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

Respostas fisiológicas em plantas de soja a atenuadores de estresse

Isabella Sabrina Pereira

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

**Piracicaba
2020**

Isabella Sabrina Pereira
Engenheira Agrônoma

Respostas fisiológicas em plantas de soja a atenuadores de estresse
versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **DURVAL DOURADO NETO**

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

Piracicaba
2020

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

Pereira, Isabella Sabrina

Respostas fisiológicas em plantas de soja a atenuadores de estresse / Isabella Sabrina Pereira. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011.
- - Piracicaba, 2020.

142 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

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

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Marli e Élcio e aos meus irmãos Bianca, Phelipe e Leandro e meu namorado Daniel os quais sempre me encorajaram a acreditar nos meus sonhos e são merecedores desta conquista.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço:

A Deus, o dom da vida, por guiar meus caminhos com muita luz, dar serenidade e me encorajar, além dar força para ir em busca das conquistas.

Aos meus pais, Marli e Élcio, aos meus irmãos Bianca, Leandro e Juliana, por me apoiar, incentivar, dar forças, aconselhar e por sempre me motivar a atingir meus objetivos.

Ao meu namorado, Daniel, pelo companheirismo, amor, carinho e compreensão nos momentos difíceis e de ausência.

Ao meu orientador, Dr. Durval Dourado Neto, pelos ensinamentos que contribuíram para o meu crescimento profissional e pessoal.

Aos meus orientadores, Dr. Evandro Binotto Fagan e Dr. Luís Henrique Soares, pela amizade, companheirismo, motivação e sempre acreditar no nosso trabalho. Vocês foram os responsáveis por me tornar a pessoa que sou hoje.

Aos meus amigos e colegas do grupo de pesquisa Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Estresse de Plantas (NUFEP), em especial a Jérssica Nogueira, Leandra Larissa, Letícia Cardoso, Walquíria Fernanda Teixeira, Ellen Mayara, Layane Machado, Leidyane Godinho, Marina Rodrigues, Henrique Carneiro, José Aniceto, Aurélio Carneiro, Nathalia Alves, pelo apoio na condução dos experimentos e avaliações laboratoriais, além dos bons momentos de convivência.

Às minhas amigas Mayra Rodrigues, Marcela Sant'Anna, Daniele Fontana, Jackeline Bruna e Thaíse Dieminger, pela amizade, coleguismo, brincadeiras e momentos de força; contribuíram bastante com meu crescimento. Muito obrigada pelos excelentes momentos vividos com vocês e o tempo de moradia em Piracicaba.

Aos meus amigos e colegas do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia e do Laboratório Multiusuário, Renan Umburanas, Felipe Fadel Sartori, Felipe Schwerz, João Batistela e Guilherme Felisberto, pelos conhecimentos compartilhados e pela recepção. Também aos funcionários Edson e Neto, pela disposição a nos ajudar sempre.

À Cooperativa Agropecuária do Alto Paranaíba (COOPADAP), em especial Dulcélio Lana, e ao Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM), pela disponibilidade da área experimental.

Às colegas Ellen Mayra, Jérssica Nogueira e Walquíria Fernanda Teixeira, pelas correções e análises estatísticas.

Aos colegas do Grupo de Fisiologia Aplicada a Sistemas de Produção (GFASP), pela condução dos experimentos, coordenado pelo Guilherme Felisberto.

À Eliana, da Divisão de Biblioteca, por realizar correções.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, pela oportunidade de realizar o curso de Pós-Graduação em nível de Mestrado.

Por fim, a todos que contribuíram de alguma maneira para realização deste trabalho, muito obrigada.

SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT	10
LISTA DE FIGURAS	11
LISTA DE TABELAS	21
LISTA DE ABREVIATURAS.....	22
1 INTRODUÇÃO	25
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	29
2.1 Importância econômica da cultura de soja	29
2.2 Características fisiológicas e ciclo da cultura.....	29
2.3 Uso de produto fitossanitário.....	31
2.3.1 Herbicidas.....	35
2.3.2 Fungicidas.....	38
2.3.3 Inseticidas	40
2.4 Estresse oxidativo	42
2.5 Sistema antioxidante não enzimático	45
2.5.1 Glutationa	45
2.5.2 Prolina.....	49
2.5.3 Fenilalanina.....	50
2.5.4 Glicina betaína	52
2.6 Micronutrientes.....	53
2.6.1 Manganês	53
2.6.2 Níquel	55
2.6.3 Zinco	58
2.7 Hormônios	59
2.8 Extrato de algas	61
3 MATERIAL E MÉTODOS	65
3.1 Localização e características da área experimental	65
3.2 Experimento I: influência de aminoácidos, micronutrientes, extrato de alga e hormônios como atenuadores de estresse	65
3.2.1 Caracterização do experimento.....	65
3.2.2 Instalação e condução do experimento	66

3.3	Experimento II: associação de micronutrientes, com extrato de alga e hormônios como atenuadores de estresse em sistema de alta produtividade	67
3.3.1	Caracterização do experimento.....	67
3.3.2	Instalação e condução do experimento	68
3.4	Avaliações bioquímicas	69
3.4.1	Determinação da atividade da enzima nitrato redutase.....	70
3.4.2	Análise do metabolismo oxidativo	70
3.4.3	Prolina.....	71
3.4.4	Conteúdo de proteína na folha	71
3.4.5	Superóxido dismutase.....	72
3.4.6	Catalase	72
3.4.7	Peroxidase.....	72
3.4.8	Peróxido de hidrogênio	73
3.4.9	Peroxidação de lipídios	73
3.4.10	Invertases.....	74
3.5	Avaliações fenométricas	74
3.5.1	Massa de matéria seca de caule, folhas e vagens	74
3.5.2	Número de nós e ramos laterais	74
3.5.3	Número de nós e ramos laterais (que apresentam vagem)	75
3.5.4	Número de vagens e de grãos por vagem	75
3.5.5	Produtividade e massa de 1000 grãos.....	75
3.6	Análise estatística	75
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	77
4.1	Experimento I	77
4.1.1	Metabolismo oxidativo	77
4.1.1.1	Superóxido dismutase.....	77
4.1.1.2	Peróxido de hidrogênio	78
4.1.1.3	Catalase	80
4.1.1.4	Peroxidase	81
4.1.1.5	Prolina	83
4.1.1.6	Peroxidação lipídica.....	85

4.1.2	Metabolismo do carbono	86
4.1.2.1	Invertase neutra e ácida	86
4.1.3	Avaliações fenométricas	90
4.1.3.1	Massa de matéria seca de folhas e caules	90
4.1.3.2	Número de nós e ramos laterais	91
4.1.3.3	Número e massa de vagens por terço	94
4.1.4	Produtividade	98
4.2	Experimento II	99
4.2.1	Metabolismo oxidativo	99
4.2.1.1	Superóxido dismutase	99
4.2.1.2	Peróxido de hidrogênio	100
4.2.1.3	Catalase	102
4.2.1.4	Peroxidase	103
4.2.1.5	Prolina	104
4.2.1.6	Peroxidação lipídica	106
4.2.2	Metabolismo do carbono	107
4.2.2.1	Atividade da invertase	107
4.2.3	Avaliações fenométricas	109
4.2.3.1	Massa de matéria seca de caule e folhas	109
4.2.3.2	Número de nós e ramos laterais	112
4.2.3.3	Produtividade e massa de 1000 grãos	115
5	CONCLUSÕES	119
	REFERÊNCIAS	121

RESUMO

Respostas fisiológicas em plantas de soja a atenuadores de estresse

Com os objetivos de (i) avaliar a resposta fisiológica de plantas de soja de diferentes cultivares a compostos com potencial de atenuar o estresse na planta, e (ii) identificar a existência de padrão de resposta ao uso de atenuadores de estresse como aminoácidos, micronutrientes, hormônios, extrato de alga em grupos de maturação de soja, no presente trabalho, foram conduzidos dois experimentos (safras 2017/2018 e 2018/2019) em condição irrigada com pivô central na Fazenda Experimental Cooperativa Agropecuária do Alto Paranaíba (COOPADAP), localizada no município de Rio Paranaíba (MG), com latitude Sul 19° 11' 37", longitude Oeste 46° 14' 50" e 1067 m de altitude; e segundo a classificação de Köppen, apresenta um clima tropical de altitude (Cwa), com precipitação média anual em torno de 1.533 mm, sendo a temperatura média anual igual a 20,4°C. A partir dos resultados obtidos no experimento I, pode-se concluir que o efeito fisiológico do uso de aminoácidos, micronutrientes, hormônios e extrato de alga difere de acordo com o cultivar de soja utilizado. Mesmo ocorrendo efeitos fisiológicos no cultivar BMX-Desafio-RR, a mesma não responde à aplicação foliar dos estimulantes utilizados. Para o cultivar TEC-7849-IPRO, o uso de micronutrientes é o que proporciona o maior estímulo em produtividade. No experimento II, a associação de micronutrientes + hormônios e micronutrientes + hormônios + extrato de algas com diferentes estimulantes hormônios, extrato de algas resultou variações nos efeitos fisiológicos, fonométricos e componentes de produção em função do genótipo (o cultivar M-6210-IPRO apresenta aumento de produtividade quando associa micronutrientes + hormônios e micronutrientes + hormônios + extrato de alga). O cultivar TMG-7063-IPRO não apresenta ganho de produtividade quando se usa micronutrientes isolados ou associados com hormônios e extrato de algas.

Palavras-chave: Aminoácidos, Micronutrientes, Hormônios, Extrato de alga

ABSTRACT

Physiological responses in soybean plants to stress attenuators

In order to (i) evaluate the physiological response of soybean plants from different cultivars to compounds with the potential to mitigate stress in the plant, and (ii) identify the existence of a response pattern to the use of stress attenuators such as amino acids, micronutrients, hormones, seaweed extract in different soybean cultivars (maturation groups), in the present work, two experiments (seasons 2017/2018 and 2018/2019) were carried out in irrigated condition with central pivot at the Experimental Agricultural Cooperative Farm of Alto Paranaíba (COOPADAP), located in the municipality of Rio Paranaíba (MG), with latitude of 19° 11' 37" South, longitude of 46° 14' 50" West and altitude of 1,067 m; and according to the Köppen classification, it presents a tropical altitude climate (Cwa), with an average annual precipitation of 1,533 mm, with an average annual temperature equal to 20.4°C. According to the results obtained in experiment I, it can be concluded that the physiological effect of the use of amino acids, micronutrients, hormones and seaweed extract differs according to the soybean cultivar used. Even with physiological effects in the cultivar BMX-Desafio-RR, it does not respond to foliar application for the stimulants used. For the cultivar TEC-7849-IPRO, the use of micronutrients is what provides the greatest boost in productivity. In experiment II, the association of micronutrients + hormones and micronutrients + hormones + algae extract with different stimulating hormones, algae extract resulted in variations in physiological, phonological and production components depending on the genotype (cultivar M-6210-IPRO presents increased productivity when there is combination of micronutrients + hormones and micronutrients + hormones + seaweed extract). The cultivar TMG-7063-IPRO does not show any productivity gain when using isolated micronutrients or associated with hormones and algae extract.

Keywords: Amino acids, Micronutrients, Hormones, Seaweed extract

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Mecanismos de desintoxicação de ERO por diferentes enzimas antioxidantes. O ciclo AsA-GSH consiste em AsA (ascorbato) e GSH (glutathiona) e enzimas antioxidantes APX (ascorbato peroxidase), MDHAR (monodesidroascorbato redutase), DHAR (desidroascorbato redutase), GR (glutathiona redutase). Monodesidroascorbato de MDHA, desidroascorbato de DHA. Linhas pontilhadas indicam conversões não enzimáticas. R pode ser um grupo alifático, aromático ou heterocíclico; X pode ser um grupo sulfato, nitrito ou halogeneto. Estresses abióticos geram espécies reativas de oxigênio (ERO). O SOD (superóxido dismutase) é considerado a primeira linha de defesa no processo de desintoxicação do ERO e converte $O_2^{\cdot-}$ em H_2O_2 . Este H_2O_2 pode ser convertido em H_2O por atividade (catalase) CAT ou H_2O_2 entra no ciclo de ASA-GSH, onde APX, usando ASA, o converte H_2O_2 a H_2O . Durante a participação no processo de desintoxicação de ERO, ASA é oxidado para DHA (desidroascorbato redutase). O AsA é regenerado através das enzimas do ciclo AsA-GSH MDHAR e DHAR em uma reação passo a passo. No ciclo AsA-GSH, o GSH participa da desintoxicação de ERO (pela atividade da enzima GPX /glutathiona peroxidase ou GST/glutathiona-S-transferase) ou xenobióticos (pela atividade de GST). O GSH é convertido em GSSG (dissulfeto de glutathiona) durante a desintoxicação de ERO e esse GSSG é reciclado novamente para GSH pela atividade de GR. Adaptado de Hasanuzzaman et al. (2017).48
- Figura 2 - Papel do aminoácido feneilalanina. Adaptado de Barros e Dixon (2020). O primeiro passo comprometido na via dos fenilpropanóides é a desaminação da L-fenilalanina no cinamato por L-fenilalanina amônia-liase (PAL); formação subsequente de coumarato envolve hidroxilação direta do anel aromático pela trans-cinamato 4-hidroxilase (C_4H). As enzimas envolvidas em reações específicas são: C_4H , cinamato 4-hidroxilase; 4CL, 4-cumarato: CoA ligase; HCT, hidroxicinamoil CoA chiquimate /quinato hidroxicinamoil transferase; $C_3'H$, p-coumaroil quinato / chiquimato 3yl-hidroxilase; CSE, cafeína esterase chiquimato; C_3H / APX, coumarato bifuncional 3-hidroxilase / ascorbato peroxidase; COMT, ácido cafeico /3/5-O-metiltransferase do ácido 5-hidroxiferúlico.51

- Figura 3 - Sob condições fisiológicas normais, o metilglioxal (MG) é formado em plantas durante a glicólise e a fotossíntese a partir de fosfato de dihidroxiacetona, que é catalisada pela fosfato isósseo triose para formar 3-fosfato de gliceraldeído. Adaptado de Richard (1993).56
- Figura 4 - Biossíntese de moléculas relacionados ao metabolismo secundário de plantas e a produção de glutathione-GSH; Glu: glutamina; Cys: cistina; glicina, glicina; γ -ECS: gama-EC sintase; GSH-S: glutathione sintetase; GR: glutathione reduzida. Adaptado de Fabiano et al. (2015).58
- Figura 5 - Mecanismos de ação e repostas induzidas pela utilização de extrato de *Ascophyllum nodosum*. Adaptado de Carvalho e Castro (2014).63
- Figura 6 - Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD, $\mu\text{mol}[U] \text{ min}^{-1} \mu\text{g}^{-1}$ [proteína]) de plantas de soja, cultivares BMX-Desafio-RR (A) e TEC-7849-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA_3 + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.78
- Figura 7 - Teor de peróxido de hidrogênio (H_2O_2 , $\mu\text{mol g}^{-1}$ [MF]) de plantas de soja, cultivares BMX-Desafio-RR (A) e TEC-7849-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA_3 + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.79
- Figura 8 - Atividade da enzima catalase (CAT, $\mu\text{mol min}^{-1} \mu\text{g}^{-1}$ [proteína]) de plantas de soja, cultivares BMX-Desafio-RR (A) e TEC-7849-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA_3 + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.80

- Figura 9 - Atividade da enzima peroxidase (POD, μmol [purpurogalina] $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ [proteína]) de plantas de soja, cultivares BMX-Desafio-RR (A) e TEC-7849-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA_3 + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. 82
- Figura 10 - Teor de prolina (μmol [prolina] g^{-1} [MF]) de plantas de soja, cultivares BMX-Desafio-RR (A) e TEC-7849-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA_3 + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. 84
- Figura 11 - Peroxidação lipídica (PL, nmol [TBARS] g^{-1} [MF]) de plantas de soja, cultivares BMX-Desafio-RR (A) e TEC-7849-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA_3 + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. 86
- Figura 12 - Atividade das invertases nas folhas ($\mu\text{g} \text{g}^{-1}$ [MF]): (IA) invertase alcalina e (IN) invertase neutra em folhas de plantas de soja, cultivares BMX-Desafio-RR (A) e TEC-7849-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA_3 + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. 88

- Figura 13 - Atividade das invertases de vagens ($\mu\text{g g}^{-1}[\text{MF}]$) IA: invertase alcalina e IN invertase neutra, e massa de vagens (MV, g planta^{-1}) de plantas de soja, cultivares BMX-Desafio-RR (A) e TEC-7849-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA_3 + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.....89
- Figura 14 - Massa de matéria seca de folhas (MSf) (A) e de caule (MSc) (B) (g planta^{-1}) de plantas de soja (cultivar BMX-Desafio-RR) submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA_3 + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.....90
- Figura 15 - Massa de matéria seca de folhas (MSf) (A) e de caule (MSc) (B) (g planta^{-1}) de plantas de soja (cultivar TEC-7849-IPRO) submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA_3 + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.....91
- Figura 16 - Número total de nós (A), número de ramificação (B) e número de nós nas ramificações (C) em plantas de soja (cultivar BMX-Desafio-RR) submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA_3 + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.....92

- Figura 17 - Numero de nós (A), número de ramificação (B) e número de nós nas ramificações (C) em plantas de soja (cultivar TEC-7849-IPRO) submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA₃ + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro..... 93
- Figura 18 - Total de vagens na haste principal (TVHP, vagens planta⁻¹) de plantas de soja (cultivar BMX-Desafio-RR) submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA₃ + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro..... 94
- Figura 19 - Número de nós com vagens por terço (NNVP, nós planta⁻¹) de plantas de soja (cultivar BMX-Desafio-RR) submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA₃ + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro..... 95
- Figura 20 - Massa de matéria seca de vagens por terço (MSv, g planta⁻¹) de plantas de soja (cultivar BMX-Desafio-RR) submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA₃ + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro..... 96

- Figura 21 - Total de vagens na haste principal (TVHP, vagens planta⁻¹) de plantas de soja (cultivar TEC-7849-IPRO) submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA₃ + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. 96
- Figura 22 - Número de nós com vagens por terço (NNVP, nós planta⁻¹) de plantas de soja (cultivar TEC-7849-IPRO) submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA₃ + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. 97
- Figura 23 - Massa de matéria seca de vagens por terço (MSv, g planta⁻¹) de plantas de soja (cultivar TEC-7849-IPRO) submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA₃ + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. 97
- Figura 24 - Produtividade (P, sacas ha⁻¹) de plantas de soja, cultivares BMX-Desafio-RR (A) e TEC-7849-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA₃ + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. 98

- Figura 25 - Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD, $\mu\text{mol min}^{-1} \mu\text{g [proteína]}^{-1}$) de plantas de soja, cultivares M-6210-IPRO (A) e TMG-7063-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresse [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA_3 + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro..... 100
- Figura 26 - Teor de peróxido de hidrogênio (H_2O_2 , $\mu\text{mol g}^{-1}[\text{MF}]$) de plantas de soja, cultivares M-6210-IPRO (A) e TMG-7063-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA_3 + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro..... 101
- Figura 27 - Atividade da enzima catalase (CAT, $\mu\text{mol min}^{-1} \mu\text{g [proteína]}^{-1}$) de plantas de soja, cultivares M-6210-IPRO (A) e TMG-7063-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA_3 + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro..... 102
- Figura 28 - Atividade da enzima peroxidase (POD, $\mu\text{mol [purpurogalina] min}^{-1} \text{mg [proteína]}^{-1}$) de plantas de soja, cultivares M-6210-IPRO (A) e TMG-7063-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA_3 + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. 104

- Figura 29 - Teor de prolina (μmol [prolina] g^{-1} [MF]) de plantas de soja, cultivares M-6210-IPRO (A) e TMG-7063-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA_3 + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro..... 105
- Figura 30 - Peroxidação lipídica (PL, nmol [TBARS] g [MF] $^{-1}$) de plantas de soja, cultivares M-6210-IPRO (A) e TMG-7063-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA_3 + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro..... 106
- Figura 31 - Atividade de invertases (μg g^{-1} [MF]) IA: invertase alcalina e IN invertase neutra, de soja, cultivares M-6210-IPRO (A) e TMG-7063-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA_3 + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas pretas e minúsculas nas colunas listradas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro..... 108
- Figura 32 - Massa de matéria seca de caule (MSc, g planta $^{-1}$) de plantas de soja, cultivares M-6210-IPRO (A) e TMG-7063-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA_3 + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro..... 110

- Figura 33 - Massa de matéria seca de folha (MSf, g planta⁻¹) de plantas de soja, cultivares M-6210-IPRO (A) e TMG-7063-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA₃ + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. 111
- Figura 34 - Massa de matéria seca de vagens (MSv, g planta⁻¹) de plantas de soja, cultivares M-6210-IPRO (A) e TMG-7063-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA₃ + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. 112
- Figura 35 - Número de nós (NN, nós planta⁻¹) em plantas de soja, cultivares M-6210-IPRO (A) e TMG-7063-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA₃ + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. 113
- Figura 36 - Número de ramificações (NR, ramificações planta⁻¹) em plantas de soja, cultivares M-6210-IPRO (A) e TMG-7063-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA₃ + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. 114

- Figura 37 - Produtividade (P, sacas ha⁻¹) de plantas de soja, cultivares M-6210-IPRO (A) e TMG-7063-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; Aminoácidos: Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe. Micronutrientes: Zn + Mn + Ni. Hormônios: GA₃ + CK + AIB. Extrato de alga: *Ascophyllum nodosum*] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. 116
- Figura 38 - Massa de mil grãos (M1000, g) de plantas de soja, cultivares M-6210-IPRO (A) e TMG-7063-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; Aminoácidos: Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe. Micronutrientes: Zn + Mn + Ni. Hormônios: GA₃ + CK + AIB. Extrato de alga: *Ascophyllum nodosum*] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. 117

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Descrição dos estádios fenológicos da cultura de soja. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (Esalq/USP). Piracicaba-SP. 2019.....	30
Tabela 2 - Tipo do defensivo (Td), cultivar, Concentração do defensivo (Cd), Tempo de tratamento (t), órgão e efeito de defensivos nos marcadores de estresse oxidativo em plantas (β). Modo de aplicação: pulverizado.	32
Tabela 3 - Tipo do defensivo (Td), cultivar, concentração do defensivo (Cd), tempo de tratamento (t), órgão e efeito de defensivos nos marcadores de estresse oxidativo em plantas (β). Modo de aplicação: pulverizado.	34
Tabela 4 - Tipo do defensivo (Td), espécie/cultivar, modo de aplicação (Ma), concentração do defensivo (Cd), tempo de tratamento (t), órgão e efeito de pesticidas em antioxidantes não enzimáticos em plantas (α).....	35
Tabela 5 - Experimentos conduzidos (E), Local, safra, nível tecnológico, número de variedades (Nv) e cultivares.	65
Tabela 6 - Descrição dos tratamentos, dose, cultivar e grupo de maturação (GM). Soja. Safra 2017/2018. Rio Paranaíba (MG).	66
Tabela 7 - Descrição dos tratos culturais, herbicidas, fungicidas e inseticidas, feitos no experimento na safra 2017/2018. Soja. Rio Paranaíba, MG.	67
Tabela 8 - Descrição dos tratamentos do ensaio “Atenuadores de estresse em grupos de maturação de soja”, dose, cultivar e grupo de maturação (GM). Safra 2018/2019. Rio Paranaíba (MG).	68
Tabela 9 - Descrição dos tratos culturais, herbicidas, fungicidas e inseticidas, feitos no experimento na safra 2018/2019. Soja. Rio Paranaíba (MG).	69

LISTA DE ABREVIATURAS

ABA	Ácido Abscísico.
AIB	Auxina.
Al	Alumínio
APX	Ascorbato peroxidase.
AMPA	Ácido Aminometilfosfônico
ASR	Ferrugem asiática da soja
B	Boro
CAT	Catalase.
Cd	Concentração de defensivo
CK	Citocinina.
Co	Cobalto
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento.
Cu	Cobre
DMI	Inibidores da desmetilação
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
F	Foliar
Fe	Ferro
F	Foliar
GA ₃	Giberelina.
GB	Glicina Betaína
Gly I	Glioxalase I.
Gly II	Glioxalase II.
GM	Grupo de maturação.
GPOX	Guaiacol peroxidase.
GPX	Glutathione peroxidase.
GSH	Glutathione.
GST	Glutathione- S- transferase
H ₂ O ₂	Água oxigenada.
MA	Modo de aplicação
MDA	Malondialdeído
MG	Metilglioxal

Mn	Manganês.
Mo	Molibdênio
N	Nitrogênio
NADPH	Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato
Ni	Níquel.
NO ₃ ⁻	Nitrato.
O ₂	Oxigênio
¹ O ₂	<i>singlet</i>
O ₂ ⁻	Radical Superóxido
OH ⁻	Radical Hidroxila
Phe	Fenilalanina.
POD	Peroxidase.
PPO	Polifenoloxidase.
Pro	Prolina.
PDH	Prolina Dehidrogenase
RNA	Ácido Ribonucleico
ERO	Espécies reativas de oxigênio.
RR	<i>Roundup Ready</i> .
SOD	Superóxido dismutase.
T	Tratamento.
t	Tempo de tratamento.
TBA	Ácido tiobarbitúrico.
TBARS	Ácido tiobarbitúrico.
TD	Tipo do tratamento.
TCA	Ácido tricloroacético.
TS	Tratamento de Semente.
Zn	Zinco.

1 INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* L. Merrill) é uma das culturas de maior importância econômica no mundo, correspondendo a cerca de 57% da área total semeada com grãos no Brasil. Ainda, de acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2020), a safra 2019/2020 obteve um aumento de área plantada de aproximadamente 2,7 % em relação à safra 2018/2019 totalizando cerca de 36.800 milhões de hectares plantados.

Tal investimento na soja deve-se à sua maior liquidez e à possibilidade de melhor rentabilidade em relação a outras culturas, estimulando os produtores a continuarem investindo na cultura. Nesse sentido, estima-se que a produção deverá atingir 123.249,9 mil toneladas na safra 2019/2020, contra 115.029,9 mil observado na safra anterior, representando um aumento de 7,1% (CONAB, 2020). Portanto, devido à importância dessa cultura para o país, ela tem se tornado alvo de inúmeras pesquisas, a fim de melhor aproveitar o seu potencial produtivo.

Dentre os entraves relacionados à produtividade de soja, o aumento do uso de fitossanitários seria um dos mais relevantes. Estes são utilizados a fim de diminuir os estresses por fatores bióticos afim de manter a taxa de crescimento ótimo da planta. Embora o controle químico seja o mais utilizado devido à sua maior eficiência em relação às demais formas de controles contra estresses bióticos estes produtos apresentam algumas desvantagens, tais como a fitotoxicidade, o que pode representar novas formas de estresses às plantas. Em diversos cenários de estresses, observa-se um desequilíbrio na produção natural de espécies reativas de oxigênio (ERO) que, quando em excesso, causam danos à planta (HOSSAIN et al., 2014). Para diminuir tais injúrias, as plantas desenvolveram um sistema altamente eficiente, constituído por enzimas e/ou metabólitos antioxidantes específicos, com a função de tamponar a produção exacerbada dessas ERO (BILGIN, 2010).

Na busca da redução de níveis de estresse aos quais as plantas são submetidas, aliada ao incremento de produtividade e redução dos custos de produção, novas tecnologias vêm sendo incorporadas. Assim, aplicações foliares com produtos de ação fisiológica em plantas têm se tornado frequentes. Tais compostos, além de permitirem um crescimento mais vigoroso, também são responsáveis por diminuir os danos provocados por estresses bióticos e abióticos. Neste sentido, aparece a utilização dos hormônios vegetais, aminoácidos, micronutrientes e dos bioestimulantes, que têm se tornando alvo de inúmeros estudos recentes. Os bioestimulantes são definidos como materiais que contêm uma ou mais substâncias e/ou microrganismos capazes de estimular a absorção de nutrientes por parte das plantas, aumentando sua tolerância a estresses, além de melhorar a qualidade da cultura quando aplicados em pequenas

quantidades. Além disso, produtos obtidos a partir do extrato de alga (*Ascoplyllum nodosum*) também tem sido utilizado como bioestimulantes em diversas culturas (BROWN et al., 1984), atuando na germinação de sementes, na produção de flores e frutos e aumentando a resistência a estresses biótico e abióticos (CRAIGIE, 2011).

O uso de alguns aminoácidos e seus derivados como bioestimulantes pode favorecer as plantas na tolerância contra diferentes estresses bióticos e abióticos. Isto ocorre porque alguns destes compostos como prolina, glutatona e glicina betaína atuam no sistema de defesa antioxidante das plantas. O acúmulo de prolina foi relatado durante várias condições de estresse, incluindo seca (CHOUDHARY; SAIRAM; TYAGI, 2005) e altas temperaturas (HUANG, 2015).

A prolina é importante na homeostase celular e pode atuar como uma molécula de sinalização para modular as funções mitocondriais e desencadear a expressão de genes específicos, que é essencial para a recuperação das plantas a partir de diversas formas de estresses (SZABADOS; SAVOURÉ, 2010).

A glutatona é um dos mais importantes metabólitos envolvidos na resposta de defesa contra estresses ambientais (HOSSAIN, 2017). Ela desempenha papel fundamental na interação entre plantas e bactérias simbióticas fixadoras de N (nitrogênio), na compartimentalização e neutralização de xenobióticos e metais pesados e também no transporte de metabólitos secundários (CHENG et al., 2017; NOCTOR et al., 2012).

A glicina betaína, por sua vez, é identificada como importante osmorregulador, atuando na proteção contra estresses salino, seca e baixa temperatura. Ainda, este composto também atua estabilização proteica (RuBisCo) (MAKELA; KANKKAINEN; SOMUSALO; 2000), na proteção do aparato fotossintético (ALLAKHVERDIEV et al., 2003) e redução de sequestradores de radicais livres.

Efeitos positivos podem ser constatados com a utilização desses compostos como atenuadores de estresse em plantas, sobretudo devido aos seus efeitos em associação com enzimas antioxidantes. Entretanto, ainda são necessários mais estudos que visem avaliar seu efeito sobre as relações de partição de carbono (fonte-dreno) e metabolismo do nitrogênio.

Elas sozinhas ou em combinação com hormônios em plantas podem regular muitos aspectos do crescimento e desenvolvimento de plantas desde a expressão gênica e alocação de nutrientes. Ainda, estão envolvidos na regulação do particionamento de carboidratos, processos de desenvolvimento, respostas hormonais e interações bióticas e abióticas (ROITSCH, T.; GONZÁLEZ, 2004).

Portanto o presente trabalho tem por objetivos: (i) avaliar a resposta fisiológica de plantas de soja de diferentes cultivares a compostos com potencial de atenuar o estresse na planta (ii) identificar a existência de padrão de resposta ao uso de atenuadores de estresse como aminoácidos, micronutrientes, hormônios, extrato de algas, em grupos de maturação de soja.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Importância econômica da cultura de soja

A soja (*Glycine max* [L.] Merrill) é uma planta da família Fabaceae (leguminosas), originária da Ásia e domesticada há 5000 anos, com o objetivo de utilizar o grão na dieta humana (MUNDSTOCK; THOMAS, 2005). Além de seu uso na alimentação animal e humana como uma excelente fonte de proteína, a soja aparece como uma tendência mundial no desenvolvimento de biocombustíveis.

No Brasil, a soja foi introduzida no ano de 1882 e, atualmente, vem batendo recordes sucessivos de área cultivada e de produtividade, caracterizando o país como um de seus maiores exportadores mundiais. Atualmente, safra 2019/20 de soja apresenta crescimento na área de 2,7% em relação à última temporada, continuando a tendência de aumento das últimas safras (CONAB, 2020).

A produção é estimada em 122,1 milhões de toneladas, um recorde na série histórica, apesar da quebra de safra no Rio Grande do Sul, sobretudo pelas melhores condições climáticas em diversos estados produtores. A cultura apresenta produtividades recordes em Mato Grosso, Paraná, Goiás, São Paulo, Maranhão, Rondônia e Distrito Federal, mas teve o pior rendimento do Rio Grande do Sul nas últimas oito safras.

2.2 Características fisiológicas e ciclo da cultura

Os cultivares de soja mais utilizadas no Brasil apresentam hábito de crescimento determinado, semideterminado e indeterminado. Cultivares de crescimento indeterminado apresentam caules terminados por racemos florais e, após o florescimento, ainda mantêm seu desenvolvimento vegetativo, o que reflete em um desbalanço de nutrientes pela planta, dada a competição entre os tecidos vegetativos e reprodutivos em desenvolvimento. Os cultivares de ciclo semideterminado, apresentam um menor desenvolvimento vegetativo após o florescimento, com menores exigências nutricionais neste sentido; já os cultivares de crescimento determinado, apresentam o menor investimento em desenvolvimento vegetativo após a transição para a fase reprodutiva (MUNDSTOCK; THOMAS, 2005).

Quanto ao ciclo e sua duração, ele é determinado pelos eventos de transição do desenvolvimento vegetativo para o reprodutivo, onde cada fase é marcada pelas mudanças morfológicas. Fehr e Caviness (1977) caracterizaram cada estágio com uma sigla composta por

letra e número que vai desde a emergência até a maturação (Tabela 1), para facilitar a comunicação entre produtores e pesquisadores. O sistema desenvolvido por esses autores pode ser usado para planta de soja com hábito de crescimento determinado ou indeterminado, desde que se leve em consideração a folha totalmente expandida e o quarto nó maduro do ápice para a base para avaliar o estágio fenológico.

Tabela 1 - Descrição dos estádios fenológicos da cultura de soja. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (Esalq/USP). Piracicaba-SP. 2019.

Estádios fenológicos da cultura de soja		
Sigla	Denominação	Descrição
VE	Emergência	Os cotilédones acima da superfície do solo
VC	Abertura dos cotilédones	Cotilédones totalmente abertos
V ₁	Primeiro nó	Expansão do primeiro nó maduro, par de folhas unifoliadas
V ₂	Segundo nó	Expansão do segundo nó maduro, par de folhas unifoliada e primeira folha trifoliada
V ₃	Terceiro nó	Expansão do terceiro nó maduro, par de folhas unifoliada e segunda folha trifoliada
V _n	Enésimo nó	Expansão do enésimo nó maduro, par de folhas unifoliada e enésima folha trifoliada
R ₁	Primeira flor	Primeira flor aberta (em qualquer nó da haste principal)
R ₂	Florescimento pleno	Maioria das inflorescências da haste principal com flores abertas
R ₃	Início da Frutificação	Vagens com 0,5 a 1,5 cm de comprimento no terço superior da haste principal
R ₄	Frutificação plena	Maioria das vagens no terço superior da haste principal com comprimento de 2 a 4 cm (“canivete”)
R ₅	Início do enchimento de grãos	Até 10% da granação máxima na maioria das vagens localizadas no terço superior da haste principal
R _{5.2}		Maioria das vagens no terço superior da haste principal entre 10 e 25% da granação máxima
R _{5.3}	Médio enchimento de grãos	Maioria das vagens no terço superior da haste principal com 25 a 50% da granação máxima
R _{5.4}		Maioria das vagens no terço superior da haste principal entre 50 e 75% da granação máxima
R _{5.5}	Final do enchimento de grãos	Maioria das vagens no terço superior da haste principal com 75 a 100% da granação máxima
R ₆	Enchimento pleno dos grãos	100% de granação. Maioria das vagens no terço superior contendo sementes verdes em seu volume máximo
R _{7.1}	Maturidade fisiológica(MF)	Até 50% de folhas e vagens amarelas
R _{7.2}	MF	Entre 50 e 75% de folhas e vagens amarelas
R _{7.3}	MF	Acima de 75% de folhas e vagens amarelas
R _{8.1}	Desfolha natural	Até 50% de desfolha
R _{8.2}	Desfolha natural	Acima de 50% de desfolha. Aproxima-se o ponto de colheita
R ₉	Maturidade a campo	95% de vagens com a cor da vagem madura

Adaptado de Fehr e Caviness (1977) e Ritchie, Hanway e Thompson (1982).

A temperatura e o fotoperíodo crítico são os principais fatores que afetam a duração do ciclo fisiológico da cultura de soja, sendo que a soja necessita desses fatores em uma faixa ideal para expressar o seu desenvolvimento máximo. Portanto, o seu ciclo pode ser aumentado ou reduzido em resposta ao fotoperíodo e à temperatura (FERNEDA et al., 2016).

A soja é considerada uma cultura de “dia curto”, ou seja, quando o número de horas de luz do ambiente de produção é inferior ao fotoperíodo crítico após vencido o período juvenil, ocorrendo assim a indução da transição da fase vegetativa para a fase reprodutiva (MUNDSTOCK; THOMAS, 2005). Cada cultivar de soja apresenta um fotoperíodo crítico, com isso um cultivar pode mudar o seu ciclo de acordo com a latitude, uma vez que, quanto menor o grau da latitude, menor a variação do fotoperíodo ao longo do ano (FARIAS; NEPOMUCENO; NEUMAIER, 2007).

Com a evolução da soja no Brasil se fez necessário buscar cultivares com insensibilidade ao fotoperíodo (elevado fotoperíodo crítico) e com período juvenil maior, pois os cultivares sensíveis podem ser induzidos ao processo de florescimento precocemente (baixo IAF). Segundo Lopes (2013), os cultivares de soja que obtêm um período juvenil longo proporcionam um florescimento mais tardio, e com isso favorece o cultivo da cultura em diferentes épocas e regiões do país. Se o período juvenil for longo, a soja pode se adaptar mais facilmente às regiões tropicais, e como consequência alcançar maiores produtividades e maior qualidade de produto final.

2.3 Uso de produto fitossanitário

Os produtos fitossanitários são utilizados no mundo todo para proteger plantas e pragas. Foi relatado que aproximadamente dois milhões de toneladas de fitossanitários são consumidos anualmente em todo o mundo (DE et al., 2014). O consumo global deles inclui 47,55% de herbicidas, 29,5% de inseticidas, 17,5% de fungicidas e 5,5% de outros. A toxicidade dos fitossanitários resulta na redução dos teores de clorofila e proteína, acompanhada da menor eficiência fotossintética das plantas, esses efeitos podem ser causados devido gerar espécies reativas de oxigênio plantas. Para atenuar os efeitos negativos do estresse oxidativo, a planta ativa seu sistema de defesa antioxidante, para os quais as plantas possuem dois mecanismos o enzimático e não enzimáticos (SHARMA et al., 2019).

Para o manejo padrão e ideal da cultura de soja visando à máxima produtividade esperada, faz-se necessário o controle de plantas daninhas, pragas e doenças. Neste sentido, o método de controle mais utilizado é o controle químico que, embora tenha suas vantagens comprovadas, também promovem alguns problemas para o produtor, tais como a possibilidade de causar fitotoxicidade às culturas (GAZZIERO; NEUMAIER, 1995).

A fitotoxicidade pode surgir por consequência de diversos fatores, tais como a sensibilidade (natural ou intrínseca) da cultura ao composto, dose do produto usado, misturas de produtos, uso de adjuvantes, rotação de cultura, condições ambientais adversas e manejo incorreto durante a aplicação, umidade e propriedades do solo, como umidade, temperatura, pH, textura e atividade microbiana (GAZZIERO; NEUMAIER, 1995).

Plantas sensíveis ou estressadas podem ser mais vulneráveis à fitotoxicidade. Sharma et al. (2018) verificaram que as aplicações fitossanitárias afetam negativamente o crescimento e desenvolvimento das plantas. O maior problema ao usar produtos fitossanitários é a injúria que eles causam à planta. A formação de espécies reativas de oxigênio (ERO) tem sido descrita como resultado de vários estresses abióticos, incluindo a aplicação de produtos fitossanitários (SONG et al., 2007).

Tabela 2 - Tipo do defensivo (Td), cultivar, Concentração do defensivo (Cd), Tempo de tratamento (t), órgão e efeito de defensivos nos marcadores de estresse oxidativo em plantas (β). Modo de aplicação: pulverizado. Parâmetros: peróxido de hidrogênio (H_2O_2), peroxidação lipídica (MDA).

Td	Cultivar	Cd	T	Órgão	β	
					Parâmetro	Efeito
Glifosato ¹	DM48 ³	0,94%	24 h	Folha Raiz	MDA	Aumentou Aumentou
	DM-4800-RG ³	0,94%	24 h	Folha Raiz	MDA	Aumentou Diminuiu
	M-7501 ³	0,94%	24 h	Folha Raiz	MDA	Aumentou Aumentou
	M-7575-RR ³	0,94%	24 h	Folha Raiz	MDA	Aumentou Aumentou
	Kneza-640 ⁴	10 mM	10 d	Folha	H ₂ O ₂ MDA ⁵	Aumentou
	Deltametri na ²	Soja ³	0,20%	10 d	Folha	MDA

Adaptado de (SHARMA et al., 2019)

¹ Glifosato: Moldes et al. (2008).

² Deltametrina: Bashir et al. (2007).

³ Soja (*Glycine max*).

⁴ Milho (*Zea mays*).

⁵ Vazamento de eletrólito.

Ainda, existem relatos de diferentes efeitos fisiológicos secundários induzidos por tais compostos (LYDON; DUKE, 1989; DEVINE et al., 1993), dentre eles, as alterações no metabolismo do nitrogênio e nos níveis hormonais, danos celulares e, até mesmo, a morte da planta. Por isso, para sobreviver às ERO, as plantas possuem sistemas de desintoxicação, que atuam degradando essas moléculas e transformando-as em água e O_2 (BARBOSA et al., 2014).

A desintoxicação mais importante das ERO é determinada pelos mecanismos enzimáticos, por meio da atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT). Em geral, a resposta antioxidante varia de acordo com o modo de ação do produto fitossanitário e de acordo com a cultura.

Tabela 3 - Tipo do defensivo (Td), cultivar, concentração do defensivo (Cd), tempo de tratamento (t), órgão e efeito de defensivos nos marcadores de estresse oxidativo em plantas (β). Modo de aplicação: pulverizado. Parâmetros: Ascorbato peroxidase (APX), Catalase (CAT), Superóxido Dismutase (SOD), Glutathione -S- Transferase (GST), Glutathione Redutase (GR). Modo de aplicação: pulverizado.

Td	Cultivar	Cd	T	Órgão	β	
					Parâmetro	Efeito
Glifosato ¹	DM48 ⁴	0,94%	24 h	Folha	APX	Aumentou
					CAT	Aumentou
					POD	Aumentou
				Raiz	APOX	Aumentou
					CAT	Aumentou
					POD	Diminuiu
Glifosato ¹	D-M4800-RG ⁴	0,94%	24 h	Folha	APX	Aumentou
					CAT	Diminuiu
					POD	Aumentou
				Raiz	APX	Aumentou
					CAT	Diminuiu
					POD	Diminuiu
Glifosato ¹	M-7501 ⁴	0,94%	24 h	Folha	APX	Aumentou
					CAT	Diminuiu
					POD	Aumentou
				Raiz	APX	Aumentou
					CAT	Diminuiu
					POD	Diminuiu
Glifosato ¹	M-7575-RR ⁴	0,94%	24 h	Folha	APX	Aumentou
					CAT	Aumentou
					POD	Aumentou
				Raiz	APX	Aumentou
					CAT	Aumentou
					POD	Diminuiu
Organoclorado DDT ²	Soja ⁴	63,5 ng g ⁻¹	60 d	Folha	GST	Diminuiu
				Raiz	GST	Aumentou
Deltametrina ³	Soja ⁴	0,20%	10 d	Folha	APX	Aumentou
					CAT	Diminuiu
					GR	Aumentou
					SOD	Aumentou

Adaptado de Sharma et al. (2019)¹ Glifosato: Moldes et al. (2008). ² Organoclorado DDT: Mitton et al. (2016). ³ Deltametrina: Bashir et al. (2007). ⁴ Soja (*Glycine max*).

Ainda, observa-se que, para as respostas necessárias ao estresse imposto, as plantas alocam seus recursos destinados ao crescimento para a defesa, o que reduz seu desenvolvimento e pode representar “os gastos ocultos” da defesa (BILGIN et al., 2008; NABITY; ZAVALA; DELUCIA, 2009). A ativação do sistema de defesa antioxidante auxilia na eliminação de ERO

e reduz o estresse oxidativo nas plantas causado pela toxicidade de pesticidas (SHARMA et al., 2017).

As Tabelas 2 e 3 mostram marcadores de estresse oxidativo e sistemas antioxidantes enzimáticos. A Tabela 4 mostra sistemas antioxidantes não enzimáticos de plantas tratadas com produtos (SHARMA et al., 2019).

Tabela 4 - Tipo do defensivo (Td), espécie/cultivar, modo de aplicação (Ma), concentração do defensivo (Cd), tempo de tratamento (t), órgão e efeito de pesticidas em antioxidantes não enzimáticos em plantas (α). Parâmetros: Glutathione (GSH), Prolina, Ascorbato.

Td	Espécie/ Cultivar	Ma	Cd	t	Órgão	α	
						Parâmetro	Efeito
Amida ¹	Soja ⁶	Pulverizado	1.000 g ha ⁻¹	2 d	Folha	GSH	Aumentou
Oxyfluorfen ²	Soja ⁶	Pulverizado	2.500 g ha ⁻¹	2 d	Folha	GSH	Aumentou
Glifosato ³	Kneza-640 ⁷	Pulverizado	10 mM	10 d	Folha	Prolina	Aumentou
						GSH	Aumentou
Deltametrina ⁴	Soja ⁶	Pulverizado	0,20%	10 d	Folha	Prolina	Aumentou
						Ascorbato	Aumentou
Diuron ⁵	Clark ⁶	Solo	2 ppm	7 d	Folha	GSH	Aumentou
	Crawford ⁶	Solo	2 ppm	7 d	Folha	Prolina	Aumentou

Adaptado de Sharma et al. (2019)¹ Amida: Andrews et al. (2005). ² Oxyfluorfen: Andrews et al. (2005). ³ Glifosato: Moldes et al. (2008).

⁴ Deltametrina: Bashir et al. (2007). ⁵ Diuron: Fayeze (2000). ⁶ Soja (*Glycine max*). ⁷ Milho (*Zea mays*).

2.3.1 Herbicidas

A soja *Roundup Ready* (RR) consiste em um cultivar geneticamente modificada que tem a característica de tolerância ao herbicida não seletivo, glifosato (N-fosfonometilglicina), conferida através da inserção de um gene na planta de soja que codifica a proteína CP₄, extraído de uma espécie do gênero *Agrobacterium*, microrganismo comumente encontrado no solo, introduzido na soja pelo método de biobalística. Essa proteína é funcionalmente semelhante à EPSP, exceto em sua tolerância ao herbicida glifosato. A ação da proteína CP₄ somada à ação da enzima EPSP confere a tolerância à soja em relação ao princípio ativo do glifosato. Desse modo, a inibição da síntese de EPSP em plantas que não possuem o gene que sintetiza a proteína CP₄ é particularmente estratégica (KRUSE; TREZZI; VIDAL, 2000).

O glifosato é um herbicida não seletivo, relativamente pouco tóxico para os animais, permitindo implantação de culturas em rotação como a do milho, soja, feijão, o que possibilita o seu uso em larga escala na agricultura brasileira (ABREU; MATTA; MONTAGNER, 2008). Com o desenvolvimento de plantas transgênicas tolerantes a esse herbicida, ele também passou a ser usado em pós emergência da cultura de interesse (PEREIRA et al., 2007).

Com o desenvolvimento desse cultivar pode ser observado aumento considerável na utilização desse herbicida aplicado, principalmente na pós-emergência, aplicando-se de três a quatro vezes durante o ciclo da cultura. Essas sucessivas aplicações de um único produto podem interferir negativamente nas plantas de soja. A soja RR mostra, constantemente em condições de campo, um sintoma clorótico indesejável atribuído ao acúmulo do primeiro metabólito fitotóxico do glifosato, conhecido como ácido aminometilfosfônico (AMPA), o qual é um dos responsáveis pela diminuição da biomassa seca da parte aérea e raiz e do teor de clorofila (KING; PURCELL; VORIES, 2001).

A molécula do glifosato é ácido orgânica está fortemente ligado aos minerais do solo, com a sorção dependendo dos tipos, conteúdo e cristalinidade dos minerais, pH, teor de fosfato e matéria orgânica (BORGGARD; GIMSING, 2008). Os solos que contêm quantidades maiores de matéria orgânica, argila e óxidos de Fe e Al podem absorver mais glifosato (LAITINEN et al., 2009) e potencialmente reduzir sua atividade tóxica nas raízes (HENSLEY; BEUERMAN; CARPENTER, 1978). A fertilização com fosfato pode remobilizar o glifosato ligado, substituindo-o em locais de ligação no solo, aumentando assim os riscos de lixiviação do glifosato e de absorção pelas plantas (BOTT et al., 2011). Isso pode ser particularmente importante quando o fosfato é aplicado em concentrações mais altas durante a adubação.

Os últimos autores também enfatizam que o papel do AMPA na alteração da fisiologia das plantas está longe de ser claro. Também foram observados efeitos horméticos de doses não letais de glifosato (atuando como regulador do crescimento) em plantas não resistentes. Isso significa que baixas taxas (em geral, até 25 g [i.a.] ha⁻¹, variando entre espécies e estágios de desenvolvimento) podem induzir o acúmulo de ácido chiquímico e aumentar o crescimento das plantas, a fotossíntese, a abertura estomática e a produção de sementes, mas como esses efeitos são trazidos sobre não é claro (BRITO et al., 2017).

Estudos que mostram potenciais efeitos colaterais prejudiciais do glifosato no crescimento das plantas e no status de micronutrientes (Mn e Zn). Trabalho realizado por Bott et al. (2008), com aplicação de glifosato, mostrou que o mesmo inibiu significativamente a produção de biomassa radicular, o alongamento radicular e a formação de raízes laterais, associada a uma redução de 50% nas concentrações de Mn em cultivo hidropônico. Devido a seus três grupos químicos (amina, carboxilato e fosfonato), o glifosato pode se ligar fortemente a cátions, como Ca, Fe, Zn, Al e Mn. Embora, comparado ao EDTA (etilenodiaminotetraacetato), o glifosato tenha sido descrito como um quelante fraco (DUKE et al., 2012), ele pode ligar micronutrientes importantes (e potencialmente também

macronutrientes), impedindo, assimilação e absorção de plantas sensíveis a aplicação de glifosato (CAKMAK et al., 2009).

Em produtos comerciais, o glifosato ácido orgânico é frequentemente usado na sua forma de sal, com isopropilamina (IPA, sinônimo isopropilamônio) como um cátion, mas o IPA também é um quelante, por exemplo, de ferro e, portanto, pode aumentar o potencial quelante do glifosato (SONIER; WEGER, 2010). Como micronutrientes são importantes cofatores de enzimas de plantas e desempenhar um papel na estabilização de proteínas e outras funções fisiológicas, uma suboferta de nutrientes, tais como Mn, Fe, Cu, e Zn podem ter impacto fotossíntese e planta crescimento e potencialmente aumentar doenças de plantas (JOHAL; HUBER, 2009).

Zobiole et al. (2010) relataram que a soja RR de vários cultivares cultivados em diferentes tipos de solo experimentou *flash amarelo* e diminuições significativas nos parâmetros fotossintéticos (clorofila, taxa fotossintética), teor de Ni e número de nódulos no tratamento com glifosato (1,2 kg [i.a.] ha aplicação única ou sequencial).

A massa de matéria seca de parte aérea, raiz e nódulo também foi menor, este último potencialmente ligado à menor disponibilidade de Ni a microrganismos simbióticos que requerem Ni para fixação eficiente de N (LAVRES; CASTRO FRANCO; CÂMARA, 2016).

Outros estudos mostraram que o tratamento com taxas crescentes de glifosato (cinco doses de 0,6 a 2,4 kg [i.a.] ha⁻¹, aplicadas em dose única ou sequencial) diminuiu os parâmetros fotossintéticos nos tecidos foliares de soja de primeira geração GR de maneira linear e com acúmulo reduzido de macronutrientes (na ordem Ca > Mg > N > S > K > P) e micronutrientes (na ordem Fe > Mn > Co > Zn > Cu > B > Mo), em comparação com a linhagem parental não resistente quase isogênica. A eficiência no uso da água também foi reduzida (ZOBIOLE et al., 2010a).

Os impactos da aplicação única versus aplicação sequencial variaram, com aplicações únicas da dose completa, levando a efeitos mais fortes no acúmulo de macro e micronutrientes. O tratamento com glifosato também pode reduzir as concentrações de macro e micronutrientes nas sementes de soja GR, embora o padrão não seja tão claro quanto na biomassa seca de folhas, brotações e raízes (ZOBIOLE et al., 2010b).

Os impactos do glifosato na nutrição mineral e os teores totais de N, Mn, Cu, Zn e Fe na soja GR também foram observados por outros grupos. Em cultivo de soja observou que a aplicação de glifosato interferiu na absorção e translocação de Ca, Mg, Fe e Mn (SERRA et al., 2011).

O glifosato afeta a nodulação e a fixação simbiótica de nitrogênio, potencialmente devido à sensibilidade dos simbiontes de soja e de outras leguminosas ao glifosato (ZABLOTOWICZ; REDDY, 2004).

Dependendo das taxas de glifosato, foi relatada redução da fixação e / ou assimilação de nitrogênio nos sistemas de soja GR (ZOBIOLE et al., 2012), em particular nas taxas de uso acima do rótulo de glifosato e sob estresse hídrico no solo (ZABLOTOWICZ; REDDY, 2007).

Na soja não-GR, a assimilação de nitrato e a fixação de nitrogênio podem ser afetadas por uma única aplicação de uma taxa de desvio de pulverização (0,1 kg ia / ha) de glifosato (BELLALLOUI et al., 2006).

Embora os impactos do glifosato na fixação de nitrogênio na soja possam ser atribuídos a um EPSPS sensível ao glifosato de certas cepas do simbionte *Bradyrhizobium japonicum* (DUKE et al., 2012), as propriedades quelantes do glifosato podem contribuir para os efeitos negativos observados. É sabido que a nodulação e a fixação de nitrogênio também dependem de vários micronutrientes, por exemplo, Fe, Cu, Co, Zn, Ni e B (GONZÁLES-GUERRERO et al., 2014).

2.3.2 Fungicidas

A ferrugem asiática de soja (ASR) causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi* é uma das doenças mais graves que afetam o cultivo de soja, com danos variando de 10 a 90%, sendo observados danos na ordem de 50% no Paraguai, 80% na Austrália e 55 % no Brasil. Ainda assim, as perdas representaram 21 bilhões de dólares no Brasil entre 2002 e 2013 (GODOY, 2016).

O uso de fungicidas é uma das principais estratégias para o manejo da ASR, onde a eficácia do controle depende da eficiência do fungicida, do tempo e da frequência das aplicações, bem como do ajuste da tecnologia de aplicação ao alvo e à cultura (CUNHA; SILVA, 2010).

Em resposta ao aumento dos custos de insumos e à redução das margens de lucro, os produtores de soja, estão continuamente procurando maneiras de aumentar o rendimento de soja. Uma abordagem que está sendo promovida é o uso de fungicidas foliares, tanto para o controle do patógeno foliar quanto para os efeitos fisiológicos, tendo em vista aumentar a sanidade das plantas aumentando intervalo de aplicação.

O que tem se utilizado no manejo de doenças na cultura de soja são aplicações preventivas de ação meso-sistêmicas, por meio de dois princípios ativos: carboxamidas e

estrobilurinas e os curativos de ação sistêmica (triazóis e multissítios), nos estádios Vn, R₂, R₅, caso não ocorram doenças atípicas ou surtos de doenças ao longo do ciclo da cultura. No trabalho realizado por Zuntini et al. (2019), foi verificado que tratamentos com adição de mancozeb, triazóis e estrobilurinas são mais eficientes na redução da severidade e desfoliação da doença ferrugem asiática de soja, aumentando assim a produtividade de grãos da cultura de soja.

A utilização de estrobilurinas tem aumentado a produtividade na ausência de doenças foliares em trigo (*Triticum aestivum* L.) e cevada (*Hordeum vulgare* L.) (GROSSMANN; KWALTOWSKI; CASPAR, 1999; BAYLES; HILTON, 2000).

Além disso a piraclostrobina tem sido relatada a causar alterações fisiológicas em plantas tratadas, tais como o aumento da cor verde da folha, o teor de clorofila, a fotossíntese, e a utilização de água a eficiência, bem como senescência retardada (BRYSON; LEANDRO; JONES, 2000; GROSSMANN; RETZLAFF, 1997; GROSSMANN; KWALTOWSKI; CASPAR, 1999).

Vários estudos revelaram os efeitos fisiológicos não fungicidas da piraclostrobina nas culturas (FAGAN et al., 2010; JOSHI; SHARMA; GURUPRASAD, 2014). Em soja, (SWOBODA; PEDERSEN, 2009), verificou incremento de biomassa total, foi 10% maior com a piraclostrobina aplicada no R₃ em comparação com o controle e foi resultado do aumento da massa do caule.

A aplicação da estrobilurina causou algumas mudanças fisiológicas positivas, levando a um maior rendimento, como modificações no equilíbrio hormonal, conservação da água e atraso na senescência (VINCELLI; DIXON, 2002; KÖEHLE et al., 2002; VEM ÂNCIO et al., 2004).

Além disso, esses autores descobriram que a piraclostrobina estimulava os níveis de ácido abscísico endógeno (ABA), e isso poderia, por sua vez, favorecer a adaptação às condições de escassez de água (VENANCIO et al., 2004). No entanto, os efeitos fisiológicos positivos da estrobilurina aplicados às culturas nem sempre emergiram (SWOBODA; PEDERSEN, 2009).

Desde seus primeiros anos de uso, esses fungicidas diferiram bastante em sua eficácia no controle da ASR. Portanto, no Brasil, a eficácia do fungicida é avaliada anualmente desde 2003/2004 em uma rede nacional de ensaios padronizados e uniformes de campo (UFT). Os resultados obtidos de 2003/2004 a 2006/2007 foram revisados quantitativamente usando uma meta-análise (SCHERM et al., 2009).

Os fungicidas DMI como, por exemplo, os triazóis aplicados isoladamente tiveram melhor desempenho do que os QoI aplicados isoladamente, mas houve uma ampla gama de eficácia entre os DMI: protioconazol e tebuconazol foram os mais eficazes, enquanto fluquinconazol e difenoconazol foram os menos eficazes. A aplicação de QoI isoladamente foi recomendada apenas no primeiro período de crescimento e, desde então, deve ser utilizada apenas se associada a outros fungicidas para o controle da RAS no Brasil (GODOY, 2016).

As principais características do grupo dos triazóis: fungicidas orgânicos, formados pela adição de diferentes radicais químicos a uma molécula de 1,2,4-triazol. Excetuando-se o fungicida bitertanol, classificado como locossistêmico, a maioria dos triazóis são sistêmicos, absorvidos e translocados pela planta de forma acropetal. Os fungicidas triazóis podem atuar como protetores ou curativos. Apresentam elevada fungitoxicidade, rápida penetração e translocação nos tecidos vegetais. Com ação curativa e elevado efeito residual. Como protetores, estes fungicidas apresentam ação tóxica sobre a germinação de esporos, sobre a formação do tubo germinativo e na formação do apressório. Entretanto, esta proteção é apenas parcial, uma vez que pode ocorrer penetração do patógeno em tecidos tratados. Na ação curativa o desenvolvimento do haustório e/ou o crescimento micelial no interior dos tecidos do hospedeiro são inibidos pela presença do fungicida (EHR; KEMMITT, 2002; FORCELINI, 1994).

A redução no crescimento do feijão-guandu (*Vigna radiata*) após a aplicação de fungicida neste estudo pode ser devida aos efeitos adversos do tebuconazol na fixação de N₂ (AHEMAD; KHAN, 2012), (devido à interrupção da sinalização entre fitoquímicos e receptores *Rhizobium* Nod D) (FOX et al., 2005) ou viabilidade / atividade do PGPR rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (GUENE et al., 2003) ou como resultado da inibição de enzimas envolvidas no crescimento e no metabolismo das plantas como da síntese de giberelina, principalmente GA1 (ZABLOTOWICZ; REDDY, 2004).

Outros problemas de fitotoxidez relatados são a violação da síntese de giberelinas (efeito retardador), a síntese de esteróis, uma diminuição na transpiração das plantas (BAIBAKOVA et al., 2019). Ressalta-se que ainda falta bastante informações a serem elucidadas a respeito de fitotoxidade de fungicidas.

2.3.3 Inseticidas

Os inseticidas compreendem um dos principais grupos de agrotóxicos utilizados nos cultivos, em especial na cultura de soja, em que principalmente os piretróides, organofosforados

e carbamatos que atuam por contato nos insetos pragas, necessitam de uma aplicação de elevada eficiência, com elevada cobertura foliar e uniforme ao longo do dossel, atingindo o inseto e diminuindo as perdas para o ambiente (CUNHA; TEIXEIRA; FERNANDES, 2007; VIEGAS NETO, 2013).

Os inseticidas tornaram-se uma das principais causas de toxicidade mutagênica e alterando o metabolismo de enzimas oxidantes em espécies de plantas. As espécies respondem de forma diferente para diferentes fitossanitários em termos da sua absorção, translocação, degradação ou ativação, e acumulação de resíduos e metabolitos, cuja consequência é a toxicidade diferencial, incluindo genoma toxicidade (GANGULY et al., 2010).

A absorção de muitos inseticidas nas plantas provoca choque químico, o que resulta em interferência de crescimento e metabolismo por desencadeamento de respostas secundárias tais como danos oxidativos por produzir altamente ERO. Diversos estudos relataram que a sobre-expressão de enzimas antioxidantes, tais como superóxido dismutase (SOD) proteção conferida contra as condições de stress oxidativo (BOWLER; VAN MONTAGU; INZÉ, 1992; VANCAMP et al., 1996). A indução da atividade da peroxidase (POD) em plantas ocorre em resposta a numerosos bióticos e abióticos estímulos, incluindo a exposição a agentes patogênicos ou preparações elicitor, agentes oxidantes químicos, luz vermelha, e estímulos mecânicos (HAMMERSCHMIDT; NUCKLES; KUC, 1982).

Em um estudo realizado por Petter et al. (2007), foram testados 11 tratamentos inseticidas [lambdacihalotrin ($3,75 \text{ g ha}^{-1}$); permetrin ($12,50 \text{ g ha}^{-1}$); metamidofós ($300,00 \text{ g ha}^{-1}$); chlorpyrifos ($240,00 \text{ g ha}^{-1}$); acefato ($150,00 \text{ g ha}^{-1}$); endosulfan ($175,00 \text{ g ha}^{-1}$); metomil ($107,50 \text{ g ha}^{-1}$); lufenuron ($7,50 \text{ g ha}^{-1}$); triflumuron ($14,40 \text{ g ha}^{-1}$); espinosade ($24,00 \text{ g ha}^{-1}$); e testemunha sem inseticida], com ou sem a adição (mistura em tanque) de $960 \text{ g [i.a.] ha}^{-1}$ de glifosato. A mistura do herbicida glifosato com o inseticida clorpirifos causou fitotoxicidade inicial à cultura de soja RR[®]. O controle das plantas daninhas *Chamaesyce hirta*, *Alternanthera tenella*, *Euphorbia heterophylla* e *Cenchrus echinatus* não foi afetado pelas misturas de glifosato com todos os inseticidas avaliados. A adição do glifosato à calda de aplicação prejudicou a eficiência inicial dos inseticidas methomyl, metamidofós, clorpirifos e acefato no controle de *Anticarsia gemmatilis*, porém incrementou o controle dessa praga quando associado aos inseticidas espinosade, lambdacihalotrin e lufenuron. A combinação de glifosato com os inseticidas metamidofós, clorpirifós, lufenuron, triflumuron e espinosade proporcionou os maiores níveis de produtividade de grãos de soja RR[®].

Ganguly et al. (2010) avaliaram o efeito de inseticidas organofosforado sobre o comportamento cromossomal, níveis de proteína nas folhas e atividade antioxidante da espécie *Lathyrus sativus* (leguminosa), verificaram que SOD e POD tanto diferencialmente acumulada nas folhas devido à aplicação dos inseticidas, estes resultados indicam que o aumento do nível de H_2O_2 , inseticidas sob tensão está intimamente ligada à capacidade melhorada de enzimas antioxidantes. O aumento no POD e SOD e supressão de EST pode ser relacionada com a do sinal relacionadas com a defesa desencadeou-se em consequência a aplicação exógena de inseticidas ou a interferência de sistemas de via bioquímica de proteínas e enzimas.

Assim conclusão que pode ser tirada a partir dos resultados do estudo é que, devido à tóxico em influência de inseticidas, as plantas são sujeitas a estresse e como consequência, os mecanismos de defesa de plantas tornar-se mais forte e capaz de lidar com os estresses.

2.4 Estresse oxidativo

O oxigênio é o elemento mais abundante na crosta terrestre. Como compreende aproximadamente 89% da massa da água, o oxigênio é o elemento mais abundante nos organismos vivos. Depois do flúor, é o primeiro elemento químico com poder oxidante. Na atmosfera, a maior parte do elemento está disponível na forma O_2 . Esta molécula tem dois elétrons desemparelhados (O_2), o que a torna ela apta a receber elétrons. Isso a caracteriza como um radical livre, o que possibilita a formação de espécies reativas de oxigênio (ERO). Entre as principais ERO produzidas, estão oxigênio singlete (1O_2), radical hidroxila ($\cdot OH$), radical superóxido ($O_2^{\cdot -}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e óxido nítrico ($NO\cdot$), que são causadores de estresse oxidativo (DEMIDCHIK, 2015).

Quando a condição ambiental é normal para o desenvolvimento das plantas, a produção de ERO é baixa, em torno de $240 \mu M s^{-1} O_2^{\cdot -}$ e $0,5 \mu M H_2O_2$ no cloroplasto. Nesse caso, o mecanismo antioxidante das células age e impede que ocorram danos oxidativos nas células ou faz com que esses sejam mínimos. Em condições ambientes desfavoráveis, como estresse hídrico, por temperatura, por radiação, entre outros, o nível de produção de ERO aumenta ($240-720 \mu M s^{-1} O_2^{\cdot -}$ e $5-15 \mu M H_2O_2$) para um nível superior à capacidade do metabolismo antioxidante. Nestas situações, ocorrem danos nas células, que podem levar a morte do tecido (POLLE, 2001). A morte dos tecidos ocorre porque as ERO causam peroxidação de lipídeos da membrana, oxidação das proteínas, inibição da atividade de enzimas e danos ao material genético (DNA e RNA) (MITTLER, 2017).

A atividade das enzimas antioxidantes é verificada nos cloroplastos, citosol, peroxissomos e mitocôndrias. No cloroplasto existe atividade dessas enzimas tanto no lúmen como no estroma. No lúmen é gerado O_2^- no fotossistema I e o oxigênio singlete (1O_2) no fotossistema II. O O_2^- produzido sofre ação imediata da ZnCu-SOD, que através da adição de $2H^+ + 1e^-$ forma o H_2O_2 . Depois de formado o H_2O_2 , é transformado em H_2O através de três possíveis rotas, ou pode produzir OH^- (radical hidroxila) (ALSCHER; ERTURK; HEATH, 2002).

Na primeira via, o H_2O_2 sofre ação do ascorbato peroxidase (Apx) transformando-o em H_2O . Porém, essa enzima para realizar esse processo utiliza energia do ascorbato, formando o monodehidroascorbato (MDA) (GILL; TUTEJA, 2010).

O MDA pode seguir por duas vias. A primeira é aquela que sofre a ação da MDH redutase, que utiliza a energia do NADPH regenerando o ascorbato. Na segunda via, o MDA é transformando em DHA (dehidroascorbato). Essa molécula sofre a ação da DHA redutase que retira energia de duas glutations reduzidas, às quais dão origem a glutatona oxidada, com dois grupos tiols. Isso ocorre desde que a enzima glutatona redutase utilize a energia do NADH (APEL; HIRT, 2004).

A segunda via de desintoxicação do H_2O_2 é aquela em que a glutatona peroxidase usa a energia do GSH para formar H_2O . Já na terceira via, o H_2O_2 pode ser atacados pelas enzimas peroxiredoxina, formando H_2O . Essa enzima usa como base energética as tiorredoxinas (MITTLER et al., 2004).

No lúmen do tilacóide, as reações de desintoxicação de ERO são similares aos verificados no estroma. Neste local, o O_2^- produzido no fotossistema I sofre a ação da CuZn-SOD dando origem ao H_2O_2 . Essa molécula pode sofrer ação da ascorbato peroxidase que retira a energia do ascorbato dando a origem ao NDA e formando H_2O . O ascorbato é regenerado pela energia da ferredoxina (ALSCHER; ERTURK; HEATH, 2002).

No peroxissomo, a produção de ERO está associada à fotorrespiração. Uma parte do H_2O_2 gerado é devido à atividade da enzima glicolato oxidase. A desintoxicação do H_2O_2 é realizada pela catalase, dando origem a $H_2O + O_2$, e pela APX, formando H_2O e MDA que logo é transformado em ascorbato. Também é possível a formação de H_2O_2 a partir do O_2^- pela ação CuZn-SOD (MITTLER et al., 2004).

Na mitocôndria, a via mais importante da síntese de ERO é o complexo ubiquinona na matriz mitocondrial. Quando o fluxo de elétrons é interrompido, parte desses podem seguir para alternase oxidativa (AOX) formando H_2O . O restante é direcionado ao O_2 , transformando-o em

O_2^- e posteriormente a H_2O_2 . Essa molécula segue para o espaço intermembrana da mitocôndria onde sofre ação da ascorbato peroxidase. Nesse caso ocorre a formação de H_2O e o ascorbato é transformado em MDA, para regenerar o ascorbato e MDA, que segue para a matriz mitocondrial. Na matriz mitocondrial, o MDA pode receber energia da NADPH catalisada pela MDHR, ou da glutathione reduzida (APEL; HIRT, 2004).

Os principais estresses que estão relacionados com a produção de ERO são os ocasionados por excesso de luminosidade, estresse hídrico, térmico, salino e pela contaminação de metais pesados (cádmio, chumbo e alumínio). A planta utiliza mecanismos que diminuem a concentração de ERO nas células, ou em muitos casos amenizam. Esses processos envolvem atividade das enzimas antioxidantes (catalase, superóxido dismutase, glutathione redutase e ascorbato peroxidase) (FOYER, 2018).

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

A utilização de enzimas antioxidantes pode ser uma ferramenta importante para diagnosticar os níveis de estresse pelo qual a planta está sendo submetida. Sendo assim, o entendimento da atividade das mesmas é fundamental para que se possa minimizar os efeitos de estresses ambientais que repercutem diretamente na produtividade dos cultivos. Quando ocorrem elevadas concentrações de ERO em células, muitas estruturas celulares são degradadas. Esses danos podem induzir a morte celular, ou causar a destruição de moléculas e estruturas celulares. Estes danos celulares são conhecidos como peroxidação lipídica. Para a reparação dos danos, as células requerem energia metabólica da planta, diminuindo assim a disponibilidade da mesma para o crescimento de órgãos reprodutivos.

Porém, depois de sintetizados, as ERO podem desempenhar funções diversas no interior das células que iniciam através de uma rede de sinalização acoplada a expressão e repressão de genes. Diferentes sinais celulares (reconhecimento de patógenos ou percepção de estresses) realçam a produção de ERO em células através de vias de sinalização.

2.5 Sistema antioxidante não enzimático

O sistema celular de defesa antioxidante começa com uma cascata enzimática, mas envolve também componentes não enzimáticos, dentre os quais se destacam o ascorbato (AsA), a glutathiona (GSH), glicina betaina, prolina, o β -caroteno e o α -tocoferol, além de aminoácidos e vitaminas.

Em geral, antioxidantes não enzimáticos vegetais são sintetizados no estroma dos cloroplastos e mitocôndrias, além do citosol. Esses antioxidantes reduzem as interações redox em vários componentes celulares, levando ao maior alongamento e crescimento das células vegetais (SHARMA et al., 2012). Ainda, eles podem afetar a expressão gênica relacionada a respostas de estresses ambientais para maximizar os mecanismos de defesa das plantas.

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

Os aminoácidos são moléculas orgânicas essenciais no metabolismo primário e secundário das plantas. Alguns servem para assimilar e transportar N de órgãos fontes para drenos, outros são precursores para a síntese de metabolitos secundários, como é o caso de hormônios e moléculas de defesa (BUCHANAN; GRUISSEM; JONES, 2000).

Alguns trabalhos relatam o papel de alguns aminoácidos específicos na tolerância de plantas a estresse. Após exposição de plantas a metais, muitas vezes elas sintetizam um conjunto de diversos metabolitos que se acumulam a concentrações na gama milimolar. Acumulam-se aminoácidos específicos, tais como prolina e histidina, peptídeos como glutathiona, fitoquelatinase as aminas espermina, espermidina, putrescina e nicotiamina (SHARMA; DIETZ, 2006).

2.5.1 Glutathiona

A glutathiona é um tripéptido ubíquo (γ -glutamil-cisteinil-glicina; γ -Glu-Cys-Gly) que contém longos grupos hidrofílicos. A estrutura da GSH inclui uma ligação entre o grupo

carboxil da cadeia lateral do glutamato (Glu) e o grupo amina da cisteína (Cys) que é ligado a uma glicina por uma ligação peptídica.

No entanto, o grupo tiol é o principal grupo quimicamente reativo no que diz respeito às suas funções biológicas e bioquímicas (ZAGORCHEV et al., 2013). A ligação Glu do GSH leva a um aumento da reatividade em relação à sua participação no ciclo γ -glutamil e protege o GSH contra ataques de aminopeptidases (WONISCH; SCHAUR, 2001).

A glutathiona é um tripéptido de baixa massa molecular encontrado em alta concentração (milimolar) em todos os organismos aeróbicos (HASANUZZAMAN et al., 2012; GILL et al., 2013).

É encontrado no citosol, retículo endoplasmático, vacúolos, mitocôndrias, cloroplastos, peroxissomos e apoplastos (NOCTOR; FOYER, 1998). Por exemplo, nas células do mesófilo do tabaco, o GSH é distribuído em 76, 17 e 7% em cloroplasto, vacúolo e citoplasma, respectivamente (BERTHE-CORTI et al., 1992).

Algumas espécies de plantas (por exemplo, soja, ervilha e amendoim) não contêm principalmente GSH. Em vez disso, eles contêm outro tiol chamado homoglutathiona (γ -glutamilcisteinil- β -alanina), que funciona de maneira semelhante ao GSH e mostra a mesma reação redox. A GSH é considerada como uma biomolécula ideal em resposta a estresses abióticos devido à sua alta estabilidade, além de atuar como substrato para as enzimas antioxidantes glutathiona peroxidase e glutathiona-S-transferase (NOCTOR et al., 2012).

O equilíbrio da biossíntese, transporte e degradação da glutathiona é importante na defesa contra o estresse oxidativo nas células vegetais em situações normais e estressantes (NOCTOR et al., 2012). A GSH é continuamente oxidada em GSSG (glutathiona oxidada) e depois regenerada pela glutathiona redutase (GR), que depende do NADPH.

GSH é uma molécula chave na defesa celular contra danos oxidativos causados por ERO, e novas funções para essa molécula ainda estão sendo descobertas. O ERO preferencialmente oxida a GSH em vez de moléculas como lipídios, proteínas estruturais e ácidos nucleicos, o que evita possíveis danos a essas estruturas e suas funções (HALLIWELL; FOYER, 1978).

O papel do GSH no metabolismo antioxidante é bem discutido na literatura (NOCTOR et al., 2012). Já, a glutathiona pode agir como um regulador de expressão gênica (WINGATE; LAWTON; LAMB, 1988; BAIER; DIETZ, 1997) e aparece como precursora das fitoquelatinas, que auxiliam na eliminação de metais pesados (GRILL et al., 1989), além de servir como substrato para as enzimas GSH S-transferases, responsáveis por catalisar a conjugação de GSH com potenciais xenobióticos, tais como herbicidas (MARRS, 1996), e estar

envolvida na regulação redox do ciclo celular (GYURIS et al., 1993; RUSSO et al., 1995; SHAUL et al., 1996; SANCHEZ-FERNANDEZ et al., 1997).

A glutationa pode ajudar a melhorar o desempenho da planta sob estresse salino. O crescimento de plântulas em meios contendo sal é regulado pelo GSH ou pelas atividades de enzimas reguladoras e dependentes da glutaciona (ROXAS et al., 1997).

A glutaciona também está associada à desintoxicação do metilglioxal. Atua como cofator no sistema glioxalase e ajuda a desintoxicar o metilglioxal em reações passo a passo envolvendo duas enzimas viz, glioxalase I (Gly I) e glioxalase II (Gly II). Os resultados da pesquisa demonstraram que o GSH atua como um desintoxicante de metilglioxal que confere tolerância ao estresse salino (SINGLA-PAREEK; REDDY; SOPORY, 2003).

A função protetora contra o estresse oxidativo induzido por NaCl no tabaco surgiu por uma redução na carboxilação de proteínas e uma defesa antioxidante melhorada e sistemas de desintoxicação de MG desencadeados pela aplicação exógena de prolina e glicina betaína. O aumento do nível de GSH, o estado redox de GSH e a atividade de GPX, glutationa- S- transferase (GST) e Gly I foram associados à tolerância ao estresse salino no tabaco (HOQUE et al., 2008).

As quantidades de diferentes componentes antioxidantes como GSH, AsA, carotenoides, fenóis, prolina e glicina betaína também mudaram em resposta ao estresse salino. A preparação de sementes com GSH exógeno e ácido poliadenílico melhorou a tolerância de mudas de *Brassica* ao estresse salino e foi associado a níveis aumentados de antioxidantes e atividades aprimoradas das enzimas antioxidantes SOD e fenol peroxidase (KATTAB, 2007).

Recentemente, Nahar et al. (2015) mostraram que o GSH exógeno poderia resultar em indução coordenada dos sistemas antioxidante e glioxalase, que efetivamente reduziam os danos oxidativos e a toxicidade da MG, além de melhorar a adaptação fisiológica das mudas de *V. radiata* ao estresse de sal a curto prazo (NaCl 200 mM, 24 e 48 h).

A aplicação da glutaciona induziu níveis mais altos de ABA, o hormônio vegetal que controla a germinação das sementes, regula a abertura estomática e reduz a taxa de transpiração (CHEN et al., 2012). A glutaciona (GSH) esteve envolvida no fechamento estomático induzido pelo ABA, pois sua presença em células guarda regulava a sinalização do ABA no mutante *Arabidopsis* cad2-1 (OKUMA et al., 2011).

Figura 1 - Mecanismos de desintoxicação de ERO por diferentes enzimas antioxidantes. O ciclo AsA-GSH consiste em AsA (ascorbato) e GSH (glutathiona) e enzimas antioxidantes APX (ascorbato peroxidase), MDHAR (monodesidroascorbato redutase), DHAR (desidroascorbato redutase), GR (glutathiona redutase). Monode-hidroascorbato de MDHA, desidroascorbato de DHA. Linhas pontilhadas indicam conversões não enzimáticas. R pode ser um grupo alifático, aromático ou heterocíclico; X pode ser um grupo sulfato, nitrito ou halogeneto. Estresses abióticos geram espécies reativas de oxigênio (ERO). O SOD (superóxido dismutase) é considerado a primeira linha de defesa no processo de desintoxicação do ERO e converte $O_2^{\bullet -}$ em H_2O_2 . Este H_2O_2 pode ser convertido em H_2O por atividade (catalase) CAT ou H_2O_2 entra no ciclo de ASA-GSH, onde APX, usando ASA, o converte H_2O_2 a H_2O . Durante a participação no processo de desintoxicação de ERO, ASA é oxidado para DHA (desidroascorbato redutase). O AsA é regenerado através das enzimas do ciclo AsA-GSH MDHAR e DHAR em uma reação passo a passo. No ciclo AsA-GSH, o GSH participa da desintoxicação de ERO (pela atividade da enzima GPX /glutathiona peroxidase ou GST/glutathiona-S-transferase) ou xenobióticos (pela atividade de GST). O GSH é convertido em GSSG (dissulfeto de glutathiona) durante a desintoxicação de ERO e esse GSSG é reciclado novamente para GSH pela atividade de GR. Adaptado de Hasanuzzaman et al. (2017).

Akter et al. (2012) mostraram um envolvimento de GSH no fechamento estomático induzido por ABA e jasmonato de metila (MeJA) em *Arabidopsis thaliana*. Estudos também mostraram que o GSH regula outros componentes antioxidantes que também induzem a tolerância ao estresse por temperatura. Como em outras tensões, acredita-se que o GSH atue como uma molécula de sinalização ou como um regulador de crescimento para melhorar a tolerância extrema ao estresse de temperatura nas plantas (HASANUZZAMAN et al., 2012).

Um conteúdo aumentado de GSH e atividades de enzimas antioxidantes, como SOD, CAT, GST, MDHAR, DHAR e GR, que reduziram o estresse oxidativo e aumentaram a

tolerância ao cádmio da planta exógena de feijão-mungo tratado com espermina (NAHAR et al., 2016).

Em outro estudo, a espermidina exógena aumentou os conteúdos de AsA e GSH, atividades de APX, DHAR, GR e CAT, que reduziram a produção de ERO e o estresse oxidativo sob estresse de alumínio (NAHAR et al., 2017).

A glutathione é um forte antioxidante; portanto, tem um papel vital na defesa antioxidante. Sob condições ambientais adversas, quantidades excessivas de ERO são formadas, o que leva ao estresse oxidativo. No entanto, as plantas desenvolveram sistemas de defesa antioxidantes bem equipados e de GSH é uma das principais moléculas que faz parte integrante do ciclo de ASA-GSH que elimina H_2O_2 . A glutathione reage com $O_2^{\cdot -}$, $OH^{\cdot}$ e H_2O_2 formam adutos com electrófilos reativos (glutathionação). A glutathione também é um doador eficiente de elétrons durante o processo de desintoxicação do ERO e oxidação ao GSSG (ASADA, 1994). Além disso, o GSH pode ser regenerado por GR usando fosfato de nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADPH) como substrato (NOCTOR; FOYER, 1998; HASANUZZAMAN et al., 2012) (Figura 1).

Os aumentos nos níveis endógenos de GSH e as proporções GSH/GSSG ou a aplicação de GSH exógena estão correlacionados com a boa saúde das plantas devido à manutenção de uma melhor fisiologia e bioquímica das plantas. O GSH é indispensável na desintoxicação de xenobióticos e metais pesados e para aumentar a tolerância, além disso algumas espécies de plantas mostram limitações na síntese de GSH sob condições adversas; portanto, o potencial do uso de GSH exógeno para aumentar os níveis de GSH em plantas estressadas (HASANUZZAMAN et al., 2017).

2.5.2 Prolina

As plantas contêm diversas substâncias que são capazes de protegê-las contra estresses sejam eles bióticos e/ou abióticos, sendo que a prolina exerce esse papel de principais aminoácidos protetores dos vegetais.

A prolina se destaca como moléculas capazes de proteger a integridade das proteínas vegetais, sendo que essa função inclui a prevenção da agregação e estabilização do M₄ lactato desidrogenase durante temperaturas extremas sofridas pelos vegetais (WELTMEIER et al., 2006), proteção da enzima nitrato redutase em situações de estresses por metais pesados (SHARMA; DIETZ, 2006), estabilização de ribonucleases e proteases em levadas exposições

de arsênio (MISHRA; DUBEY, 2006); pode exercer o papel de antioxidante (SMIRNOFF; CUMBES, 1989; MATYSIK et al., 2002); previne a oxidação de NADPH para restauração de NADPH^+ . Quando combinado com a luminosidade, o fluxo no transporte de elétrons pode ser suprido pela insuficiência pool de acceptor de elétrons (NADP^+) induzindo assim a produção de oxigênio *singlet* no centro de reação do fotossistema I, produzindo ERO (CHAVES; FLEXAS; PINHEIRO, 2009; SZABADOS; SAUVORÉ, 2010).

A prolina é sintetizada por uma via redutiva que utiliza o NADPH para a redução do glutamato para pirrolina 5 carboxilato (P5C) e deste para prolina gerando NADP^+ que pode ser utilizado como acceptor de elétrons. A fosforilação do glutamato consome ATP gerando ADP, que é utilizado como acceptor de elétrons na fase fotoquímica da fotossíntese. O incremento na síntese de prolina em condições de estresse em cloroplastos pode manter baixo nível a taxa de $\text{NADPH}:\text{NADP}^+$ contribuindo assim para manter o fluxo de elétrons nos fotossistemas diminuindo a fotoinibição e danos ao aparato fotossintético (HARE; CRESS; VAN STADEN, 1998).

Na cultura de soja, quando o cultivar é transgênico, a inibição da biossíntese de prolina e a conversão do NADPH e NADP^+ pode acarretar na sensibilidade da cultura ao estresse hídrico, enquanto que a superexpressão do gene pirrolina 5 carboxilato redutase (P5CR) resulta em uma moderada tolerância à seca, ou seja, a síntese de prolina é de suma importância para manter em baixos níveis a taxa de $\text{NADPH}:\text{NADP}^+$ durante situações de estresses sofridos pelos vegetais (DeRONDE et al., 2004).

Dentre as organelas que sofrem ação de proteção da prolina, a mitocôndria se destaca. Em situação de estresse sofrido pela mitocôndria, a prolina se mune de um potencial redutor por meio da oxidação da mesma através da prolina dehidrogenase (PDH) oferecendo elétrons para a cadeia transportadora e contribuindo para suprir a energia para o crescimento (HARE; CRESS; VAN STADEN, 1998; KAVI-KISHOR et al., 2005; SZABADOS; SAVOURÉ, 2010).

2.5.3 Fenilalanina

Para a formação de proteínas e numerosos metabólitos primários e secundários aromáticos, os vegetais necessitam de alta demanda de aminoácidos aromáticos (MAEDA; DUDAREVA, 2012).

O aminoácido fenilalanina é um precursor de milhares compostos fenólicos vegetais, como: hormônio ácido salicílico (VLOT; DEMPSEY; KLESSIG, 2009), quinonas (BLOCK et al., 2014), pigmentos, voláteis aromáticos (DUDAREVA et al., 2006; DUDAREVA et al.,

2013), fitoalexinas, dissuasores alimentares taninos, ultravioleta (UV) protetores flavonóides, isoflavonóides (VOGT, 2010) e componentes estruturais (lignina, suberina e fenólicos associados à parede celular) (BONAWITZ; CHAPPLE, 2010).

Figura 2 - Papel do aminoácido feneilalanina. Adaptado de Barros e Dixon (2020). O primeiro passo comprometido na via dos fenilpropanóides é a desaminação da L-fenilalanina no cinamato por L-fenilalanina amônia-liase (PAL); formação subsequente de coumarato envolve hidroxilação direta do anel aromático pela trans-cinamato 4-hidroxilase (C₄H). As enzimas envolvidas em reações específicas são: C₄H, cinamato 4-hidroxilase; 4CL, 4-cumarato: CoA ligase; HCT, hidroxicinamoil CoA chiquimate /quinato hidroxicinamoil transferase; C₃'H, p-coumaroil quinato / chiquimato 3yl-hidroxilase; CSE, cafeína esterase chiquimato; C₃H / APX, coumarato bifuncional 3-hidroxilase / ascorbato peroxidase; COMT, ácido cafeico /3/5-O-metiltransferase do ácido 5-hidroxiferúlico.

A fenilalanina faz a sua biossíntese nas plantas por meio de duas vias alternativas, ambas exigindo a conversão do corismato, o produto final da via do chiquimato. Estudos genéticos mostraram que, das duas vias, o principal fluxo de carbono é direcionado pela via do arogenato (MAEDA et al., 2010), iniciada pela transaminação do pré-fenato ao arogenato, seguida de sua descarboxilação e/ou desidratação em fenilalanina (Figura 2).

A fenilalanina em duas vias de metabolismo secundário, como a produção de flavonoides e ligninas, importante para a resistência das plantas (TAIZ et al., 2017; TEIXEIRA et al., 2017; 2018). Todavia, o aminoácido tem a possibilidade de atuar como GRLs ativados (WEILAND; MANCUSO; BALUSKA, 2015), que servem de sinalização de alterações na arquitetura das raízes, proteção contra o estresse (WEILAND; MANCUSO; BALUSKA, 2015, TEIXEIRA et al., 2017) e balanço de carbono (WEILAND; MANCUSO; BALUSKA, 2015).

Estudos realizados por Teixeira et al. (2019), sobre a aplicação de aminoácidos no tratamento de semnets e aplicação foliar constatou que a produtividade, massa de matéria seca de diferentes órgãos cultura da soja foi incrementada com a aplicação da fenilalanina, tanto no TS quanto foliar.

2.5.4 Glicina betaína

A amônia quaternária glicina betaína (N,N,N-trimetilglicina) (GB), a qual estabiliza as estruturas e atividades de enzimas e complexos proteicos, mantém a integridade de membranas sob os efeitos deletérios da salinidade (SAKAMOTO; MURATA, 2002).

A glicina betaína, como um dos solutos compatíveis, desempenha um papel importante na salinidade pelo ajuste osmótico nas plantas (SUBBARAO et al., 2002; MUNNS, 2002; ASHRAF; HARRIS, 2004), protegendo as proteínas (mantendo a estrutura de enzimas como RuBisCO) (BOHNERT; JENSEN, 1996), protegendo a estrutura da membrana (CROWE; HOEKSTRA; CROWE, 1992), o citoplasma e cloroplastos dos danos do Na, o mecanismo fotossintético (SAKAMOTO; MURATA, 2002) e funcionando como antioxidante (SMIRNOFF; CUMBES, 1989) Como a síntese de GB é energeticamente cara, o uso de glicina externa como fonte alternativa através da engenharia genética foi adotado para melhorar a tolerância ao sal nas plantas (MÄKELÄ et al., 1996). O uso exógeno de GB com vários estresses ambientais também melhora o crescimento, a sobrevivência e a tolerância ao estresse abiótico das plantas (HARINASUT et al., 1996; DIAZ-ZORIT; FERNANDEZ-CANIGIA; GROSSO et al., 2001).

Malekzadeh (2015) observou que aplicação de GB exógeno em sementes reduziu a peroxidação lipídica (conteúdo de MDA) em plantas de soja expostas ao estresse salino. O pré-tratamento com GB causou um aumento de até 4 vezes no conteúdo de prolina de mudas expostas ao estresse salino. Tratamento das sementes em pré-semeadura com concentrações crescentes de GB aumentou a atividade da enzima CAT, SOD, APX e H_2O_2 . Os resultados sugeriram que a aplicação exógena de GB protegia as folhas de soja dos danos oxidativos sob estresse salino.

Pesquisadores também verificam que a senescência foliar é atrasada pelos candidatos exógenos de osmólitos, incluindo a glicina betaína durante o estresse hídrico para manter a fábrica de fotossintatos para manutenção do crescimento das plantas (MAHOUACHI; ARGAMASILLA; GÓMES-CADENAS, 2012; REZAEI; KAVIANI; JAHANSHAH, 2012). Um atraso na função de biossíntese e abscisão ABA e, conseqüentemente, folhas verdes prolongadas em condições de seca foram evidentemente observadas no tabaco (RIVERO et al., 2007). Além do mais, vários estudos confirmam a regulação do crescimento por aplicação exógena.

2.6 Micronutrientes

Os micronutrientes são requeridos em menores quantidades pelas plantas, atuam normalmente em rotas metabólicas podendo também atuar em estruturas celulares. A atividade fisiológica induzida pelos nutrientes pode atuar direta ou indiretamente em reações metabólicas, a utilização destes de forma correta auxiliar em manejo de integrado entre produtos fitossanitários e nutrição permitindo assim a capacidade da planta em tolerar a incidência de doenças e pragas (FAGAN et al., 2016).

2.6.1 Manganês

O manganês (Mn) é um micronutriente que tem importante papel como ativador enzimático, entre elas, aquelas relacionadas à manutenção dos cloroplastos, a enzima antioxidante superóxido dismutase (MnSOD), metabolismo de nitrogênio e na formação de precursores de aminoácidos aromáticos, hormônios (auxinas), fenóis e ligninas (BURNELL, 1988).

Esse mineral é parte do fotossistema II, em que a molécula de água é dividida e o gás oxigênio liberado, através de oxidação, isto é, $2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{O}_2 + 4\text{H} + 4\text{e}^-$; o manganês do complexo de divisão passa por sucessivas oxidações até que, em seu estado “S₄” final, tem o potencial de oxidar a água e é, conseqüentemente, reduzido pelos quatro elétrons derivados da água (EPISTEN; BLOOM, 2006).

A única outra proteína em que o manganês é um constituinte integral da superóxido dismutase (SOD), que contém manganês. A função dessa enzima é dar proteção contra radicais oxigênio livres formados quando O_2 recebe um único elétron, $\text{O}_2 + \text{e}^- \rightarrow \text{O}_2^-$. A SOD converte o radical O_2^- livre, altamente tóxico, em H_2O_2 (peróxido de hidrogênio), catalisando a reação $2\text{O}_2^- + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$. Subseqüentemente, a catalase ou uma das várias peroxidases transformam o peróxido de hidrogênio em água (EPISTEN; BLOOM, 2006).

O Mn atua de forma indireta na deposição de lignina na parede celular. O processo de síntese de monolignols que ocorre no interior do protoplasto celular. Três tipos de mecanismos de transporte para secreção extracelular de monômeros são conhecidos e denominados de difusão passiva (PD), exocitose de vesículas e transporte ativo dependente de ATP usando transportadores ABC e/ou transportadores do tipo antiporte. As enzimas lacases e peroxidases ativam os radicais monômeros resultando na adição dessas moléculas longitudinal e transversalmente formando dímeros. Para que isso ocorra, a produção de H_2O_2 e O_2 derivada da superóxido dismutase (SOD) e NADPH oxidase é necessária, pois serve de substrato. Nesse processo, o Mn tem função relevante, pois atua no fornecimento de elétrons denominado de “transporte redox” que participa da ativação do radical do monômero. Posteriormente, esses monômeros ligam-se formando dímeros e a seguir polímeros de lignina (BARROS et al., 2015).

O efeito de melhoria do manganês na redução do estresse hídrico é atribuído à aumento da eficiência no uso da água, condutância estomática, viabilidade de grãos de pólen, fotossíntese (KARIM et al., 2012), aumento da fluorescência da clorofila (FV/FM) e teor de clorofila da folha (BABAEIAN et al., 2011).

É muito comum ser utilizada na cultura de soja altas doses de glifosato. Mesmo na tecnologia tolerante (RR), pode causar injúrias às plantas, conhecido como efeito *Yellow flashing*, que é caracterizado por um amarelecimento das folhas apicais, podendo levar à perda de produtividade. O glifosato é um ácido fosfônico, por sua vez possui característica de quelatizar cátions. Assim, pode ser evidenciado sintoma de deficiência de ferro e manganês (cátions divalentes) devido à imobilização desses elementos (MEROTTO; WAGNER; MENEGUZZI, 2015).

O efeito *Yellow flashing* é uma resposta à deficiência induzida por manganês após a aplicação de glifosato devido à ação do herbicida na mesma via metabólica causada por uma baixa eficiência do acúmulo de nutrientes. Rosolém et al. (2010) e Zobiole et al. (2010) observaram baixa absorção e translocação do manganês mesmo com doses baixas de glifosato.

Bassin et al. (2019), avaliando mitigação de fitotoxidez por aplicação de glifosato em plantas RR com a aplicação de manganês, notaram efeito linear em aumento de doses de glifosato na fitotoxicidade. Avaliando aplicações no estágio vegetativo V₄, observaram que os efeitos visuais permaneceram até os 35 dias após a aplicação no cultivar M-6210-IPRO. Para número de nódulos, foram incrementados em plantas pulverizadas com manganês, o que sugere deficiência oculta de manganês nos cultivares analisados.

2.6.2 Níquel

Outro micronutriente que também pode atuar como atenuador de estresse em plantas é o níquel, que foi identificado como componente de grande número de enzimas em plantas como: glimalases, deformilase peptídeos, metil-CoM redutase e ureases e algumas isoformas da superóxido dismutase e hidrogenases (ERMLER et al., 1998; KOPPER; KRONECK, 2007).

Figura 3 - Sob condições fisiológicas normais, o metilglioxal (MG) é formado em plantas durante a glicólise e a fotossíntese a partir de fosfato de dihidroxiacetona, que é catalisada pela fosfato isóssese triose para formar 3-fosfato de gliceraldeído. Adaptado de Richard (1993).

Novas pesquisas mostraram que o níquel (Ni) pode ativar uma isoforma da glicoxalase I, que executa uma importante etapa na degradação do metilglioxal (MG), um composto citotóxico forte produzido naturalmente pelo metabolismo celular (MUSTAFIZ et al., 2014, FABIANO et al., 2015). Pesquisadores rastrearam a origem da condição de íons metálicos da glicoxalase I em plantas, sugeriram que a expansão gênica levou a múltiplos Ni-Glicoxalase I de dois domínios e diferentes formas da enzima evoluíram para ajudar as plantas a se adaptarem ao estresse (KAUR et al., 2013). As glicoxalases I e II (Gly I e II) participam da via de degradação do metilglioxal (MG), um alfa-cetoaldeído mutagênico tóxico que pode ser letal para as funções celulares (KALAPOPOS, 2008).

O aumento dos níveis de estresse oxidativo intracelular, devido à produção de espécies reativas de oxigênio, é notado pelo acúmulo de MG nas plantas (MAETA; IZAWA; INOUE, 2005; KALAPOPOS, 2008). A degradação de MG é iniciada por uma reação espontânea entre MG e glutathione reduzida (GSH) que forma hemitioacetal, que é então convertido em SD-lactoilglutathione em uma reação catalisada por GLY-I GLY-II libera D-lactato de SD-lactoilglutathione e regenera GSH (RICHARD, 1993) (Figura 3).

Estudando as isoformas GLY-I em arroz, o GLY11.2 usa o Ni como ativador, assim vários tipos de estresse induzem essa isoforma (MUSTAFIZ et al., 2014). Portanto, é possível sugerir (e determinar) a importância do Ni para o equilíbrio redox das células durante o estresse oxidativo (FABIANO et al., 2015). Para a degradação do MG e realizada a regeneração da GSH, assim duas enzimas são responsáveis pela síntese de GSH em plantas, cada uma codificada por um único gene, e a síntese de GSH ocorre em duas etapas dependentes de ATP (Figura 4). O gene *GSH1* codifica a enzima gama-EC sintase (gama-ECS), responsável pela primeira etapa da síntese de GSH, e o gene *GSH2* codifica a enzima glutathione sintetase (GSH-S), responsável pela segunda etapa.

Contudo essas duas isoformas são importantes para o metabolismo da MG, mas também podem ser importantes para proteger as células contra o estresse oxidativo causado pela ERO, uma vez que a regeneração do GSH ocorre durante o processo de metabolização da MG (FABIANO et al., 2015).

É fácil visualizar a vinculação entre os dois sistemas a dependência do GLY-I do Ni, que pode desempenhar um papel adicional na regeneração do GSH na homeostase. Contudo, o Ni pode ser um elemento chave para proteger as plantas contra condições estressantes, diminuindo o nível de metilglioxal (MG) através da atividade da glioxalase e participando da regulação do pool de GSH (FABIANO et al., 2015).

O Ni também está relacionado à tolerância de plantas à incidência de fungos. Esse efeito está ligado à ativação da enzima Acetil-CoA sintetase, que atua na síntese de metabólitos secundários precursores de fitoalexinas (FAGAN et al., 2016).

Figura 4 - Biossíntese de moléculas relacionados ao metabolismo secundário de plantas e a produção de glutathiona-GSH; Glu: glutamina; Cys: cistina; glicina, glicina; γ -ECS: gama-EC sintetase; GSH-S: glutathiona sintetase; GR: glutathiona reduzida. Adaptado de Fabiano et al. (2015).

2.6.3 Zinco

O zinco (Zn) é o segundo micronutriente em maior concentração nos tecidos vegetais. Suas funções são variadas, dentre elas destaca-se a formação e estruturação de enzimas devido a ligações com moléculas de cisteína, aspartato e glutamato. O Zn também é requerido para algumas enzimas nas ligações catalíticas, estruturais, cocatalítica e na interface das proteínas (MARSCHNER, 2012).

Uma das funções de destaque desse micronutriente é a proteção contra danos oxidativos (ARAVIND; PRASAD, 2003). Essa função se deve à sua ação como constituinte de uma das principais enzimas antioxidantes, a superóxido dismutase (CuZn-SOD) (MARSCHNER, 2012; FAGAN et al., 2016). Em trabalhos desenvolvidos por Yavas e Unay (2016), a aplicação foliar de Zn resultou em aumento significativo nas atividades das enzimas SOD, POD e CAT em resposta ao estresse hídrico. Recentemente, Kumari et al. (2018) trabalharam com a nanoemulsão de timol funcionalizada com zinco (Zn-TNE) por método de aplicação foliar de Zn-TNE (0,01 a 0,06%, v/v). Esses autores notaram aumento na atividades das enzimas antioxidantes de defesa, espécies de oxigênio balanceadas e também a indução de maior conteúdo de clorofila a e b e maior deposição de lignina em plantas de soja.

Além da sua função na redução de estresses abióticos, o Zn é considerado um mitigador de estresse bióticos (CHOUDHARY et al., 2017), por controlar as concentrações internas de espécies reativas de oxigênio. Na fase reprodutiva da soja, também se tem observado o efeito do Zn na remobilização dos fotoassimilados durante o processo de enchimento de grãos (YU; LO; HO, 2015).

2.7 Hormônios

Os hormônios são substâncias endógenas em baixas concentrações promovem diferentes efeitos fenométricos e fisiológicos. Eles são compostos orgânicos que ocorrem de forma natural e em pequenas quantidades em locais específicos e induzem respostas em vários locais na planta (TAIZ et al., 2017).

Os reguladores vegetais são substâncias similares às moléculas de hormônios porem sintéticas, os principais grupos hormonais encontrados em plantas são divididos em promotores e inibidores de crescimento. Os promotores de crescimento são as auxinas, giberelinas e citocininas, enquanto que os inibidores mais conhecidos são o etileno e o ácido abscísico (ABA). Contudo, também existem outros compostos que recentemente foram considerados hormônios, dentre eles destacam-se os brassinosteróides, ácido salicílico e ácido jasmônico e poliaminas (TAIZ et al., 2017).

Os hormônios influenciam o crescimento, a diferenciação, a reprodução, o desenvolvimento e atuam na sinalização entre os órgãos vegetais, além de agirem como agentes sinalizadores de defesa (PELEG; BLUMWALD, 2011). Dentre os mecanismos de regulação aos estresses abióticos, os hormônios vegetais desempenham função de mensageiros químicos, responsáveis pela formação e crescimento de tecidos, bem como mediadoras de comunicação intercelular (TAIZ et al., 2017).

A auxina é um hormônio vegetal com múltiplos papéis no crescimento e desenvolvimento das plantas, incluindo a divisão e diferenciação de células e produção de feixe vascular, também ocorrendo durante a produção de nodulação. A maior parte da auxina é produzida na parte aérea e é alocada às raízes por um processo ativo de transporte.

A alocação de auxina nas plantas é regulada pela presença de flavonoides (PEER; MURPHY, 2007). Os flavonoides são capazes de regular o transporte de auxina na planta (BUER; MUDAY, 2004; BUER; IMIN; DJORDJEVIC, 2010).

Entre os efeitos da auxina na atenuação de estresses em plantas, é destacado a produção de novas raízes. Por exemplo, a formação de raízes adventícias na base da parte aérea da planta é rápida e importante resposta ao estresse sob condições de alagamento. Sob tais condições, a maior taxa de auxina pode ser produzida e translocada para as raízes. O aumento da produção auxina-amido-hidrolase sob tais condições pode resultar em maior liberação de auxina e, portanto, a planta pode ser mais tolerante a tensões como o alagamento (MIRANSARI, 2016).

A citocinina e o ácido abscísico são considerados os hormônios mais determinantes para o desenvolvimento reprodutivo, em condições normais e de estresse ambiental (LIU et al., 2008). A manutenção do turgor celular pode estar associada ao ajustamento osmótico, por meio do acúmulo de compostos osmoticamente ativos e não nocivos nas células. Em um estudo com plantas mutantes de grama rasteira (*Agrostis stolonifera*), com superexpressão de genes associados com a biossíntese de citocinina, Merewitz et al. (2012) observaram que o acúmulo de citocinina está diretamente relacionado ao acúmulo de solutos compatíveis, como prolina, glicina, alanina, sacarose, frutose e maltose que, por sua vez, estão relacionados ao ajuste osmótico.

A manutenção da integridade de membranas celulares, em resposta ao ataque de radicais livres, está relacionada ao balanço entre citocinina e ácido abscísico (ABA) nas folhas (NISHIYAMA et al., 2011). A maior atividade das enzimas do estresse oxidativo ocorre em resposta a altas concentrações de citocinina em plantas de soja (GIDROL et al., 1994). Rivero et al. (2007) verificaram aumento da atividade da enzima catalase nos peroxissomos de plantas transgênicas de tabaco com elevada síntese de citocinina, as quais apresentaram maior tolerância ao estresse por *deficit* hídrico do que plantas selvagens.

A reversão da senescência das folhas de *Nicotiana rustica*, promovida por aplicação externa de 6-benzilaminopurina (BAP) sob pouca luz, é uma das peças mais impressionantes de evidência de que a senescência foliar segue uma genética programada que pode ser regulado por citocininas (ZVALETA-MANCERA et al., 2007).

Se a senescência das folhas for associada à produção de ERO, e citocininas atrasam esse processo, então o BAP pode regular o *status* oxidativo do tecido (ZVALETA-MANCERA et al., 2007).

Soares et al. (2017) mostraram um modo de ação para a cinetina, cuja aplicação aumentou a assimilação de nitrogênio. Além disso, o hormônio manteve baixo o nível de estresse das plantas em estudo, sendo evidente na alta atividade de peroxidase e baixo teor de peróxido de hidrogênio, com uma ligeira redução na peroxidação lipídica. A alta assimilação

de nitrogênio, associada a baixos níveis de estresse, resultou em maior acúmulo de massa de matéria seca nas raízes e nas folhas, melhorando a produtividade de grãos.

As giberelinas são hormônios vegetais com uma ampla gama de atividades, incluindo a germinação de sementes e alongamento celular (MIRANSARI; SMITH, 2009). O uso de giberelinas foliar aumentou a captação de nutrientes da cana-de-açúcar, melhorando morfologia e fisiologia das plantas sob estresse salino. Foi mostrado que o uso exógeno de giberelinas pode aliviar os efeitos adversos da salinidade no crescimento e rendimento de soja, regulando o nível de outros hormônios na soja. Assim, foi indicado que nas plantas de soja tratadas o nível de giberelinas bioativas e jasmonato aumentou e o nível de ABA e ácido salicílico diminuiu. Entretanto os detalhes exatos relacionados aos efeitos de alívio das giberelinas nas plantas desenvolvendo sob estresse salino ainda não foi elucidado. A homeostase hormonal pode ser a razão mais importante para melhorar o crescimento das plantas sob estresse de salinidade (HASANUZZAMAN et al., 2013, HASANUZZAMAN; NAHAR; FUJITA, 2013).

Existem alguns produtos comerciais à base de reguladores vegetais. No Brasil um dos principais é o Stimulate[®], o qual é constituído de ácido indol butírico (auxina - 0,005%), cinetina (citocinina - 0,009%) e ácido giberélico (giberelina – GA₃- 0,005%) (CASTRO; PACHECO; MEDINA, 1998).

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

2.8 Extrato de algas

As algas marinhas são organismos macroscópicos multicelulares encontrados em ecossistemas costeiros e marinhos e são uma rica fonte de polissacarídeos, ácidos graxos poli-insaturados (PUFA), enzimas e peptídeos bioativos, entre outros (COURTOIS, 2009; DE JESUS RAPOSO et al., 2013; AHMADI et al., 2015; SHUKLA et al., 2016; OKOLIE; MASON; CRITCHLEY, 2018). Em particular, as algas marinhas entre marés podem ser expostas a condições desfavoráveis, incluindo variações extremas de temperatura, salinidade e luz. As algas marinhas, em comparação com os organismos terrestres, produzem diferentes compostos relacionados ao estresse, essenciais para sua sobrevivência nesses ambientes (SHUKLA et al., 2016). Como tal, os recursos selecionados de algas marinhas são importantes

fontes de bioestimulantes vegetais e são amplamente utilizados para promover a produtividade agrícola (KHAN et al., 2009; SHARMA et al., 2014; DU JARDIN, 2015; VAN OOSTEN et al., 2017).

A alga mais amplamente pesquisada, usada como fonte de bioestimulantes de plantas industriais e comerciais, é a alga marrom, intertidal das marés, *Ascophyllum nodosum*. Já foi demonstrado que vários extratos comerciais de *A. nodosum* melhoram o crescimento das plantas, atenua alguns estresses abióticos e bióticos, além de melhorar as defesas das plantas pela regulação de processos moleculares, fisiológicos e bioquímicos (SHUKLA et al., 2019).

Com base na revisão publicada por van Oosten et al. (2017), 47 empresas em todo o mundo estão atualmente envolvidas na fabricação de extratos de *A. nodosum* para aplicações agrícolas e hortícolas. *A. nodosum* é uma fonte rica de vários compostos fenólicos bioativos, como clorotaninos e polissacarídeos únicos, como ácido algínico (28%), fucoidanos (11,6%), manitol (7,5%) e laminarina (4,5%) (RAGAN; JENSEN., 1997; HOLDT; KRAAN, 2011; YUAN; MACQUARRIE, 2015; MOREIRA et al., 2017). *A. nodosum* comercialmente seco e moído contém carboidratos ($44,7 \pm 2,1\%$), cinzas ($18,6 \pm 0,9\%$), proteínas ($5,2 \pm 0,2\%$), lipídios ($3,0 \pm 0,1\%$), fenólicos ($1,4 \pm 0,2\%$) e outros compostos (13,6 %) (YUAN; MACQUARRIE, 2015; MOREIRA et al., 2017). Alguns desses compostos apresentaram variação sazonal considerável (PARYS et al., 2009; CRAIGIE, 2011). Os compostos bioativos presentes em *A. nodosum* foram extraídos e utilizados para promover o crescimento das plantas de acordo com van Oosten et al. (2017).

Extratos de algas são cada vez mais utilizados na produção agrícola e hortícola, seja em aplicações via solo ou foliar, aumentando o conteúdo de clorofila, melhorando a fotossíntese, absorção de nutrientes (BLUNDEN; WILDGOOSE, 1977) e aumentando a capacidade de retenção de água (ZHANG; SCHMIDT, 2000; SANGHA et al., 2010; SUBRAMANIAN et al., 2011). Estudos mostraram os efeitos positivos do extrato comercial de *Ascophyllum nodosum* na tolerância das plantas a estresses (NEILY et al., 2010; SPANN; LITTLE, 2011; WALLY et al., 2013; MARTYNENKO et al., 2016). Shukla et al. (2018), avaliando o potencial de um extrato comercial (Acadian®) de *A. nodosum* (ANE) no estresse hídrico em soja, notaram que plantas tratadas demonstraram melhor adaptabilidade para se recuperar das condições de seca e apresentaram um teor de água 50% maior quando expostas a condições de seca, quando comparadas às não tratadas. Ainda, os autores revelaram também que a soja apresentou uma inibição significativamente maior da capacidade de produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), quando comparada aos controles.

Figura 5 - Mecanismos de ação e repostas induzidas pela utilização de extrato de *Ascophyllum nodosum*. Adaptado de Carvalho e Castro (2014).

A aplicação de ANE teve uma influência significativa na expressão de genes envolvidos na biossíntese e transporte de flavonoides, que protegem as plantas dos danos oxidativos induzidos por ERO durante o estresse de salinidade (JITHESH et al., 2018).

Além da regulação dos genes reguladores, foi relatado que as aplicações da ANE também regulavam a expressão dos genes envolvidos na biossíntese de carboidratos (amido, sacarose, rafinose), aminoácidos (prolina e isoleucina) e álcoois de açúcar (inositol e trealose) (JITHESH et al., 2018).

De modo geral, a aplicação foliar promove o crescimento da parte aérea (aumento do comprimento e de massa alocada nesta porção vegetal). Na Figura 5, encontram-se os possíveis mecanismos de ação do extrato de *A. nodosum* sobre a resposta vegetal.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização e características da área experimental

Foram conduzidos três experimentos conforme descrito na Tabela 5.

Tabela 5 - Experimentos conduzidos (E), Local, safra, nível tecnológico, número de variedades (Nv) e cultivares.

E	Local	Safra	Nt	Nv	Cultivares
I ¹	Rio Paranaíba (MG)	2017/2018	Alta	2	TEC-7849-IPRO ³
			Produtividade		BMX-Desafio-RR ⁴
II ²	Rio Paranaíba (MG)	2018/2019	Alta	2	M-6210-IPRO ⁵
			Produtividade		TMG-7063-IPRO ⁶

¹ Influência de aminoácidos, micronutrientes, extrato de alga e hormônios como atenuadores de estresse.

² Associação de micronutrientes, com extrato de alga e hormônios como atenuadores de estresse em sistema de alta produção.

³ TEC-7849-IPRO: TEC-7849-IPRO (Intacta RR e Bt).

⁴ BMX-Desafio-RR: Brasmex-Desafio-Roundup Ready herbicide.

⁵ M-6210-IPRO: Monsoy-6210-IPRO (Intacta RR e Bt).

⁶ TMG-7063-IPRO: Tropical Melhoramento Genético-7063-IPRO.

Os experimento I e II foram conduzidos em condição irrigada com pivô central na Fazenda Experimental Cooperativa Agropecuária do Alto Paranaíba (COOPADAP), localizada no município de Rio Paranaíba - MG, com latitude Sul 19° 11' 37", longitude Oeste 46° 14' 50" e 1067 m de altitude; e segundo a classificação de Köppen, apresenta um clima tropical de altitude (Cwa), com precipitação média anual em torno de 1.533 mm (SOUZA et al., 2005), sendo a temperatura média anual igual a 20,4°C, a máxima anual 22,3°C e a mínima anual 17,6°C, conforme dados da Estação Meteorológica de Sertãozinho (Epamig) localizada no município de Patos de Minas (MG).

As avaliações fisiológicas, fenométricas e produtivas foram realizadas Laboratório do Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Estresse de Plantas (NUFEP) do Centro Universitário de Patos de Minas (Unipam) em Patos de Minas (MG).

3.2 Experimento I: influência de aminoácidos, micronutrientes, extrato de alga e hormônios como atenuadores de estresse

3.2.1 Caracterização do experimento

No experimento I, realizado na safra 2017/2018, utilizou-se dois cultivares de soja. O delineamento experimental adotado foi em blocos ao acaso, constituído por um fatorial de cinco

tratamentos e duas variedades cultivadas com quatro repetições (Tabela 6). Cada parcela foi composta por cinco linhas com 7 m de comprimento por 0,45 m entrelinhas, totalizando uma área de 15,75 m². Assim a área total do experimento foi de 945 m². A área útil de cada parcela foi constituída pelas linhas centrais, descartando 0,5 m em cada extremidade da parcela.

As aplicações dos tratamentos foram realizadas por meio de pulverizador costal propelido a CO₂, três dias após a aplicação dos produtos fitossanitários, sendo: **(1^a)** estágio V₆ [(ZAPP QI: 2,5 L ha⁻¹) + (Disperse Ultra: 0,06 L ha⁻¹)]; **(2^a)** estágio R₁ [(Aproach Prima: 0,03 L ha⁻¹) + (Score Flexi: 0,15 L ha⁻¹) + (Iharol: 0,40 L ha⁻¹) + (Disperse Ultra: 0,05 L ha⁻¹) + (Nomolt: 1,0 kg ha⁻¹)]; **(3^a)** estágio R₃ [(Orkestra: 0,3 L ha⁻¹) + (Unizeb Gold: 1,5 kg ha⁻¹) + (Disperse Ultra: 0,05 L ha⁻¹) + Pirate: 0,8 L ha⁻¹]; e **(4^a)** estágio R₅ [(Vessarya: 0,6 L ha⁻¹) + (Disperse Ultra: 0,05 L ha⁻¹) + (Galil: 0,4 L ha⁻¹) + Unizeb Gold: 1,5 kg ha⁻¹]. Utilizando barra com quatro bicos tipo leque, perfazendo 2,25 m de comprimento e com pressão de 2 bar. Para todas as aplicações foi utilizado volume de calda de 200 L ha⁻¹.

Tabela 6 - Descrição dos tratamentos, dose, cultivar e grupo de maturação (GM). Soja. Safra 2017/2018. Rio Paranaíba (MG).

Descrição	Dose	Cultivar	GM
Controle	-		
Aminoácidos (GB, GGH, Pro e Phe)	300+300+100+100		
Micronutrientes (Zn, Mn e Ni)	15+50+4,5	TEC-7849-IPRO	7,8
Hormônios (GA ₃ , CK e AIB)	25+45+25		
Extrato de alga (<i>Ascophyllum nodosum</i>)	500		
Controle	-		
Aminoácidos (GB, GGH, Pro e Phe)	300+300+100+100		
Micronutrientes (Zn, Mn e Ni)	15+50+4,5	BMX-Desafio-RR	7,4
Hormônios (GA ₃ , CK e AIB)	25+45+25		
Extrato de alga (<i>Ascophyllum nodosum</i>)	500		

Aminoácidos: Glicina Betaína - GB, Glutamina - GGH, Prolina -Pro, Fenilalanina - Phe. Dose: ppm ha⁻¹. Micronutrientes: Zinco - Zn, Manganês - Mn, Níquel - Ni. Dose: g ha⁻¹. Homônios: Giberelina - GA₃, Citocinina - CK, Auxina - AIB. Dose: mg ha⁻¹. Extrato de algas: *Ascophyllum nodosum* - Acadian® Dose: 500 mL ha⁻¹.

3.2.2 Instalação e condução do experimento

Antes da semeadura, foi feita a coleta de amostras de solo da área onde o experimento foi instalado. Com base nos resultados desta análise, foi aplicado 1.900 kg ha⁻¹ de calcário dolomítico para correção e a adubação de semeadura com 400 kg ha⁻¹ do formulado 2-30-10 + 150 kg [KCl] ha⁻¹. Antes da semeadura, as sementes foram tratadas com Co-Mo[®] Platinum na dose de 1,5 mL kg⁻¹ de sementes, inoculante Turfa SYS LL-Novozymes na dose de 4 g kg⁻¹ de

sementes, Nitragin 200 Power na dose de 3,3 mL kg⁻¹ de sementes e Standak® Top na dose de 2 mL kg⁻¹ de sementes via tratamento industrial. A semeadura foi realizada mecanicamente no dia 1 de novembro de 2017 com a população de plantas de 240 mil plantas ha⁻¹ da TEC-7849-IPRO, 350 mil plantas ha⁻¹ da Brasmex Desafio-RR RR e NA 5909 RG 400 mil plantas ha⁻¹. Os tratos culturais feitos na área experimental estão descritos conforme Tabela 7.

Tabela 7 - Descrição dos tratos culturais, herbicidas, fungicidas e inseticidas, feitos no experimento na safra 2017/2018. Soja. Rio Paranaíba, MG.

Atividade	Produtos (Princípio ativo)	Dose (kg ha⁻¹/L ha⁻¹)
Dessecação	Roundup Transorb (Glifosato)	2,50
	Iharol Gold (Óleo mineral)	1,00
	Disperse Ultra (Adjuvante)	0,05
	Heat (Saflufenacil)	0,08
	Methomex (Metomil)	1,00
Herbicida	Zapp QI (Glifosato)	2,50
	Disperse Ultra (Adjuvante)	0,06
1º Fungicida e inseticida	Aproach Prima (Picoxistrobina)	0,30
	Score Flexi (Propiconazol+Difenoconazol)	0,15
	Iharol Gold (Óleo mineral)	0,40
	Disperse Ultra (Adjuvante)	0,05
	Nomolt (Teflubenzuron)	0,30
	Spot (Boscalida+dimoxistrobin)	1,00
2º Fungicida	Orchestra (Piraclostrobina)	0,30
	Unizeb Gold (Mancozeb)	1,50
	Iharol Gold (Óleo mineral)	0,50
	Disperse Ultra (Adjuvante)	0,05
	Pirate (Chlorfenapyr)	0,80
3º Fungicida e inseticida	Vessarya (Picoxistrobina)	0,60
	Disperse Ultra (Adjuvante)	0,05
	Galil (Imidacloprid+bifentrina)	0,40
	Unizeb Gold (Mancozeb)	1,50
4º Fungicida e inseticida	Aproach Prima (Picoxistrobina)	0,30
	Galil (Imidacloprid+bifentrina)	0,40
	Iharol Gold (Óleo mineral)	0,40
	Unizeb Gold (Mancozeb)	1,50

3.3 Experimento II: associação de micronutrientes, com extrato de alga e hormônios como atenuadores de estresse em sistema de alta produtividade

3.3.1 Caracterização do experimento

No experimento II, realizado na safra 2018/2019, foram utilizadas variedades cultivadas de soja. O delineamento experimental adotado foi em blocos ao acaso, constituído por um

fatorial de cinco tratamentos e duas variedades cultivadas com quatro repetições (Tabela 8). Cada parcela foi composta por cinco linhas com 7 m de comprimento por 0,45 m entrelinhas, totalizando uma área de 15,75 m². Assim a área total do experimento foi de 630 m². A área útil de cada parcela foi constituída pelas linhas centrais, descartando 0,5 m em cada extremidade da parcela.

As aplicações dos tratamentos foram realizadas com pulverizador costal propelido a CO₂, três dias após a aplicação dos produtos fitossanitários, sendo: **(1^a)** estágio V₆ [(ZAPP QI: 2,5 L ha⁻¹) + (Disperse Ultra: 0,06 L ha⁻¹)]; **(2^a)** estágio R₁ [(Approach Prima: 0,03 L ha⁻¹) + (Score Flexi: 0,15 L ha⁻¹) + (Iharol: 0,40 L ha⁻¹) + (Disperse Ultra: 0,05 L ha⁻¹) + (Nomolt: 1,0 kg ha⁻¹)]; **(3^a)** estágio R₃ [(Orkestra: 0,3 L ha⁻¹) + (Unizeb Gold: 1,5 kg ha⁻¹) + (Disperse Ultra: 0,05 L ha⁻¹) + Pirate: 0,8 L ha⁻¹]; e **(4^a)** estágio R₅ [(Vessarya: 0,6 L ha⁻¹) + (Disperse Ultra: 0,05 L ha⁻¹) + (Galil: 0,4 L ha⁻¹) + Unizeb Gold: 1,5 kg ha⁻¹]. Utilizando barra com quatro bicos tipo leque, perfazendo 2,25 m de comprimento e com pressão de 2 bar. Para todas as aplicações foi utilizado volume de calda de 200 L ha⁻¹.

Tabela 8 - Descrição dos tratamentos do ensaio “Atenuadores de estresse em grupos de maturação de soja”, dose, cultivar e grupo de maturação (GM). Safra 2018/2019. Rio Paranaíba (MG).

Descrição	Dose
Cultivar: M-6210-IPRO (GM: 6,2)	
Controle	-
(Zn+Mn+Ni) ²	15+50+4,5
(Zn+Mn+Ni) ² +(GA ₃ +CK+AIB) ³	(15+50+4,5) + (25+45+25)
(Zn+Mn+Ni) ² +Alga ⁴	(15+50+4,5)+500
(Zn+Mn+Ni) ² +(GA ₃ +CK+AIB) ³ +Alga ⁴	(15+50+4,5)+(25+45+25)+500
Cultivar: TMG-7063-IPRO (GM: 7,0)	
Controle	-
(Zn+Mn+Ni) ²	(15+50+4,5)
(Zn+Mn+Ni) ² +(GA ₃ +CK+AIB) ³	(15+50+4,5) + (25+45+25)
(Zn+Mn+Ni) ² +Alga ⁴	(15+50+4,5)+500
(Zn+Mn+Ni) ² +(GA ₃ +CK+AIB) ³ +Alga ⁴	(15+50+4,5)+(25+45+25)+500

¹ Aminoácidos: Glicina Betaína (GB), Glutaciona (GGH), Prolina (Pro), Fenilalanina (Phe). Dose: ppm ha⁻¹.

² Micronutrientes: Zinco (Zn), Manganês (Mn), Níquel (Ni). Dose: g ha⁻¹.

³ Hormônios: Giberelina (GA₃), Citocinina (CK), Auxina (AIB). Dose: mg ha⁻¹.

⁴ Extrato de algas: *Ascomyllum nodosum* - Acadian[®] Dose: 500 mL ha⁻¹.

3.3.2 Instalação e condução do experimento

Antes da semeadura, foi realizada a amostragem de solo para avaliar a necessidade de correção bem como adubação. Com base nos resultados desta análise, foi feita adubação de semeadura com 350 kg ha⁻¹ do formulado 5-35-06 mais micronutrientes. Antes da semeadura, as sementes foram tratadas com Co-Mo[®] Platinum na dose de 1,5 mL kg⁻¹ de sementes, inoculante Turfa SYS LL-Novozymes na dose de 4 g kg⁻¹ de sementes, Nitrágina 200 Power na dose de 3,3 mL kg⁻¹ de sementes e Standak[®] Top na dose de 2 mL kg⁻¹ de sementes via

tratamento industrial. A semeadura foi realizada mecanicamente no dia 31 de novembro de 2018 com a população de plantas de 300 mil plantas ha⁻¹ da M-6210-IPRO e 350 mil plantas ha⁻¹ da TMG-7063-IPRO. Os tratos culturais efetuados na área experimental estão descritos na Tabela 9.

Tabela 9 - Descrição dos tratos culturais, herbicidas, fungicidas e inseticidas, feitos no experimento na safra 2018/2019. Soja. Rio Paranaíba (MG).

Operação	Produtos (Princípio ativo)	Dose (kg ha ⁻¹ /L ha ⁻¹)
Dessecação	Roundup Transorb (Glifosato)	2,50
	Iharol Gold (Óleo mineral)	1,00
	Disperse Ultra (Adjuvante)	0,05
	Heat (Saflufenacil)	0,08
	Methomex (Metomil)	1,00
Herbicida	Zapp QI (Glifosato)	2,50
	Disperse Ultra (Adjuvante)	0,06
1º Fungicida e inseticida	Aproach Prima (Picoxistrobina)	0,30
	Score Flexi (Propiconazol+Difenoconazol)	0,15
	Iharol Gold (Óleo mineral)	0,40
	Disperse Ultra (Adjuvante)	0,05
	Nomolt (Teflubenzuron)	0,30
	Spot (Boscalida+dimoxistrobin)	1,00
2º Fungicida	Orkestra (Piraclostrobina)	0,30
	Unizeb Gold (Mancozeb)	1,50
	Iharol Gold (Óleo mineral)	0,50
	Disperse Ultra (Adjuvante)	0,05
	Pirate (Chlorfenapyr)	0,80
3º Fungicida e inseticida	Vessarya (Picoxistrobina)	0,60
	Disperse Ultra (Adjuvante)	0,05
	Galil (Imidacloprido+bifentrina)	0,40
	Unizeb Gold (Mancozeb)	1,50
4º Fungicida e inseticida	Aproach Prima (Picoxistrobina)	0,30
	Galil (Imidacloprid+bifentrina)	0,40
	Iharol Gold (Óleo mineral)	0,40
	Unizeb Gold (Mancozeb)	1,50

3.4 Avaliações bioquímicas

As avaliações foram realizadas dez dias após a aplicação. Sendo coletados 10 trifólios por parcelas do terço médio, descartando as extremidades das parcelas para realização das avaliações.

3.4.1 Determinação da atividade da enzima nitrato redutase

A atividade da enzima nitrato redutase (NR) foi avaliada seguindo a metodologia proposta por Mulder, Boxma e Veen (1959). Para a determinação da atividade da enzima nitrato redutase, as folhas foram cortadas em discos de 7 mm de diâmetro dos quais foram colocados 200 mg em tubos de ensaio de 15 ml com tampas que contendo 4 mL de KNO_3 (0,25 M) em tampão fosfato.

Os tubos de ensaio deverão estar envolvidos em papel de alumínio e mantidos em banho maria a 35°C durante 2 h, agitando-os de 5 em 5 minutos. Em seguida foi pipetado 1 mL da solução de cada tubo de ensaio para balão volumétrico de 50 mL para cada um dos respectivos tratamentos, evitando pedacinhos de folhas. Depois, foi adicionada H_2O destilada até completar 25 mL do balão e a seguir 1 mL de ácido sulfanílico. A solução ficou 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 completará o volume a 50 mL com H_2O destilada.

As leituras foram realizadas entre 10 e 30 minutos após o término da montagem do meio de reação, em espectrofotômetro com comprimento de onda de 560 nm. As folhas foram maceradas utilizando-se nitrogênio líquido, em seguida foi adicionado 10 mL de tampão de fosfato de potássio 0,1 mol L^{-1} (pH 6,8) para a diluição do extrato. As amostras foram transferidas para Eppendorf's e centrifugadas a 10.000 rpm (6.000 g) por 30 min a 4°C. Ao final, as amostras foram armazenadas a -20°C para posterior determinação (KAR; MISHRA, 1976).

3.4.2 Análise do metabolismo oxidativo

Para estas análises, as amostras foram colocadas e guardadas em sacos plásticos e embrulhadas em papel alumínio. Em seguida, foram congeladas em nitrogênio líquido, com a intenção de paralisar todas as reações.

As folhas foram maceradas utilizando nitrogênio líquido. Em seguida foi adicionado 10 mL de solução tampão de fosfato de potássio (0,1 mol L^{-1}) (pH 6,8) para a diluição do extrato. As amostras foram transferidas para Eppendorf's e centrifugadas a 10.000 rpm (6.000 g) por 30 minutos a 4°C. Ao final, as amostras foram armazenadas a -20°C para posterior determinação (KAR; MISHRA, 1976).

3.4.3 Prolina

Para determinação do teor de prolina foi utilizado 200 mg de material vegetal fresco [MF] triturado com auxílio de nitrogênio líquido. Sobre estas amostras foram adicionados 4 mL de ácido sulfossalicílico (3%), sendo a mistura deixada em agitação constante por uma hora à temperatura ambiente (25°C).

Após esse período, o homogenato foi centrifugado a 3.000 rpm por 10 minutos à temperatura ambiente. O extrato foi utilizado para determinação de prolina livre, de acordo com o método descrito por Bates, Waldren e Teare (1973), com algumas adaptações.

Para uma alíquota de 1 mL de extrato, foi adicionado 1 mL de solução de ninhidrina ácida [1,25 g ninhidrina ácida + 30 mL de ácido acético glacial + ácido fosfórico (6 M)] + 1 mL de ácido acético glacial. Essa mistura foi mantida em tubos com tampa rosqueável em banho Maria a 100°C durante uma hora. Em seguida, os tubos de ensaio foram colocados em banho de gelo por 10 minutos para cessar a reação.

A extração do cromóforo foi feita pela adição de 2 mL de tolueno à mistura de reação, seguida de agitação vigorosa. Após repouso e formação da mistura bifásica, a fase superior foi retirada para a quantificação dos níveis de prolina livre, através de medidas de absorbância em 520 nm realizadas em espectrofotômetro. Utilizou-se como branco apenas o tolueno. Como padrão foi utilizado a prolina pura e os resultados expressos em $\mu\text{mol [Prolina]} \text{ g}^{-1}[\text{MF}]$.

3.4.4 Conteúdo de proteína na folha

Para determinação do teor de proteína na folha foi utilizada a metodologia descrita por Bradford (1976). Utilizou-se 1 mL de solução reativa de Bradford por amostra. Para obtenção da curva padrão de caseína, 100 mg de caseína foram adicionados a 5 mL de água. Logo em seguida, foi adicionado solução de NaOH ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$) até a completa dissolução da caseína. Após ser dissolvido, o volume foi completado para 100 mL com água destilada. A partir desta solução, foi obtida a curva padrão de caseína com base nas concentrações de 0, 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 e $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ de caseína e 5 mL do reativo de Bradford. A leitura de absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 595 nm.

3.4.5 Superóxido dismutase

A enzima superóxido dismutase (SOD) foi avaliada tendo como base a metodologia proposta por Beauchamp e Fridovich (1971). Durante a preparação dos reagentes, todos os recipientes foram envolvidos com papel alumínio para evitar reação com a luz. Foi adicionado a um tubo de ensaio 2.000 μL de tampão de fosfato de sódio 50 mmol L^{-1} (pH 7,8), 30 μL de extrato enzimático, 450 μL de solução de *Nitroblue tetrazolium* (NBT) + EDTA (5:4) e 500 μL de solução de Metionina + Riboflavina (1:1).

Todas as amostras foram avaliadas em duplicata, sendo que, depois do preparo do sistema de reação, uma das amostras foi exposta a luz durante 10 minutos, sem o papel alumínio, e a outra permanecerá com o papel alumínio. Após esse período foram realizadas leituras de absorbância a 560 nm em espectrofotômetro.

3.4.6 Catalase

Para a determinação da atividade da catalase (CAT), foram colocados em um tubo de ensaio 950 μL de tampão fosfato de sódio 50 mmol L^{-1} (pH 7,0) + H_2O_2 12,5 mmol L^{-1} e 50 μL de extrato enzimático, resultando em um volume final de 1 mL. As leituras de absorbância foram realizadas a 240 nm, e foram avaliadas durante 80 segundos, para que ocorresse a estabilização da reação. As leituras deverão ser realizadas com luz ultravioleta, e com a luz visível apagada. Além disso, foram utilizadas cubetas de quartzo, pois estas permitem uma melhor leitura nestas condições de avaliação. Para os cálculos da atividade da enzima foi utilizado o coeficiente de extinção molar do H_2O_2 de 39,4 $\text{mmol L}^{-1} \text{cm}^{-1}$. A atividade da catalase foi expressa em $\text{nmol [de H}_2\text{O}_2 \text{ consumido] min}^{-1} \text{mg}^{-1} [\text{proteína}]$ (PEIXOTO et al., 1999).

3.4.7 Peroxidase

A atividade da peroxidase (POD) foi determinada de acordo com as condições citadas no trabalho de Teisseire e Guy (2000). Para isso, foi adicionado a um tubo de ensaio 500 μL de tampão fosfato de potássio, 50 mmol L^{-1} (pH 6,5), 30 μL de extrato enzimático, 250 μL de pirogalol (1,2,3-benzenotriol), (20 mmol L^{-1}) e 220 μL de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (5 mmol L^{-1}), totalizando um volume de 1 mL.

Os tubos de ensaio foram deixados a temperatura ambiente por cinco minutos. Após tal período, a formação de purpurogalina, que apresenta coloração arroxeada foi medida em espectrofotômetro UV-visível a 430 nm. Para o cálculo da atividade da enzima foi utilizado o coeficiente de extinção molar de $2,5 \text{ mmol L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, sendo a atividade expressa em $\mu\text{mol [purpurogalina] min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ [proteína]}$.

3.4.8 Peróxido de hidrogênio

O conteúdo de peróxido de hidrogênio foi determinado por meio da reação com iodeto de potássio (KI), segundo Alexieva et al. (2001). Em meio ácido, o iodeto de potássio reage com o peróxido de hidrogênio, liberando iodo e água, formando um composto de coloração laranja-avermelhada. Para esta determinação, foi usado a extração do material vegetal, em que 200 mg de folhas foram maceradas com 1 mL de TCA 0,1%. Após homogeneização as amostras foram transferidas para tubos e centrifugadas a 9700 rpm por 15 minutos a 4°C. Do sobrenadante foi retirado 200 μL e adicionado 200 μL de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5) e 800 μL de solução 1 M de KI. O branco consiste na mesma mistura descrita acima, porém, ao invés do sobrenadante da amostra, coloca-se 200 μL de TCA 0,1%. Os tubos com a reação foram colocados em gelo e permaneceram no escuro durante uma hora. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 390 nm e a quantidade de H_2O_2 é expressa em $\mu\text{mol g}^{-1}$ de matéria fresca.

3.4.9 Peroxidação de lipídios

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

3.4.10 Invertases

As invertases ácida e neutra foram avaliadas seguindo a metodologia descrita por Cairo et al. (2005), com algumas modificações. As folhas foram maceradas com nitrogênio líquido e pesados 100 mg em balança analítica e colocados em tubos Falcon de 10 mL contendo 2 mL de tampão para extração.

Para a invertase ácida o tampão de extração foi composto por 200 μ L de tampão de acetato de sódio pH 4,7 (1,0 M), 100 μ L de $MgCl_2$ (0,1 M) e 400 μ L de sacarose (1,0 M), o restante do volume foi completado para 2 mL. O tampão de extração da invertase neutra é semelhante ao da invertase ácida, sendo o tampão de acetato de sódio substituído pelo tampão de fosfato de potássio pH 7,5 (0,1 M). As amostras foram colocadas em banho-maria a 37 °C. Em seguida, foram retiradas 100 μ L de cada amostra e colocadas em tubos de Falcon contendo 200 μ L de uma solução obtida pelo método dinitrosálicilo (DNS) e 100 μ L de água, imediatamente submetidos à fervura por 10 minutos. Posteriormente, o volume foi completado com água até 2 mL. Esse procedimento foi realizado aos 10 e aos 70 minutos quando as amostras estavam em banho-maria. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 540 nm e a atividade das enzimas calculada por meio da curva padrão obtida com glicose.

3.5 Avaliações fenométricas

3.5.1 Massa de matéria seca de caule, folhas e vagens

As determinações de massa de matéria seca de haste, folha e órgãos reprodutivos foi realizada no estágio R₆, conforme a classificação de Fehr e Caviness (1977). As determinações de massa de matéria seca foram realizadas utilizando quatro plantas para cada repetição. Cada órgão da planta foi separado e acondicionado em sacos de papel sendo a secagem destes realizada utilizando-se o método padrão de secagem em estufa com circulação de ar forçada e com temperatura de 65°C, até massa constante.

3.5.2 Número de nós e ramos laterais

No estágio R₆ foram coletadas quatro plantas na área útil de cada parcela para contabilização do número de nós reprodutivos da haste principal no primeiro ano de

experimentação. Também foi contabilizado o número de ramos laterais em ambos os anos de experimentação.

3.5.3 Número de nós e ramos laterais (que apresentam vagem)

As mesmas plantas que foram submetidas a contagem de número de nós e ramos laterais destas também foram contabilizados o número de nós que apresentam vagem da haste principal e dos ramos laterais.

3.5.4 Número de vagens e de grãos por vagem

Antes da colheita das plantas, foi contabilizado o número total de vagens e de vagens por grãos das plantas. Para isso, foram coletadas quatro plantas para cada unidade experimental.

3.5.5 Produtividade e massa de 1000 grãos

A área útil de cada repetição foi colhida manualmente e quantificado o valor da massa das mesmas. Para pesagem dos grãos foi usado balança digital com precisão de 0,01 g. Após a pesagem, a umidade dos grãos foi corrigida para 13%. Sendo assim, determinou-se a produtividade de grãos de soja.

Para a determinação da massa de 1000 grãos, foi utilizado o método padrão de estufa.

3.6 Análise estatística

Os dados dos parâmetros avaliados foram submetidos à normalidade e homogeneidade por meio do teste Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. Posteriormente, foi realizada análise fatorial por meio da análise da variância e, quando significativa, foi aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Experimento I

4.1.1 Metabolismo oxidativo

4.1.1.1 Superóxido dismutase

Analisando a atividade da enzima superóxido dismutase (SOD), pode ser observado que apenas a aplicação de micronutrientes foliar proporcionou incremento nos cultivares utilizados, quando comparados ao controle. No cultivar BMX-Desafio-RR, somente o tratamento com micronutrientes foi superior ao controle, incrementando 19% (Figura 6A). Já no cultivar TEC-7849-IPRO, os tratamentos com maior resposta foram aqueles que utilizaram micronutrientes e aminoácidos, com incremento 23% e 56%, respectivamente (Figura 6B). Esse desempenho está relacionado aos micronutrientes Ni, Mn e Cu, que fazem parte de isoformas da enzima SOD como cofatores (MARSCHENER, 2012)

A superóxido dismutase (SOD) é uma das primeiras enzimas a atuar no sistema de defesa contra a produção de espécies reativas de oxigênio em plantas. Essa enzima realiza a dismutação de duas moléculas de radicais superóxido (O_2^-), a partir de $2H^+$. O resultado da reação é a produção de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e O_2 (ASADA, 2006; GILL; TUTEJA, 2010). Uma característica importante da SOD é a falta da necessidade de substrato energético para as suas reações. A enzima utiliza a energia dos seus cofatores metálicos para os processos de dismutação (CHAUDIERE; FERRARI-ILIOU, 1999).

Essa enzima possui isoformas, que podem se diferenciar em função da ligação do cofator metálico. De acordo com essa característica, a SOD pode ser classificada em: SOD-Mn, SOD-Fe e SOD-Cu/Zn. Além dessas isoformas, mais recentemente foi descoberta a SOD-Ni, que ainda necessita de estudos mais detalhados sobre a sua localização e importância no sistema antioxidante de plantas (ABREU; CABELLI, 2010). As isoformas de SOD apresentam uma separação espacial nas células de acordo com o seu cofator metálico. Normalmente a Mn-SOD é encontrada na mitocôndria e peroxissomo, Fe-SOD no cloroplasto e Cu/Zn-SOD no peroxissomo, cloroplasto e citosol e, possivelmente, no meio apoplástico (ALSCHER et al., 2002). Em função disso, essa enzima se mostra extremamente versátil, pois, possui a capacidade de atuar na defesa em diversos locais de produção de espécies reativas de oxigênio.

Figura 6 - Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD, $\mu\text{mol}[\text{U}] \text{ min}^{-1} \mu\text{g}^{-1}$ [proteína]) de plantas de soja, cultivares BMX-Desafio-RR (A) e TEC-7849-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA_3 + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

4.1.1.2 Peróxido de hidrogênio

Quanto ao teor de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) no tecido, foi observado desempenho distinto entre os cultivares. No cultivar BMX-Desafio-RR, não foi observada interferência nos tratamentos (Figura 7A). Por outro lado, no cultivar TEC-7849-IPRO todos os tratamentos apresentaram incremento quando comparado ao controle, o valor médio desse aumento foi de 43% (Figura 7B).

Figura 7 - Teor de peróxido de hidrogênio (H₂O₂, $\mu\text{mol g}^{-1}$ [MF]) de plantas de soja, cultivares BMX-Desafio-RR (A) e TEC-7849-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA₃ + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

O aumento do teor de H₂O₂ pode causar dois efeitos em plantas. O primeiro se refere ao aumento da degradação de membranas, resultando no aumento de peroxidação lipídica. A elevada taxa de lipoperoxidação pode induzir a efeitos deletérios para as células vegetais, isso porque, as espécies reativas que induzem este processo atuam em ácidos graxos de membrana, resultando na perda de rigidez, integridade e permeabilidade. Este processo produz compostos carboxílicos como o monondialdeído. O aumento no teor de H₂O₂ também pode repercutir em

sinalização celular para tolerância a vários tipos de estresses. No entanto, somente comparando com os dados de peroxidação lipídica é possível definir quais desses possíveis fatores estão atuando em maior intensidade (MARSCHNERS, 2012; TAIZ et al., 2017).

4.1.1.3 Catalase

Em relação à atividade da enzima catalase (CAT), constatou-se uma tendência de decréscimo dos tratamentos em relação controle nos cultivares testados.

Figura 8 - Atividade da enzima catalase (CAT, $\mu\text{mol min}^{-1} \mu\text{g}^{-1}$ [proteína]) de plantas de soja, cultivares BMX-Desafio-RR (A) e TEC-7849-IPro (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutamina - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA₃ + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

No cultivar BMX-Desafio-RR, o tratamento que apresentou o maior decréscimo na atividade da enzima foi com hormônios e extrato de alga com redução de 59 e 40%, respectivamente, em relação ao controle (Figura 8A).

Para o cultivar TEC-7849-IPRO, as maiores reduções na atividade da CAT foram verificadas nos tratamentos com micronutrientes com redução 41%, extrato de alga, com redução de 39% e hormônios com 37% quando comparadas ao controle (Figura 8B).

O uso de extrato de algas e hormônios foi o tratamento que nos dois materiais genéticos, reduziu a atividade da enzima CAT. Isso significa que o uso desse tratamento possivelmente atenuou o estresse oxidativo das plantas, diminuindo assim, a necessidade da ativação da enzima.

4.1.1.4 Peroxidase

Analisado as Figuras 8 e 9, foi verificado efeito similar das enzimas POD e CAT, quando submetida aos tratamentos com micronutrientes e hormônios. Da mesma forma que foi notado para enzima CAT, esses mesmos tratamentos também diminuíram a atividade da enzima POD.

O cultivar TEC-7849-IPRO manteve níveis mais elevados da atividade da enzima peroxidase (POD), mesmo padrão encontrado para as análises de SOD e CAT. Nesse cultivar, pode ser observado incremento de 14% e 11% nos tratamentos com aminoácidos e extrato de alga, e redução de 13% e 8% nos tratamentos com micronutrientes e hormônios, respectivamente, quando comparadas ao controle (Figura 9A).

No cultivar BMX-Desafio-RR, o tratamento com hormônios reduziu a atividade da POD em 28%, em relação ao controle (Figura 9B). Os demais tratamentos não afetaram a atividade desta enzima, quando comparados ao controle.

As peroxidases desempenham um papel crítico no metabolismo das plantas e na oxidação por peróxidos, como aceptores de hidrogênio, sendo importante nos mecanismos de defesa (FARIA et al., 2003).

Silva et al. (2008) notaram menor atividade da enzima peroxidase, em sementes tratadas com Stimulate® +Cellerate® em plantas de milho.

As peroxidases podem ser encontradas em diversos compartimentos celulares e são responsáveis pela catalisação do H_2O_2 a água. A nomenclatura dessa classe de enzimas está

relacionada ao substrato utilizado, sendo que as principais peroxidases são ascorbato peroxidase, glutathione peroxidase e guaiacol peroxidase, que utilizam ascorbato, glutathione e guaiacol, respectivamente, como cofatores (CHAUDIERE; FERRARI-ILIOU, 1999; GILL; TUTEJA, 2010).

Figura 9 - Atividade da enzima peroxidase (POD, μmol [purpurogalina] min^{-1} mg^{-1} [proteína]) de plantas de soja, cultivares BMX-Desafio-RR (A) e TEC-7849-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA_3 + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

A ascorbato peroxidase (APX) pode ser encontrada em diversas organelas celulares e participa de importantes ciclos de desintoxicação nas plantas como o ciclo água-água na fotossíntese e ciclo da ascorbato-glutationa (FOYER; NOCTOR, 2005).

Esta enzima utiliza o ascorbato como um doador de hidrogênio para quebrar o H_2O_2 , formando H_2O e monodehidroascorbato (ASADA, 2000).

Em ambos os ciclos em que a APX atua, a molécula de ascorbato precisa ser regenerada. A diferença é que no ciclo da ascorbato-glutationa, é utilizada energia do NADPH para a regeneração, já no ciclo água-água, esse processo ocorre por meio de elétrons oriundos da ferredoxina (MITTLER, 2002).

Outra enzima que compõe o grupo das peroxidases é a glutatona peroxidase (GPX), que despenha o mesmo papel da APX. No entanto, utiliza a glutatona como doadora de hidrogênio para a sua reação (CHAUDIERE; FERRARI-ILIOU, 1999).

A enzima guaiacol peroxidase pode utilizar compostos aromáticos como doadores de elétrons para a sua reação, podendo utilizar guaiacol e pirogallol (ASADA, 1999). Essa enzima é capaz de decompor o ácido indolacético (AIA) e tem um papel significativo na biossíntese de lignina e na defesa contra estresses bióticos.

Na defesa contra estresse biótico, a função da enzima é consumir H_2O_2 no citosol, vacúolo, e da parede celular, bem como no espaço extracelular. Alguns estudos têm demonstrado que essa enzima também pode atuar em estresse salino (JEBARA et al., 2005), estresse por *deficit* hídrico (XIAO et al., 2009) e estresse por metais (HALUSKOVA et al., 2009).

4.1.1.5 Prolina

Avaliando a concentração de prolina, pode ser observado no cultivar BMX-Desafio-RR que apenas o tratamento com extrato de alga possui aumento de 97% em relação ao controle (Figura 10A). Como a produção de prolina reflete o *status* hídrico da planta, é possível que no cultivar BMX-Desafio-RR houve a necessidade de estímulo da síntese desse aminoácido, possivelmente devido à maior sensibilidade deste cultivar à deficiência hídrica.

No cultivar TEC-7849-IPRO, pode ser notado um desempenho diferente, onde os tratamentos aplicados não alteram o teor de prolina (Figura 10B). O aumento do teor de prolina é o reflexo do nível de estresse que a planta está sendo submetida, pois esse aminoácido atua

como osmorregulador, antioxidante e protetor da atividade de enzimas. Portanto, é possível que a planta não tenha tido a necessidade de aumentar o teor de prolina.

Figura 10 - Teor de prolina ($\mu\text{mol [prolina]} \text{ g}^{-1} \text{ [MF]}$) de plantas de soja, cultivares BMX-Desafio-RR (A) e TEC-7849-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA_3 + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

A prolina tem sido considerada um dos principais aminoácidos protetores contra estresse. Dentre suas inúmeras funções, destacam-se: (i) chaperonas moleculares capazes de

proteger a integridade de proteínas. Essa função inclui a prevenção da agregação e estabilização da M₄ lactato desidrogenase durante temperaturas extremas (WELTMEIER et al., 2006), proteção da enzima nitrato redutase em situações de estresses por metais pesados e osmótico (SHARMA; DUBEY, 2005), além da estabilização de ribonucleases e proteases em elevadas exposições de arsênio (MISHRA; DUBEY, 2006); e (ii) vários estudos têm atribuído à prolina a atividade antioxidante, sugerindo assim um potente agente com atividade desintoxicante (SMIRNOFF; CUMBES, 1989; MATYSIK et al., 2002).

Entretanto, a síntese demasiada de prolina é prejudicial às plantas, pois esta consome entre 0,4 e 0,6% do N total das folhas (ERNST; NELISSEN; BOOKUM, 2000) e, dessa forma, a elevada síntese de prolina pode consumir parte do N que poderia ser utilizado para o crescimento (inibição do crescimento devido à toxidez desses aminoácidos quando presente em altos teores).

4.1.1.6 Peroxidação lipídica

Nos dois cultivares analisados, constata-se uma tendência de redução nos níveis dessa variável quando foi utilizado aminoácido, micronutrientes e extrato de alga, embora em alguns tratamentos houve apenas diferença numérica, mas estatisticamente foram iguais.

No cultivar BMX-Desafio-RR, apenas a aplicação de hormônios proporcionou a redução significativa na peroxidação lipídica (celular) de 10% em relação ao controle. No entanto, para o cultivar TEC-7849-IPRO, somente o uso de micronutrientes proporcionou a mesma redução na peroxidação lipídica de 10% quando comparado ao controle (Figura 11).

A peroxidação lipídica é o resultado da interação entre radicais livres e ácidos graxos das membranas celulares. Quando esse processo ocorre, a integridade e permeabilidade da membrana celular é comprometida resultando na produção de compostos carboxílicos como o monodialdeído. Isto significa que tratamentos que apresentam plantas com maiores valores de peroxidação lipídica foram mais atingidos pelos estresses oxidativos.

Outro ponto importante desse resultado é a atividade enzimática nos dois cultivares. A SOD, a CAT e a POD não foram influenciadas pelos tratamentos à base de hormônios e micronutrientes nos cultivares BMX-Desafio-RR e TEC-7849-IPRO. No entanto, esses cultivares apresentaram menor peroxidação lipídica utilizando estes tratamentos.

Provavelmente, ocorreu a ativação de mecanismos de defesa não enzimáticos, exigindo assim menor atividade das enzimas supracitadas.

Figura 11 - Peroxidação lipídica (PL, nmol [TBARS] g [MF]⁻¹) de plantas de soja, cultivares BMX-Desafio-RR (A) e TEC-7849-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA₃ + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

4.1.2 Metabolismo do carbono

4.1.2.1 Invertase neutra e ácida

A invertase é uma enzima metabólica essencial que hidrolisa a sacarose dissacarídica (o principal tipo de açúcar transportado através do floema das plantas) para glicose e frutose.

Invertases, sozinhas ou em combinação com hormônios vegetais, estão envolvidas na regulação de processos de desenvolvimento, partição de carboidratos, bem como em interações bióticas e abióticas. As plantas superiores contêm várias isoenzimas invertase, que podem ser distinguidas por sua localização subcelular (parede celular, vacúolo ou citosol), solubilidade (solúvel ou insolúvel em tampão de baixa força iônica), pH ótimo (ácido ou neutro / alcalino) e ponto isoelétrico (pI) (STURM; CHRISPEELS, 1990).

A parede celular e as invertases vacuolares são formas glicosiladas com um pH ácido ideal, enquanto a invertase citosólica é provavelmente uma forma não glicosilada com opções neutras / alcalinas. A glicosilação de invertases ácidas é necessária para o seu transporte através da membrana plasmática ou do tonoplasto, daí sua localização na parede celular ou no vacúolo (TYMOWSKA-LALANNE; KREIS, 1998). As inversões da parede celular são ionicamente ligadas à parede celular por cargas positivas devido ao seu pH neutro / básico em pH baixo (KIM et al., 2000).

Com relação à invertase ácida de folhas no cultivar BMX-Desafio-RR, pode ser notado incremento de 34%, 37%, 21% nos tratamentos Aminoácidos, micronutrientes e extrato de algas em relação ao controle (Figura 12A), respectivamente. Em relação à invertase neutra, todos apresentaram o mesmo desempenho. Analisando o cultivar TEC-7849-IPRO, todos os tratamentos tiveram menor ou igual atividade da invertase neutra e ácida em relação ao controle (Figura 12B).

Avaliando atividade da invertase ácida de vagens no cultivar BMX-Desafio-RR, pode ser observado incremento médio de 48% de todos os tratamentos em relação ao controle. Com relação a atividade da invertase neutra, o tratamento com extrato de alga foi mais eficaz aumentando 400%, em relação ao controle. Já analisando, a massa de matéria seca de vagens, somente o tratamento com micronutrientes foi superior ao controle, o qual incrementou 27% (Figura 13A). Analisando o cultivar TEC-7849-IPRO, não se nota o mesmo desempenho quanto à atividade da invertase ácida, em que o tratamento com micronutrientes incrementou 64% em relação ao controle. Avaliando a invertase neutra, todos os tratamentos foram superiores ao controle, exceto o tratamento com extrato de alga. Já em massa de matéria seca de vagens, todos os tratamentos são superiores ao controle, em média 22% (Figura 13B).

Figura 12 - Atividade das invertases nas folhas ($\mu\text{g g}^{-1}[\text{MF}]$): (IA) invertase alcalina e (IN) invertase neutra em folhas de plantas de soja, cultivares BMX-Desafio-RR (A) e TEC-7849-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA_3 + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Figura 13 - Atividade das invertases de vagens (µg g⁻¹[MF]) IA: invertase alcalina e IN invertase neutra, e massa de vagens (MV, g planta⁻¹) de plantas de soja, cultivares BMX-Desafio-RR (A) e TEC-7849-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA₃ + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascohyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

4.1.3 Avaliações fenométricas

4.1.3.1 Massa de matéria seca de folhas e caules

A massa de matéria seca de caule (haste) do cultivar BMX-Desafio-RR não foi influenciada pelos tratamentos (Figuras 14B e 15B). Contudo, quando se analisa o cultivar TEC-7849-IPRO, é possível verificar o efeito positivo do uso de hormônios para a massa de matéria seca de caule, havendo um incremento de 28% em relação ao controle, embora não diferindo estatisticamente dos tratamentos aminoácidos, micronutrientes e extrato de alga.

Figura 14 - Massa de matéria seca de folhas (MSf) (A) e de caule (MSc) (B) (g planta⁻¹) de plantas de soja (cultivar BMX-Desafio-RR) submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA₃ + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

O caule influencia a produtividade da cultura de soja, pois, é nesse órgão que estão inseridas as gemas que originam flores e futuras vagens. Além disso, servem de sustentação de folhas que definem a produção fotossintética. Portanto, aumento na massa de caules pode repercutir diretamente na produtividade de grãos. Normalmente, produtos que aumentam a formação de ramificações tendem a apresentar um acréscimo no acúmulo de massa de matéria seca de caules (hastes).

Quando se analisa massa de matéria seca de folhas, o desempenho é similar ao verificado para caules com superioridade novamente para o tratamento à base de hormônios, que não diferiram do uso de aminoácidos e micronutrientes. O ganho em relação ao controle foi de 25%, quando se utilizou hormônios (Figuras 14A e 15A).

O aumento de massa de matéria seca de folha se torna importante até o momento que a planta atinge o IAF ótimo. Antes disso, o aumento da emissão de folhas potencializa a fotossíntese líquida de plantas. Acima desse valor, ocorre um aumento da respiração da planta causando assim um decréscimo da fotossíntese líquida e consequentemente da produtividade.

Figura 15 - Massa de matéria seca de folhas (MSf) (A) e de caule (MSc) (B) (g planta⁻¹) de plantas de soja (cultivar TEC-7849-IPRO) submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathiona - GGH + Pro + Phe), Micronutrientes (Zn + Mn + Ni), Hormônios (GA₃ + CK + AIB), Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

4.1.3.2 Número de nós e ramos laterais

Na avaliação de número de nós produtivos nas plantas, verificou-se que, na variedade cultivada BMX-Desafio-RR, os tratamentos não afetaram o número total de nós (Figura 16A)

e número de ramificações por planta (Figura 16B). O uso de aminoácidos proporcionou uma tendência de aumento no número de nós nas ramificações que não repercutiu em diferença estatística significativa (Figura 16C).

Figura 16 - Número total de nós (A), número de ramificação (B) e número de nós nas ramificações (C) em plantas de soja (cultivar BMX-Desafio-RR) submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA₃ + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Figura 17 - Numero de nós (A), número de ramificação (B) e número de nós nas ramificações (C) em plantas de soja (cultivar TEC-7849-IPRO) submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA₃ + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

No cultivar TEC-7849-IPRO, o número de nós por planta foi incrementado pelo uso dos tratamentos foliares, exceto quando se utilizou extrato de algas que não diferiu do controle do uso de aminoácidos e hormônios. O tratamento com maior eficiência para essa variável foi o com micronutrientes que ocasionou aumento médio de 13%, embora não tenha diferido do tratamento com hormônios. Quando se avalia o número de ramificações, não foi evidenciada diferença estatística entre os tratamentos (Figura 17A,B). Somente foi evidenciada uma redução no número de nós nas ramificações (Figura 17C).

O aumento de ramificações tem proporcionado o acréscimo no número de nós e, consequentemente, de gemas reprodutivas. Alguns estudos têm relatado que a produtividade de sementes de soja na haste principal é relativamente estável na maior parte dos ambientes de cultivos. O fator que mais afeta a produtividade nesses casos é a quantidade de ramificações emitidas (NORSWORTHY; SHIPE, 2005).

4.1.3.3 Número e massa de vagens por terço

O número de vagens por terço não foi afetado pelos tratamentos no cultivar BMX-Desafio-RR.

Figura 18 - Total de vagens na haste principal (TVHP, vagens planta⁻¹) de plantas de soja (cultivar BMX-Desafio-RR) submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathiona - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA₃ + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

No entanto quando se avalia a quantidade de nós que apresentaram vagens, constatou-se que o uso de aminoácidos é mais eficiente que os demais tratamentos quando comparados ao controle no terço médio (Figuras 18 e 19), inclusive que proporcionou incremento na massa de matéria seca de vagens das mesmas (Figura 20). Isso significa que a aplicação de micronutrientes reduziu a quantidade de aborto nessa posição da planta. Possivelmente, devido à ação desses nutrientes nos sistemas antioxidantes, reduzindo assim a produção de etileno (FAGAN et al., 2016). O terço médio representa 43% da produtividade total da planta. Isso demonstra a importância da retenção e acúmulo de massa de vagens no mesmo.

Figura 19 - Número de nós com vagens por terço (NNVP, nós planta⁻¹) de plantas de soja (cultivar BMX-Desafio-RR) submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaina - GB + Glutamina - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA₃ + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Na Figura 21, não foi verificada a influência dos tratamentos no total de vagens por terço no cultivar TEC-7849-IPRO. Da mesma forma que ocorreu para o cultivar BMX-Desafio-RR, esse desempenho parece estar relacionado a características genéticas da planta, não sendo responsiva ao uso de estimulantes. Ainda em relação ao cultivar TEC-7849-IPRO, verifica-se pequenas alterações no número de nós que possuem vagens que não foram suficientes para proporcionar uma diferença estatística em relação ao controle (Figura 22). Entretanto o uso de

hormônios incrementou a massa de matéria seca de vagens no terço inferior que, possivelmente, está relacionada a uma maior longevidade de folhas (Figura 23).

Figura 20 - Massa de matéria seca de vagens por terço (MSv, g planta⁻¹) de plantas de soja (cultivar BMX-Desafio-RR) submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA₃ + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Figura 21 - Total de vagens na haste principal (TVHP, vagens planta⁻¹) de plantas de soja (cultivar TEC-7849-IPRO) submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA₃ + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Figura 22 - Número de nós com vagens por terço (NNVP, nós planta⁻¹) de plantas de soja (cultivar TEC-7849-IPRO) submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaina - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA₃ + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Figura 23 - Massa de matéria seca de vagens por terço (MSv, g planta⁻¹) de plantas de soja (cultivar TEC-7849-IPRO) submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaina - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA₃ + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

4.1.4 Produtividade

A produtividade do cultivar BMX-Desafio-RR (Figura 24A) não foi influenciada pelos tratamentos foliares. Uma possível consequência da baixa influência dos tratamentos nesse cultivar, nos componentes de produção, foi o número de nós com vagem e massa de matéria seca de vagens por terço. No cultivar TEC-7849-IPRO (Figura 24B), nota-se que o uso de micronutrientes foi o mais relevante dos tratamentos para incremento de produtividade: em comparação ao controle, o incremento foi de 6 sacas ha^{-1} . Os demais tratamentos não diferiram do uso de micronutrientes e nem do controle.

Figura 24 - Produtividade (P, sacas ha^{-1}) de plantas de soja, cultivares BMX-Desafio-RR (A) e TEC-7849-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutamina - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA₃ + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

O destaque da produtividade do cultivar TEC-7849-IPRO pode estar relacionado à sua plasticidade, bem como, provavelmente, pelo grau de maturação e época de semeadura, o que proporcionou maior efeito dos estimulantes, reduzindo o nível de estresse e incrementando a massa de vagens, repercutindo em maiores incrementos de produtividade quando comparado ao cultivar BMX-Desafio-RR.

4.2 Experimento II

4.2.1 Metabolismo oxidativo

4.2.1.1 Superóxido dismutase

A atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) na variedade cultivada M-6210-IPRO (Figura 25A) só apresentou decréscimo quando se utilizou micronutrientes + extrato de algas, no entanto TMG-7063-IPRO, não foi evidenciado diferenças significativas para essa enzima. No cultivar M-6210-IPRO o tratamento com micronutrientes e extrato de algas reduziu a atividade da enzima em 87% em relação ao controle e os demais tratamentos não diferem entre si (Figura 25A). Já no cultivar TMG-7063-IPRO os tratamentos não afetaram a atividade dessa enzima (Figura 25B).

A SOD constitui a primeira linha de defesa contra o radical superóxido (O_2^-) que é produzido em praticamente todas as cadeias de transporte de elétrons. Através da dismutação, essa enzima remove duas moléculas de O_2^- produzindo uma de H_2O_2 e outra de O_2 primeiramente (GILL; TUTEJA, 2010). A baixa atividade da enzima no tratamento com micronutrientes e extrato de algas pode ser resposta da baixa produção de radicais livres possivelmente devido a ação dos tratamentos de atenuar estresses.

Figura 25 - Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD, $\mu\text{mol min}^{-1} \mu\text{g}$ [proteína]⁻¹) de plantas de soja, cultivares M-6210-IPRO (A) e TMG-7063-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresse [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutamina - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA₃ + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

4.2.1.2 Peróxido de hidrogênio

Quanto ao teor de peróxido de hidrogênio não houve influência para os dois cultivares avaliados (Figura 26A,B).

O peróxido de hidrogênio é uma espécie reativa de oxigênio altamente reativa, essa possui tamanho menor permitindo que a mesma atravessasse membranas e migre para organelas

diferentes o que faz com que o dano se espalhe pelas células, mas também possa atuar como mensageiro de estresses (KARKONEN: KUCHITSU, 2015). Outra ação deletéria desta espécie reativa de oxigênio (ERO) é a sua participação na formação do radical hidroxila ($\text{OH}^\cdot$), considerado a mais reativo e oxidante ERO (KARUPPANANPANDIAN et al., 2011).

Figura 26 - Teor de peróxido de hidrogênio (H_2O_2 , $\mu\text{mol g}^{-1}$ [MF]) de plantas de soja, cultivares M-6210-IPRO (A) e TMG-7063-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathiona - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA_3 + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

4.2.1.3 Catalase

A atividade da enzima catalase no cultivar M-6210-IPRO apresentou acréscimo médio de 45% nos tratamentos micronutriente + hormônios e micronutrientes + extrato de algas em relação ao controle, já o tratamento com micronutrientes isolado reduziu a atividade da CAT em 165% comparado ao controle (Figura 27A). No cultivar TMG-7063-IPRO o controle foi superior aos demais apresentando incremento médio de 148% comparado aos demais tratamentos (Figura 27B). Uma possível causa desse comportamento no cultivar TMG-7063-IPRO seja a maior necessidade do controle em ativar essas enzimas pela maior intensidade de estresse sofrido.

Figura 27 - Atividade da enzima catalase (CAT, $\mu\text{mol min}^{-1} \mu\text{g}$ [proteína] $^{-1}$) de plantas de soja, cultivares M-6210-IPRO (A) e TMG-7063-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA_3 + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

A enzima catalase tem como função catalisar a dismutação de duas moléculas de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) produzido pela enzima SOD, além do oriundo da fotorrespiração e da β -oxidação, em uma molécula de água e outra de oxigênio (GARD; MANCHANDA, 2009). A maior atividade da enzima é destacada como uma via de defesa em plantas, esta protege as estruturas celulares contra danos ocasionados por H_2O_2 produzidos nos peroxissomos e demais organelas celulares, devido a elevada concentração de CO_2 durante a fotorrespiração e oxidação de ácidos graxos, ela funciona em conjunto com outras peroxidases, entretanto de uma forma que não há gasto energético para a planta (SOFO et al., 2015).

4.2.1.4 Peroxidase

Ao avaliar a atividade da peroxidase (POD) no cultivar M-6210-IPRO, o tratamento micronutriente + hormônios + extrato de algas proporcionou maior incremento em relação aos demais em média 25% (Figura 28A). No cultivar TMG-7063-IPRO destacaram os tratamentos micronutrientes + extrato de algas e micronutrientes + hormônios + extrato de algas embora tenha diferido apenas do tratamento de micronutrientes + hormônios. O tratamento com micronutrientes + hormônios foi o que repercutiu em menor atividade da POD, mesmo comportamento visto na atividade da CAT, ambas são enzimas que usam H_2O_2 como substrato (Figura 28B).

A peroxidase atua nas plantas da mesma forma da CAT, convertendo duas moléculas de peróxido de hidrogênio em uma de água e uma de oxigênio molecular, porém para que a reação aconteça ela precisa de agente fenólico para agir como cofator de regeneração após a reação (MHAMDI et al., 2012). No entanto, fisiologicamente a CAT seria mais vantajosa para a planta, porém sua atuação ocorre nos peroxissomos, glioxissomos e mitocôndrias, enquanto a POD tem a atividade concentrada na parede celular e no vacúolo. Existem várias isoformas de POD, envolvido em uma série de processos celulares e baixas concentrações estão envolvidas com estresses brandos e altas concentrações com danos mais severos (BARBOSA et al., 2014).

Figura 28 - Atividade da enzima peroxidase (POD, μmol [purpurogalina] min^{-1} mg [proteína] $^{-1}$) de plantas de soja, cultivares M-6210-IPRO (A) e TMG-7063-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA_3 + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascomyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

4.2.1.5 Prolina

No cultivar M-6210-IPRO a concentração de prolina é aumentada e 40% em média em relação ao controle, o tratamento micronutriente + extrato de algas possui maior incremento, em relação aos demais tratamentos, com 65% quando comparado ao controle (Figura 29A). Ao avaliar o cultivar TMG-7063-IPRO o tratamento com micronutrientes e hormônios é o que

produziu menor quantidade de prolina ($0,08 \mu\text{mol [prolina]} \text{ g}^{-1} [\text{MF}]$), reduziu 120% em média aos demais tratamentos, entretanto os tratamentos não diferiram entre si (Figura 29B).

A prolina é um aminoácido considerado ótimo antioxidante, esta característica está relacionada ao potencial de ionização (capacidade de fornecer elétrons) da amina. O baixo potencial de ionização da prolina torna a amina com baixo potencial de ionização apta a formar um reservatório complexo de transferência de carga, capaz de extinguir a ERO oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) (MATYSIK et al., 2002).

Figura 29 - Teor de prolina ($\mu\text{mol [prolina]} \text{ g}^{-1} [\text{MF}]$) de plantas de soja, cultivares M-6210-IPRO (A) e TMG-7063-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutaciona - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA_3 + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

4.2.1.6 Peroxidação lipídica

Avaliando peroxidação lipídica no cultivar M-6210-IPRO pode ser verificado uma baixa degradação de membrana no tratamento micronutrientes + hormônios em relação ao controle e aos demais tratamentos o qual reduziu em média 20% (Figura 30A). Isso comprova que a baixa atividade das enzimas SOD e CAT está relacionada ao baixo nível de estresse associado ao uso de micronutrientes com hormônios.

Figura 30 - Peroxidação lipídica (PL, nmol [TBARS] g [MF]⁻¹) de plantas de soja, cultivares M-6210-IPRO (A) e TMG-7063-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathiona - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA₃ + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

No entanto, para o cultivar TMG-7063-IPRO os tratamentos não proporcionaram redução no nível de peroxidação lipídica pelo contrário incrementaram o nível de peroxidação lipídica (Figura 30B). Possivelmente está ligada a inibição parcial da enzima catalase nesses tratamentos.

A peroxidação lipídica acontece depois de uma série de processos bioquímicos devido a ação de ERO nos lipídeos insaturados das membranas celulares. A ação deles produz os radicais alquila, alcoxila e peroxila que levam a destruição da membrana ataca, falência dos mecanismos e em casos mais extremos a morte celular (LIMA; ABDALLA, 2001).

4.2.2 Metabolismo do carbono

4.2.2.1 Atividade da invertase

Avaliando invertase ácida de vagens no cultivar M-6210-IPRO pode ser notado incremento 32% no tratamento Micronutrientes + Extrato de Algas em relação ao Controle, apesar dos demais tratamentos também serem superiores ao controle mais em menor nível (Figura 31A).

Em relação a invertase neutra os tratamentos micronutrientes + extratos de algas, micronutrientes + hormônios + extratos de algas e micronutrientes + hormônios incrementaram a atividade da invertase neutra 43% em relação ao controle. Analisando o cultivar TMG-7063-IPRO o tratamento e micronutrientes + extratos de algas apresentou o mesmo comportamento que cultivar M-6210-IPRO apresentou maior atividade de invertase ácida em relação ao controle incrementando 37% (Figura 31B), na atividade da invertase neutra micronutrientes + hormônios + extratos de algas, foi o mais eficiente. De modo geral a atividade da invertase neutra é mais elevada em tratamentos que o fruto ou sementes estão em maturação, enquanto a invertase ácida é elevada em órgãos de armazenamento que estão em crescimento.

A invertase neutra parecem ser específicas para hidrolisar sacarose, enquanto que a invertase ácida hidrolisa além da sacarose, outros oligossacarídeos que contém resíduo de β -frutose como rafinose e estaquiase, o que, em geral faz com que sua atividade seja maior que a da enzima invertase neutra (STURM, 1999).

Figura 31 - Atividade de invertases (µg g⁻¹[MF]) IA: invertase alcalina e IN invertase neutra, de soja, cultivares M-6210-IPRO (A) e TMG-7063-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA₃ + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascomyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas pretas e minúsculas nas colunas listradas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

4.2.3 Avaliações fenométricas

4.2.3.1 Massa de matéria seca de caule e folhas

Analisando massa de matéria seca de caule apenas o tratamento com micronutrientes proporcionou aumento significativo em relação ao controle no cultivar M-6210-IPRO enquanto para o cultivar TMG-7063-IPRO não houve diferença para essa variável (Figura 32A, B).

Figura 32 - Massa de matéria seca de caule (MSc, g planta⁻¹) de plantas de soja, cultivares M-6210-IPRO (A) e TMG-7063-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe), Micronutrientes (Zn + Mn + Ni), Hormônios (GA₃ + CK + AIB), Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Contudo, para massa de matéria seca de folha três tratamentos foram eficientes para essa variável (micronutrientes + hormônios e micronutrientes + extrato de algas, micronutrientes + hormônios + extrato de algas) cujo a média de incremento com relação ao controle foi de 20% (Figura 33A). No acúmulo de massa de matéria seca de folhas, o único tratamento que diferenciou do controle a associação de micro + hormônios + extrato de algas no cultivar TMG-7063-IPRO (Figura 33B).

Figura 33 - Massa de matéria seca de folha (MSf, g planta⁻¹) de plantas de soja, cultivares M-6210-IPRO (A) e TMG-7063-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaina - GB + Glutamina - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA₃ + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Avaliando massa de matéria seca de vagens no cultivar M-6210-IPRO o tratamento que proporcionou maior incremento em relação ao controle foi micronutriente + hormônios apesar de não diferir dos demais tratamentos (Figura 34A). Do mesmo modo foi verificado para caule o cultivar TMG-7063-IPRO não respondeu ao uso dos tratamentos foliares para incremento de massa seca de vagens (Figura 34B).

Provavelmente esses efeitos se devem pela ação dos micronutrientes no efeito antiestresse enquanto os hormônios possibilitaram mais fluxo de carboidratos nas plantas tratadas (Figura 34B).

Figura 34 - Massa de matéria seca de vagens (MSv, g planta⁻¹) de plantas de soja, cultivares M-6210-IPRO (A) e TMG-7063-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA₃ + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

4.2.3.2 Número de nós e ramos laterais

Maior número de nós foi estimulado pela associação de micronutrientes + hormônios + extrato de algas, quando comparado ao controle, mesmo sem ter apresentado diferença dos tratamentos com micronutrientes + hormônios, micronutrientes + extrato de algas para a variedade cultivada M-6210-IPRO (Figura 35A).

Figura 35 - Número de nós (NN, nós planta⁻¹) em plantas de soja, cultivares M-6210-IPRO (A) e TMG-7063-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA₃ + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

O cultivar TMG-7063-IPRO somente foi responsivo no aumento no número de nós quando foi utilizado micronutrientes + extrato de algas (Figura 35B).

Figura 36 - Número de ramificações (NR, ramificações planta⁻¹) em plantas de soja, cultivares M-6210-IPRO (A) e TMG-7063-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; aminoácidos (Glicina Betaína - GB + Glutamina - GGH + Pro + Phe). Micronutrientes (Zn + Mn + Ni). Hormônios (GA₃ + CK + AIB). Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

O aumento no número de ramificações no cultivar M-6210-IPRO só foi significativo quando associou micronutrientes + hormônios + extrato de algas que coincide com o comportamento de número de nós para mesmo cultivar (Figura 36A).

Já para o cultivar TMG-7063-IPRO os tratamentos não afetaram para esta variável (Figura 36B). No cultivar que respondeu para o número de nós e ramificações à associação dos três produtos provavelmente tem influenciado nos seguintes pontos: micronutrientes: redução do stress oxidativo; hormônios e extrato de algas: no incremento da concentração de citocinina e responsável pelo aumento de nós e ramificação.

4.2.3.3 Produtividade e massa de 1000 grãos

As maiores produtividades obtidas no cultivar M-6210-IPRO foi quando utilizou micronutrientes + hormônios, micronutrientes + hormônios + extrato de algas 19,5 e 18,89 sacas ha⁻¹ respectivamente quando comparado ao controle (Figura 37A).

Esse resultado corrobora com a massa de mil grãos com esse último tratamento que apresenta uma maior massa em relação aos demais (Figura 37A).

É importante salientar que essa grande diferença dificilmente é visualizada a campo devido heterogeneidade das áreas afetar estímulos em sua magnitude. O comportamento se repetiu para o cultivar TMG-7063-IPRO, porém com menores acréscimos, que no cultivar M-6210-IPRO (Figura 38B).

Porém, com pouca relação com a massa de mil grãos (Figura 38B). Por meio desses dados fica evidente que micronutrientes + hormônios ou micronutrientes + hormônios + extrato de algas são os mais eficientes para incremento de produtividade nos cultivares testados.

Esses resultados são uma possível consequência no aumento da atividade das invertases. Para cada cultivar houve diferentes respostas fisiológicas e fonométricas que ter influenciado nesta resposta, por exemplo no cultivar M-6210-IPRO esse tratamento aumentou a atividade da enzima catalase concentração de prolina embora somente micronutrientes + hormônios, reduziu a peroxidação lipídica. Mas mesmo não sendo os melhores tratamentos proporcionaram maior atividade da invertase acida, mil grãos, mas se destacaram com o acúmulo de massa seca de folhas e número de nós. Quanto se avalia outra genética que o caso da TMG-7063-IPRO, teve uma redução da atividade da catalase e aumento da peroxidação lipídica quando comparado ao controle que parece não ter interferido na massa de caule, folhas e vagens. Isso significa que esses produtos afetaram outras variáveis fisiológicas da planta.

Figura 37 - Produtividade (P, sacas ha⁻¹) de plantas de soja, cultivares M-6210-IPRO (A) e TMG-7063-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; Aminoácidos: Glicina Betaína - GB + Glutathione - GGH + Pro + Phe. Micronutrientes: Zn + Mn + Ni. Hormônios: GA₃ + CK + AIB. Extrato de alga: *Ascophyllum nodosum*] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Figura 38 - Massa de mil grãos (M1000, g) de plantas de soja, cultivares M-6210-IPRO (A) e TMG-7063-IPRO (B), submetidas a aplicação foliar de atenuadores de estresses [Controle; Aminoácidos: Glicina Betaína - GB + Glutamina - GGH + Pro + Phe. Micronutrientes: Zn + Mn + Ni. Hormônios: GA₃ + CK + AIB. Extrato de alga: *Ascophyllum nodosum*] aos 10 dias após a última aplicação. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

5 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos no experimento I, pode-se concluir que os efeitos fisiológicos do uso de aminoácidos, micronutrientes, hormônios e extrato de alga diferem de acordo com o cultivar de soja utilizado.

Mesmo ocorrendo efeitos fisiológicos no cultivar BMX-Desafio-RR, o mesmo não responde à aplicação foliar de substâncias estimulantes utilizados.

Para o cultivar TEC-7849-IPRO, o uso de micronutrientes é o que proporciona o maior estímulo em produtividade.

No experimento II, a associação de micronutrientes + hormônios e micronutrientes + hormônios + extrato de alga, resultou variações nos efeitos fisiológicos, fenométricos e componentes de produção em função do genótipo. O cultivar M-6210-IPRO apresenta aumento de produtividade quando associa micronutrientes + hormônios e micronutrientes + hormônios + extrato de alga.

O cultivar TMG-7063-IPRO não apresenta ganho de produtividade quando se usa micronutrientes isolados ou associados com hormônios e extrato de algas.

A utilização de micronutrientes, aminoácidos, extrato de algas e hormônios vegetais atuam como atenuadores de estresse repercutindo em produtividade.

REFERÊNCIAS

- ABREU, A.B.G.; MATTA, M.H.R.; MONTAGNER, E. Desenvolvimento e validação de método de análise de glifosato em grãos de soja. **Química Nova**, v.31, n.1, p.5-9, 2008.
- AHEMAD, M.; KHAN, M.S. Productivity of green gram in tebuconazole-stressed soil, by using a tolerant and plant growth-promoting *Bradyrhizobium* sp. MRM6 strain. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.34, p.245-254, 2012.
- AHMADI, A.; MOGHADAMTOUSI, S.Z.; ABUBAKAR, S.; ZANDI, K. Antiviral potential of algae polysaccharides isolated from marine sources: a review. **Biomed Research International**, p.1-10, 2015.
- AKTER, N.; SOBAHAN, M.A.; URAJI, M.; YE, W.; HOSSAIN, M.A.; MORI, I.C.; NAKAMURA, Y.; MURATA, Y. Effects of depletion of glutathione on abscisic acid and methyl jasmonate-induced stomatal closure in *Arabidopsis thaliana*. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v.76, p.2032-2037, 2012.
- ALEXIEVA, V.; SERGIEV, I.; MAPELLI, S.; KARANOV, E. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant, Cell and Environment**, v.24, p.1337-1344, 2001.
- ALIA, A.; SARADHI, P.P.; MOHANTY, P. Involvement of proline in protecting thylakoid membranes against free radical-induced photo damage. **Journal of Photochemistry and Photobiology**, v.38, p.253-257, 1997.
- ALLAKHVERDIEV, S.I.; HAYASHI, H.; NISHIYAMA, Y.; IVANOV, A.G.; ALIEV, J.A.; KLIMOV, V.V.; MURATA, N.; CARPEMTIER, R. Glycine betaine protects the D1/D2/Cyt b 559 complex of photosystem II against photo-induced and heat-induced inactivation. **Journal of Plant Physiology**, v.160, p.41-49, 2003.
- ALLIPRANDINI, L.F.; ABATTI, C.; BERTAGNOLLI, P.F.; CAVASSIM, J.E.; GABE, H.L.; KUREK, A.; MATSUMOTO, M.N.; OLEIVEIRA, M.A.R.; PITOL, C.; PRADO, L.C.; STECKLING, C. Understanding soybean maturity groups in Brazil: environment, cultivar classification, and stability. **Crop Science**, v.49, 2009.
- ALSCHER, R.G.; ERTURK, N.; HEALTH, L.S. Role of superoxide dismutases (SOD) in controlling oxidative stress in plants. **Journal of Experimental Botany**, Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants. Special Issue, v.53, n.372, p.1331-1341, 2002.
- ANDREWS, C.J.; CUMMINS, I.; SKIPSEY, M.; GRUNDY, N.M.; JEPSON, I.; TOWNSON, J. Purification and characterization of a family of glutathione transferases with roles in herbicide detoxification in soybean (*Glycine max*); selective enhancement by herbicides and herbicide safeners. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.82, p.205-219, 2005.

ANJUM, N.A.; SHARMA, P.; GILL, S.S.; HASANUZZAMAN, M.; KHAN, E.A.; KACHHAP, K.; MOHAMED, A.A.; THANGAVEL, P.; DEVI, G.D.; VASUDHEVAN, P.; SOFO, A.; KHAN, N.A.; MISRA, A.N.; LUKATKIN, A.S.; SINGH, H.P.; PEREIRA, E.; TUTEJA, N. Catalase and ascorbate peroxidase - representative H₂O₂-detoxifying heme enzymes in plants. **Environmental Science and Pollution Research**, [S.I.], v.23, n.19, p.19002-19029, 2016.

APEL, K.; HIRT, H. Reactive Oxygen Species: Metabolism, Oxidative Stress, and Signal Transduction. **Annual Review of Plant Biology**, v.55, p.373-379, 2004.

ARAVIND, P.; PRASAD, M.N.V. Modulation of cadmium-induced oxidative stress in *Ceratophyllum demersum* by zinc involves ascorbate-glutathione cycle and glutathione metabolism. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.59, p.107-116, 2005.

ARAVIND, P.; PRASAD, M.N.V. Zinc alleviates cadmium-induced oxidative stress in *Ceratophyllum demersum* L.: a free floating freshwater macrophyte. **Plant Physiology and Biochemistry**, 41, 391-397, 2003.

ASADA, K. Production and action of active oxygen species in photosynthetic tissues. In: FOYER, C.H.; MULLINEAUX, P.M. (Ed.). Causes of photo-oxidative stress and amelioration of defense systems in plants. **Boca Raton: CRC Press**, p.77-104, 1994.

ASHRAF, M.; HARRIS, P.J.C. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. **Plant Science**, v.166, p.3-16, 2004.

BABAEIAN, M.I.; PIRI, A.; TAVASSOLI, Y.; ESMAEILIAN, H. GHOLAMI. Effect of water stress and micronutrients (Fe, Zn and Mn) on chlorophyll fluorescence, leaf chlorophyll content and sunflower nutrient uptake in Sistan region. **African Journal of Agricultural Research**, v.6, n.15, p.3526-3531, 2011.

BACCIN, L.C.; KRENCHINSKI, F.H.; ALBRECHT, L.P.; CRUZ, G.G. ALBRECHT, A.J.P.; MATTIUZZI, M.D.; CANTÚ, C.; PERTUZATI, A. Técnicas de mitigação de sintomas de injúrias de glyphosate em soja RR e RR2. **Revista de Ciências Agrárias**, v.42, n.4, p.951-961, 2019.

BAIBAKOVA, E.V.; NEFEDJEVA, E.E.; SUSKAMALAWSKA, M.; WILK, M., SEVRIUKOVA, G.A.; ZHELTOBRIUKHOV, V.F. Modern fungicides: mechanisms of action, fungal resistance and phytotoxic effects. **Annual Research and Review in Biology**, v.32, n.3, p.1-16, 2019.

BAIER, M.; DIETZ, K.J. The plant 2-cys peroxiredoxin BAS1 is a nuclear encoded chloroplast protein: its expression regulation, phylogenetic origin and implications for its specific physiological function in plants. **The Plant Journal**, v.12, p.179-190, 1997.

BARBOSA, M.R.; SILVA, M.M.A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T.R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.44. n.3, p.453-460. 2014.

BARDHAN, K.; KUMAR, V.; DHIMMAR, S.K. An evaluation of the potentially of exogenous osmoprotectants mitigating water stress on chickpea. **Journal of Agricultural Science**, v.3, p.67-74, 2007.

BARROS, J.; DIXON, R.A. Plant phenylalanine/tyrosine ammonia-lyases. **Trends Plant Science**, v.25, n.1, p.66-79, 2020.

BARROS, J.; SERK, H.; GRANLUND, I.; PESQUET, E. The cell biology of lignification in higher plants. **Annals of Botany**, v.115, p.1053-1074, 2015.

BASHIR, F.; MAHMOODUZZAFAR, N.A.; SIDDIQI, T.O.; IQBAL, M. The antioxidative response system in *Glycine max* (L.) Merr. exposed to deltamethrin, a synthetic pyrethroid insecticide. **Environmental Pollution**, v.147, p.94-100, 2007.

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

BAYLES, R.A.; HILTON, G.J. Variety as a factor in the response of cereals to strobilurins. p.731-738. In The Proc. of the BCPC Conf., Brighton, UK. 13-16 Nov. 2000. British Crop Production Council, Hampshire, UK.

BEAUCHAMP, C.O.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, New York, v.44, p.276-287, 1971.

BELLALLOUI, N.; REDDY, K.N.; ZABLOTOWICZ, R.M.; MENGISTU, A. Simulated glyphosate drift influences nitrate assimilation and nitrogen fixation in non-glyphosate-resistant soybean. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, p.3357-3364, 2006.

BERTHE-CORTI, L.; HULSCH, R.; NEVRIES, U.; ECKARDT-SCHUPP, F. Use of batch and fed-batch fermentation for studies on the variation of glutathione content and its influence on the genotoxicity of methyl-nitro-nitrosoguanidine in yeast. **Mutagenesis**, v.7, p.25-30, 1992.

BILGIN, D.D. **ROS, oxidative stress and engineering resistance in higher plants**. Science Publishers, p.205-227, 2010.

BILGIN, D.D.; ALDEA, M.; O'NEILL, B.F.; BENITEZ, M.; LI, M.; CLOUGH, S.J.; DELUCIA, E.H. Elevated ozone alters soybean-virus interaction. **Molecular Plant-Microbe Interactions Journal**, v.21, p.1297-1308, 2008.

BLOCK, A.; WIDHALM, J.R.; FATIHI, A.; CAHOON, R.E.; WAMBOLDT, Y.; ELOWSKY, C. The origin and biosynthesis of the benzenoid moiety of ubiquinone (Coenzyme Q) in *Arabidopsis*. **Plant Cell**, v.26, p.1938-1948, 2014.

BLUNDEN, G.; WILDGOOSE, P.B. The effects of aqueous seaweed extract and kinetin on potato yields. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.28, p.121-125, 1977.

BOHNERT, H.J.; JENSEN, R.G. Strategies for engineering water-stress tolerance in plants. **Trends in Biotechnology**, v.14, p.89-97, 1996.

BONAWITZ, N.D.; CHAPPLE, C. The genetics of lignin biosynthesis: connecting genotype to phenotype. **Annual Review of Genetics**, v.44, p.337-363, 2010.

BORGGARD, O.K.; GIMSING, A.L. Fate of glyphosate in soil and the possibility of leaching to ground and surface waters: a review. **Pest Management Science**, v.64, p.441-456, 2008.

BOTT, S.; TEFAMARIAM, T.; CANDAN, H.; CAKMAK, I.; RÖMHELD, V.; NEUMANN G. Glyphosate-induced impairment of plant growth and micronutrient status in glyphosate-resistant soybean (*Glycine max* L.). **Plant and Soil**, v.312, n.1-2, p.185-194, 2008.

BOTT, S.; TEFAMARIAM, T.; KANIA, A.; EMAN, B.; ASLAN, N.; RÖMHELD, V.; NEUMANN, G. Phytotoxicity of glyphosate soil residues remobilized by phosphate fertilization. **Plant and Soil**, v.342, n.1-2, p.249-263, 2011.

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

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

BRITO, I.P.F.S.; TROPALDI, L.; CARBONARI, C.A.; VELINI, E.D. Hormetic effects of glyphosate on plants. **Glyphosate Hormesis Pest Management Science**, 2017.

BROWN, P.; SAA, S. Biostimulants in agriculture. **Frontiers in Plant Science**, v.6, n.671, p.1-3, 2015.

BROWN, P.H.; GRAHAM, R.D.; NICHOLAS, D.J.D. The effects of manganese and nitrate supply on the levels of phenolics and lignin in young wheat plants. **Plant and Soil**, v.81, p.437-440, 1984.

BRYSON, R.J.; LEANDRO, L.; JONES, D.R. The physiological effects of kresoxim-methyl on wheat leaf greenness and the implications for crop yield. p.739-749. In The Proc. of the BCPC Conf., Brighton, UK. 13-16 Nov. 2000. British Crop Production Council, Hampshire, UK.

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

BUER, C.; IMIN, N.; DJORDJEVIC, M. Flavonoids: new roles for old molecules. **Journal of Integrative Plant Biology**, v.52, p.98-111, 2010.

BUER, C.; MUDAY, G. The transparent testa4 mutation prevents flavonoid synthesis and alters auxin transport and the response of *Arabidopsis* roots to gravity and light. **Plant Cell**, v16, p.1191-1205, 2004.

BURNELL, J.N. The Biochemistry of Manganese in plants. In: GRAHAM R.D.; HANNAM, R.J.; UREN N.C. (Ed.) Manganese in soils and plants. **Developments in Plant and Soil Sciences**, v.33. Springer, Dordrecht and Soil, The Hague, v.39, p.205-207, 1988.

CAIRO, P.A.R.; MESQUITA, A.C.; ASHAN, A.Y.K.V.; OLIVEIRA, L.E.M. Análise comparativa das metodologias "in vitro" e "in vivo" para avaliação de atividade das enzimas invertases e sacarose sintase em seringueira [*Hevea brasiliensis* (Wild. ex. Adr. de Juss.) Muell. Arg.]. In: CONGRESO ANUAL DA SOCIEDAD COLOMBIANA DE CONTROL DE MALEZAS Y FISIOLÓGIA VEGETAL, 35., 2005, Medellín, Colombia. **Anais...** Medellín, 2005. p.24.

CAKMAK, I.; YAZICI, A.; TUTUS, Y.; OZTURK, L. Glyphosate reduced seed and leaf concentrations of calcium, manganese, magnesium, and iron in non-glyphosate resistant soybean. **European Journal of Agronomy**, v.31, n.3, p.114-119, 2009.

CARVALHO, M.E.A.; CASTRO, P.R.C. **Extrato de algas e suas aplicações na agricultura**. Universidade de São Paulo - USP. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - Esalq. **Série Produtor Rural**, v.56, p.1-60, 2014.

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

CASTRO, P.R.C.; VIEIRA, E.L. Ação de biorreguladores na cultura do milho. In: FANCELLI, A.L.; DOURADO NETO, D. (Ed.). Milho: estratégias de manejo para alta produtividade. Esalq, Piracicaba, p.48-59, 2001.

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

CHEN, J.H.; JIANG, H.W.; HSIEH, E.J.; CHEN, H.Y.; CHIEN, C.T.; HSIEH, H.L.; LIN, T.P. Drought and salt stress tolerance of an *Arabidopsis* glutathione S-transferase U17 knockout mutant are attributed to the combined effect of glutathione and abscisic acid. **Plant Physiology**, v.158, p.340-351, 2012.

CHENG, G.; KARUNAKARAN, R.; EAST, A.K.; MUNOZ-AZCARATE, O.; POOLE, P.S. Glutathione affects the transport activity of *Rhizobium leguminosarum* 3841 and is essential for efficient nodulation. **FEMS Microbiology Letters**, v.364, 2017.

CHOUDHARY, N.L.; SAIRAM, R.K.; TYAGI, A. Expression of D1-pyrroline- 5- carboxylate synthetize gene during drought in rice (*Oryza sativa* L.). **Indian Journal of Biochemistry and Biophysics**, v.42, p.366-370, 2005.

CHOUDHARY, R.C.; KUMARASWAMY, R.V.; KUMARI, S.; PAL, A.; RALIYA, R.; BISWAS, P.; SAHARAN, V. Synthesis, characterization, and application of chitosan nanomaterials loaded with zinc and copper for plant growth and protection. **Nanotechnology**, p.227-247, 2017.

CHOUDHARY, R.C.; KUMARASWAMY, R.V.; KUMARI, S.; SHARMA, S.S.; PAL, A.; RALIYA, R.; BISWAS, P.; SAHARAN, V. Zinc encapsulated chitosan nanoparticle to promote maize crop yield. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.127, p.126-135, 2019.

CONAB. Companhia Nacional do Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira: Grãos**. Brasília, 2020. 145 p. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/index.php/info-agro/safras/graos> Acesso em: 12 mai. 2020.

COPELAND, L. **Enzimas do metabolismo da sacarose**. Métodos em bioquímica vegetal, Academic Press, San Diego, p.73-83, 1990.

COSTA, A.S.C. **Comparação das características morfológicas, produtividade e principais custos de produção de cultivares superprecoces de soja RR e intacta**. 34 f. TCC (Graduação) - Curso de Agronomia, Universidade de Brasília, Brasília, 2015.

COURTOIS, J. Oligosaccharides from land plants and algae: production and applications in therapeutics and biotechnology. **Current Opinion in Microbiology**, v.12, p.261-273, 2009.

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

CROWE, J.H.; HOEKSTRA, F.A; CROWE, L.M. Anhydrobiosis. **Annual Review of Physiology**, v.54, p.579-599, 1992.

CUNHA, J.P.A.R.; SILVA, R.A.M. Uniformidade de distribuição volumétrica de pontas de pulverização em função da pressão de trabalho e altura da barra. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.26, n.1, p.52-58, 2010.

CUNHA, J.P.A.R.; TEIXEIRA, M.M.; FERNANDES, H. C. Avaliação do espectro de gotas de pontas de pulverização hidráulicas utilizando a técnica da difração do raio laser. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v.27, p.10-15, 2007.

DAS, K.; ROYCHOUDHURY, A. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. **Frontiers in Environmental Science**, v.2, n.12, p.1-13, 2014.

DE JESUS RAPOSO, M.F.; DE MORAIS, R.M.S.C.; DE MORAIS, A.M.M.B. Bioactivity and applications of sulphated polysaccharides from marine microalgae. **Marine Drugs**, v.11, p.233-252, 2013.

DE, A.; BOSE, R.; KUMAR, A.; MOZUMDAR, S. Worldwide pesticide use. In: DE, A.; BOSE, R.; KUMAR, A.; MOZUMDAR, S. (Ed.). Targeted A, delivery of pesticides using biodegradable polymeric nanoparticles. New Delhi: Springer, p.5-6, 2014.

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

DEVINE, M.; DUKE, S.O.; FEDTKE, C. Oxygen toxicity and herbicidal action, Secondary physiological effects of herbicides, In: **Physiology of herbicide action**. New Jersey: Prentice-Hall, p.177-188, 1993.

DIAZ-ZORIT, M.; FERNANDEZ-CANIGIA, M.V.; GROSSO, G.A. Applications of foliar fertilizers containing glycine betaine improve wheat yields. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v,186, p.209-215, 2001.

DU JARDIN, P. Plant biostimulants: definition, concept, main categories and regulation. **Scientia Horticulturae**, v.196, p.3-14, 2015.

DUBEY, R.S. Metal toxicity, oxidative stress and antioxidative defense system in plants. In: GUPTA, S.D. Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants. Enfield: Science Publishers, Chap.9, p.178-203, 2011.

DUDAREVA, N.; KLEMPHEN, A.; MUHLEMANN, J.K.; KAPLAN, I. Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds. **New Phytologist**, v.198, n.1, p.16-32, 2013.

DUDAREVA, N.; NEGRE, F.; NAGEGOWDA, D.A.; ORLOVA, I. Plant volatiles: recent advances and future perspectives. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.25, p.417-440, 2006.

DUKE, S.O.; LYDON, J.; KOSKINEN, W.C.; MOORMAN, T.B.; CHANEY, R.L.; HAMMERSCHMIDT, R. Glyphosate effects on plant mineral nutrition, crop rhizosphere microbiota, and plant disease in glyphosate resistant crops. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.60, n.42, p.10375-10397, 2012.

EHR, R.J.; KEMMITT, G. Periodic table of the fungicides. Indianapolis: Dow Agrosciences. 2002.

EMBRAPA. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Tecnologias de produção de soja**: região central do Brasil 2014. Londrina: Embrapa Soja, 2013. 265 p.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A.J. **Nutrição mineral de plantas**: princípios e perspectivas. 2. ed. Londrina: Planta, 2006. 401p.

ERMLER, U.; GRABARSE, W.; SHIMA, S.; GOUBEAUD, M.; THAUER, R.K. Active sites of transition-metal enzymes with a focus on nickel, **Current Opinion in Structural Biology**, v.8, p.749-758, 1998.

FABIANO, C.C.; TEZOTTO, T.; FAVARIN, J.L.; POLACCO, J.C.; MAZZAFERA, P. Essentiality of nickel in plants: a role in plant stresses. **Frontiers in Plant Science**, v.6, p.754, 2015. doi.org/10.3389/fpls.2015.00754.

FAGAN, E.B.; DOURADO NETO, D.; VIVIAN, R.; FRANCO, R.B.; YEDA, M.P.; MASSIGNAM, L.F.; OLIVEIRA, R.F.; MARTINS, K.V. Efeito da aplicação de piraclostrobina na taxa fotossintética, respiração, atividade da enzima nitrato redutase e produtividade de grãos de soja. **Bragantia**, Campinas, v.69, n.4, p.771-777, 2010.

FAGAN, E.B.; ONO, E.O.; RODRIGUES, J.D.; CHALFUN JÚNIOR, A.; DOURADO NETO, D. **Fisiologia Vegetal**: reguladores vegetais. São Paulo: Andrei, 2015. 300p.

FAGAN, E.B.; ONO, E.O.; RODRIGUES, J.D.; SOARES, L.H.; DOURADO NETO, D. **Fisiologia Vegetal**: metabolismo e nutrição mineral. São Paulo: Andrei, 2016. 305p.

FARIAS, J.R.B.; NEPOMUCENO, A.L.; NEUMAIER, N. **Ecofisiologia da soja**. Londrina: Embrapa, 2007.

- FAYEZ, K.A. Action of photosynthetic diuron herbicide on cell organelles and biochemical constituents of the leaves of two soybean cultivars. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.66, p.105-15, 2000.
- FEHR, W.R.; CAVINESS, C.E. Stages of soybean development. Cooperative Extension Service, Agriculture and Home Economics Experiment Station, Iowa State University, 12p. 1977.
- FERNEDA, B.G.; BOEING, E.; SILVA, A.C.; SOUZA, A.P.; SILVA, S.G.; MARTIM, C.C.; PALADINO, F.G.; TANAKA, A.A. Graus-dias na estimativa das taxas de crescimento de quatro cultivares de soja em diferentes épocas de plantio. **Pesquisas Agrárias e Ambientais**, v.4, n.3, p.121-127. 2016.
- FLORES, P.; BOTELLA, M.A.; MARTÍNEZ, V.; CERDÁ, A. Response to salinity of tomato seedlings with a split-root system: nitrate uptake and reduction. **Journal of Plant Nutrition**, v.25, p.177-187, 2002.
- FORCELINI, C.A. Fungicidas inibidores da síntese de esteróis. I. Triazoles. RAPP, Passo Fundo, v.2, p.335-355, 1994.
- FOYER, C.H. Espécies reativas de oxigênio, sinalização oxidativa e regulação da fotossíntese. **Environmental and Experimental Botany**, v.154, p.134-142, 2018.
- FOX, J.E. Non-traditional targets of endocrine disrupting chemicals: the roots of hormone signaling. **Integrative and Comparative Biology**, v.45, p.179-188, 2005.
- GANGULY, S.; BHATTACHARYA, S.; MANDI, S.; TARAFDAR, J. Biological Detection and Analysis of Toxicity of Organophosphate- and azadirachtin-based insecticides in *Lathyrus sativus* L. **Ecotoxicology**, v.19, p.85-95, 2010.
- GAZZIERO, D.L.P.; NEUMAIER, N. **Sintomas e diagnose de fitotoxicidade de herbicidas na cultura da soja**. Londrina: EMBRAPA, CNPSo, 1995. 56p. (Documentos, 13).
- GIDROL, X.; LIN, W.S.; DEGOUSEE, N.; YIP, S.F.; KUSH, A. Accumulation of reactive oxygen species and oxidation of cytokinin in germinating soybean seeds. **European Journal of Biochemistry**, v.224, p.21-28, 1994.
- GILL, S.S.; ANJUM, N.A.; HASANUZZAMAN, M.; GILL, R.; TRIVED, D.K.; AHMAD, I.; PEREIRA, E.; TUTEJA, N. Glutathione reductase and glutathione: a boon in disguise for plant abiotic stress defense operations. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.70, p.204-212, 2013.
- GILL, S.S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.48, n.12, p.909-930, 2010.
- GODOY, V.C. Eficiência do controle da ferrugem asiática da soja em função do momento de aplicação sob condições de epidemia em Londrina, PR. Londrina, v.34, n.1, p.56-61, 2016.
- GONZÁLES-GUERRERO, M.; MATTHIADIS, A.; SÁEZ, A.; LONG, T.A. Fixating on metals: new insights into the role of metals in nodulation and symbiotic nitrogen fixation. **Frontiers in Plant Science**, v.5, p.45, 2014.

GRANT, J.J.; LOAKE, G.J. Role of reactive oxygen intermediates and cognate redox signaling in disease resistance. **Plant Physiology**, v.124, p.21-29, 2000.

GRILL, E.; LÖFFLER, S.; WINNACKER, E.L.; ZENK, M.H. Phytochelatins, the heavy-metal binding peptides of plants, are synthesized from glutathione by a specific γ - glutamylcysteine dipeptidyl transpeptidase (phytochelatin synthase). **Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America**, v.86, p.6838-6842, 1989.

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

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

GUENE, N.F.D.; DIOUF, A.; GUEYE, M. Nodulation and nitrogen fixation of field grown common bean (*Phaseolus vulgaris*) as influenced by fungicide seed treatment. **African Journal of Biotechnology**, v.2, p.198-201, 2003.

GYURIS, J.; GOLEMIS, E.; CHERTKOV, H.; BRENT, R. Cdi1, a human G1 and S phase protein phosphatase that associates with Cdk2. **Cell**, v.75, p.791-803, 1993.

HALLIWELL, B.; FOYER, C.H. Properties and physiological function of a glutathione reductase purified from spinach leaves by affinity chromatography. **Planta**, v.39, n.1, v.9-17, 1978.

HAMMERSCHMIDT, R.; NUCKLES, E.M.; KUC, J. Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber of *Colletotrichum lagenarium*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.20, p.73-82, 1982.

HARE, P.D.; CRESS, W.A.; VAN STADEN, J. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. **Plant, Cell and Environment**, v.21, p.535-553, 1998.

HARINASUT, P.; TSUTSUI, K.; TAKABE, T.; NOMURA, M.; TAKABE, T.; KISHITANI, S. Exogenous glycine betaine accumulation and increased salt-tolerance in rice seedlings. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v.60, p.366-368, 1996.

HASANUZZAMAN, M.; HOSSAIN, M.A.; TEIXEIRA DA SILVA, J.A.; FUJITA, M. Plant response and tolerance to abiotic oxidative stress: antioxidant defense is a key factor. In: VENKATESWARLU, B.; SHANKER, A.K.; SHANKER, C.; MAHESWARI, M. (Ed.). Crop stress and its management: perspectives and strategies. New York: Springer, p.261-315, 2012.

HASANUZZAMAN, M.; NAHAR, K.; ALAM, M.M.; ROYCHOWDHURY, R.; FUJITA, M. Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of heat stress tolerance in plants. **International Journal of Molecular Science**, v.14, p.9643-9684, 2013.

HASANUZZAMAN, M.; NAHAR, K.; FUJITA, M. Plant response to salt stress and role of exogenous protectants to mitigate salt-induced damages. In: Ecophysiology and responses of plants under salt stress. **Springer**, New York, p.25-87, 2013.

- HASANUZZAMAN, M.; NAHAR, N.; HOSSAIN, M.S.; MAHMUD, J.A.; RAHMAN, A.; INAFUKU, M.; OKU, H.; FUJITA, M. Coordinated actions of glyoxalase and antioxidant defense systems in conferring abiotic stress tolerance in plants. **International Journal of Molecular Science**, v.18, p.200, 2017.
- HEATH, R.L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives in Biochemistry and Biophysics**, v.125, p.189-198, 1968.
- HENSLEY, D.L.; BEUERMAN, D.S.N.; CARPENTER, P.L. The inactivation of glyphosate by various soils and metal salts. **Weed Research**, v.18, n.5, p.287-291, 1978.
- HOLDT, S.L.; KRAAN, S. Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation. **Journal of Applied Phycology**, v.23, p.543-597, 2011.
- HOQUE, M.A.; BANU, M.N.; NAKAMURA, Y.; SHIMOISHI, Y.; MURATA, Y. Proline and glycine betaine enhance antioxidant and methylglyoxal detoxification systems and reduce NaCl-induced damage in cultured tobacco cells. **Plant Physiology**, v.165, p.813-882, 2008.
- HOSSAIN, M.A.; MOSTOFA, M.G.; FUJITA, M. Cross protection by cold-shock to salinity and drought stress-induced oxidative stress in mustard (*Brassica campestris* L.) seedlings. **Molecular Plant Breeding**, v.4, p.50-70, 2014.
- HOSSAIN, M.A.; MOSTOFA, M.G.; DIAZ-VIVANCOS, P.; BURITT, D.J.; FUJITA M.; TRAN, L.P. Glutathione in plant growth, development, and stress tolerance. **Nature**, p.1-197, 2017.
- HUANG, Y.W.; ZHOU, Z.Q.; YANG, H.X.; WEI, C.X.; WAN, Y.Y.; WANG, X.J.; BAI, J.G. Glucose application protects chloroplast ultrastructure in heat-stressed cucumber leaves through modifying antioxidant enzyme activity. **Biology Plantarum**, v.59, p.131-138, 2015.
- HUSSAIN, T.M.; HAZARA, M.; SULTAN, Z.; SALEH, B.K.; GOPAL, G.R. Recent advances in salt stress biology: a review. **Biotechnology and Molecular Biology Reviews**, v.3, p.8-13, 2008.
- JITHESH, M.N.; SHUKLA, P.S.; KANT, P.; JOSHI, J.; CRITCHLEY, A.T.; PRITHIVIRAJ, B. Physiological and transcriptomics analyses reveal that *Ascophyllum nodosum* extracts induce salinity tolerance in Arabidopsis by regulating the expression of stress responsive genes. **Journal of Plant Growth Regulation**, p.1-16, 2018.
- JOHAL, G.R.; HUBER, D.M. Glyphosate effects on diseases of plants. **European Journal of Agronomy**, v.31, n.3, p.144-152, 2009.
- JOSHI, J.; SHARMA, S.; GURUPRASAD, K.N. Foliar application of pyraclostrobin fungicide enhances the growth, rhizobial-nodule formation and nitrogenase activity in soybean (var. JS-335). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.114, p.61-66, 2014.
- KALAPOPOS, M.P. The tandem of free radicals and methylglyoxal. **Chemico-Biological Interactions**, v.171, p.251-271, 2008.
- KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, peroxidase, and polyphenol oxidase activities during rice leaf senescence. **Plant Physiology**, Rockville, v.57, p.315-319, 1976.

KARIM, M.R.; ZHANG, Y.Q.; ZHAO, R.R.; CHEN, X.P.; ZHANG, F.S.; ZOU, C.Q. Alleviation of drought stress in winter wheat by late foliar application of zinc, boron, and manganese. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v.175, v.1, p.142-151, 2012.

KATTAB, H. Role of glutathione and polyadenylic acid on the oxidative defense systems of two different cultivars of canola seedlings grown under saline condition. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v.1, p.323-332, 2007.

KAUR, C.; VISHNOI, A.; ARIYADASA, T.U.; BHATTACHARYA, A.; SINGLA-PAREEK, S.L.; SOPORY, S.K. Episodes of horizontal gene-transfer and gene-fusion led to co-existence of different metal-ion specific glyoxalase I. **Scientific Reports**, v.3, p.3076, 2013.

KAVI-KISHOR, P.B.; SANGAM, S.; AMRUTHA, R.N.; SRI LAXMI, P.; NAIDU, K.R.; RAO, K.R.S.S.; RAO, S.; REDDY, K.J.; THERIAPPAN, P.; SREENIVASULU, N. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. **Current Science**, v.88, n.3, p.424-438, 2005.

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

KIM, Y.H.; KWAK, S.S. The role of antioxidant enzymes during leaf development. In: GUPTA, S.D. Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants. Enfield: Science Publishers, p.129-150, 2010.

KING, A.C.; PURCELL, L.C.; VORIES, E.D. Plant growth and nitrogenase activity of glyphosate tolerant soybean in response to glyphosate applications. **Agronomy Journal**, v.93, n.1, p.179-186, 2001.

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, p.61-74, 2002.

KOPPER, H.; KRONECK, P.M.H. Nickel in the environment and its role in the metabolism of plants and cyanobacteria. In: SIGEL, A.; SIGEL, H.; SIGEL, R.K.O. (Ed.). **Metal ions in live sciences**. Chichester: Wiley, p.31-62, 2007.

KRUSE, N.D.; TREZZI, M.M.; VIDAL, R.A. Herbicidas inibidores da EPSPS: revisão de literatura. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Brasília, v.1, n.2, p.139-146, 2000.

KUMARI, S.; KUMARASWAMY, R.V.; CHOUDHARY, R.C.; SHARMA, S.S.; PAL, A.; RALIYA, R.; BISWAS, P. Thymol nanoemulsion exhibits potential antibacterial activity against bacterial pustule disease and growth promotory effect on soybean. **Scientific Reports**, v.8, p.6650, 2018.

LAITINEN, P.; RÄMÖ, S.; NIKUNEN, U.; JAUHIAINEN, L.; SIIMES, K.; TURTOLA, E. Glyphosate and phosphorus leaching and residues in boreal sandy soil. **Plant and Soil**, v.323, n.1-2, p.267-283, 2009.

LAVRES, J.; CASTRO FRANCO, G.; CÂMARA, G.M.S. Soybean seed treatment with nickel improves biological nitrogen fixation and urease activity. **Frontiers in Environmental Science**, v.4, p.37, 2016.

LIU, X.; JIN, J.; WANG, G.; HERBERT, S. Soybean yield physiology and development of high-yielding practices in Northeast China. **Field Crops Research**, v.105, p.157-171, 2008.

LOPES, A.L.C. **Cultivo e manejo da soja**. Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais/CETEC. 2013. 37p.

LYDON, J.; DUKE, S.O. Pesticide effects on secondary metabolism of higher plants. **Pesticide Science**, London, v.25, n.4, p.361-373, 1989.

MA, X.L.; WANG, Y.J.; XIE, S.L.; WANG, C.; WANG, W. Glycine betaine application ameliorates negative effects of drought stress in tobacco. **Russian Journal of Plant Physiology**, v.54, p.472-479, 2007.

MADALOSSO, M.G.; BALARDIN, R.; FAVERA, D.D.; MARQUES, L.; DEBORTOLI, M.P. Fatores que interferem na fitotoxicidade. **Cultivar: grandes culturas**, v.179, n.1, p.14-17, 2014.

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

MAEDA, T.; MIYAZONO, Y.; ITO, K.; HAMADA, K.; SEKINE, S.; HORIE, T. Oxidative stress and enhanced para cellular permeability in the small intestine of methotrexate-treated rats. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v.65, p.1117-1123, 2010.

MAETA, K.; IZAWA, S.; INOUE, Y. Methylglyoxal, a metabolite derived from glycolysis, functions as a signal initiator of the high osmolarity glycerol-mitogen-activated protein kinase cascade and calcineurin/Crz1-mediated pathway in *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Biological Chemistry**, v.280, p.253-260, 2005.

MAHOUACHI, J.; ARGAMASILLA, R.; GÓMEZ-CADENAS, A. Influence of exogenous glycine betaine and abscisic acid on papaya in response to water-deficit stress. **Journal of Plant Growth Regulation**, v.31, p.1-10, 2012.

MAKELA, P.; KARKKAINEN, J.; SOMERSALO, S. Effect of glycine betaine on chloroplast ultrastructure, chlorophyll and protein content, and RuBPCO activity in tomato grown under drought or salinity. **Biologia Plantarum**, v.43, p.471-475, 2000.

MÄKELÄ, P.; PELTONEN-SAINIO, P.; JOKINEN, K.; PEHU, E.; SETÄLÄ, H.; HIKKANEN, R.; SOMERSALO, S. Uptake and translocation of foliar-applied glycine betaine in crop plants. **Plant Science**, v.121, p.221-230, 1996.

MALEKZADEH, P. Influence of exogenous application of glycine betaine on antioxidative system and growth of salt-stressed soybean seedlings (*Glycine max*). **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v.21, n.2, p.225-232, 2015. doi: 10.1007/s12298-015-0292-4.

MARRS, K.A. The functions and regulation of glutathione S-transferases in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.47, p.127-158, 1996.

MARSCHNER, P. Marchner's mineral nutrition of higher plants. 3rd ed. New York, Academic Press. 651p., 2012.

MARTYNENKO, A.; SHOTTON, K.; ASTATKIE, T.; PETRASH, G.; FOWLER, C.; NEILY, W.; CRITCHLEY, A.T. Thermal imaging of soybean response to drought stress: the effect of *Ascophyllum nodosum* seaweed extract. **Springer Plus**, v.5, n.1, p.1393, 2016.

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

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

MEREWITZ, E.B.; DU, H.; YU, W.; LIU, Y.; GIANFAGNA, T.; HUANG, B. Elevated cytokinin content in ipt transgenic creeping bentgrass promotes drought tolerance through regulating metabolite accumulation. **Journal of Experimental Botany**, v.63, p.1315-1328, 2012.

MEROTTO, A.J.R.; WAGNER, J.; MENEGUZZI, C. Efeitos do herbicida glifosato e da aplicação foliar de micronutrientes em soja transgênica. **Bioscience Journal**, v.31, n.2, p.499-508, 2015.

MHAMDI, A.; NOCTOR, G.; BAKER, A. Plant catalases: peroxisomal redox guardians. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, p.181-194, 2012.

MILLER, A.F. Superoxide dismutases: active sites that save, but a protein that kills. **Current Opinion in Chemical Biology**, v.8, p.162-168, 2004.

MIRANSARI, M. Abiotic and biotic stresses in soybean production. Elsevier, Academic Press, p.348, 2016.

MIRANSARI, M.; SMITH, D. Rhizobial lipo-chitooligosaccharides and gibberellins enhance barley (*Hordeum vulgare* L.) seed germination. **Biotechnology**, v.8, p.270-275, 2009.

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

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

MITTLER, R.; VANDERAUWERA, S.; GOLLERY, M.; VAN BREUSEGEM, F. Reactive oxygen gene network of plants. **Trends in Plant Science**, v.9, p.490-498, 2004.

MITTLER, R. ROS are good. **Trends in Plant Science**, v.22, n.1, p.11-19, 2017.

- MITTON, F.M.; FERREIRA, J.L.R.; GONZALEZ, M.; MIGLIORANZA, K.S.B.; MONSERRAT, J.M. Antioxidant responses in soybean and alfalfa plants grown in DDTs contaminated soils: useful variables for selecting plants for soil phytoremediation? **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.130, p.17-21, 2016.
- MOLDES, C.A. **Resposta de enzimas antioxidantes a aplicação do herbicida glifosato em variedades de soja transgênica e não transgênica**. 2006. 93f. Tese (Doutorado em Ecologia Aplicada) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Cena/USP, Piracicaba, 2006.
- MOLDES, C.A.; MEDICI, L.O.; ABRAHÃO, O.S.; TSAI, S.M.; AZEVEDO, R.A. Biochemical responses of glyphosate resistant and susceptible soybean plants exposed to glyphosate. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.30, n.4, p.469-479, 2008.
- MOREIRA, R.; SINEIRO, J.; CHENLO, F.; ARUFE, S.; DÍAZ-VARELA, D. Aqueous extracts of *Ascophyllum nodosum* obtained by ultrasound-assisted extraction: effects of drying temperature of seaweed on the properties of extracts. **Journal of Applied Phycology**, v.29, p.3191-3200, 2017.
- MULDER, E.G.; BOXMA, R.; VEEN, W.L.V. The effect of molybdenum and nitrogen deficiencies on nitrate reduction in plant tissues. **Plant and Soil**, v.10, p.335-355, 1959.
- MUNDSTOCK, C.M.; THOMAS, A.L. **Soja: fatores que afetam o crescimento e o rendimento de grãos**. Porto Alegre: Departamento de Plantas de Lavoura da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Evangraf, p.31, 2005.
- MUNNS, R. Physiology of salt and water stress. **Plant, Cell and Environment**, v.25, p.239-250, 2002.
- MUSTAFIZ, A.; GHOSH, A.; TRIPATHI, A.K.; KAUR, C.; GANGULY, A.K.; BHAVESH, N.S. A unique Ni^{2+} -dependent and methylglyoxal-inducible rice glyoxalase I possess a single active site and functions in abiotic stress response. **Plant Journal**, v.78, p.951-963, 2014.
- NABITY, P.D.; ZAVALA, J.A.; DELUCIA, E.H. Indirect suppression of photosynthesis on individual leaves by arthropod herbivory. **Annals of Botany**, v.103, p.655-663, 2009.
- NAHAR, K.; HASANUZZAMAN, M.; ALAM, M.M.; FUJITA, M. Exogenous glutathione confers high temperature stress tolerance in mung bean (*Vigna radiata* L.) by modulating antioxidant defense and methylglyoxal detoxification system. **Environmental and Experimental Botany**, v.112, p.44-54, 2015.
- NAHAR, K.; HASANUZZAMAN, M.; SUZUKI, T.; FUJITA, M. Polyamines-induced aluminum tolerance in mung bean: a study on antioxidant defense and methylglyoxal detoxification systems. **Ecotoxicology**, v.26, p.58-73, 2017.
- NAHAR, K.; RAHMAN, M.; HASANUZZAMAN, M.; ALAM, M.M.; RAHMAN, A.; SUZUKI, T.; FUJITA, M. Physiological and biochemical mechanisms of spermine-induced cadmium stress tolerance in mung bean (*Vigna radiata* L.) seedlings. **Environmental Science and Pollution Research**, v.23, p.21206-21218, 2016.

NEILY, W.; SHISHKOV, L.; NICKERSON, S.; TITUS, D.; NORRIE, J. Commercial extracts from the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* (Acadian) improves early establishment and helps resist water stress in vegetable and flower seedlings. **HortScience**, v.45, p.234, 2010.

NISHIYAMA, R.; WATANABE, Y.; FUJITA, Y.; LE, D.T.; KOJIMA, M.; WERNER, T.; VANKOVA, R.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K.; KAKIMOTO, T.; SAKAKIBARA, H.; SCHMULLING, T.; TRAN, L.P. Analysis of cytokinin mutants and regulation of cytokinin metabolic genes reveals important regulatory roles of cytokinins in drought, salt and abscisic acid responses, and abscisic acid biosynthesis. **Plant Cell**, v.23, p.2169-2183, 2011.

NOCTOR, G.; FOYER, C.H. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.49, p.249-279, 1998.

NOCTOR, G.; MHAMDI, A.; CHAOUCH, S.; HAN, Y.; NEUKERMANS, J.; MARQUEZ-GARCIA, B. Glutathione in plants: an integrated overview. **Plant Cell Environ.** v.35, p.454-484, 2012.

NOREEN, S.; ZAFAR, Z.U.; HUSSAIN, K.; ATHAR, H.; ASHRAF, M. Assessment of economic benefits of foliarly applied osmoprotectants in alleviating the adverse effects of water stress on growth and yield of cotton (*Gossypium hirsutum* L.). **Pakistan Journal of Botany**, v.47, p.2223-2230, 2015.

OKOLIE, C.L.; MASON, B.; CRITCHLEY, A.T. "Seaweeds as a source of proteins for use in pharmaceuticals and high-value applications," in novel proteins for food, pharmaceuticals, and agriculture: sources, applications, and advances. Ed. M. Hayes (Hoboken, NJ: Wiley), 217p.2018.

OKUMA, E.; JAHAN, M.S.; MUNEMASA, S.; HOSSAIN, M.A.; MUROYAMA, D.; ISLAM, M.M.; OGAWA, K.; WATANABE-SUGIMOTO, M.; NAKAMURA, Y.; SHIMOISHI, Y.; MORI, I.C.; MURATA, Y. Negative regulation of abscisic acid-induced stomatal closure by glutathione in *Arabidopsis*. **Journal of Plant Physiology**, v.168, p.2048-2055, 2011.

PARYS, S.; KEHRAUS, S.; PETE, R.; KÜPPER, F.C.; GLOMBITZA, K.W.; KÖNIG, G.M. Seasonal variation of polyphenolics in *Ascophyllum nodosum* (Phaeophyceae). **European Journal of Phycology**, v.44, p.331-338, 2009.

PEER, W.; MURPHY, A. Flavonoids and auxin transport: modulators or regulators? **Trends in Plant Science**, v.12, p.556-563, 2007.

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

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

PENARIOL, A. **Soja:** cultivares no lugar certo. Informações Agronômicas. 90p. 2000.

PEREIRA, W.A.; DEL GIÚDICE, M.P.; CARNEIRO, J.E.S.; DIAS, D.C.F.S.; BORÉM, A. Fluxo gênico em soja geneticamente modificada e método para sua detecção. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, n.7, p.999-1006, 2007.

PETTER, F.A.; PROCÓPIO, S.O.; CARGNELUTTI FILHO, A.; BARROSO, A.L.L.; PACHECO, L.P.; BUENO, A.F. Associações entre o herbicida glyphosate e inseticidas na cultura da soja Roundup Ready®. **Planta Daninha**, Viçosa, v.25, n.2, p.389-398, 2007.

PITTMAN, J.K. Managing the manganese: molecular mechanisms of manganese transport and homeostasis. **New Phytologist**, v.167, p.733-742, 2005.

POLLE, A. Dissecting the superoxide dismutase-ascorbate peroxidase-glutathione pathway in chloroplasts by metabolic modeling. Computer simulations as a step towards flux analysis. **Plant Physiology**, v.126, p.445-462, 2001.

POVERO, G.; MEJIA, J.F.; TOMMASO, D.D.; PIAGGESI, A.; WARRIOR, P. A systematic approach to discover and characterize natural plant biostimulants. **Frontiers in Plant Science**, v.7, p.1-9, 2016.

RAGAN, M.A.; JENSEN, A. Quantitative studies on brown algal phenols. I. Estimation of absolute polyphenol content of *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. and *Fucus vesiculosus* (L.). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v.30, p.209-221, 1997.

REZAEI, M.A.; KAVIANI, B.; JAHANSHAH, H. Application of exogenous glycine betaine on some growth traits of soybean (*Glycine max* L.) cv. DPX in drought stress conditions. **Scientific Research and Essays**, v.7, p.432-436, 2012.

RICHARD, J.P. Mechanism for the formation of methylglyoxal from triose phosphates. **Biochemical Society Transactions**, v.21, p.549-553, 1993.

RITCHIE, S.; HANWAY, J.J.; THOMPSON, H.E. How a soybean plant develops. Ames, Yowa: Yowa State University of Science and Technology, Cooperative Extension, (Special Report, n. 53), 1982. 20 p.

RIVERO, R.M.; KOJIMA, M.; GEPSTEIN, A.; SAKAKIBARA, H.; GEPSTEIN, S.; BLUMWARD, E. Delay leaf senescence induces extreme drought tolerance in a flowering plant. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.104, p.19631-19636, 2007.

ROITSCH, T.; GONZÁLEZ, M.C. Function and regulation of plant invertases: sweet sensations, **Trends in Plant Science**, v.9, p.606-613, 2004.

ROSOLEM, C.A.; ANDRADE, G.J.M.D.; LISBOA, I.P.; ZOCA, S.M. Manganese uptake and redistribution in soybean as affected by glyphosate. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.34, n.6, p.1915-1922, 2010.

ROXAS, V.P.; SMITH, R.K.; ALLEN, E.R.; ALLEN, R.D. Over-expression of glutathione S- transferase/glutathione peroxidase enhances the growth of transgenic tobacco seedlings during stress. **Nature Biotechnology**, v.15, p.988-991, 1997.

RUSSO, T.; ZAMBRANO, N.; ESPOSITO, F.; AMMENDOLA, R.; CIMINO, F.; FISCELLA, M.; JACKMAN, J.; O'CONNOR, M.; ANDERSON, C. W.; APELLA E. A p53-independent pathway for activation of WAF1/C1P1 expression following oxidative stress. **Journal of Biological Chemistry**, v.9, p.386-391, 1995.

SAKAMOTO, A.; MURATA, N. The role of glycine betaine in the protection of plants from stress: clues from transgenic plants. **Plant, Cell and Environment**, v.25, p.163-171, 2002.

SANCHEZ-FERNANDEZ, R.; FRICKER, M.; CORBEN, L.B.; WHITE, N.S.; SHEARD, N.; LEAVER, C.J.; VAN MONTAGU, M.; INZÉ, D.; MAY, M.J. Cell proliferation and hair tip growth in the Arabidopsis root are under mechanistically different forms of redox control **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.94, p.2745-2750, 1997.

SANGHA, J.S.; RAVICHANDRAN, S.; PRITHIVIRAJ, K.; CRITCHLEY, A.T.; PRITHIVIRAJ, B. Sulfated macroalgal polysaccharides l-carrageenan and i-carrageenan differentially alter Arabidopsis thaliana resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.75, p.38-45, 2010.

SCHERM, H.; CHRISTIANO, R.S.C.; ESKER, P.D.; DEL PONTE, E.M.; GODOY, C.V. Quantitative review of fungicide efficacy trials for managing soybean rust in Brazil. **Crop Protection**, Madison, v.28, p.774-782. 2009.

SERRA, A.P.; MARCHETTI, M.E.; DA SILVA, C.A.C.; DIAS, A.C.R.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Glyphosate influence on nitrogen, manganese, iron, copper and zinc nutritional efficiency in glyphosate resistant soybean. **Ciência Rural**, v.41, n.1, p.77-84, 2011.

SHARMA, A.; KUMAR, V.; BHARDWAJ, R.; THUKRAL, A.K. Responses of plants to pesticide toxicity: an overview. **Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas**, v.37, 2019.

SHARMA, A.; KUMAR, V.; BHARDWAJ, R.; THUKRAL, A.K. Seed pre-soaking with 24-epibrassinolide reduces the imidacloprid pesticide residues in green pods of *Brassica juncea* L. **Toxicological and Environmental Chemistry**, v.99, p.95-103, 2017.

SHARMA, A.; KUMAR, V.; YUAN, H.; KANWAR, M.K.; BHARDWAJ, R.; THUKRAL A.K.; ZHENG, B. Jasmonic acid seed treatment stimulates insecticide detoxification in *Brassica juncea* L. **Frontiers in Plant Science**, v.9, p.1609, 2018.

SHARMA, A.; THAKUR, S.; KUMAR, V.; KANWAR, M.K.; KESAVAN, A.K.; THUKRAL, A. Pre-sowing seed treatment with 24-epibrassinolide ameliorates pesticide stress in *Brassica juncea* L. through the modulation of stress markers. **Frontiers in Plant Science**, v.7, p.1569, 2016.

SHARMA, H.S.S.; FLEMING, C.; SELBY, C.; RAO, J.R.; MARTIN, T. Plant biostimulants: a review on the processing of macro algae and use of extracts for crop management to reduce abiotic and biotic stresses. **Journal of Applied Phycology**, v.26, p.465-490, 2014.

SHARMA, P.; JHA, A.B.; DUBEY, R.S.; PESSARAKLI, M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany**, p.1-26, 2012. doi: 10.1155/2012/217037.

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

SHAUL, O.; MIRONOV, V.; BURSSSENS, S.; VAN MONTAGU, M.V.; INZE, D. Two Arabidopsis cyclin promoters mediate distinctive transcriptional oscillation in synchronized tobacco 3Y-2 cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.93, p.4868-4872, 1996.

SHUKLA, P.S.; BORZA, T.; CRITCHLEY, A.T.; PRITHIVIRAJ, B. Carrageenans from red seaweeds as promoters of growth and elicitors of defense response in plants. **Frontiers in Marine Science**, v.3, n.81, 2016. doi: 10.3389/fmars.2016.00081.

SHUKLA, P.S.; MANTIN, E.G.; ADIL, M.; BAJPAI, S.; CRITCHLEY, A.T.; PRITHIVIRAJ, B. *Ascophyllum nodosum*-Based biostimulants: sustainable applications in agriculture for the stimulation of plant growth, stress tolerance, and disease management. **Frontiers in Plant Science**, v.10, n.655, 2019. doi: 10.3389/fpls.2019.00655.

SHUKLA, P.S.; SHOTTON, K.; NORMAN, E.; NEILY, W.; CRITCHLEY, A.T.; PRITHIVIRAJ, B. Seaweed extract improve drought tolerance of soybean by regulating stress-response genes. **AoB Plants**, 2018.

SILVA, F.C.S. **Influência do tamanho de sementes e de características agrônômicas em descritores adicionais de soja**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Viçosa. 46p. 2013.

SINGLA-PAREEK, S.L.; REDDY, M.K.; SOPORY, S.K. Genetic engineering of the glyoxalase pathway in tobacco leads to enhanced salinity tolerance. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.100, 14672-14677, 2003.

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

SOARES, L.H.; DOURADO NETO, D.; FAGAN, E.B.; TEIXEIRA, W.F.; PEREIRA, I.S. Physiological, phenometric and productive changes in soybean crop due to the use of kinetin. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.47, p.80-86, 2017. doi: 10.1590/1983- 40632016v4742790.

SONG, N. H.; YIN, X. L.; CHEN, G. F.; YANG, H. Biological responses of wheat (*Triticum aestivum*) plants to the herbicide chlorotoluron in soils. **Chemosphere**, v.68, p.1779-1787, 2007.

SONIER, M.B.; WEGER, H.G. Plasma membrane ferric reductase activity of iron-limited algal cells is inhibited by ferric chelators. **Biometals**, v.23, n.6, p.1029-1042, 2010.

SOUSA S. F.; LOPES A. B.; FERNANDES P.A.; RAMOS, M. J. The zinc proteome: a tale of stability and functionality. **Dalton Transactions**, p.7946-7956, 2009.

SOUZA, D.V. de; CABRAL, J.B.P.; LOPES, R.M.; REIS, M.A.S.; OLIVEIRA, S.F. Análise pluviométrica da carta topográfica de Patos de Minas referente ao período de 1978 a 2003. In: REUNIÃO ANUAL DA SBPC, 57., 2005, Fortaleza. **Anais eletrônicos...** São Paulo: SBPC/UECE, 2005.

SPANN; T.M.; LITTLE, H.A. Applications of a commercial extract of the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* increases drought tolerance in container-grown 'Hamlin' sweet orange nursery trees. **Hortscience**, Alexandria, v.46, n.4, p.577-582, 2011.

STURM, A. Invertases: primary structures, functions, and roles in plant development and sucrose partitioning. **Plant Physiology**, v.121, p.1-7, 1999.

SUBBARAO, G.V.; LEVINE, L.H.; STUTTE, G.W.; WHEELER, R.M. Glycine betaine accumulation: its role in stress resistance in crop plants. In: PESSARAKLI, M. (Ed.) Handbook of plant and crop physiology, 2nd ed. Marcel Dekker, Inc., NY, USA, p.881-908, 2002.

SUBRAMANIAN, S.; SANGHA, J.S.; GRAY, B.A.; SINGH, R.P.; HILTZ, D.; CRITCHLEY, A.T.; PRITHIVIRAJ, B. Extracts of the marine brown macroalga, *Ascophyllum nodosum*, induce jasmonic acid dependent systemic resistance in *Arabidopsis thaliana* against *Pseudomonas syringae* pv. tomato DC₃₀₀₀ and *Sclerotinia sclerotiorum*. **European Journal of Plant Pathology**, v.131, p.237-248, 2011.

SWANSON, S.; GILROY, S. ROS in plant development. **Physiologia Plantarum**, v.138, p.384-392. 2010.

SWOBODA, C.; PEDERSEN, P. Effect of fungicide on soybean growth and yield. **Agronomy Journal**, v.101, p.352-356, 2009.

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

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

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

TEIXEIRA, W.F.; FAGAN, E.B.; SOARES, L.H.; SOARES, J.N.; REICHARDT, K.; DOURADO NETO, D. Seed and foliar application of amino acids improve variables of nitrogen metabolism and productivity in soybean crop. **Frontiers in Plant Science**, v.9, p.1-12, 2018.

TEIXEIRA, W.F.; FAGAN, E.B.; SOARES, L.H.; UMBURANAS, R.C.; REICHARDT, K.; DOURADO NETO, D. Foliar and seed application of amino acids affects the antioxidant metabolism of the soybean crop. **Frontiers in Plant Science**, v.8, p.327, 2017. doi: 10.3389/fpls.2017.00327.

TEIXEIRA, W.F.; SOARES, L.H.; FAGAN, E.B.; MELLO, S.C.; REICHARDT, K.; DOURADO NETO, D. Amino acids as stress reducers in soybean plant growth under different water-deficit conditions. **Journal of Plant Growth Regulation**, v.1, p.15, 2019.

VAN BREUSEGEM, F.; VRANOVÁ, E.; DAT, J.F.; INZÉ, D. The role of active oxygen species in plant signal transduction. **Plant Science**, v.161, p.405-414, 2001.

VAN LOON, L.C. The intelligent behavior of plants. *Trends in Plant Science*, v.21, n.4, p.286-294, 2016.

VAN OOSTEN, M.J.; PEPE, O.; DE PASCALE, S.; SILLETTI, S.; MAGGIO, A. The role of biostimulants and bioeffectors as alleviators of abiotic stress in crop plants. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v.4, p.5. 2017.

VANCAMP, W.; CAPIAN, K.; VAN MONTAGU, M.; INZE, D.; SLOOTEN, L. Enhancement of oxidative stress tolerance in transgenic tobacco plants overproducing Fe-superoxide dismutase in chloroplasts. **Plant Physiology**, v.112, p.1703-1714, 1996.

VENANCIO, 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.

VIEGAS NETO, A.L. Tecnologia de aplicação de inseticida no controle da lagarta-falsa-medideira na cultura da soja. 2013. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2013.

VINCELLI, P.; DIXON, E. Resistance to QoI (Strobilurin-like) fungicides in isolates of *Pyricularia grisea* from perennial ryegrass. **Plant Disease**, v. 86, p.235-240, 2002

VLOT, A.C.; DEMPSEY, D.A.; KLESSIG, D.F. Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease. **Annual Review Phytopathology**, v.47, p.177-206, 2009.

VOGT, T. Phenylpropanoid biosynthesis. **Molecular Plant**, v.3, n.1, p.2-20, 2010.

WALKER, T.S.; BAIS, H.P.; GROTEWOLD, E.; VIVANCO, J.M. Root exudation and rhizosphere biology. **Plant Physiology**, v.132, n.1, p.44-51, 2003.

WALLY, O.S.D.; CRITCHLEY, A.T.; HILTZ, D.; CRAIGIE, J.S.; HAN, X.; ZAHARIA, L.I.; ABRAMS, S.R.; PRITHIVIRAJ, B. Regulation of phytohormone biosynthesis and accumulation in *Arabidopsis* following treatment with commercial extract from the marine macroalga *Ascophyllum nodosum*. **Journal of Plant Growth Regulation**, v.32, p.324-339, 2013.

WEILAND, M.; MANCUSO, S.; BALUSKA, F. Signaling via glutamate and GLRs in *Arabidopsis thaliana*. **Functional Plant Biology**, v.43, p.1-25, 2015.

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

WINGATE, V. P.M.; LAWTON, M. A.; LAMB, C. J. Glutathione causes a massive and selective induction of plant defense genes. **Plant Physiology**, v.31, p.205-211, 1988.

WONISCH, W.; SCHAUR, R. Chemistry of glutathione. In: GRILL, D.; TAUSZ, M.; KOK, L.J. (Ed.). Significance of glutathione to plant adaptation to the environment. Dordrecht: Kluwer, p.13-26, 2001.

XIA, X.J.; ZHANG, Y.; WU, J.X.; WANG, J.T.; ZHOU, Y.H.; SHI, K. Brassinosteroids promote metabolism of pesticides in cucumber. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.57, n.18, p.8406-8413, 2009.

YAVAS, I.; UNAY, A. Effects of zinc and salicylic acid on wheat under drought stress. **Journal of Animal and Plant Sciences**, v.26, p.1012-1018, 2016.

YU, S.M.; LO, S.F.; HO, T.D. Source-sink communication: regulated by hormone, nutrient, and stress cross-signaling. **Trends in Plant Science**, v.20, n.12, p.844-857, 2015.

YUAN, Y.; MACQUARRIE, D. Microwave assisted extraction of sulfated polysaccharides (fucoidan) from *Ascophyllum nodosum* and its antioxidant activity. **Carbohydrate Polymers**, v.129, p.101-107, 2015.

ZABLOTOWICZ, R.M.; REDDY, K.N. Impact of glyphosate on the *Bradyrhizobium japonicum* symbiosis with glyphosate-resistant transgenic soybean. **Journal of Environmental Quality**, v.33, n.3, p.825-831, 2004.

ZABLOTOWICZ, R.M.; REDDY, K.N. Nitrogenase activity, nitrogen content, and yield responses to glyphosate in glyphosate-resistant soybean. **Crop Protection**, v.26, n.3, p.370-376, 2007.

ZAGORCHEV, L.; SEAL, C.E.; KRANNER, I.; ODJAKOVA, M.A. Central role for thiols in plant tolerance to abiotic stress. **International Journal of Molecular Sciences**, v.14, p.7405-7432, 2013.

ZAVALA-MANCERA, H.A.; LÓPEZ-DELGADO, H.A.; LOZA-TAVERA, H.; MORA-HERRERA, M.E.; GARCÍA, C.T.; VARGAS-SUÁREZ, M.; OUGHAM, H. Cytokinin promotes catalase and ascorbate peroxidase activities and preserves the chloroplast integrity during dark-senescence. **Journal of Plant Physiology**, v.164, n.12, p.1572-1582, 2007. doi: 10.1016/j.jplph.2007.02.003.

ZHANG, X.; SCHMIDT, R.E. Hormone containing products impact on antioxidant status of tall fescue and creeping bent grass subjected to drought. **Crop Science**, v.40, p.1344-1349, 2000.

ZOBIOLE, L.H.S.; KREMER, R.J.; OLIVEIRA, R.S.; CONSTANTIN, J. Glyphosate effects on photosynthesis, nutrient accumulation, and nodulation in glyphosate-resistant soybean. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v.175, p.319-330, 2012.

ZOBIOLE, L.H.S.; OLIVEIRA JÚNIOR, R.S.; KREMER, R.J.; CONSTANTIN, J.; BONATO, C.M.; MUNIZ, A.S. Water use efficiency and photosynthesis of glyphosate-resistant soybean as affected by glyphosate. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.97, n.3, p.182-193, 2010a.

ZOBIOLE, L.H.S.; OLIVEIRA JÚNIOR, R.S.; KREMER, R.J.; CONSTANTIN, J.; YAMADA, T.; CASTRO, C.; OLIVEIRA, F.A.; OLIVEIRA JÚNIOR, A. Effect of glyphosate on symbiotic N₂ fixation and nickel concentration in glyphosate-resistant soybeans. **Applied Soil Ecology**, v.44, n.2, p.176-180, 2010b.

ZUNTINI, B.; ALVAREZ, R.C.F.; THEODORO, G.F.; ZUFFO, A.M. Effect of adding fungicide to mixtures of triazoles and strobilurins in the control of downy mildew and Asian soybean rust. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.49, e53688, 2019.