), F e coeficiente de variação (CV, %) do tratamento para a fotossíntese na variedade cultivada 'M-SOY 8008 RR'. ESALQ/USP, Piracicaba-SP, 2006

Dias após a primeira aplicação					
	0	3	7	11	15
SQ	6,5	102,4	2226,1	26,9	356,1
Qme	3,2	51,2	1113,3	13,4	178,1
F	670,2	5209,2	14423,6	858,8	35613,3
CV	0,3	0,2	0,7	0,5	0,3
Dias após a segunda aplicação					
	0	1	7	11	15
SQ	3,8	12,1	143,3	-	-
Qme	5,9	3,1	35,8	-	-
F	2,3	40,9	273,1	-	-
CV	3,1	5,9	1,1	-	-

APÊNDICE B - Valores de soma de quadrado (SQ), quadrado médio do erro (Qme), F e coeficiente de variação (CV, %) do tratamento para a fotossíntese na variedade cultivada 'BRS 245 RR'. ESALQ/USP, Piracicaba-SP, 2006

Dias após a primeira aplicação				
	0	1	3	7
SQ	9,9	475,8	92,6	60,2
Qme	4,9	237,9	46,3	30,1
F	553,4	2562,7	471,1	11282,2
CV	0,4	1,5	1,2	0,2
Dias após a segunda aplicação				
	1	7	13	17
SQ	16,3	833,4	431,4	1768,7
Qme	4,1	208,3	107,8	442,2
F	372,7	8556,5	977,7	61845,4
CV	1,8	0,4	0,8	0,3

APÊNDICE C - Valores de soma de quadrado (SQ), quadrado médio do erro (Qme), F e coeficiente de variação (CV, %) do tratamento para a respiração na variedade cultivada 'M-SOY 8008 RR'. ESALQ/USP, Piracicaba-SP, 2006

Dias após a primeira aplicação				
	11	15	-	-
SQ	3,7	4,1		
Qme	1,8	17,0		
F	814,9	147,4		
CV	1,2	9,9		
Dias após a segunda aplicação				
	0	1	7	17
SQ	21,2	24,1	289,1	39,6
Qme	5,3	6,0	72,2	9,9
F	1235,8	148,9	1006,7	237,3
CV	1,7	6,5	2,7	2,1

APÊNDICE D - Valores de soma de quadrado (SQ), quadrado médio do erro (Qme), F e coeficiente de variação (CV, %) do tratamento para a respiração na variedade cultivada 'BRS 245 RR'. ESALQ/USP, Piracicaba-SP, 2006

Dias após a primeira aplicação				
	3	7	-	-
SQ	30,6	0,6		
Qme	15,3	0,3		
F	850,0	109,0		
CV	3,7	2,9		
Dias após a segunda aplicação				
	1	7	13	17
SQ	70,0	833,4	436,9	140,3
Qme	17,5	208,3	109,2	35,1
F	4212,5	8556,5	2714,0	1452,0
CV	1,9	0,4	1,6	1,3

APÊNDICE E - Valores de soma de quadrado (SQ), quadrado médio do erro (Qme), F e coeficiente de variação (CV, %) do tratamento para a atividade nitrato redutase na variedade cultivada 'M-SOY 8008 RR'. ESALQ/USP, Piracicaba-SP, 2006

	Dias após a primeira aplicação				
	0	1	3	7	15
SQ	-	198,8	193,1	2,4	10,5
Qme	-	99,4	96,5	1,2	5,2
F	-	87,5	29,3	21,7	45,7
CV	-	13,7	20,3	2,2	13,7
	Dias após a segunda aplicação				
	0	1	6	-	-
SQ	6,3	1,2	13,3	-	-
Qme	1,6	0,3	3,3	-	-
F	13,5	14,1	16,1	-	-
CV	12,4	28,7	15,1	-	-

APÊNDICE F - Valores de soma de quadrado (SQ), quadrado médio do erro (Qme), F e coeficiente de variação (CV, %) do tratamento para a atividade nitrato redutase na variedade cultivada 'BRS 245 RR'. ESALQ/USP, Piracicaba-SP, 2006

	Dias após a primeira aplicação				
	0	1	3	7	15
SQ	32,8	45,9	10,8	15,0	-
Qme	16,4	22,9	5,4	7,5	-
F	2,1	464,4	149,4	44,1	-
CV	27,8	5,5	8,8	16,1	-
	Dias após a segunda aplicação				
	0	1	6	-	-
SQ	4,4	2,8	9,7	-	-
Qme	1,1	0,7	2,4	-	-
F	5,2	9,2	15,5	-	-
CV	14,9	31,3	14,4	-	-

APÊNDICE G - Valores de soma de quadrado (SQ), quadrado médio do erro (Qme), F e coeficiente de variação (CV, %) do tratamento para produtividade na variedade cultivada 'BRS Conquista'. ESALQ/USP, Piracicaba-SP, 2006

	'M-SOY 8008 RR'	'BRS 245 RR'
SQ	493,3	209,3
Qme	123,3	52,3
F	6,0	4,7
CV	12,7	12,1